

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**



**“CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE DOS POBLACIONES DE  
CUYES NATIVOS (*Cavia porcellus*) DE CUZCO Y PUNO  
UTILIZANDO MARCADORES STR”.**

Presentada por:

**Rolando James Valladares Delgado**

Tesis para Optar el Título Profesional de:

**BIÓLOGO**

Lima – Perú

2019

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**“CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE DOS POBLACIONES DE  
CUYES NATIVOS (*Cavia porcellus*) DE CUZCO Y PUNO  
UTILIZANDO MARCADORES STR”.**

Presentada por:

**Rolando James Valladares Delgado**

Tesis para Optar el Título Profesional de:

**BIÓLOGO**

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

---

Mg. Sc. Rosa Espejo Joya  
**PRESIDENTE**

---

Mg. Sg. Roberto Mansilla Samaniego  
**MIEMBRO**

---

Ph. D. Gustavo Gutiérrez Reynoso  
**MIEMBRO**

---

Mg.Sc. César López Bonilla  
**ASESOR**

---

Ing. Eudosio A. Veli Rivera  
**CO - ASESOR**

## **DEDICATORIA**

A Dios porque sin Él este sueño no sería realidad.

A mi madre Carmen, mi padre Orlando, hermanos Fabrizio y André por su apoyo incondicional y fe en mí.

A Peluchín por ser mi compañero fiel.

A la memoria de mi Abuela Lema y mi Abuelo Sócrates.

A Katty por los momentos de felicidad conmigo.

## **AGRADECIMIENTOS**

- A la Ing. Elsa Valladares pues sin ella no hubiese empezado la tesis.
- A Katty Calixto por acompañarme durante toda esta etapa de la tesis y por los últimos detalles en la redacción; lo tengo siempre presente.
- A las Biólogas Claudia Yalta y Wendy Acuña por el apoyo constante y la paciencia que tuvieron conmigo.
- Al Ing. Eudosio Veli, por darme la oportunidad de realizar la presente tesis, también por su orientación y consejos importantes.
- A los criadores de cuyes de las localidades muestreadas, quienes generosamente me permitieron extraer las muestras.
- A mis amigos del laboratorio de Biología Molecular y Genómica del Instituto de Innovación Agraria (INIA), por su valioso apoyo, momentos agradables, conversaciones que me alegraron el día y me hicieron pasar una experiencia agradable.
- A mi alma mater la Universidad Agraria La Molina, por su cálida acogida, que me permitió desarrollarme con valores y profesionalismo.
- A los profesores que conformaron mi jurado: La Mg. Sc. Rosa Espejo Joya, El Mg. Sg. Roberto Mansilla Samaniego y El Ph. D. Gustavo Gutiérrez Reynoso por sus correcciones y consejos que ayudaron a dar los últimos detalles a mi tesis.
- Al Mg.Sc. César López Bonilla, por su orientación y consejos como asesor de la presente tesis.

## ÍNDICE GENERAL

|   |           |
|---|-----------|
| RESUMEN.....  |           |
| ABSTRACT.....   |           |
| <b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>   | <b>1</b>  |
| <b>II. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>                                    | <b>4</b>  |
| 2.1. Generalidades del cuy .....  | 4         |
| 2.2. Cuyes en Sudamérica.....   | 5         |
| 2.3. Distribución y dispersión actual del cuy .....                       | 6         |
| 2.4. Genotipos de cuyes.....  | 8         |
| 2.4.1. El cuy doméstico “no mejorado” .....                               | 8         |
| 2.4.2. El Cuy Doméstico “Mejorado”.....                                   | 10        |
| 2.5. Marcadores moleculares.....  | 10        |
| 2.5.1. Microsatélites .....   | 11        |
| 2.5.2. Clasificación de los microsatélites .....                          | 12        |
| 2.5.3. Cebador universal M13 .....  | 13        |
| 2.6. Estudios moleculares en cuyes.....                                   | 14        |
| 2.6.1. Variabilidad genética .....  | 14        |
| 2.6.2. Diferenciación genética .....                                      | 15        |
| 2.6.3. Estructura genética.....   | 15        |
| <b>III. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>                                    | <b>16</b> |
| 3.1. Zona de estudio .....  | 16        |
| 3.2. Colecta de muestra.....  | 17        |
| 3.3. Extracción de ADN genómico total a partir de folículos pilosos ..... | 18        |
| 3.4. Evaluación de la extracción y cuantificación del ADN .....           | 18        |
| 3.5. Amplificación de microsatélites.....                                 | 20        |
| 3.6. Electroforesis capilar.....  | 23        |
| 3.7. Procesamiento y análisis de datos .....                              | 24        |
| 3.8. Fase de análisis estadísticos .....                                  | 26        |
| 3.8.1. Variabilidad Genética poblacional .....                            | 26        |
| a) Análisis de diversidad alélica .....                                   | 26        |
| b) Frecuencias alélicas .....   | 26        |
| c) Alelos nulos .....   | 27        |
| d) Heterocigosidad esperada .....   | 27        |

|  |           |
|--|-----------|
| e) Heterocigosidad observada .....   | 27        |
| f) Contenido de información polimórfica (PIC).....                           | 28        |
| g) Prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W).....                         | 28        |
| h) Diversidad genética de Nei.....   | 29        |
| 3.8.2. Estructura genética poblacional .....                                 | 29        |
| a) Estadísticos F de Wright.....   | 29        |
| b) Análisis de varianza molecular.....                                       | 30        |
| c) Análisis de la estructura de la población.....                            | 32        |
| d) Flujo Génico.....   | 32        |
| e) Árbol de distancias entre individuos .....                                | 33        |
| f) Análisis Discriminante de Componentes Principales (D.A.P.C.).....         | 33        |
| <b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>                                    | <b>34</b> |
| 4.1.. Análisis de diversidad genética .....                                  | 34        |
| 4.1.1. Número de alelos .....  | 34        |
| 4.1.2. Frecuencias alélicas .....  | 35        |
| 4.1.3. Heterocigosidad esperada y observada .....                            | 42        |
| 4.1.4. Contenido de información polimórfica (PIC).....                       | 44        |
| 4.1.5. Equilibrio Hardy-Weinberg.....  | 45        |
| a) Población total .....   | 45        |
| b) Dentro de poblaciones.....  | 46        |
| 4.1.6. Alelos nulos .....  | 48        |
| 4.1.7. Diversidad genética de Nei .....                                      | 49        |
| 4.2. Diferenciación genética entre los cuyes domésticos de Puno y Cuzco..... | 51        |
| 4.2.1. Estadísticos F de Wright.....   | 51        |
| 4.2.2. Análisis de varianza molecular .....                                  | 54        |
| 4.2.3. Estructura de la población.....                                       | 57        |
| 4.3. Flujo génico .....  | 59        |
| 4.4. Árbol de distancias entre individuos .....                              | 59        |
| 4.5. Análisis discriminante de componentes principales (D.A.P.C.).....       | 61        |
| <b>V. CONCLUSIONES .....</b>   | <b>63</b> |
| <b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>  | <b>64</b> |
| <b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>                                  | <b>65</b> |
| <b>VIII. ANEXOS.....</b>   | <b>72</b> |

## ÍNDICE DE TABLAS

|  |    |
|--|----|
| Tabla 1: Registro de la cantidad de muestras de folículos pilosos recolectadas en los dos departamentos.....   | 17 |
| Tabla 2: Esquema de electroforesis del panel de 10 microsatélites seleccionados con repetición de tipo di nucleótido. Secuencia en negrita: Primer universal M13 o Cola M13..... | 22 |
| Tabla 3: Combinaciones para reacciones multiplex en PCR, rango (pb), marcaje y temperatura óptima de los microsatélites.....   | 23 |
| Tabla 4: Volumen del amplificado en el analizador.....   | 24 |
| Tabla 5: Estimaciones de Varianza relacionados con los estadísticos F.....   | 31 |
| Tabla 6: Número de alelos por locus encontrados en cada población y número de alelos efectivos (Na).....   | 35 |
| Tabla 7: Tabla de Heterocigosidad por población y como un total.....   | 44 |
| Tabla 8: Contenido de Información Polimórfica de las poblaciones cuyes de Puno, Cuzco y el total de estas dos poblaciones.....   | 45 |
| Tabla 9: Contenido de Déficit, Exceso de Heterocigotos y Equilibrio Hardy-Weinberg...  | 46 |
| Tabla 10: Test de Equilibrio Hardy-Weinberg (Intra-poblacional).....   | 47 |
| Tabla 11: Frecuencia de alelos nulos por locus.....  | 49 |
| Tabla 12: Diversidad Genética por población y total.....   | 50 |
| Tabla 13: Estadísticos F para todos los loci estudiados en la población total de cuyes de Puno y Cuzco.....  | 51 |
| Tabla 14: Estadísticos F global de la población total de cuyes colectados en los departamentos de Puno y Cuzco.....  | 53 |
| Tabla 15: Valores de FIS promedio para cada población de cuyes.....  | 54 |
| Tabla 16. Análisis de Varianza Molecular utilizando el modelo de mutación simple.....  | 55 |
| Tabla 17. Análisis de Varianza Molecular utilizando el modelo de mutación gradual o por pasos.....   | 56 |
| Tabla 18: Mejor valor para Delta de K.....   | 58 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1. Distribución de especies de Cavia en Sudamérica.....  | 6  |
| Figura 2. Cuy nativo colectado en el departamento de Cuzco.....   | 9  |
| Figura 3. Procedimiento de amplificación y marcaje del cebador universal M13.....   | 14 |
| Figura 4. Mapa de colecta en los departamentos de Puno y Cuzco.....   | 16 |
| Figura 5. Toma de muestra de folículos pilosos de cuyes en el departamento de Puno.....   | 17 |
| Figura 6. Proceso para evaluar la calidad de ADN mediante los geles de agarosa al uno por ciento.....                             | 19 |
| Figura 7. Equipo Epoch para cuantificación del ADN.....   | 20 |
| Figura 8. Termociclador Mastercycler Pro S para la Técnica de PCR.....  | 21 |
| Figura 9. Analizador Genético ABI3130XL, con 16 capilares.....  | 24 |
| Figura 10. Electroferograma de los marcadores amplificados, divididos en 4 fluoróforos (FAM, VIC, NED y PET respectivamente)..... | 25 |
| Figura 11. número de alelos de cada población y como toda una población.....  | 35 |
| Figura 12. Frecuencias alélicas del marcador MSV en las poblaciones de cuyes de Puno y Cuzco.....                                 | 36 |
| Figura 13. Frecuencias alélicas del marcador CUY03 en las poblaciones de cuyes de Puno y Cuzco.....                               | 37 |
| Figura 14. Frecuencias alélicas del marcador CUY05 en las poblaciones de cuyes de Puno y Cuzco.....                               | 37 |
| Figura 15. Frecuencias alélicas del marcador CUY07 en las poblaciones de cuyes de Puno y Cuzco.....                               | 38 |
| Figura 16. Frecuencias alélicas del marcador CAVY03 en las poblaciones de cuyes de Puno y Cuzco.....                              | 39 |
| Figura 17. Frecuencias alélicas del marcador MSIII en las poblaciones de cuyes de Puno y Cuzco.....                               | 39 |
| Figura 18. Frecuencias alélicas del marcador CAVY09 en las poblaciones de cuyes de Puno y Cuzco.....                              | 40 |
| Figura 19. Frecuencias alélicas del marcador CUY16 en las poblaciones de cuyes de Puno y Cuzco.....                               | 41 |
| Figura 20. Frecuencias alélicas del marcador CAVY11 en las poblaciones de cuyes de Puno y Cuzco.....                              | 41 |



|   |    |
|---|----|
| Figura 21. Frecuencias alélicas del marcador CUY12 en las poblaciones de cuyes de Puno y Cuzco.....                   | 42 |
| Figura 22. Diversidad genética por locus y por población.....   | 50 |
| Figura 23. Varianza molecular para el modelo de mutación simple.....  | 55 |
| Figura 24. Varianza molecular para el modelo de mutación gradual o por pasos.....                                     | 56 |
| Figura 25. Curva de Delta de K.....   | 58 |
| Figura 26. Estructura poblacional de los Departamentos de Puno Y Cuzco.....   | 59 |
| Figura 27. Árbol de distancias individuales DSA construido con el método de Neighbord-Joining (Tipo tradicional)..... | 60 |
| Figura 28. Árbol de distancias individuales DSA construido con el método de Neighbord-Joining (Tipo radial).....      | 61 |
| Figura 29. Gráfica del Análisis discriminante de componentes principales.....   | 62 |

## ÍNDICE DE ANEXOS

|  |    |
|--|----|
| Anexo 1: Tabla de Datos para la Muestra de cuy.....              | 72 |
| Anexo 2: Cuadro de la Toma de Muestras en la Población.....      | 73 |
| Anexo 3: Cuadro de la Cuantificación de ADN en la Población..... | 84 |
| Anexo 4: ADN Stock en geles de Agarosa al uno por ciento.....    | 93 |
| Anexo 5: Protocolos de Amplificación.....                        | 94 |

## RESUMEN

El cuy doméstico es un recurso genético importante para las comunidades alto andinas del Perú, puesto que sirve como sustento económico y alimentario. El objetivo de este estudio fue estimar la variabilidad genética y estructura genética de dos regiones andinas del sur del Perú (Puno y Cuzco). Se evaluaron 193 muestras de folículos pilosos pertenecientes a las dos regiones Puno (66) y Cuzco (127), mediante el análisis de 10 marcadores microsatélites fluoromarcados con cola M13. Se encontraron un total de 104 alelos en un rango de 6 a 17. El mayor número se encontró en el *locus* Cavy11 (17) y el menor en el locus MSV (6). El promedio del número de alelos para las regiones de Cuzco y Puno fue 7.3 y 9.9 respectivamente. La  $H_e$  (0.764) promedio fue mayor a la  $H_o$  (0.616), indicando un déficit de heterocigotos. En la población de Puno y Cuzco el marcador Cuy05 presentó desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg. Tres marcadores (Cuy07, Cavy03 y Cuy16) presentaron un alto porcentaje de alelos nulos. El PIC fue igual a 0.73, indicando que los *loci* seleccionados son útiles en estudios genéticos de *Cavia*. La diversidad de Nei resultó de 0.77 lo cual indica valores altos de diversidad en los loci. Los estadísticos F mostraron una baja diferenciación genética entre las dos poblaciones estudiadas (0.027). El coeficiente de endogamia ( $F_{IS}$ ) promedio fue de 18.9 por ciento, esto nos indica un bajo nivel de estructuración y un flujo genético entre las dos poblaciones. La distancia genética nos muestra que existen agrupamientos entre los individuos de las poblaciones estudiadas. Los cuyes nativos de las dos regiones presentan un alto nivel de variabilidad genética a pesar de poseer alto grado de endogamia, probablemente causada por la erosión genética de estos cuyes nativos peruanos, estos resultados son importantes para conocer su diversidad y aplicarla para tomar decisiones en cuanto a conservación de este recurso genético.

**Palabras clave:** *Cavia porcellus*, marcadores microsatélites, cola M13, endogamia, Heterocigosidad.

## ABSTRACT

Domestic guinea pig is an important genetic resource for the high Andean communities of Peru, since it serves as an economic and food support. The objective of this study was to estimate the genetic variability and genetic structure of two Andean regions of southern Peru (Puno and Cuzco). A total of 193 samples of hair follicles belonging to the two regions of Puno (66) and Cuzco (127) were evaluated by analyzing 10 microsatellite markers fluorowattted with M13 tail. A total of 104 alleles were found in a range of 6 to 17. The largest number was found in the Cavy11 locus (17) and the lowest in the MSV locus (6). The average number of alleles for the regions of Cusco and Puno was 7.3 and 9.9 respectively. The  $H_e$  (0.764) average was greater than the  $H_o$  (0.616), indicating a deficit of heterozygotes. In the population of Puno and Cuzco, the Cuy05 marker showed deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium. Three markers (Cuy07, Cavy03 and Cuy16) had a high percentage of null alleles. The PIC was equal to 0.73, indicating that the selected loci are useful in *Cavia* genetic studies. The diversity of Nei was 0.77 which indicates high values of diversity in the loci. The F statistics showed a low genetic differentiation between the two populations studied (0.027). The average inbreeding coefficient (FIS) was 18.9 percent, this indicates a low level of structuring and a genetic flow between the two populations. The genetic distance shows us that there are groupings among the individuals of the populations studied.

The native guinea pigs of the two regions have a high level of genetic variability despite having a high degree of inbreeding, probably caused by the genetic erosion of these Peruvian native guinea pigs, these results are important to know their diversity and apply it to make decisions as soon as possible. to conservation of this genetic resource.

**Keywords:** *Cavia porcellus*, microsatllites markers, M13 tail, inbreeding, Heterozigosity.

## I. INTRODUCCIÓN

La biodiversidad ganadera es fundamental para la seguridad alimentaria y de los medios de vida especialmente para los países en vías de desarrollo, debido a eso surge la preocupación de obtener una mejor base de conocimiento sobre los recursos zoogenéticos y más aún sobre las crecientes poblaciones nativas o autóctonas de los animales domésticos, ya que su adaptabilidad y prolificidad son aprovechables para los nuevos desafíos de la ganadería ecológica y sostenible. (Avilés, 2016).

El cuy para las familias que manejan el sistema tradicional es una fuente indispensable de proteína de alta calidad nutricional y fuente de ingresos económicos. En este sistema familiar la productividad es baja, debido a que los cuyes son criados en lugares poco apropiados. Muchos criadores son amas de casa, que mantienen a todos sus cuyes en un solo espacio (machos, hembras y crías), estos lugares improvisados pueden ser las cocinas de carbón (Archetti, 1997), fosos cavados en la tierra o instalaciones que antes fueron usadas en otras especies domésticas, por lo tanto, no existe un control apropiado del manejo productivo y reproductivo.

El cuy nativo doméstico, es un animal pequeño muy rústico debido a su aclimatación al medio, poco exigente en cuanto a la calidad de su alimento, que se desarrolla bien en condiciones adversas de clima y alimentación. Criado técnicamente mejora su productividad; tiene un buen comportamiento productivo al ser cruzado con cuyes mejorados de líneas precoces. Es criado principalmente en el sistema familiar; su rendimiento productivo es bajo y es poco precoz (Chauca, 1999).

En los departamentos de Cuzco y Puno, el cuy es un elemento importante de la seguridad alimentaria y la economía campesina. En los últimos años, en estos sectores rurales, se han generado microempresas productoras de cuyes lo que ha permitido generar puestos de trabajo rural. La brecha económica entre la zona urbana y la rural cada vez es más evidente y compleja porque el proceso de desarrollo y modernización en el país se presenta de manera desigual. En este sentido urge transferir tecnología capaz de mejorar los parámetros

productivos de sus cultivos y sus cranzas a fin de crear microempresas rentables, capaces de absorber mano de obra en el sector rural (Chauca, 2007).

A partir de la década de los 70 se inició un programa de mejoramiento por cruzamientos entre cuyes mejorados y nativos, se logró el efecto favorable de heterosis y por ende el incremento de los rendimientos productivos y reproductivos (Chauca, 1997). Sin embargo, el uso intensivo de animales mejorados y el corto ciclo reproductivo de la especie condujeron a que el animal nativo fuera rápidamente absorbido, con lo que se puso en riesgo de extinción un patrimonio genético local que jamás fue sometido a procesos de selección, a pesar de mostrar superioridad con relación a los mejorados, en resistencia a enfermedades y aprovechamiento de forrajes de bajo valor nutritivo.

Se realizó esta investigación ya que surge la preocupación de la pérdida de linajes o nativos de estas zonas rurales, los cuales están bien adaptados al tipo de forraje y a las condiciones climáticas de la zona, además que se observa una práctica de mejoramiento incontrolado que al no ser planificada de manera integral puede terminar en el uso indiscriminado de reproductores provocando de manera inevitable el incremento de la endogamia o consanguinidad, así como la pérdida o disminución en la expresión de los índices productivos y reproductivos, consecuentemente la generación de abortos y una mayor susceptibilidad al contagio de enfermedades. Mediante esta investigación se proporcionó bases de conocimiento para futuras soluciones de dicha problemática.

Los marcadores moleculares, tienen notables y múltiples aplicaciones en la biología molecular animal. De ellos, los microsatélites han sido utilizados ampliamente para estudios de caracterización y diversidad genética, relaciones genéticas entre poblaciones, estructura genética de poblaciones, pruebas de paternidad, consanguinidad y son una herramienta poderosa para determinar la diferenciación genética entre poblaciones.

Si los cuyes nativos o autóctonos que se mantienen en lugares alejados son líneas genéticas regionales puras, se tendría la oportunidad única para identificar la variabilidad genética real del cuy doméstico con un enorme potencial de aplicaciones. Este estudio permitirá identificar las poblaciones aisladas además de genotipificarlas para su utilización en programas de mejoramiento genético, permitiendo fomentar la crianza tecnificada de cuyes, mejorar la calidad del producto, contribuir a la seguridad alimentaria especialmente de las familias que se benefician económicamente de la crianza de esta

especie y el establecimiento de programas para la conservación de esta diversidad genética que podría estar en peligro de extinción.

Por lo tanto, el presente trabajo de investigación buscará determinar: la diversidad genética, el grado de diferenciación genética y la estructuración genética en las poblaciones de cuyes nativos de los departamentos de Cuzco y Puno usando 10 marcadores microsatélites fluoromarcados con el cebador universal M13 generados para *C. porcellus*. Se evaluaron dos poblaciones de *C. porcellus*, de raza nativa doméstica de Cuzco y de Puno, sometidas a selección aleatoria en lugares apartados de la ciudad con el fin de establecer la caracterización genética en la especie, dentro y entre poblaciones.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Generalidades del cuy

El cuy *Cavia porcellus* es originario de Sudamérica, este mamífero roedor se encontraba domesticado antes de la llegada de los españoles (Solarte et al., 2008). Actualmente en los países andinos la población de cuyes se estima en 36 millones de animales. El Perú es el país con la mayor población, consumo y distribución en la casi totalidad del territorio, mientras que en Colombia y Bolivia su distribución es regional y con poblaciones menores. Por su capacidad de adaptación a diversas condiciones climáticas, los cuyes pueden encontrarse desde la costa o el llano hasta alturas de 4500 metros sobre el nivel del mar y en zonas tanto frías como cálidas.

El cuy (*Cavia. porcellus*) ha tomado gran importancia a nivel mundial. Ha sido utilizado principalmente en la alimentación y en rituales religiosos en países como Perú, Ecuador, Colombia y Bolivia, de donde es originario (Chauca, 1999). También tiene otros usos en diversos países, como por ejemplo de animal doméstico en Europa por lo que esta especie se encuentra distribuida a nivel mundial.

La población de cuyes en los países de la región andina es de alrededor de 36 millones de individuos, siendo Perú el país que registra el mayor nivel de consumo y de producción anual, valorada en 16.500 TM de carne (Chauca, 1999). A pesar de que inicialmente se había trabajado con estándares morfológicos para la aplicación de técnicas de selección, cruzamientos, consanguinidad y manejo del medio ambiente para potencializar parámetros genéticos, fenotípicos y económicos (Chauca, 1999), basarse en este tipo de caracteres no ha dado muy buenos resultados en programas de mejoramiento genético y productivo (Guzmán, 2000). Por lo que, en la última década del siglo XX, se han realizado muchas investigaciones relacionadas con los parámetros productivos de las especies domésticas y su relación con la expresión de los genes.

La selección artificial (domesticación) y más aún, los ineficientes programas de manejo de esta especie, pueden tener un elevado impacto en la diversidad genética y estructura genética de las poblaciones (Boettcher et al., 2010).



La aplicación de marcadores moleculares para estimar la variabilidad genética dentro y entre de poblaciones es una técnica eficaz. En el caso de *C. porcellus*, no existen reportes significativos referentes al uso de estas técnicas a nivel nacional. En su mayoría los estudios que emplean marcadores moleculares han sido aplicados a especies vegetales y pocos han estudiado partes puntuales del genoma, como es el caso del citocromo b, en especies animales.

El uso de las secuencias microsátélites como marcadores genéticos iniciaron el desarrollo y generalización de la PCR (Polymerase Chain Reaction). A pesar de que los microsátélites poseen altas tasas de mutación, las regiones flanqueantes están más conservadas y se emplean para la amplificación específica de los alelos de cada locus. Al final de los 80 es cuando se publican los primeros trabajos sobre el aislamiento y caracterización de microsátélites (Tautz, 1989). A partir de entonces su uso se ha difundido rápidamente, revolucionando los campos de la biología molecular, la genética cuantitativa y la genética de poblaciones.

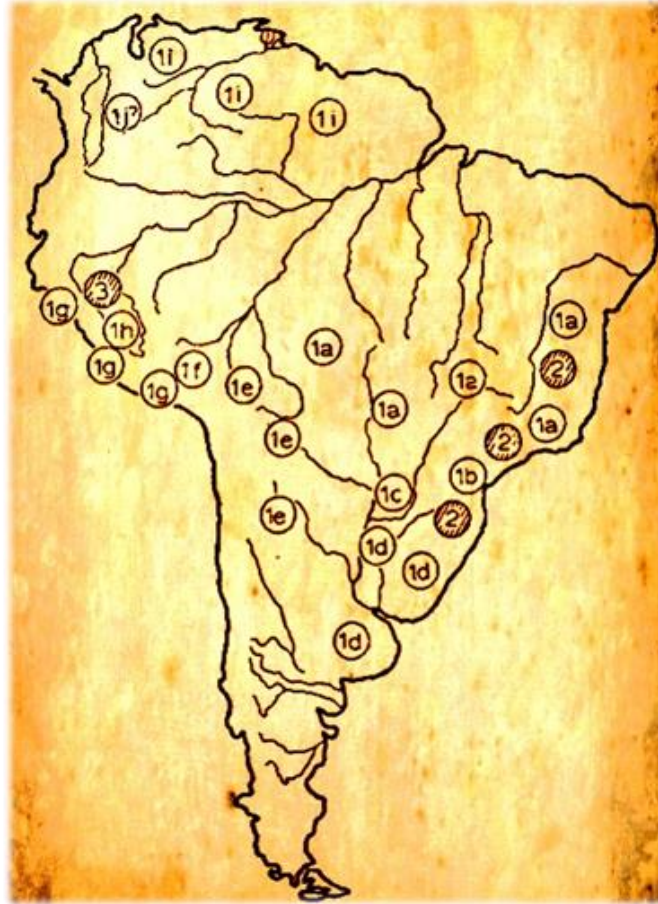
## **2.2. Cuyes en Sudamérica**

Antes de la colonización, las poblaciones andinas ya criaban esta especie en cautiverio, y utilizaban su carne como alimento básico en su dieta diaria. Así, los primeros colonizadores europeos de América, lo encontraron repartido a lo largo de los Andes como animal doméstico, y contribuyendo con su carne en la alimentación de los antiguos pobladores sudamericanos (Avilés, 2016).

El cuy, conjuntamente con la papa, la quinua, el maíz, la oca y los camélidos, constituían la fuente alimenticia prioritaria de esa época. Guamán Poma de Ayala refiere que las culturas pre-chinchas se alimentaban de cuyes, así como el padre Bernabé Cobo, reporta en una de sus crónicas, que “el cuy es el menor de los animales mansos y domésticos que tenían los naturales de estas Indias, el cual criaban dentro de sus casas y en sus mismos aposentos” (Kessel & Barros, 1997).

### 2.3. Distribución y dispersión actual del cuy

El hábitat del cuy es muy extenso, se han detectado numerosos grupos en Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia, Nor Oeste de Argentina, y Norte de Chile, distribuido por el eje de la cordillera andina. Posiblemente el área que ocupa Perú y Bolivia fue el hábitat nuclear de los cavias (Cabrera, 1953). Este roedor vive debajo de los 4500 m.s.n.m. desde la sierra hasta la costa y la selva alta (Pulgar Vidal, 1952) (Figura 1).



#### Leyenda

- |                                   |                                   |
|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 1a. <i>Cavia aperea aperea</i>    | 1g. <i>Cavia aperea tschudii</i>  |
| 1b. <i>Cavia aperea rosida</i>    | 1h. <i>Cavia aperea festina</i>   |
| 1c. <i>Cavia aperea hypoleuca</i> | 1i. <i>Cavia aperea guianae</i>   |
| 1d. <i>Cavia aperea pamparum</i>  | 1j. <i>Cavia aperea anoalimae</i> |
| 1e. <i>Cavia aperea sodalis</i>   | 2. <i>Cavia fungida</i>           |
| 1f. <i>Cavia aperea osgoodi</i>   | 3. <i>Cavia stolidia</i>          |

#### Figura 1. Distribución de especies de *Cavia* en Sudamérica.

FUENTE: Huckinghaus, 1961; modificado de Chauca, 2007.

El hábitat del cuy silvestre según la información zoológica, es todavía más amplia. Ha sido registrado desde el Caribe y las Antillas en Centro América hasta el Sur del Brasil,

Uruguay y Paraguay en Sudamérica (Pulgar Vidal, 1952). A pesar de la presencia del cuy silvestre en Argentina, Brasil, Uruguay, Guayana, Venezuela, en estos países no hay evidencias de su domesticación e inserción como especie doméstica. Su presencia como *Cavia cobaya* se registra por su uso como animal de laboratorio para utilizarlo en pruebas biológicas.

En el Perú después de un arduo trabajo en mejora genética se viene estudiando la caracterización del cuy silvestre para determinar el origen de su domesticación. Se ha realizado una colección en la zona alta de Cajamarca, la misma que viene siendo estudiada en la Facultad de Biología de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, (Ramírez, 2005).

Aún no se determina con exactitud el origen del cuy doméstico, Huckingshans (1961) considera que la especie *C. aperea tschudii* es la que ha estado difundida en el Perú y Bolivia como especie silvestre. Los hallazgos anatómicos demuestran que esta sería con más seguridad el ancestro del cuy doméstico. El centro de domesticación primaria del cuy fue el Perú y como centros secundarios estuvieron Bolivia, Ecuador y Sur de Colombia, citado por Chauca (2007). El origen del cuy doméstico es desconocido (Ramírez, 2005), algunos autores han realizado propuestas en relación a sus ancestros basados principalmente en la fertilidad de los híbridos experimentales. Sin embargo, los resultados de este estudio deben ser considerados con cautela debido a que los cuyes domésticos utilizados en el mencionado estudio fueron mayoritariamente comprados en los mercados populares de varias ciudades peruanas (Piura, Trujillo, Arequipa, Cajamarca, Cusco, Tacna y Puno) sin considerar que muchos de los animales que se venden en los principales mercados del Perú, son cuyes seleccionados provenientes de los programas de reproducción establecidos por el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) en Lima. (Ramírez, 2005).

En el Perú, existen líneas genéticas de cuyes domésticos fenotípicamente caracterizadas que se mantienen en algunas localidades relativamente aisladas de las principales ciudades del Perú. Estos representan probablemente a los descendientes más directos (no mejorados) de los linajes genéticos regionales ancestrales del cuy doméstico. Los cuyes conocidos como “nativos”, debido a su menor producción de carne están siendo reemplazados por los animales genéticamente mejorados. Se desconoce la variabilidad genética del cuy doméstico nativo o no mejorado, asimismo es imposible saber si estos cuyes “nativos” representan líneas genéticas descendientes directamente de las

poblaciones domesticadas en tiempos precolombinos o si en realidad todas estas poblaciones pertenecen a un solo grupo genético con altos niveles de diversidad fenotípica (Ramírez, 2005).

## **2.4. Genotipos de cuyes**

En el país se encuentran distribuidos dos tipos de cuyes domésticos (*Cavia porcellus*), el nativo y el “mejorado”. El nativo, es un animal pequeño muy rústico, poco exigente en calidad de alimento, se desarrolla bien bajo condiciones adversas de clima y alimentación. Criado técnicamente mejora su productividad, tiene un buen comportamiento productivo al cruzarlo con cuyes «mejorados» de líneas precoces.

El «mejorado» es el cuy nativo sometido a un proceso de mejoramiento genético. Es precoz por efecto de la selección y en los países andinos se lo conoce como «peruano».

Según algunos análisis citogenéticos se demuestra que el género *Cavia* se caracteriza por un número diploide de 64 cromosomas representado de la siguiente forma:  $2n= 2x= 64$  (Guzmán, 2000).

### **2.4.1. El cuy doméstico “no mejorado”**

Se denomina cuy nativo a un cuy propio de la zona al que no ha sido manipulado por el hombre por selección genética. Son de predominancia a nivel del área rural, criados básicamente en el sistema familiar, tienen rendimientos productivos bajo y son poco precoces. Su rusticidad se debe a su aclimatación al medio, se desarrollan sin mayor exigencia de una buena calidad de alimento (Chauca, 1999).

Los cuyes nativos existentes en los países andinos, se caracterizan por tener el cuerpo con poca profundidad y su desarrollo muscular es escaso. La cabeza es triangular, alargada y angulosa. Son nerviosos, se adaptan poco a vivir en pozas, por la altura de sus saltos se hace dificultoso su manejo. Dentro de la clasificación por conformación corresponden a cuyes de tipo B. Se encuentran cuyes de todos los tipos, habiendo predominancia del 1 (60,65 por ciento) y 2 (33,32 por ciento) (Chauca, 1997).

El color de su pelo es variado, se encuentran animales de colores simples: claros (blanco, alazán, bayo y violeta) y oscuro (negro). Los de pelaje compuesto son: ruano (alazán con

negro), lobo (amarillo con negro) y moro (blanco con negro). Estos colores pueden encontrarse de capa entera, o combinados con blanco a los que se les denomina overos cuando los colores son moteados. También se encuentran cuyes fajados, cuando los colores van por franjas de dos colores siendo siempre una de ellas blanca estas características descritas por Zaldívar (1976).

Los combinados se los considera cuando los cuyes presentan más de dos colores y se encuentran en forma irregular. La identificación de los diferentes colores y sus combinaciones encajan dentro de la clasificación referida por Zaldívar (1976). El 88,6 por ciento de la población corresponden a cuyes de colores claros sean blanco, bayo o alazán, sean estos de color entero, fajado o combinado (Figura 2).

Debido a su forma habitual de crianza son los animales consanguíneos, seleccionados negativamente por la saca indiscriminada de los animales de mayor tamaño. Son animales mantenidos sólo como herbívoros, ya que su alimentación es exclusivamente con forrajes. Tienen un buen comportamiento productivo al cruzarlo con cuyes «mejorados» de líneas precoces.



**Figura 2: Cuy nativo colectado en el departamento de Cuzco.**

FUENTE: Elaboración propia.

#### **2.4.2. El Cuy Doméstico “Mejorado”**

En el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) del Perú, en febrero de 1964 con el Proyecto Mejoramiento por selección del cuy nativo de distintas partes del Perú, se mantuvo en selección tres líneas más un control y se seleccionaron cuyes por su peso, fertilidad y prolificidad lo que en el tiempo de 34 generaciones dio origen a la raza Perú, 35 generaciones a la Andina y de 42 generaciones a la Inti. La línea control siempre se mantuvo con cruzamientos al azar, pero sus parámetros sirvieron para medir el avance genético. Estas razas han sido distribuidas a nivel nacional y hoy puede verse su adopción en los productores rurales. La precocidad de la raza Perú, la prolificidad de la Andina y la Inti han permitido en 10 años tener un híbrido sintético (Chauca, 2007).

La Raza Perú, seleccionada por el peso a la edad de comercialización, su característica principal es la precocidad, presenta pesos de 800g a los 2 meses de edad, conversiones alimenticias óptimas de 3,8 (relación entre el alimento entregado en gramos y la ganancia de peso en gramos) y su prolificidad promedio es de 2,3 crías vivas por parto. Es de color rojo con blanco, siendo de pelo liso pegado al cuerpo y sin remolinos (Instituto Nacional de Innovación Agraria, 2004).

La Raza Andina, seleccionada por el tamaño de camada, su característica principal es la prolificidad, conversiones alimenticias óptimas de 3,8 y su prolificidad promedio es de 3,2 crías vivas por parto. Es de color blanco, siendo de pelo liso pegado al cuerpo y ojos negros (Instituto Nacional de Innovación Agraria, 2004).

La Raza Inti, se caracteriza por su precocidad corregida por su prolificidad, es la de mayor adaptación a nivel de productores, su color es bayo con blanco, es de pelo liso y pegado al cuerpo y puede presentar remolinos (Instituto Nacional de Innovación Agraria, 2004).

#### **2.5. Marcadores moleculares**

Los marcadores moleculares son fragmentos de ADN cuya utilidad radica en el seguimiento de la transmisión de un segmento de cromosoma entre generaciones, permitiendo diferenciar o identificar genotipos. En sentido estricto, es una entidad genética que presenta polimorfismo y se hereda de forma mendeliana. En la actualidad hay un interés por detectar la variación genética para diversas aplicaciones lo que ha conducido a un incremento en el tipo y número de marcadores para los análisis genéticos (Duner y Cañon, 2001).

El uso de marcadores moleculares es una herramienta que permite asociar el origen del animal con sus características fenotípicas y comportamiento, certificar el establecimiento de una nueva línea, raza, cepa o variedad, y localizar o aislar genes de interés (Eguiarte et al., 2007).

Los marcadores moleculares generan patrones monomórficos y polimórficos. Los monomórficos pueden diferenciar especies o géneros ya que son zonas muy conservadas y los polimórficos mayormente identifican diferencias en poblacionales. Con ese fin se han desarrollado una serie de estudios que involucran a los marcadores microsatélites con fórmulas que determinan la probabilidad de exclusión de paternidad y también muestran el grado de heterocigosidad de la población, que representa su condición de reserva genética (Vallejo, 2008).

### **2.5.1. Microsatélites**

También denominado marcador STR por sus acrónimos en inglés (*short tandem repeat*). Son repeticiones en tándem de patrones muy cortos (1-6 pares de bases) con un número alto de alelos en un locus particular (alto polimorfismo) y son distribuidos de manera relativamente uniforme en muchos loci genómicos diferentes (Tautz, 1989). El número de repeticiones puede variar entre individuos y el perfil genético es único, estas secuencias están presentes en mayor proporción en regiones no codificantes, y con baja frecuencia en las regiones codificantes, también en telómeros y asociadas a enfermedades (Oliveira et al., 2006). Los microsatélites son marcadores ampliamente utilizados en una variedad de estudios genéticos y diversidad debido a que son codominantes, poseen un alto nivel de polimorfismo, protocolos de detección rápida y facilidad para su interpretación (Tautz, 1989).

En general, los microsatélites presentan ciertas ventajas con respecto a otros marcadores tales como:

- a) Son fácilmente amplificables a través de la PCR, incluso cuando se tienen escasas muestras biológicas o muy degradadas (Kloosterman y Kersbergen, 2003)
- b) El resultado de la amplificación es visible mediante geles de poliacrilamida, agarosa o mediante secuenciadores automáticos.
- c) La caracterización en pares de bases de los alelos es sencilla.

d) Poseen un elevado polimorfismo como consecuencia de una alta tasa de mutación, importante para estudios de poblaciones con endogamia o estrechamente relacionadas.

e) Las regiones flanqueantes de los microsatélites se encuentran bastante conservadas desde el punto de vista evolutivo, de modo que unos microsatélites descubiertos en una especie podrían ser amplificados con éxito en otra especie del mismo género (Isagi y Suhandono, 1997).

### **2.5.2. Clasificación de los microsatélites**

Los microsatélites se pueden clasificar según la longitud de las unidades de repetición o por el patrón que puedan presentar estas. En el primer caso, dentro de las secuencias repetitivas se pueden encontrar dinucleótidos (con dos nucleótidos en cada unidad de repetición), trinucleótidos, tetranucleótidos, pentanucleótidos y hexanucleótidos. Para estos tipos de microsatélites existen hasta 4, 16, 64, 256, 1024, y 4096 motivos respectivamente, siendo las repeticiones penta y hexanucleótidos las menos comunes y los tetranucleótidos los más populares y recomendables por las siguientes razones (Bacher et al., 1999):

- El rango de tamaño pequeño de los alelos permite realizar PCR multiplex, incluso cuando la muestra de DNA esta degradada.
- Se reduce la formación de productos “stutter” o de tartamudeo, en comparación con repeticiones de di o trinucleótidos, lo cual beneficia la interpretación de los resultados.

Otra forma de clasificar los microsatélites puede ser basada en los patrones de repetición.

Dentro de ellos están:

- 1) Las repeticiones simples; que contienen unidades de la misma longitud.
- 2) Las repeticiones compuestas, que contienen dos o más repeticiones simples de forma contigua.
- 3) Las repeticiones complejas, que contienen numerosos bloques de unidades repetidas pero que a su vez están interrumpidas por secuencias.
- 4) Las repeticiones hipervariables complejas, que contienen numerosos alelos sin consenso, es decir, que los alelos difieren tanto en tamaño como en secuencia. Estos



últimos resultan ser todo un reto para la genotipificación por lo que no es recomendable usarlos (Urquhart et al., 1994).

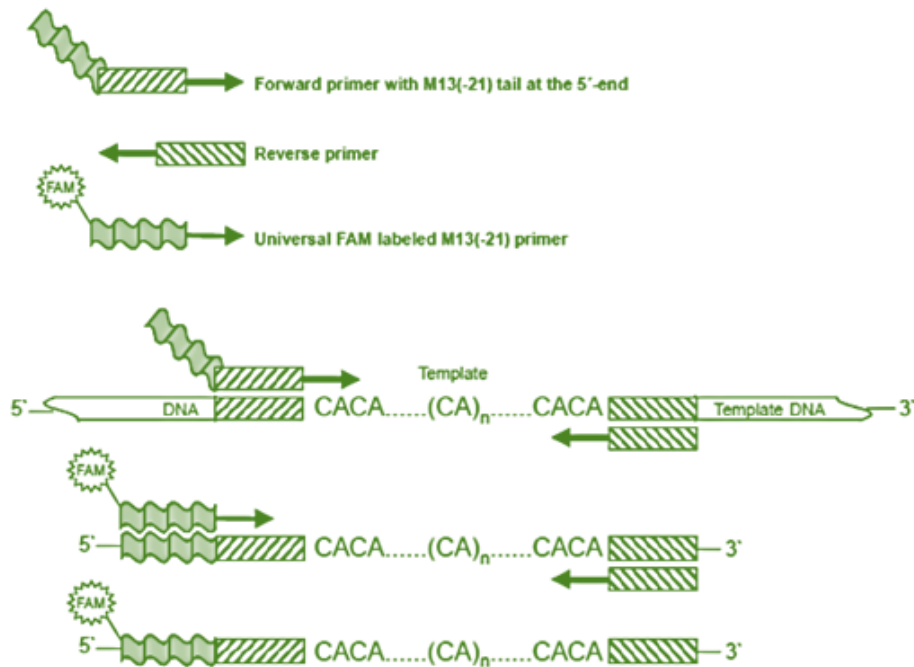
### **2.5.3. Cebador universal M13**

Para determinar la expresión de los alelos generados por los microsatélites se aplican diferentes metodologías. Por ejemplo, los sistemas de láser automatizados usan fragmentos con marcación fluorescente obtenidos por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que permiten una visualización exitosa de los alelos (Bonin et al., 2004). Sin embargo, el costo de producir un nuevo cebador marcado fluorescentemente para cada uno de los miles de loci potencialmente informativos, es un factor limitante para muchos laboratorios, ya que su costo representa un incremento hasta de diez veces más que los no marcados. Además, tales cebadores son frecuentemente necesarios para genotipar solo unas decenas o cientos de muestras, y son luego almacenados por cantidades variables de tiempo durante los cuales la fluorescencia puede decaer rápidamente (Missiaggia y Grattapaglia, 2006).

Por lo tanto, con el fin de reducir este costo de genotipificación con microsatélites marcados fluorescentemente, Oetting et al., (1995) propusieron una estrategia de PCR llamada multiplex, la cual emplea un cebador forward con una extensión adicional de 18 pb en su extremo 5' idéntica a la secuencia del cebador M13 (TGTAACGACGGCCAGT), un cebador regular reverse y un tercer cebador universal M13 marcado con fluorescencia.

El cebador universal M13 es una secuencia derivada de un vector bacterial (David et al. 1993) la cual no presenta homología con alguna secuencia conocida en la base de datos de los genomas de mamíferos, minimizando los productos específicos que pueden producir errores en los resultados (Arruda et al., 2010). El cebador unido a la "cola" M13 provee una secuencia complementaria al cebador universal fluorescente, esta unión entre la cola M13 y el fluorescente se da en el tercer ciclo de PCR, generando un producto que puede ser detectado en un secuenciador automático de ADN, el cuál separa las bandas de microsatélites con paneles compuestos de cuatro colores, un color para cada uno ; donde cada panel permite realizar reacciones de amplificación en múltiplex, ya que en él es posible combinar 3 cebadores o más de un mismo colorante fluorescente optimizando las

temperaturas de alineamiento en PCR y los tamaños de los productos de PCR (Figura 3) (Neilan, 1997), todas estas combinaciones son evaluadas a través de un único capilar con una separación del tamaño estándar, permitiendo estimados del tamaño de la banda. Además, por la considerable reducción en el tiempo, esta técnica es indicada cuando grandes cantidades de datos deben ser analizados en el mismo tiempo (Oblessuc et al., 1997).



**Figura 3: Procedimiento de amplificación y marcaje del cebador universal M13.**  
FUENTE: Modificado de Schuelke, 2000.

## 2.6. Estudios moleculares en cuyes

Se han reportado diferentes estudios en cuyes utilizando marcadores microsatélites con fines de realizar estudios de variabilidad genética, diferenciación genética y estructura genética de poblaciones.

### 2.6.1. Variabilidad genética

En cuyes de Ecuador se usó 20 marcadores microsatélites; se obtuvieron desde siete hasta 18 alelos, con un promedio de 10.8 alelos por locus. El contenido de información polimórfica de los 20 marcadores fue en promedio de 0.75. La heterocigocidad esperada

fue de 0.778 siendo esta mayor a la heterocigosis observada, la cual fue 0.590 (Avilés 2016).

También se hicieron estudios en cuyes de Costa de Marfil, donde se usaron 14 microsatélites, obteniendo como resultado 5.98 el número promedio de alelos, el contenido de información polimórfica fue de 0.62 (Kouakuo et al. 2015).

Según Asher et al. (2008) se usó 6 marcadores, se obtuvieron desde siete hasta 12 alelos, su promedio fue de 10 alelos por locus y la heterocigosidad esperada fue menor a la heterocigosidad observada con 0.832 y 0.867 respectivamente, este estudio se dio en poblaciones naturales de *Cavia aperea*.

En cuyes de Colombia, en el estudio de Burgos-Paz et al. (2011), se usó 6 marcadores moleculares microsatélites, donde se obtuvo de 4 a 8 alelos por locus, con un promedio de 6.8 alelos por locus, el contenido de información polimórfica (PIC) fue de 0.66 y la heterocigosidad observada fue mayor a la esperada con 0.478 y 0.708 respectivamente.

### **2.6.2. Diferenciación genética**

Para conocer la diferenciación genética, es determinante conocer los índices de fijación ( $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$ ,  $F_{ST}$ ), detallados por Wright (1951) (F estadísticos). Con el  $F_{IS}$  se va apreciar la consanguinidad que se puede encontrar en una población en estudio y con el  $F_{ST}$  el grado de diferenciación entre las poblaciones del estudio.

En cuyes de Ecuador, Bolivia y Perú se determinó el  $F_{ST}$  donde fue 0.003, el cual es considerado como una baja diferenciación en la población estudiada (Avilés, 2016).

En cuyes de Colombia, en el estudio de Burgos et al. (2011) se determinó el  $F_{ST}$ , el cual fue de 0.010 indicando la poca diferenciación genética entre las líneas nativas y mejoradas y se señala un  $F_{IS}$  de 0.323, mostrando un desequilibrio a favor de los homocigotos de 32.3 por ciento.

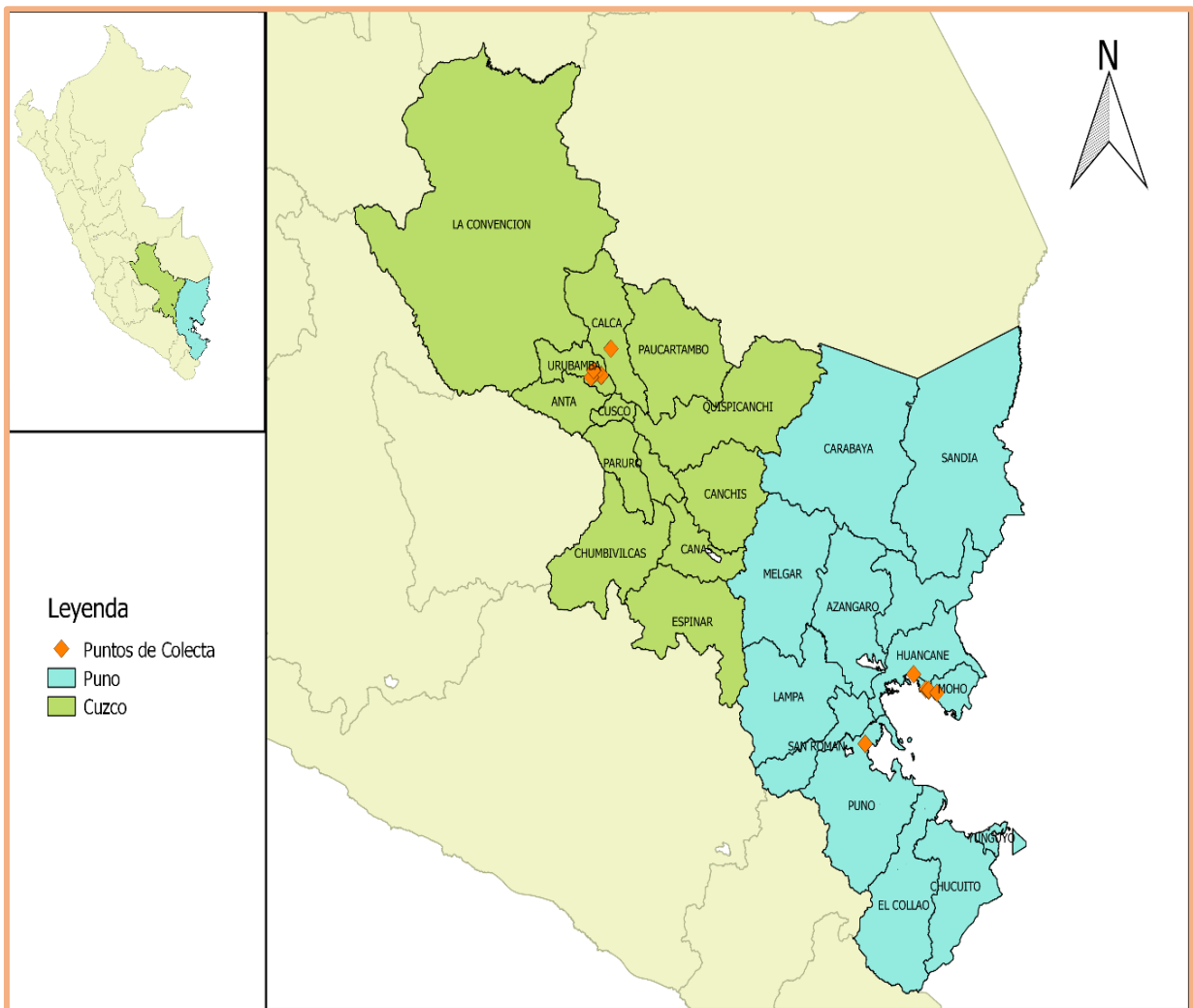
### **2.6.3. Estructura genética**

En el estudio de Avilés (2016), se representa la estructura genética en clusters (K) desde el K=1 hasta el K=6, en los cuales no se observa ningún tipo de estructuración significativa en las poblaciones de cuyes domésticos de Ecuador, Perú y Bolivia.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Zona de estudio

Las muestras de folículos pilosos que fueron colectadas en el 2017 durante el mes de Julio, estuvieron conformadas por un total de 193 muestras de cuyes nativos domésticos *C. porcellus* pertenecientes a los departamentos de Puno (Provincias de Moho, Huancané y Puno), además de la estación experimental del INIA en Puno y de Cuzco (Urubamba y Calca).



**Figura 4: Mapa de colecta en los departamentos de Puno y Cuzco.**

FUENTE: Elaboración propia.

**Tabla 1: Registro de la cantidad de muestras de folículos pilosos recolectadas en los dos departamentos.**

| Departamento | Provincia | Nº Muestras | Nº Muestra por departamento | Total de muestras |
|--------------|-----------|-------------|-----------------------------|-------------------|
| Puno         | Moho      | 20          | 66                          | 193               |
|              | Huancané  | 16          |                             |                   |
|              | Puno      | 30          |                             |                   |
| Cusco        | Urubamba  | 85          | 127                         |                   |
|              | Calca     | 42          |                             |                   |

### 3.2. Colecta de muestra

Las muestras de folículos pilosos se colectaron de animales elegidos al azar, en poblaciones campesinas alejadas de la capital de los departamentos de este presente estudio. En el momento de la colecta, se necesitaba un mínimo de tres personas, la primera persona cargaba o sujetaba al cuy nativo, además observaba su sexo y número de dedos, la segunda persona por medio de un peine especial retiraba de la zona dorsal del animal una cantidad de pelos necesaria (100 muestras de pelo aproximadamente), mientras que la tercera persona tomaba notas de los datos morfológicos que la primera persona dictaba. Una vez recolectadas las muestras de pelo adheridas a folículos pilosos, estas fueron guardadas en tubos de 2ml, posteriormente fueron guardadas en bolsas herméticas. Cada muestra fue etiquetada debidamente con los números de accesoión. Además, se informó a los propietarios del motivo de la colecta adjuntando sus datos en una ficha (Figura 5).



**Figura 5: Toma de muestra de folículos pilosos de cuyes en el departamento de Puno.**

FUENTE: Elaboración propia

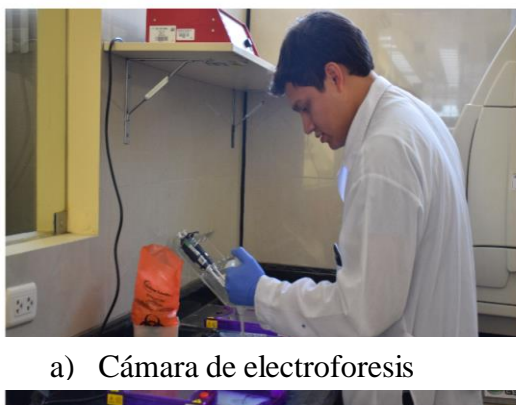
### **3.3. Extracción de ADN genómico total a partir de folículos pilosos**

Para la extracción de ADN se seleccionó 100 pelos por muestra aproximadamente, previamente cortado a la zona más cercana al folículo piloso y se introdujo en un tubo de microcentrifuga (2.0 mL) junto con el tampón de lisis: 750  $\mu$ L buffer TE 20:5 (Tris EDTA proporción 20:5, pH 8), 75  $\mu$ L de SDS 10 por ciento, 50  $\mu$ L de DTT y 15  $\mu$ L de Proteinasa K (20 mg/ $\mu$ L).

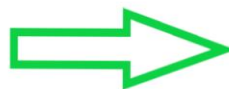
La digestión de la mezcla se llevó a cabo en un volumen final de 825  $\mu$ L e incubada en agitación constante a 56 °C por 3 horas. Luego se separó las impurezas agregando 500  $\mu$ L de acetato de potasio 3M. El ADN se precipitó con una solución de isopropanol y etanol absoluto y luego se resuspendió con TE20:5. Se realizó dos lavados con soluciones de cloroformo: alcohol isoamílico en proporción 24:1 para facilitar la separación de la fase acuosa de la orgánica (Bello et al. 2001); luego se lavó con acetato de potasio 3M y cloruro de sodio 5M para precipitar las impurezas presentes en el DNA. Así mismo, se agregó etanol absoluto para precipitar el DNA, de esta manera se aprovechó eficientemente el ADN de las pequeñas cantidades de tejido, como piel y sangre, que quedaron adheridos en los pelos (Sambrook, 1989). El precipitado se resuspendió entre 30 a 300  $\mu$ L de TE 10:1 (Tris EDTA proporción 10:1, pH:8) dependiendo del tamaño del pellet. Finalmente, el ADN obtenido se almacenó a -20 °C hasta su análisis y cuantificación.

### **3.4. Evaluación de la extracción y cuantificación del ADN**

Para verificar la presencia y calidad del DNA, se realizó una electroforesis horizontal en gel de agarosa al uno por ciento, preparado con buffer TBE 1X (Tris-HCl, ácido bórico, EDTA; pH 8). Se cargó 2ul de ADN stock mezclado con 6 ul de un mix de Sal B 2x (azul de bromofenol, xilencianol, naranja G y sucrosa) y Gel Red 1:1000X el cual facilita la visualización y sedimentación del ADN. La electroforesis se corrió a un voltaje de 120 V por 20 minutos. Los geles fueron fotografiados en un Transiluminador UV Chemi XR y su edición se realizó con el programa Quantity One v. 4.6.3 (Biorad, Hercules, CA, USA) (Anexo 4) (Figura 6).



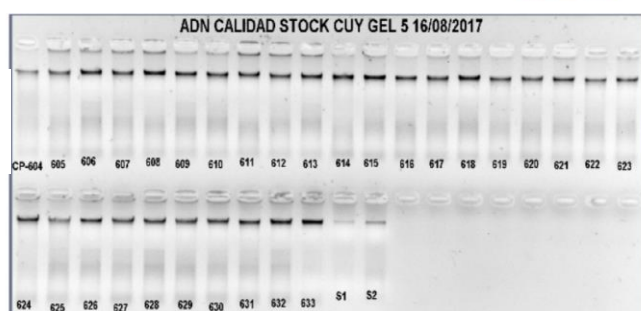
a) Cámara de electroforesis



b) Transiluminador UV



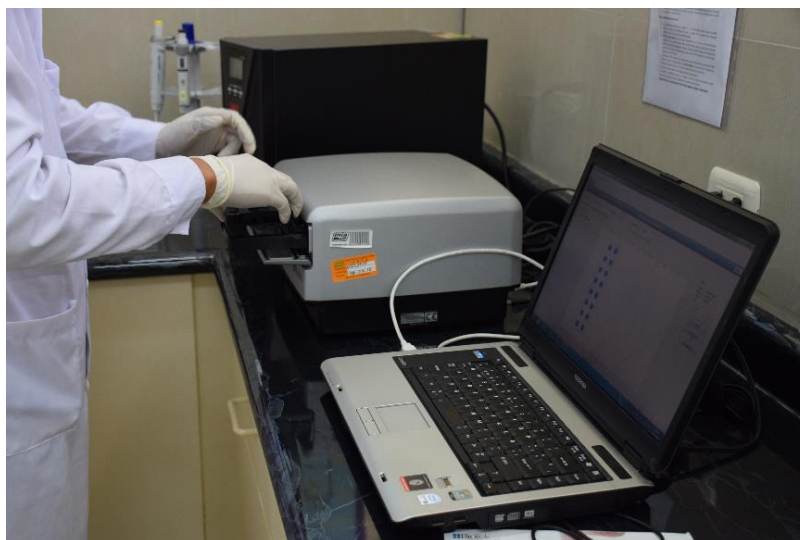
c) Bandas de ADN



**Figura 6: Proceso para evaluar la calidad de ADN mediante geles de agarosa al uno por ciento.**

FUENTE: Elaboración propia.

Así mismo, la cuantificación del DNA se llevó a cabo mediante lecturas en un Espectrofotómetro Epoch (Biotek, Winooski, VT, USA) (Figura 7). Se consideró una razón de absorbancia de 260/280 mayor a 1.8 para continuar con el proceso de amplificación de microsatélites. Así mismo, el DNA stock se llevó a una concentración final aproximada de 30 ng/uL, ya que a esa concentración se observaron mejores amplificadas. Las diluciones finales de DNA se almacenaron a -20 °C hasta su procesamiento mientras que los DNA stock se almacenaron a -70 °C (Acuña, 2016).



**Figura 7: Equipo Epoch para cuantificación del ADN.**  
FUENTE: Elaboración propia.

### 3.5. Amplificación de microsatélites

Se seleccionaron 10 marcadores genéticos microsatélites de tipo dinucleótido, en función a los altos valores PIC (Índice de Contenido Polimórfico) descritos en estudios previos en cuyes (Asher et al., 2008; Burgos et al., 2011; Kouakuo et al., 2015; Avilés, 2016). Luego se empleó diferentes flourocromos para el marcaje de los cebadores, los cuales permitieron su detección por emisión de fluorescencia, al mismo tiempo, de varios productos amplificados de PCR. Las reacciones de amplificación por PCR multiplex y duplex se prepararon en un volumen final de 10  $\mu$ l, considerando las siguientes concentraciones finales (Mullis, 1990): buffer de PCR 10X, MgCl<sub>2</sub> (1.5mM a 3.0mM), dNTP (0.2mM ó 0.3mM), *primer* 0.10  $\mu$ M (dependiendo de la reacción), 0.25 uM de Cola M13(cola fluoromarcada), 0.05 U de ADN Taq Polimerasa, y 2  $\mu$ l de ADN 30 ng/ $\mu$ l (Anexo 4). La PCR se llevó a cabo en el termociclador Mastercycler® Pro S Eppendorf (Figura 8), utilizando el siguiente programa de temperaturas: una fase de desnaturalización a 95 °C por 5 min, seguida de 30 ciclos con una primera fase de desnaturalización a 95 °C por 30 s, hibridación o acoplamiento del iniciador a 55°C por 90 s, una de fase extensión a 72 °C por 1 min, seguido de 8 ciclos igual a los anteriores, pero difiriendo en la fase de hibridación a 53°C; y una extensión final a 72 °C por 15 min (Anexo 4). La estandarización se realizó mediante modificaciones de las concentraciones de cloruro de magnesio (MgCl<sub>2</sub>), DNTPs, las temperaturas de hibridación y agrupando a



los microsatélites de acuerdo al tamaño del producto; los loci fueron agrupados en sistemas multiplex y dúplex.



**Figura 8: Termociclador Mastercycler Pro S para la Técnica de PCR.**  
FUENTE: Elaboración propia.

**Tabla 2: Esquema de electroforesis del panel de 10 microsatélites seleccionados con repetición de tipo di nucleótido. Secuencia en **negrita**: Primer universal M13 o Cola M13.**

| N° | Marcador | <b>Secuencias forward</b>                       | <b>Secuencias reverse</b> | Rango   | Referencia            |
|----|----------|---|---------------------------|---------|-----------------------|
| 1  | CUY16    | <b>CACGACGTTGTAAAACGACTTTGAGTCAAGCCGTGAACA</b>  | GCCTGTTTTGAAACTGTTTTACTG  | 238-280 | Avilés, 2016          |
| 2  | Cavy11   | <b>CACGACGTTGTAAAACGACCCGTGCTTTTCCTGTC</b> TTTG | TGGACCCCAATCTGACATAG      | 149-210 | Kanitz et al,<br>2009 |
| 3  | CUY03    | <b>CACGACGTTGTAAAACGACGCAAGTCAAATTCATCCCTGA</b> | GAGTCCTGCCAAGCAAAATC      | 215-280 | Avilés, 2016          |
| 4  | CUY12    | <b>CACGACGTTGTAAAACGACGGAATGGTGGCAAAC</b> TCCTA | TCTCCTCCTCCTCCTCCTTC      | 230-290 | Avilés, 2016          |
| 5  | MS III   | <b>CACGACGTTGTAAAACGACGGCCATTATGCCCCCAAC</b>    | AGCTGCTCCTTGTGCTGTAG      | 125-161 | Asher et al,<br>2008  |
| 6  | MS V     | <b>CACGACGTTGTAAAACGACATGGTAGGCACTTCCACTG</b>   | TTCCTTTACTGGTTTGGAGG      | 162-200 | Asher et al,<br>2008  |
| 7  | CUY07    | <b>CACGACGTTGTAAAACGACGATGCAGTGCAGAGGAGTCA</b>  | TGTGIGGTTTTGTGTGTGAGG     | 190-212 | Avilés, 2016          |
| 8  | CUY05    | <b>CACGACGTTGTAAAACGACGGCCAAAGCAGGAATGTCTA</b>  | TAGGGCAAGCATTGATGATG      | 150-186 | Avilés, 2016          |
| 9  | Cavy09   | <b>CACGACGTTGTAAAACGACCAGCGATCTTCTATGGAGAC</b>  | TCTTTAATGGTGGGTTTCAG      | 162-237 | Kanitz et al,<br>2009 |
| 10 | Cavy03   | <b>CACGACGTTGTAAAACGAACAGCGATACAATCTGCAC</b>    | GCAGTGGTAACCCAGAATGG      | 215-260 | Kanitz et al,<br>2009 |

**Tabla 3: Combinaciones para reacciones multiplex en PCR, rango (pb), marcaje y temperatura óptima de los microsatélites.**

| Multiplex (M) | Microsatélite | Rango (pb) | Fluorescencia | Temperatura óptima de alineamiento |
|---------------|---------------|------------|---------------|------------------------------------|
| M1            | MSV           | 162-200    | FAM           | 55°C                               |
|               | CUY03         | 215-280    |               | 55°C                               |
| M2            | CUY05         | 150-186    | VIC           | 55°C                               |
|               | CUY07         | 190-212    |               | 55°C                               |
|               | CAVY03        | 215-260    |               | 55°C                               |
| M3            | MSIII         | 125-161    | NED           | 55°C                               |
|               | CAVY09        | 162-237    |               | 55°C                               |
|               | CUY16         | 238-280    |               | 55°C                               |
| M4            | CAVY11        | 149-210    | PET           | 55°C                               |
|               | CUY12         | 230-290    |               | 55°C                               |

### 3.6. Electroforesis capilar

Los productos de PCR fueron separados en un analizador genético ABI 3130XL (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) (Figura 9) mediante electroforesis capilar, utilizando un gel polímero POP 7 (*Performance Optimised Polymer*). Como se observa en la tabla 4, cada 1.2 µl de producto de PCR (Fluoromarcados con FAM, VIC, NED) y 1.4 µl de producto PCR (fluoromarcado con PET) fueron mezclados con 9.7 µl de formamida Hi-Di y 0.30 µl de un marcador estándar interno de 600pb GeneScan LIZ™. Luego las muestras se sometieron en 95 °C durante 3 min para desnaturalización e inmediatamente se llevó a -20°C produciendo un choque térmico que duró 3 minutos antes de realizar la corrida en el analizador genético, aproximadamente cada 16 muestras fueron analizadas en 40 minutos.

**Tabla 4: Volumen del amplificado en el analizador.**

|       | Reaccion de PCR | Volumen Amplificado (ul) |
|-------|-----------------|--------------------------|
| GRUPO | M1 (FAM)        | 1.2                      |
|       | M2 (VIC)        | 1.2                      |
|       | M3 (NED)        | 1.2                      |
|       | M4 (PET)        | 1.4                      |

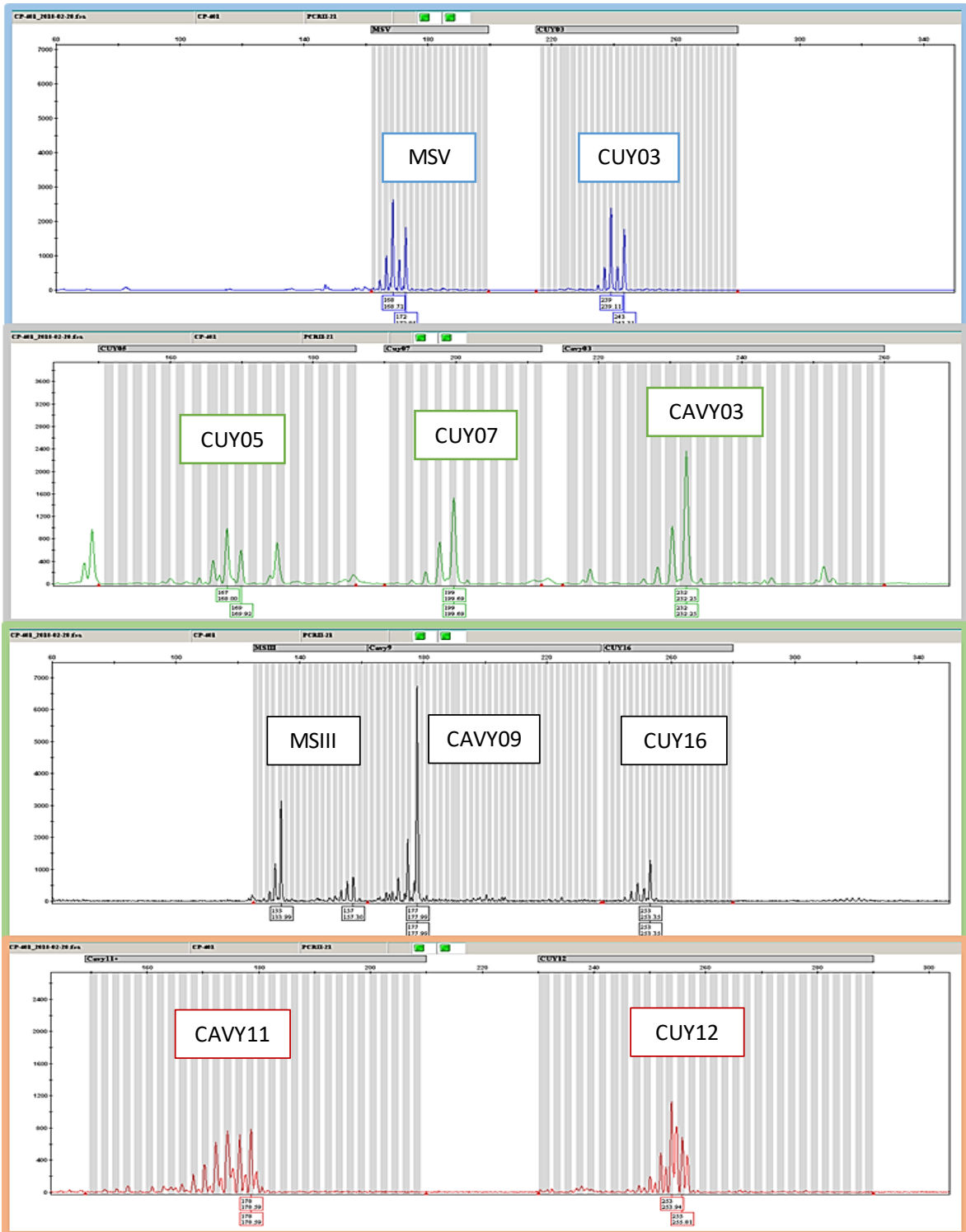


**Figura 9: Analizador Genético ABI3130XL, con 16 capilares.**

FUENTE: Elaboración propia.

### **3.7. Procesamiento y análisis de datos**

Los electroferogramas obtenidos después de correr en el analizador genético fueron analizados con el programa GeneMapper v. 4.1 Applied Biosystems (Foster City, CA) con la finalidad de asignar los pesos moleculares en pb (pares de bases) correspondientes a los alelos obtenidos (Figura 10). Los alelos, que son representados como picos en los electroferogramas, se miden en URF (unidades de fluorescencia), para considerarse un verdadero alelo, y no ruido, debe superar los 100 URF. Finalmente, la base de datos con los genotipos de cada muestra fue exportada en una hoja de cálculo en EXCEL 2016 para los correspondientes análisis estadísticos.



**Figura 10: Electroferograma de los 10 marcadores amplificados, divididos en 4 fluoróforos (Fam, Vic, Ned y Pet respectivamente), cada pico representa un alelo asignado en pares de bases (pb) dentro del eje horizontal.**  
 FUENTE: Elaboración propia.

### **3.8. Fase de análisis estadísticos**

Los análisis estadísticos consistían en determinar la variabilidad genética y el análisis de la estructura genética poblacional.

#### **3.8.1. Variabilidad Genética poblacional**

##### **a) Análisis de diversidad alélica**

Después que se obtuvieron los datos con el programa GeneMapper 4.0, se realizó los análisis de diversidad alélica con los siguientes programas: GenAlex 6. 503 (Raymond, 1995), Genepop 4.7.0 (Peakall et al., 2012), Cervus 3.0.3. (Botstein et al., 1980). Según Avilés (2016) se usó los programas estadísticos óptimos para determinar la variabilidad genética de los 10 marcadores microsatélites. Los parámetros determinados fueron: número de alelos en individuos analizados, número de alelos encontrados por locus, frecuencias alélicas, número medio de alelos por locus, heterocigosidad esperada ( $H_e$ ), heterocigosidad observada ( $H_o$ ) y contenido de información polimórfica (PIC) (Aranguren et al., 2001).

##### **b) Frecuencias alélicas**

Se estimó el número efectivo de alelos de acuerdo a la fórmula de Frankham et al., (2002); el número de alelos y las frecuencias alélicas por locus se obtuvieron con el programa Cervus 3.0.3. (Botstein et al. 1980). Esta se refiere a la proporción que se observa de un alelo específico respecto al conjunto de los que pueden ocupar un locus determinado en la población.

$$P(A) = [2(AA) + (Aa)]/2x$$

Siendo “AA” el número de genotipos homocigotos con ese alelo; “Aa” el número de genotipos heterocigotos con ese alelo y “x” es el número total de individuos en la muestra (Aranguren, 2001).

### c) Alelos nulos

La frecuencia de alelos nulos ( $F_0$ ) es un indicador significativo de los resultados del análisis de microsatélites, sobre todo en estudios genéticos de una población y fue calculada mediante el programa Cervus 3.0.3 (Botstein et al. 1980) en el cual se utilizó el método de simulación de Cadena de Monte Carlo Markov para la identificación de las frecuencias alélicas donde las frecuencias superiores a 0,19 indicaron la presencia de alelos nulos (Fendri, 2008). Se habla de alelos nulos cuando estos no pueden ser amplificados por PCR, debido principalmente a una mutación en el sitio de hibridación del iniciador. Uno de los alelos no amplifica y por lo tanto el individuo es catalogado como homocigoto para el otro alelo (Dawson, 1997).

### d) Heterocigosidad esperada

Los datos se obtuvieron gracias al programa Genepop 4.7.0 (Peakall et al. 2012). GenAlex 6.503 (Raymond, 1995), confirmado por programa Cervus 3.0.3 (Botstein et al. 1980) y Fstat 2.9.3.2 (Goudet, 2002). La heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) desde el punto de vista matemático, es la probabilidad de que dos alelos tomados al azar de la población sean diferentes (Crow y Kimura 1970), es un indicador del nivel de información del locus. Por debajo de 0.5 esta se considera insuficiente (Fendri, 2008). Se calculó a partir de la frecuencia de cada uno de los alelos asumiendo el equilibrio de Hardy-Weinberg (Nei, 1978) que establece que la composición genética de una población natural permanece en equilibrio mientras no actúe la selección natural u otro factor como la mutación o la deriva génica, por lo tanto:

$$H_E = 1 - \sum_{i=1}^{i=n} p_i^2$$

Siendo “ $p_i$ ” la frecuencia del alelo  $i$ ; “ $n$ ” el número de alelos del marcador.

### e) Heterocigosidad observada

Estos datos también se obtuvieron gracias al programa Genepop 4.7.0 ((Peakall et al. 2012)), Fstat 2.9.3.2 (Goudet, 2002), confirmado por los programas Cervus 3.03 (Botstein et al. 1980) y GenAlex 6.503 (Raymond, 1995). Es la proporción de heterocigotos que presenta la población. Varias poblaciones pueden presentar el mismo  $H_o$  (Heterocigosidad observada), pero diferente  $H_e$  (Heterocigosidad esperada) y es una

medida para comprobar en qué grado la población se encuentra o no en equilibrio H-W (Morón, 2013).

#### **f) Contenido de información polimórfica (PIC)**

El Contenido de Información Polimórfica (PIC) fue calculado a partir del número de alelos y de las frecuencias alélicas mediante el programa Cervus 3.0.3. (Botstein et al. 1980) Los marcadores con valores de PIC superiores a 0.5 se consideran muy informativos, los que tienen valores entre 0.25 y 0.5 medianamente informativos y los que muestran valores inferiores a 0.25 poco informativos (Botstein et al., 1980).

Datos de estimación de la diversidad que permite clasificar los marcadores genéticos, según su nivel de polimorfismo y mide la capacidad de los locis, en dependencia al número de alelos y la frecuencia de cada alelo en el locus marcador (Murillo, 2010).

Se usa la siguiente fórmula para calcular el contenido de información polimórfica (PIC) propuesta por Anderson et al. (1993).

$$PIC = 1 - \sum (p_i^2)_j$$

Donde  $P_i$ : frecuencia alélica del  $i$ -ésimo alelo,  $j$  el locus.

#### **g) Prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W)**

Las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg con un intervalo de confianza de  $P$ -valor  $> 0.05$  (Avilés 2016) y se usó el programa para Genepop 4.7.0 (Peakall et al. 2012), el cual nos proporcionó los datos con un total de 5000 permutaciones para todos los loci utilizados en las poblaciones, en este estudio se usó el déficit de heterocigotos pues era nuestra hipótesis a determinar, el cual no daba un valor más exacto, según Rousset (1995). Se realizó un análisis de la desviación con respecto al equilibrio Hardy-Weinberg ya sea por exceso ó déficit de heterocigotos y homocigotos en la población total y dentro de cada población.

La ley de Hardy-Weinberg, representa a una población grande de individuos diploides, con reproducción sexual aleatoria, sin selección, mutación y migración, las frecuencias génicas y genotípicas permanecen constantes de generación en generación y, además,



existe una relación simple entre ambas. Así, una población con frecuencias génicas y genotípicas constantes, se dice que está en equilibrio H-W (Hardy, 1908; Weinberg, 1908).

#### **h) Diversidad genética de Nei**

Se usó el programa Fstat 2.9.3.2 (Goudet, 1995), para cada población (Puno y Cuzco) y se calculó la diversidad genética de Nei mediante el uso de los 10 marcadores microsatélites. El análisis de diversidad de Nei (1978), proviene de un ajuste de la fórmula hecha por el mismo autor en el año 1973, el cual se obtiene a partir de  $\zeta = 1 - \sum p_i^2$  donde,  $\zeta$  es la heterocigosidad esperada, y  $p_i$  es la frecuencia del alelo de un locus en una población. Sin embargo, este procedimiento sería el más adecuado para una muestra poblacional realmente grande. Debido a esto Nei (1978) usa un análisis de diversidad genética insesgado a partir de la heterocigosidad esperada el cual nos permite hacer un análisis para una cantidad de muestras que no representan un gran tamaño:

$$h = 2n(1 - \sum x_i^2) / (2n-1)$$

Por lo tanto,  $n$  es el número de individuos de la muestra y  $x$  es la frecuencia del alelo  $i$  en dicha muestra. Acorde con esto, se obtuvo la heterocigosidad genética insesgada de la población:

$$\hat{H} = \sum h_k / r$$

Donde  $h_k$  es el valor de  $h$  para el  $k$  locus y  $r$  son los loci analizados en la población estudiada.

### **3.8.2. Estructura genética poblacional**

#### **a) Estadísticos F de Wright**

Los estadísticos F de Wright se calcularon para evaluar el grado de endogamia en las poblaciones se utilizó los programas Genepop 4.7.0 (Peakall et al. 2012) y GenAlex 6.503. (Raymond 1995).

Conocidos también como índices de fijación de Wright (1978), estos se dividen en tres parámetros: Fis, Fst y Fit, estos nos dan a conocer la estructura poblacional tanto en las que exista selección como en aquellas en que sea nula, pues los términos se encuentran definidos por las frecuencias alélicas y genotípicas de las poblaciones en estudios en un determinado momento (Nei, 1973). Estos estadísticos se dan a conocer por medio del programa Fstat v 2.9.3.2.

**Fis:** Es la correlación entre dos alelos, el exceso o déficit de heterocigotos que podría ser entre individuos de la misma subpoblación o de la misma población, este parámetro puede variar entre -1 a 1. Fis menos a cero indica exceso de heterocigotos en la población con respecto a las proporciones esperadas al equilibrio HW, mientras que valores positivos indican déficit de heterocigotos con respecto al equilibrio HW (Avilés, 2016).

**Fst:** Estadístico usado para determinar el grado de diferenciación genética entre las subpoblaciones o poblaciones determinadas, también denominado; índice de diferenciación genética y su valor varía de 0 a 1. A diferencia del Fis y el Fit este no es negativo (Nei, 1973). Un valor 0 indica que las frecuencias alélicas son iguales entre las poblaciones estudiadas y por el contrario un valor 1 demuestra que las frecuencias alélicas son diferentes en las poblaciones y estas están fijadas (Avilés, 2016).

$0 \leq FST < 0.05$  indicaría poca diferenciación genética.

$0.05 \leq FST < 0.15$  indicaría una diferenciación moderada.

$0.15 \leq FST < 0.25$  indicaría una gran diferenciación.

$0.25 \leq FST$  indicaría una diferenciación muy grande.

**Fit:** Explica la desviación de las frecuencias genotípicas observadas en la población total respecto a las esperadas considerando que existe equilibrio Hardy-Weinberg. En una población en panmixia su valor es 0 (Avilés, 2016).

#### **b) Análisis de varianza molecular**

El estadístico Fst se evaluó con el programa GenALEX 6.503. (Raymond 1995) con 9 999 de permutación, en el mismo instante se estimó el AMOVA para la población total.

La variabilidad genética total de una población se da debido a la contribución de diferentes fuentes, el análisis de varianza molecular (AMOVA) nos permite mediante datos cuantitativos precisar de qué manera cada fuente contribuye a la variabilidad total (Cortes, 2008). Se basa de un modelo jerárquico (continentes, regiones geográficas dentro

de un continente, zonas dentro de una región, poblaciones dentro de una zona de una región, individuos dentro de una población en una zona de una región). Se diferencia de un análisis de varianza (ANOVA), ya que puede contener diferentes suposiciones evolutivas sin modificar la estructura básica del análisis; también, la hipótesis utiliza métodos de permutación que no requieren la suposición de una distribución normal (Morón, 2013).

$$Y_{ki(j)} = Y + A_k + B_{k(i)} + W_{ki(j)}$$

Donde:

$Y_{ki(j)}$  = un valor entre 0 y 1 para el j-ésimo alelo del i-ésimo individuo de la k-ésima población.

$A_{(k)}$  = el efecto de la k-ésima población, con varianza  $\sigma^2_a$ .

$B_{k(i)}$  = el efecto del i-ésimo individuo dentro de la k-ésima población, con varianza  $\sigma^2_b$ .

$W_{ki(j)}$  = el efecto del j-ésimo locus del i-ésimo individuo de la k-ésima población, con varianza  $\sigma^2_w$ .

n = el producto de i, j y k; es decir, el número total de observaciones.

(Tenemos: i = individuos, j = alelos, k = poblaciones)

**Tabla 5: Estimaciones de Varianza relacionados con los estadísticos F.**

| Estimaciones de la Varianza                       | Estadísticos F                                    |
|---|---|
| $\sigma^2_a = F_{st} \sigma^2$                    | $F_{it} = (\sigma^2_a + \sigma^2_b) / \sigma^2$   |
| $\sigma^2_b = (F_{it} - F_{st}) \sigma^2$         | $F_{st} = \sigma^2_a / \sigma^2$                  |
| $\sigma^2_w = (1 - F_{it}) \sigma^2$              | $F_{is} = \sigma^2_b / (\sigma^2_b + \sigma^2_w)$ |
| $\sigma^2 = \sigma^2_w + \sigma^2_b + \sigma^2_a$ |   |

FUENTE: Morón, 2013.

Donde:

$\sigma^2_a$  = valor paramétrico de la varianza entre poblaciones que portan alelos idénticos.

$\sigma^2_b$  = valor paramétrico de la varianza entre individuos dentro de cada población.

$\sigma^2w$  = valor paramétrico de la varianza dentro de individuos o la medida de la probabilidad de que los alelos dentro de los loci sean diferentes sean diferentes

### c) Análisis de la estructura de la población

La estructura genética se evaluó con el programa *parallel STRUCTURE* (Pritchard et al. 2003), se asignó un set de parámetros, tales como, longitud del periodo de burn-in (100 000), número de MCMC (1000 000) y modelo de ancestralidad 2q (Modelo de Mezcla), con agrupamientos entre K=1 y K=15 y diez repeticiones, los resultados generados se exportaron al software en línea *Structure Harvester* 0.6 y con el método Delta K (Evanno, et al. 2005) se obtuvo un valor para graficar el mejor valor para K, el que representará la estructura de la población.

### d) Flujo Génico

El flujo génico o migración génica se calculó mediante el modelo de alelos privados de Slatkin (1985) y Barton y Slatkin (1986) con el programa Genepop. En este método se tiene que:

$$\ln(p) = \alpha \ln(Nm) + b,$$

Siendo

p = promedio de alelos privados.

Nm = flujo génico.

Una medida que resulta fácil de calcular y conceptualmente útil es el Número de Migrantes (Nm). Si Nm es mayor que 1, teóricamente el flujo génico supera los efectos de la deriva génica y previene la diferenciación local. Si Nm es menor que 1 entonces se puede decir que la deriva actúa independientemente en cada una de las poblaciones, y si es mayor de 4 entonces las poblaciones se comportan como una gran población más o menos panmíctica (Piñero, 2008).

### **e) Árbol de distancias entre individuos**

Para exportar el árbol de distancias se han calculado las matrices de distancias genéticas, mediante el estadístico  $F_{st}$  de Wright (1969). Con las matrices se han construido árboles filogenéticos que reflejaron las relaciones genéticas entre las poblaciones de cuyes, con el paquete POPULATIONS V.1.2.32. Los árboles filogenéticos se han visualizado con el programa MEGA-X, en el cual se exportaron dos tipos de árboles (tradicional y radial).

La distancia genética entre poblaciones muestra un valor estimado del tiempo que ha pasado desde el momento que se inició la diferenciación entre las mismas. Distancias pequeñas pueden indicar que existe flujo genético entre las poblaciones o también un completo aislamiento de las mismas pero que la separación haya sido reciente. Cuando están aisladas genéticamente, los procesos de mutación, selección y deriva llevan a la diferenciación en las frecuencias alélicas; conforme se incrementa el tiempo de separación, las frecuencias alélicas también se diferencian. Algunas distancias se basan en el modelo de deriva exclusivamente y otras incluyen en los algoritmos de cálculo los procesos de mutación (Avilés, 2016).

El estadístico de  $F_{st}$  de Wright (1969), puede ser utilizado como medida de distancias genética ya que considera, a diferencia de las distancias convencionales, la tasa de migración entre poblaciones (Slatkin, 1995).

### **f) Análisis Discriminante de Componentes Principales (D.A.P.C.)**

Para la representación gráfica del análisis discriminante de componentes principales se usó el programa Rstudio (Rstudio team, 2015), mediante el paquete Adegenet, primero determinando el Análisis de componentes principales (PCA), seguido del análisis discriminante (DA).

Jombart y sus colegas (Jombart et al., 2010) fueron pioneros en la DAPC y pueden usarse para inferir la cantidad de grupos de individuos genéticamente relacionados. En este enfoque estadístico multivariante, la varianza en la muestra se divide en un componente entre grupos y dentro de un grupo, en un esfuerzo por maximizar la discriminación entre grupos. En DAPC, los datos se transforman primero utilizando un análisis de componentes principales (PCA) y, posteriormente, los grupos se identifican mediante análisis discriminante (DA).

## **IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES**

### **4.1. . Análisis de diversidad genética**

Se ha realizado la caracterización genética de los cuyes nativos domésticos de los departamentos de Cuzco y Puno, mediante los resultados del análisis de diez marcadores microsatélites con la metodología del cebador universal M13, en una muestra de 193 animales. La metodología aplicada ha permitido visualizar una medida precisa de los alelos, es una buena herramienta para la genotipificación y el análisis de la diversidad genética. Agregar que es más económica comparando con la metodología de cebadores marcados directamente con fluorescencia.

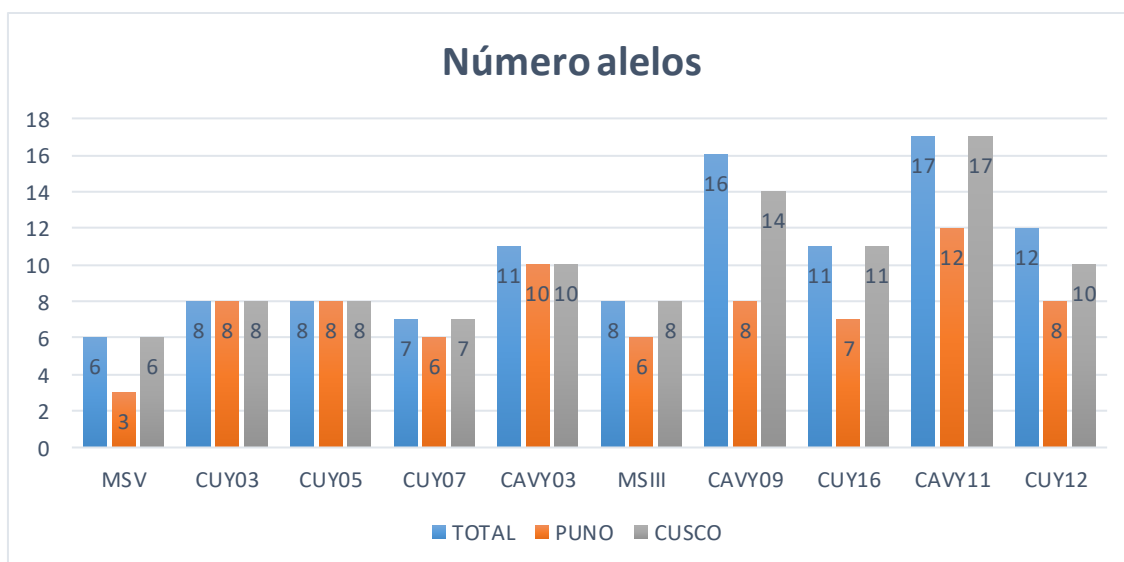
#### **4.1.1. Número de alelos**

El número de alelos encontrados por locus difiere en las dos poblaciones estudiadas, con mayor número de alelos en la población de Cuzco con un promedio de 9,9 alelos por locus superior a la de Puno con 7,6 alelos por locus (Tabla 6). Los marcadores más diversos fueron CAVY11, CAVY09 Y CUY12 (17, 16 Y 12 alelos, respectivamente), el locus CAVY11 presentó el mayor número de alelos en las 193 muestras (17 alelos) así como el mayor número de alelos dentro de una población (17 alelos). Con el marcador MSV se observó el menor número de alelos (5 alelos).

En las dos poblaciones estudiadas, el promedio de número de alelos fue 10,4 resultando muy similar a los valores descritos en Ecuador con poblaciones de cuyes nativos y comerciales por Avilés (2016), con valores superiores a los encontrados en Costa de Marfil 5,98 alelos en cuyes domésticos por Kouakuo et al. (2015), en Colombia 6,4 alelos por Burgos-Paz et al. (2011) en caviás domésticos (una línea autóctona y líneas comerciales no especificadas), en caviás silvestres del Brasil 7,4 alelos Kanitz et al. (2009) y del Uruguay 10 alelos por Asher et al. (2008). El número de alelos que serán transferidos por herencia a la siguiente generación (Alelos efectivos) serán del 50 por ciento.

**Tabla 6: Número de alelos por locus encontrados en cada población y número de alelos efectivos (Na).**

| MARCADOR        | PUNO       | CUSCO      | TOTAL       | Na        |
|-----------------|------------|------------|-------------|-----------|
| MSV             | 3          | 6          | 6           | 2.2       |
| CUY03           | 8          | 8          | 8           | 4.5       |
| CUY05           | 8          | 8          | 8           | 3.9       |
| CUY07           | 6          | 7          | 7           | 2.8       |
| CAVY03          | 10         | 10         | 11          | 5.7       |
| MSIII           | 6          | 8          | 8           | 4.4       |
| CAVY09          | 8          | 14         | 16          | 4.7       |
| CUY16           | 7          | 11         | 11          | 6.1       |
| CAVY11          | 12         | 17         | 17          | 10.6      |
| CUY12           | 8          | 10         | 12          | 5.0       |
| <b>TOTAL</b>    | <b>76</b>  | <b>99</b>  | <b>104</b>  | <b>50</b> |
| <b>PROMEDIO</b> | <b>7,6</b> | <b>9,9</b> | <b>10,4</b> | <b>5</b>  |



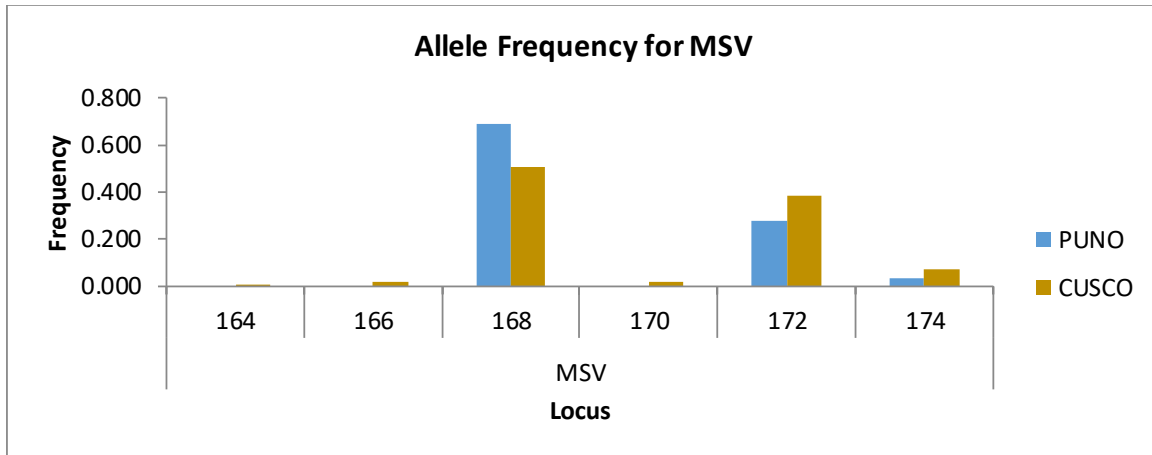
**Figura 11: Número de alelos de cada población y como toda una población.**

#### 4.1.2. Frecuencias alélicas

Los siguientes histogramas representan las frecuencias alélicas de cada alelo de los 10 loci microsatélites estudiados, por población, gracias al programa GenAlex 6.503 (Raymond, 1995) y mediante el programa Cervus 3.0.3 (Botstein et al., 1980) se calculó el porcentaje de homocigotos de cada población.

## MSV

La Figura 12, indica las frecuencias del marcador MSV, el cual presenta un número total de 6 alelos. El alelo con mayor frecuencia es el 168, en ambas poblaciones. La población de Cuzco presenta tres alelos privados (164, 166 y 170). En la población de Puno el porcentaje de homocigotos fue de 66 por ciento y en la población de Cuzco de 53 por ciento.

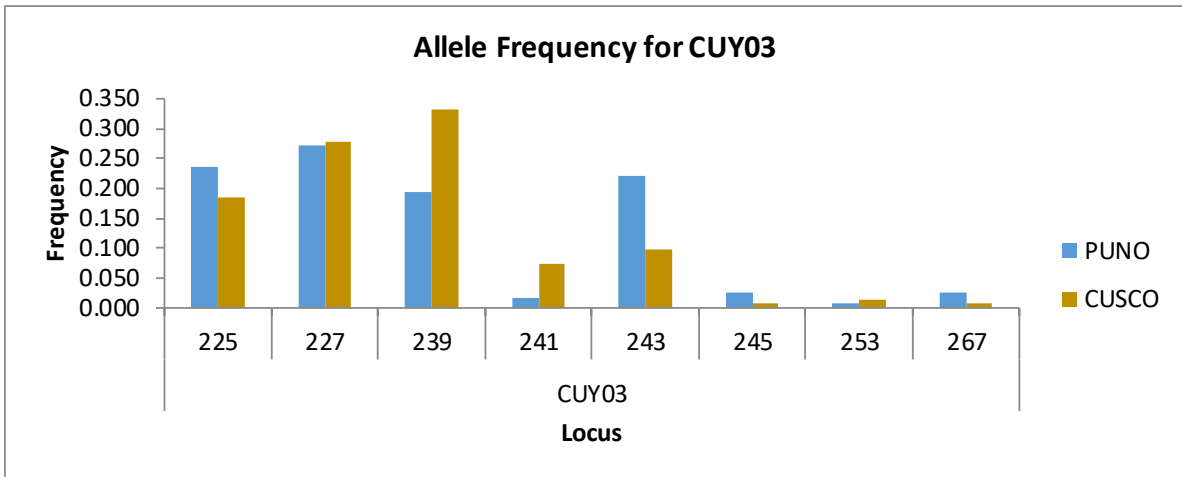


**Figura 12: Frecuencias alélicas del marcador MSV en las poblaciones de cuyes de Puno y Cuzco.**

## CUY03

La Figura 13, indica las frecuencias del marcador CUY03, el cual presenta un número total de 8 alelos. El alelo con mayor frecuencia es el 239 en la población de Cuzco, el alelo 227 en la población de Puno y el alelo 227 presenta mayor frecuencia tomando a todo como una población. No existen alelos privados en las poblaciones. En la población de Puno el porcentaje de homocigotos fue de 47 por ciento y en la población de Cuzco de 34 por ciento.

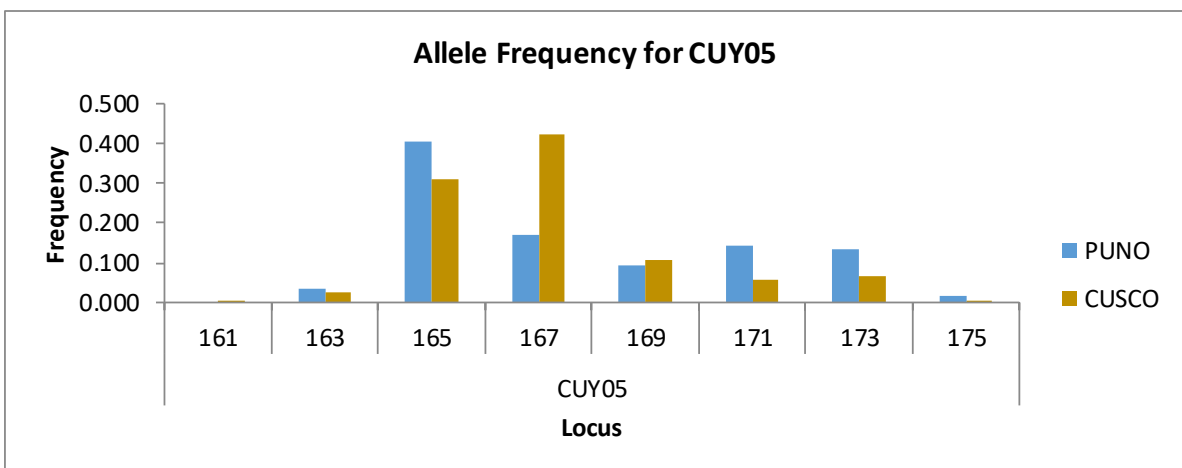




**Figura 13: Frecuencias alélicas del marcador CUY03 en las poblaciones de cuyes de Puno y Cuzco.**

### CUY05

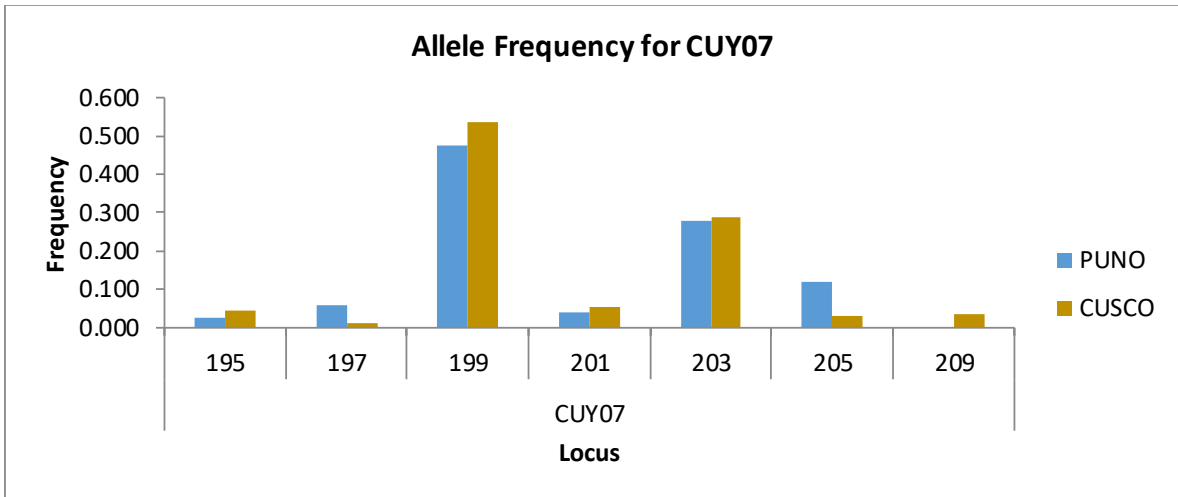
La Figura 14, indica las frecuencias del marcador CUY05, el cual presenta un número total de 8 alelos. El alelo con mayor frecuencia es el 167 en la población de Cuzco, el alelo 165 en la población de Puno y el alelo 165 presenta mayor frecuencia tomando a todo como una población. La población de Cuzco presenta un alelo privado (161). En la población de Puno el porcentaje de homocigotos fue de 22 por ciento y en la población de Cuzco de 33 por ciento.



**Figura 14: Frecuencias alélicas del marcador CUY05 en las poblaciones de cuyes de Puno y Cuzco.**

### CUY07

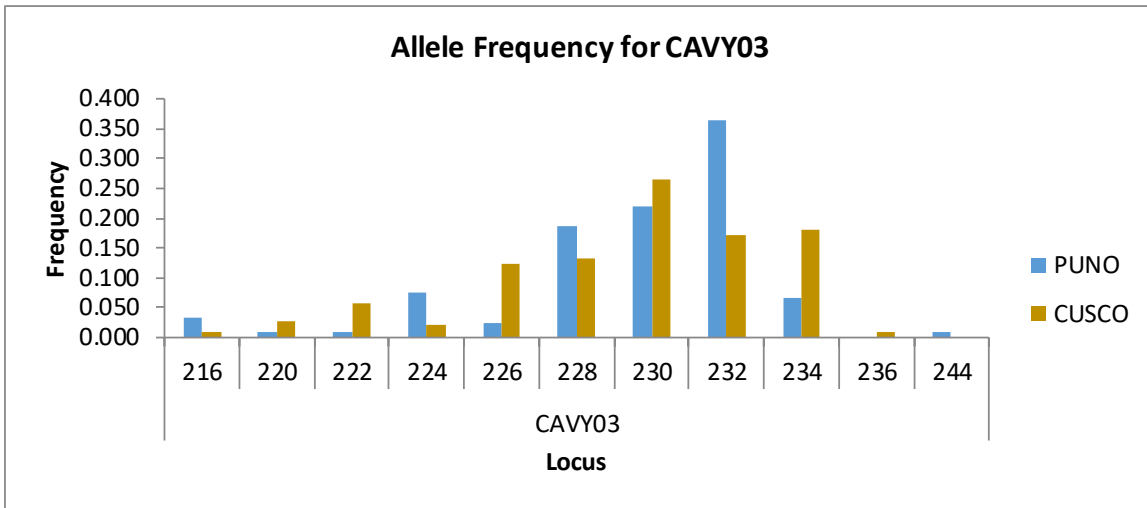
La Figura 15, indica las frecuencias del marcador CUY07, el cual presenta un número total de 7 alelos. El alelo con mayor frecuencia es el 199 en ambas poblaciones. La población de Cuzco presenta un alelo privado (209). En la población de Puno el porcentaje de homocigotos fue de 67 por ciento y en la población de Cuzco de 34 por ciento.



**Figura 15: Frecuencias alélicas del marcador CUY07 en las poblaciones de cuyes de Puno y Cuzco.**

### CAVY03

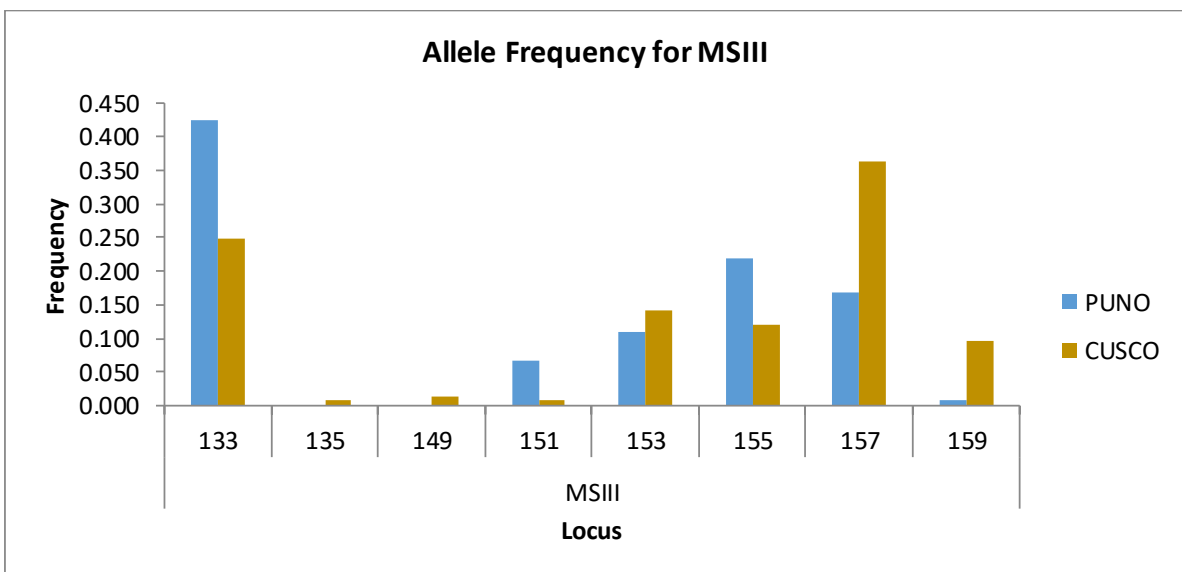
La Figura 16, indica las frecuencias del marcador CAVY03, el cual presenta un número total de 11 alelos. El alelo con mayor frecuencia es el 232 en la población de Puno, el alelo 230 en la población de Cuzco y el alelo 232 presenta mayor frecuencia tomando a todo como una población. Las poblaciones de Puno y Cuzco presentan un alelo privado cada una en las posiciones 244 y 236 respectivamente. En la población de Puno el porcentaje de homocigotos fue de 44 por ciento y en la población de Cuzco de 41 por ciento.



**Figura 16: Frecuencias alélicas del marcador CAVY03 en las poblaciones de cuyes de Puno y Cuzco.**

MSIII

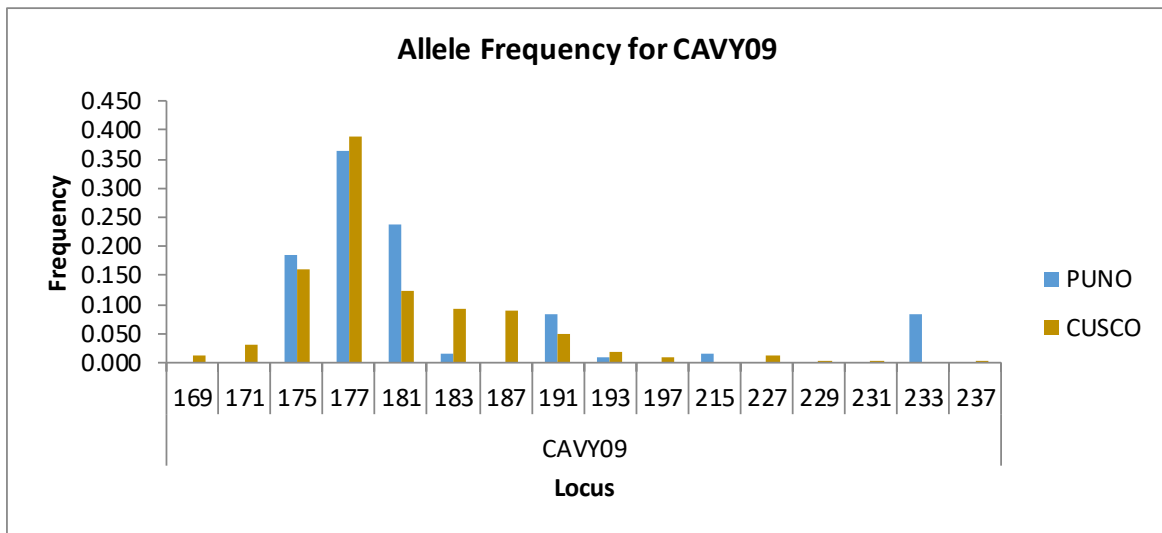
La Figura 17, indica las frecuencias del marcador MSIII, el cual presenta un número total de 8 alelos. El alelo con mayor frecuencia es el 133 en la población de Puno, el alelo 157 en la población de Cuzco y el alelo 133 presenta mayor frecuencia tomando a todo como una población. La población Cuzco presenta dos alelos privados (135 y 149). En la población de Puno el porcentaje de homocigotos fue de 45 por ciento y en la población de Cuzco de 32 por ciento.



**Figura 17: Frecuencias alélicas del marcador MSIII en las poblaciones de cuyes de Puno y Cuzco.**

### CAVY09

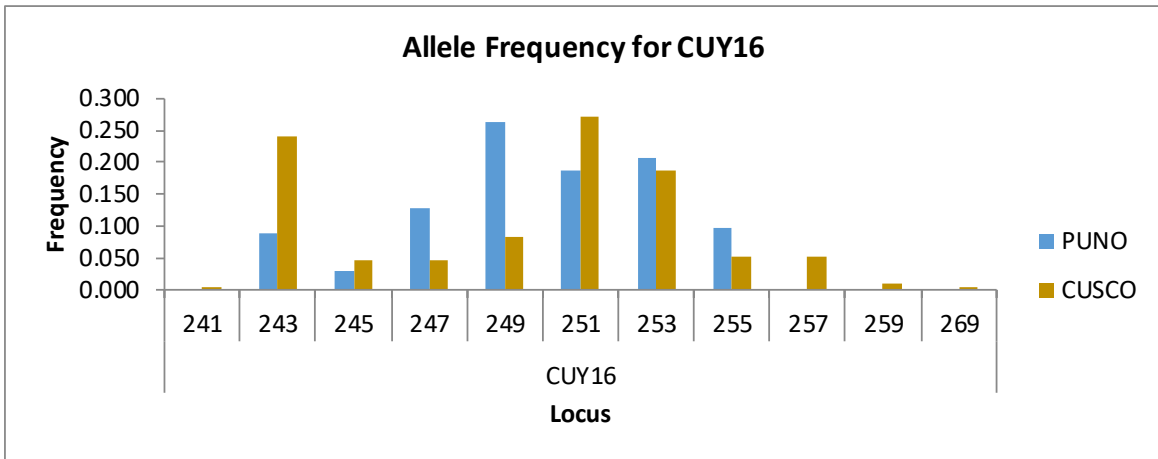
La Figura 18, indica las frecuencias del marcador CAVY09, el cual presenta un número total de 16 alelos. El alelo con mayor frecuencia es el 177 en ambas poblaciones. La población Puno presenta dos alelos privados (215 y 233), mientras que la población de Cuzco presenta ocho alelos privados (169,171,187,197,227,229,231 y 237). En la población de Puno el porcentaje de homocigotos fue de 24 por ciento y en la población de Cuzco de 28 por ciento.



**Figura 18: Frecuencias alélicas del marcador CAVY09 en las poblaciones de cuyes de Puno y Cuzco.**

### CUY16

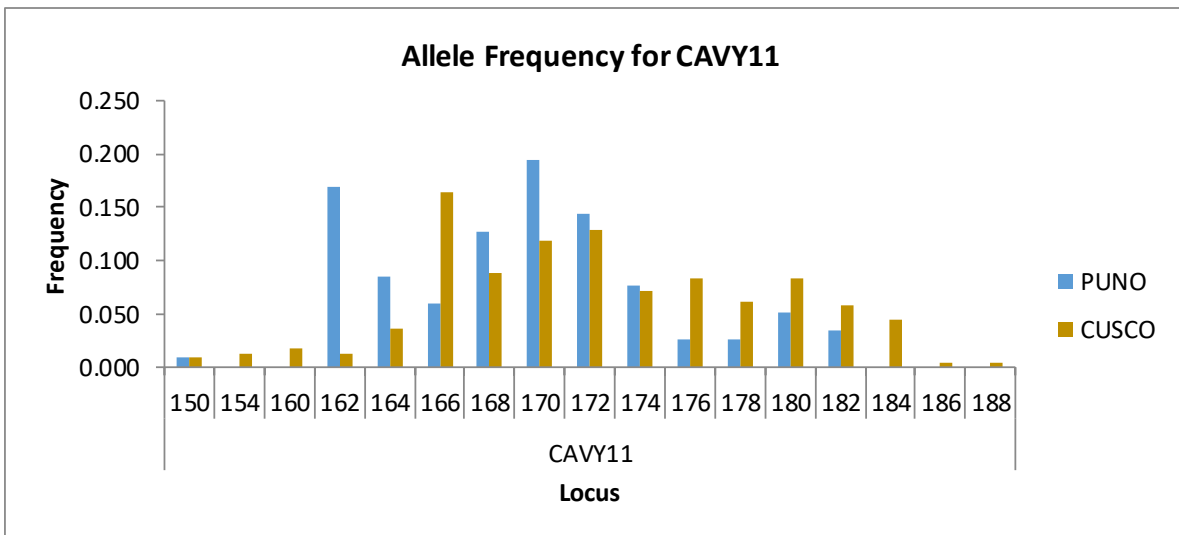
La Figura 19, indica las frecuencias del marcador CUY16, el cual presenta un número total de 11 alelos. El alelo con mayor frecuencia es el 249 en la población de Puno, el alelo 251 en la población de Cuzco y el alelo 251 presenta mayor frecuencia tomando a todo como una población. La población Cuzco presenta cuatro alelos privados (241, 257, 259 y 269). En la población de Puno el porcentaje de homocigotos fue de 39 por ciento y en la población de Cuzco de 43 por ciento.



**Figura 19: Frecuencias alélicas del marcador CUY16 en las poblaciones de cuyes de Puno y Cuzco.**

CAVY11

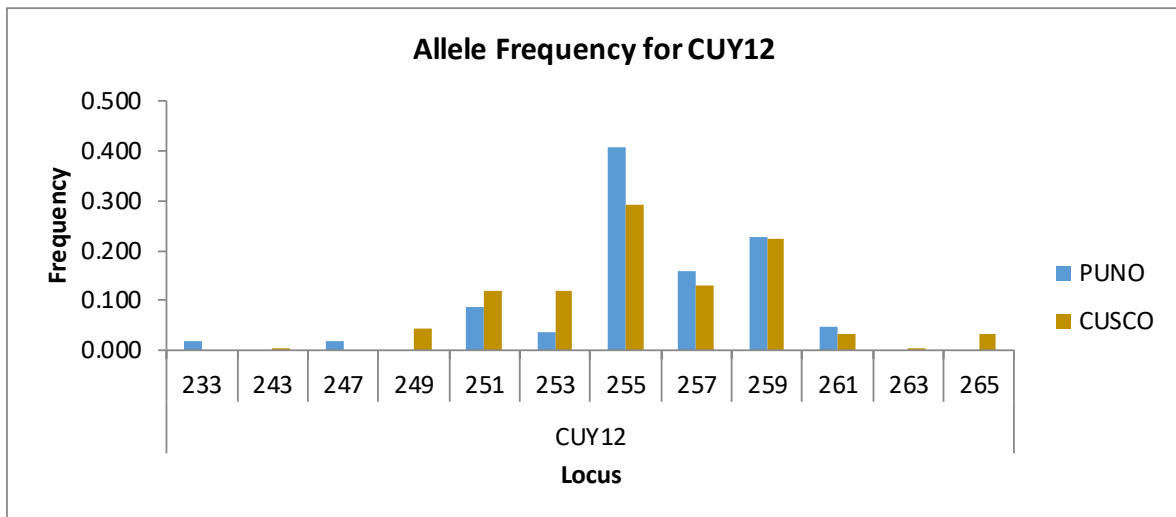
La Figura 20, indica las frecuencias del marcador CAVY11, el cual presenta un número total de 17 alelos. El alelo con mayor frecuencia es el 170 en la población de Puno, el alelo 164 en la población de Cuzco y el alelo 170 presenta mayor frecuencia tomando a todo como una población. La población Cuzco presenta cinco alelos privados (154, 160, 184, 186 y 188). En la población de Puno el porcentaje de homocigotos fue de 12 por ciento y en la población de Cuzco de 14 por ciento.



**Figura 20: Frecuencias alélicas del marcador CAVY11 en las poblaciones de cuyes de Puno y Cuzco.**

## CUY12

La Figura 21, indica las frecuencias del marcador CUY12, el cual presenta un número total de 12 alelos. El alelo con mayor frecuencia es el 255 en ambas poblaciones. La población Puno presenta dos alelos privados (233 y 247), mientras que la población de Cuzco presenta cuatro alelos privados (243, 249, 263 y 265). En la población de Puno el porcentaje de homocigotos fue de 32 por ciento y en la población de Cuzco de 24 por ciento.



**Figura 21: Frecuencias alélicas del marcador CUY12 en las poblaciones de cuyes de Puno y Cuzco.**

El porcentaje total de homocigotos de las poblaciones Puno y Cuzco fue: 39.8 y 33.6 por ciento. En total se observaron 34 alelos privados, de los cuales 5 corresponden a la población de cuyes Puno y 29 a la población de cuyes Cuzco, esto nos indica una mayor cantidad de diversidad en dicho departamento. El marcador con mayor número de alelos privados fue CAVY09 con 10 alelos privados.

### **4.1.3. Heterocigosidad esperada y observada**

El cálculo de las frecuencias alélicas permitió determinar, mediante los programas Fstat 2.9.3.2 (Goudet, 2002) y GenAlex 6.503 (Raymond, 1995), la heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) y observada ( $H_o$ ) total y de cada población con los 10 marcadores microsatélites utilizados.

En la tabla número 7 se muestra que en general la  $H_e$  es mayor al  $H_o$  ( $H_e > H_o$ ). Los valores de  $H_e$  y  $H_o$  en los cuyes de Cuzco son mayores que los valores de  $H_e$  y  $H_o$  en los

cuyes de Puno con  $0.760 > 0.624$  y  $0.736 > 0.600$  respectivamente. Esto se explica porque el porcentaje de heterocigotos total para los trece locus es de 74.8 y 61.2 por ciento para la primera y segunda población, respectivamente.

Los marcadores CUY03, CUY07, CAVY03 y CUY16 son aquellos que presentan la mayor diferencia entre  $H_e$  y  $H_o$  en la población de Cuyes Puno. Los marcadores CUY07, CAVY03 y CUY16 se comportan de igual manera en la población de cuyes Cuzco. Por lo tanto, estos marcadores son los que más contribuyen con el déficit de heterocigosidad global.

Los marcadores CUY05, CAVY09 Y CAVY11 presentan un valor mayor de  $H_o$  respecto a la  $H_e$  ( $H_o > H_e$ ) solamente en la población de Puno por tanto se asume que, para estos marcadores en esta población, se produjeron menos apareamientos endogámicos de lo que se espera por azar.

El valor máximo de  $H_e$  en la población total corresponde al locus CAVY11 (0.906), mientras que la  $H_e$  más baja fue para el marcador MSV (0.552), que corresponde también a uno de los loci con menor número de alelos totales. La  $H_e$  total tuvo un promedio de 0.764.

Igualmente, la  $H_o$  en la población total varió en el rango de 0.419 (MSV) a 0.866 (CAVY11) con un promedio de 0.616. Estos resultados son comparables con aquellos análisis de población de cuyes en Ecuador (Avilés 2016), En dicho trabajo, al igual que en el presente estudio, la heterocigosidad esperada fue siempre mayor que la observada. Esto indicaría un déficit de heterocigotos con respecto a una población en equilibrio Hardy Weinberg.

**Tabla 7: Tabla de Heterocigosidad por población y como un total.**

| Población     |      |       |       |       |       |       |       |
|---------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|               |      | Puno  |       | Cuzco |       | Total |       |
| Locus         | N    | Ho    | He    | Ho    | He    | Ho    | He    |
| <b>MSV</b>    | 6    | 0.339 | 0.449 | 0.460 | 0.591 | 0.419 | 0.552 |
| <b>CUY03</b>  | 8    | 0.525 | 0.782 | 0.619 | 0.762 | 0.587 | 0.778 |
| <b>CUY05</b>  | 8    | 0.780 | 0.757 | 0.664 | 0.704 | 0.703 | 0.742 |
| <b>CUY07</b>  | 7    | 0.322 | 0.677 | 0.327 | 0.623 | 0.326 | 0.645 |
| <b>CAVY03</b> | 11   | 0.559 | 0.771 | 0.584 | 0.829 | 0.576 | 0.825 |
| <b>MSIII</b>  | 8    | 0.542 | 0.726 | 0.681 | 0.763 | 0.634 | 0.771 |
| <b>CAVY09</b> | 16   | 0.763 | 0.761 | 0.717 | 0.787 | 0.733 | 0.787 |
| <b>CUY16</b>  | 11   | 0.608 | 0.818 | 0.563 | 0.817 | 0.578 | 0.835 |
| <b>CAVY11</b> | 17   | 0.881 | 0.875 | 0.858 | 0.904 | 0.866 | 0.906 |
| <b>CUY12</b>  | 12   | 0.679 | 0.747 | 0.762 | 0.817 | 0.734 | 0.799 |
| <b>Media</b>  | 10.4 | 0.600 | 0.736 | 0.624 | 0.760 | 0.616 | 0.764 |

N = número de alelos diferentes; Ho: heterocigosidad observada, He: heterocigosidad esperada

#### **4.1.4. Contenido de información polimórfica (PIC)**

El contenido de información polimórfica (PIC) se calculó mediante el *software* estadístico Cervus 3.0.3, esta misma depende del número de alelos y la distribución de sus frecuencias en la población. Teniendo en cuenta que un  $PIC > 0,5$  es altamente informativo,  $0,5 > PIC > 0,25$ , medianamente informativo y  $PIC < 0,25$  ligeramente informativo (Botstein 1980). Teniendo en cuenta esta premisa se afirma que todos los locus analizados fueron polimórficos y siendo los microsatélites más informativos: CAVY11 (0.899), CUY16 (0.814), CAVY03 (0.803), CUY12 (0.773), y el menos informativo MSV (0.471) (Tabla 8).

En la Población Total el promedio obtenido del PIC fue de 0.730. En la población de Puno el PIC muestra un valor promedio de 0.699, mientras que en la población de Cuzco posee un valor promedio más alto de 0.725, observando que en los dos casos son altamente informativos. Los marcadores que presentan los valores más altos de PIC



también presentan elevados valores en el número de alelos y en la heterocigosidad observada.

**Tabla 8: Contenido de Información Polimórfica de las poblaciones cuyes de Puno, Cuzco y el total de estas dos poblaciones.**

| <b>Locus</b> | <b>Puno</b> | <b>Cuzco</b> | <b>Total</b> |
|--------------|-------------|--------------|--------------|
| MSV          | 0.374       | 0.511        | 0.471        |
| CUY03        | 0.747       | 0.725        | 0.743        |
| CUY05        | 0.726       | 0.658        | 0.702        |
| CUY07        | 0.629       | 0.571        | 0.596        |
| CAVY03       | 0.741       | 0.808        | 0.803        |
| MSIII        | 0.687       | 0.728        | 0.736        |
| CAVY09       | 0.726       | 0.766        | 0.764        |
| CUY16        | 0.794       | 0.794        | 0.814        |
| CAVY11       | 0.862       | 0.897        | 0.899        |
| CUY12        | 0.713       | 0.793        | 0.773        |
| MEDIA        | 0.699       | 0.725        | 0.730        |

Los valores de PIC de los 10 marcadores microsatélites son similares a los observados en estudios reportados en cuyes (Burgos et al., 2011; Avilés, 2016), al igual que en el presente estudio, tuvieron un valor de PIC elevado.

#### **4.1.5. Equilibrio Hardy-Weinberg**

##### **a) Población total**

En la tabla 9 se muestra el análisis por marcador del equilibrio Hardy-Weinberg (HW) global, es decir de ambas poblaciones de cuyes Puno y Cuzco que conforman la población total de cuyes recolectados. De los 10 marcadores microsatélites, dos están en equilibrio HW ( $p > 0.05$ ): MSV. Los otros loci mostraron desvíos significativos del equilibrio HW ( $p < 0,05$ ). El test multi-locus de HW realizado para la población global de cuyes, también sugirió que la población entera de cuyes estudiada estaba en desequilibrio Hardy-Weinberg.

Todas las desviaciones del equilibrio HW estuvieron explicadas por deficiencia de heterocigosidad de acuerdo al programa Genepop 4.7.0 (Peakall et al., 2012). El exceso de individuos homocigotos en una población doméstica puede evidenciar el efecto de la selección artificial practicada mediante el manejo reproductivo.

**Tabla 9: Contenido de Déficit, Exceso de Heterocigotos y Equilibrio Hardy-Weinberg.**

| LOCUS  | Déficit de Heterociogotos | Exceso de Heterocigotos | Equilibrio HW |
|--------|---------------------------|-------------------------|---------------|
| MSV    | 0.0113                    | 0.9861                  | 0.0035        |
| CUY03  | 0.0002                    | 0.9994                  | 0             |
| CUY05  | 0.056                     | 0.9531                  | 0.019         |
| CUY07  | 0                         | 1                       | 0             |
| CAVY03 | 0                         | 1                       | 0             |
| MSIII  | 0.0103                    | 0.9904                  | 0             |
| CAVY09 | 0                         | 1                       | 0.0088        |
| CUY16  | 0                         | 1                       | 0             |
| CAVY11 | 0                         | 0.9988                  | 0.1632        |
| CUY12  | 0.0227                    | 0.9872                  | 0.2044        |

#### **b) Dentro de poblaciones**

Para el análisis de la existencia del equilibrio HW de cada marcador por población se usó el programa Genepop 4.0.11, mediante el test para déficit de heterocigotos. La prueba del equilibrio HW demostró que en general los loci estuvieron en desequilibrio debido a un déficit de heterocigotos (Valor  $p < 0.05$ ) con excepción de CUY05, CAVY11 Y CUY12, los cuales se encuentran equilibrio en la población de cuyes Puno mientras que CUY05 se encontró en equilibrio en la población de Cuzco (Tabla 10).

Un exceso de homocigotos demuestra una clara pérdida de variabilidad y al mismo tiempo, evidencia la ausencia de apareamientos al azar en ambas poblaciones.

Si la proporción de genotipos para un solo locus no está en equilibrio HW, se puede atribuir a que ha habido selección que ha afectado dicho locus o a la existencia de alelos nulos, pero si son varios loci independientes los que se desvían significativamente del equilibrio HW, este fenómeno puede deberse a que dentro de la población existen

subdivisiones: efecto Wahlund a que existe migración o flujo de genes o también al manejo mediante la práctica de apareamientos dirigidos por el criador (selección artificial) (Darío, 2008).

Asimismo, como en otro estudio poblacional de cuyes (Burgos et al., 2011) se observó desvíos significativos del equilibrio de H-W, debido a un exceso de homocigotos. Entre las causales de estos desvíos podrían mencionarse a la práctica de apareamientos dirigidos por el criador (selección artificial), a una subdivisión poblacional o bien a la existencia de alelos nulos.

**Tabla 10: Test de Equilibrio Hardy-Weinberg (Intra-poblacional).**

| LOCUS  | PUNO                     |                         |        | CUZCO                    |                         |        |
|--------|--------------------------|-------------------------|--------|--------------------------|-------------------------|--------|
|        | Déficit de Heterocigotos | Exceso de Heterocigotos | HW     | Déficit de Heterocigotos | Exceso de Heterocigotos | HW     |
| MSV    | 0.0044                   | 0.997                   | 0.0181 | 0.029                    | 0.971                   | 0.0961 |
| CUY03  | 0.004                    | 0.996                   | 0      | 0.0117                   | 0.9883                  | 0.002  |
| CUY05  | 0.4537                   | 0.5519                  | 0.2135 | 0.053                    | 0.947                   | 0.13   |
| CUY07  | 0                        | 1                       | 0      | 0                        | 1                       | 0      |
| CAVY03 | 0                        | 1                       | 0      | 0.0019                   | 0.9981                  | 0      |
| MSIII  | 0.0032                   | 0.9969                  | 0      | 0.038                    | 0.962                   | 0.0409 |
| CAVY09 | 0.0105                   | 0.9895                  | 0.3196 | 0                        | 1                       | 0.0081 |
| CUY16  | 0.0003                   | 0.9997                  | 0.0004 | 0                        | 1                       | 0      |
| CAVY11 | 0.633                    | 0.3702                  | 0.739  | 0                        | 1                       | 0.267  |
| CUY12  | 0.1878                   | 0.8155                  | 0.5301 | 0.482                    | 0.9519                  | 0.2823 |

En las dos poblaciones tienen varios microsatélites en desequilibrio HW, probablemente indica que la población está bajo alguna fuerza que cambia las frecuencias genotípicas: mutación, selección, migración o deriva. En el caso de estas poblaciones se debe a la selección empírica y a los apareamientos no aleatorios que realiza los criadores, que en su mayoría son campesinos que eligen a los cuyes más grandes para autoconsumo en ocasiones especiales como bautizos, bodas, etc, y venden sus excedentes en los mercados en los días de feria para su ingreso económico y venden todo lo que sea necesario a parte de otros animales (conejos, pollos, cerdos, etc), para solventar estos rubros y dejan pocos

animales, generalmente los más pequeños para la reposición (Avilés, 2016); de esta forma actúa la migración, ya que en estas ferias se venden animales traídos de distintas provincias.

#### **4.1.6. Alelos nulos**

Debido a que se observó un déficit de heterocigotos ( $H_e > H_o$ ) en casi todos los loci a excepción de CUY05 descrito anteriormente y por ende un desequilibrio de Hardy-Weinberg. Fue necesario interpretar los valores de presencia de alelos nulos que consisten en la no detección de ciertos alelos heterocigotos, los cuales disminuyen la heterocigosidad esperada produciendo un error en la sobreestimación del nivel de homocigosidad.

La Tabla 11 muestra la frecuencia de alelos nulos de cada locus calculada mediante el programa Cervus 3.0.3, se observa que en 9 de los 10 loci las frecuencias estimadas de alelos nulos en cada locus es cercana a cero ( $F_{nulo} < 0.19$ ) por lo cual se puede considerar como nula (Fendri, 2008); es decir que el número de homocigotos detectado en cada locus es muy cercano al que existe realmente y no afectan en los resultados obtenidos ni a las conclusiones de este trabajo. En excepción de CUY07 (0.33), CAVY03 (0.18) y CUY16 (0.18) donde sí se espera una sobreestimación del nivel de homocigosidad.

Además, este análisis nos permitió descartar a los alelos nulos como una de las causas principales de la desviación del equilibrio HW. Por lo que probablemente el desequilibrio Hardy-Weinberg se deba principalmente al efecto de la selección artificial, empírica por medio del manejo de los criadores y no significativamente por los alelos nulos.

**Tabla 11: Frecuencia de alelos nulos por locus.**

| Locus  | F (null) |
|--------|----------|
| MSV    | 0.1414   |
| CUY03  | 0.1379   |
| CUY05  | 0.0276   |
| CUY07  | 0.3338   |
| CAVY03 | 0.1832   |
| MSIII  | 0.1029   |
| CAVY09 | 0.0304   |
| CUY16  | 0.1825   |
| CAVY11 | 0.0219   |
| CUY12  | 0.0426   |

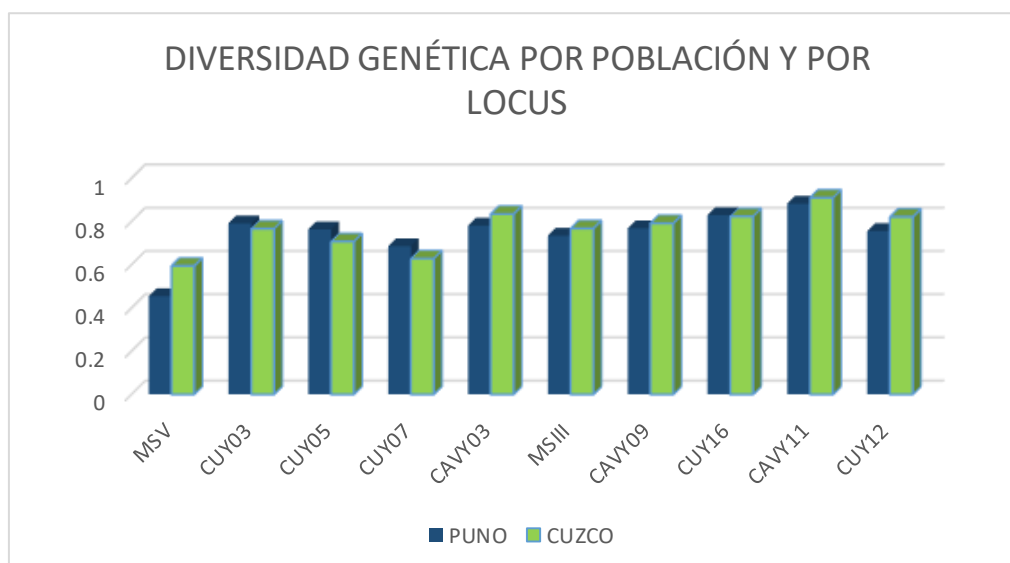
#### **4.1.7. Diversidad genética de Nei**

La diversidad genética de los 10 marcadores microsatélites fue analizada para cada población de cuyes domésticos, fue calculada mediante el programa Fstat 2.9.3.2 (Goudet 2002) . La Figura 22 y la Tabla 12, muestra, que todos los marcadores presentan una alta diversidad genética mayor a 0.5 y esta fue menor en la población de cuyes Puno (0.744) que en los cuyes Cuzco (0.764), mientras que la diversidad genética total fue de 0.767.

La diversidad genética máxima en la población de cuyes de Puno corresponde a los locus CAVY11 (0.882), CUY16 (0.829), CUY03 (0.791) CAVY03 (0.780), al igual que en la población de cuyes de Cuzco: CAVY11 (0.909), CAVY03 (0.834), CUY16 (0.823) y CUY12 (0.821). La diversidad genética más baja correspondió al locus MSV: 0.454 y 0.594, para la población de cuyes Puno y Cuzco respectivamente.

Los resultados nos muestran que los cuyes nativos de las dos regiones presentan un alto nivel de variabilidad genética, sin embargo, no es información suficiente para afirmar que esta muestra representa la máxima variabilidad genética presente en las poblaciones de cuyes de los departamentos de Cuzco y Puno, puesto que la colecta no se dio en todos los distritos de dichos departamentos, por lo que la INIA aún debe aún aumentar el número de investigaciones para encontrar la máxima variabilidad posible en estos departamentos

y coleccionar estas muestras para generar bancos de germoplasma con la más alta diversidad de estas dos regiones para su conservación de genes potenciales para el mejoramiento genético y adaptabilidad al cambio climático que se da de manera inevitable (Revista Agroinnova, 2011).



**Figura 22: Diversidad genética por locus y por población.**

**Tabla 12: Diversidad Genética por población y total.**

| LOCUS    | PUNO  | CUZCO | TOTAL |
|----------|-------|-------|-------|
| MSV      | 0.454 | 0.594 | 0.554 |
| CUY03    | 0.791 | 0.766 | 0.781 |
| CUY05    | 0.763 | 0.707 | 0.744 |
| CUY07    | 0.685 | 0.628 | 0.648 |
| CAVY03   | 0.78  | 0.834 | 0.828 |
| MSIII    | 0.734 | 0.767 | 0.774 |
| CAVY09   | 0.768 | 0.791 | 0.789 |
| CUY16    | 0.829 | 0.823 | 0.838 |
| CAVY11   | 0.882 | 0.909 | 0.909 |
| CUY12    | 0.755 | 0.821 | 0.802 |
| Promedio | 0.740 | 0.760 | 0.760 |

## 4.2. Diferenciación genética entre los cuyes domésticos de Puno y Cuzco

### 4.2.1. Estadísticos F de Wright

En la Tabla 13 se observa los estadísticos F de Wright promedios obtenidos con cada uno de los 10 marcadores microsatélites, computados mediante el programa Fstat versión 2.9.3.2 (Goudet, 2002) ; tomando a las dos poblaciones de cuyes como un total. Para esto se empleó el procedimiento de Weir y Cockerham (1984) para cada locus por medio de la estimación de los estadísticos F (FIT, FST y FIS).

La estimación del FIT indica el porcentaje de déficit medio de heterocigotos o porcentaje de exceso de homocigotos respecto al equilibrio HW. El parámetro FST nos indica el nivel de diferenciación entre las poblaciones de cuyes de Puno con respecto a Cuzco o viceversa, es decir, que parte de la variabilidad genética total se debe a las diferencias genéticas entre las dos poblaciones. Y por último está el parámetro FIS el cual indica el porcentaje promedio de desequilibrio entre las poblaciones.

**Tabla 13: Estadísticos F para todos los loci estudiados en la población total de cuyes de Puno y Cuzco.**

| LOCUS  | FIT   | FST   | FIS   |
|--------|-------|-------|-------|
| MSV    | 0.257 | 0.031 | 0.233 |
| CUY03  | 0.255 | 0.018 | 0.242 |
| CUY05  | 0.081 | 0.051 | 0.031 |
| CUY07  | 0.498 | 0.002 | 0.497 |
| CAVY03 | 0.318 | 0.034 | 0.294 |
| MSIII  | 0.203 | 0.05  | 0.161 |
| CAVY09 | 0.081 | 0.017 | 0.064 |
| CUY16  | 0.323 | 0.035 | 0.299 |
| CAVY11 | 0.059 | 0.023 | 0.037 |
| CUY12  | 0.089 | 0.009 | 0.081 |

Se observó que el marcador MSV presentó un 25,7 por ciento más de homocigotos que se esperarían en equilibrio HW; la diferenciación genética entre las poblaciones de Puno y Cuzco arrojaron un 3,1 por ciento y agregar el desequilibrio dentro de las poblaciones fue de 23,3 por ciento a favor de los homocigotos.

Se observó que el marcador CUY03 presentó un 25 por ciento más de homocigotos que se esperarían en equilibrio HW; la diferenciación genética entre las poblaciones de Puno y Cuzco arrojaron un 1,8 por ciento y asimismo el desequilibrio dentro de las poblaciones fue de 24,2 por ciento a favor de los homocigotos.

Se observó que el marcador CUY05 presentó un 8,1 por ciento más de homocigotos que se esperarían en equilibrio HW; la diferenciación genética entre las poblaciones de Puno y Cuzco arrojaron un 5,1 por ciento y asimismo el desequilibrio dentro de las poblaciones fue de 3,1 por ciento a favor de los homocigotos.

Se observó que el marcador CUY07 presentó un 49,8 por ciento más de homocigotos que se esperarían en equilibrio HW; la diferenciación genética entre las poblaciones de Puno y Cuzco arrojaron un 0,2 por ciento y asimismo el desequilibrio dentro de las poblaciones fue de 49,7 por ciento a favor de los homocigotos.

Se observó que el marcador CAVY03 presentó un 31,8 por ciento más de homocigotos que se esperarían en equilibrio HW; la diferenciación genética entre las poblaciones de Puno y Cuzco arrojaron un 3,4 por ciento y asimismo el desequilibrio dentro de las poblaciones fue de 29,4 por ciento a favor de los homocigotos.

Se observó que el marcador MSIII presentó un 20,3 por ciento más de homocigotos que se esperarían en equilibrio HW; la diferenciación genética entre las poblaciones de Puno y Cuzco arrojaron un 5 por ciento y asimismo el desequilibrio dentro de las poblaciones fue de 16,1 por ciento a favor de los homocigotos.

Se observó que el marcador CAVY09 presentó un 8,1 por ciento más de homocigotos que se esperarían en equilibrio HW; la diferenciación genética entre las poblaciones de Puno y Cuzco arrojaron un 1,7 por ciento y asimismo el desequilibrio dentro de las poblaciones fue de 6,4 por ciento a favor de los homocigotos.

Se observó que el marcador CUY16 presentó un 32,3 por ciento más de homocigotos que se esperarían en equilibrio HW; la diferenciación genética entre las poblaciones de Puno y Cuzco arrojaron un 3,5 por ciento y asimismo el desequilibrio dentro de las poblaciones fue de 29,9 por ciento a favor de los homocigotos.

Se observó que el marcador CAVY11 presentó un 5,9 por ciento más de homocigotos que se esperarían en equilibrio HW; la diferenciación genética entre las poblaciones de Puno



y Cuzco arrojaron un 2,3 por ciento y asimismo el desequilibrio dentro de las poblaciones fue de 3,7 por ciento a favor de los homocigotos.

Se observó que el marcador CUY12 presentó un 8,9 por ciento más de homocigotos que se esperarían en equilibrio HW; la diferenciación genética entre las poblaciones de Puno y Cuzco arrojaron un 0,9 por ciento y asimismo el desequilibrio dentro de las poblaciones fue de 8,1 por ciento a favor de los homocigotos.

Los microsatélites CUY07, CUY16, CAVY03 son los que más contribuyen al déficit de heterocigotos ya que presentan un 49,8; 32,3 y 31,8 por ciento más de homocigotos que lo que se esperaría en equilibrio HW, respectivamente y coincide con los marcadores que presentaron la mayor diferencia entre  $H_e$  y  $H_o$  (donde la  $H_e > H_o$ ).

Asumiendo el promedio de todos los 10 locus estudiados, los resultados muestran que, en toda la población de cuyes recolectados de los departamentos de Puno y Cuzco hay un 21.6 por ciento más de homocigotos de lo que se esperaría bajo equilibrio HW. El grado de diferenciación genética (FST) calculado para todos los loci y para todas las poblaciones, fue de 0.027; lo cual según Wright (1978), es un valor muy bajo, siendo un indicativo de poca diferenciación genética (panmixia) entre las poblaciones de cuyes evaluadas. El valor medio de FIS fue de 0.194 indicando desequilibrio a favor de los homocigotos, reflejando el efecto que tiene la selección artificial con las prácticas de apareamiento dirigido que se pueden observar entre los criadores de cuyes (Tabla 14).

**Tabla 14: Estadísticos F global de la población total de cuyes colectados en los departamentos de Puno y Cuzco.**

| FIT   | FST   | FIS   |
|-------|-------|-------|
| 0.216 | 0.027 | 0.194 |

En la siguiente tabla se observa los valores de FIS para las dos poblaciones de cuyes colectadas en los 5 distritos de los departamentos de Puno y Cuzco con los 10 marcadores tipo microsatélites en conjunto. La población de cuyes de Puno presenta un valor mayor de FIS pero similar al de los cuyes de Cuzco. Este índice es una medida indirecta de endogamia o consanguineidad y concuerda con los resultados obtenidos mediante las pruebas exactas de equilibrio HW, favoreciendo al déficit de heterocigotos. Estos valores son mayores a los obtenidos por Avilés (2016) con un promedio de 0,127 en cuyes nativos de Ecuador, esto demuestra que el nivel de endogamia en poblaciones de cuyes nativos

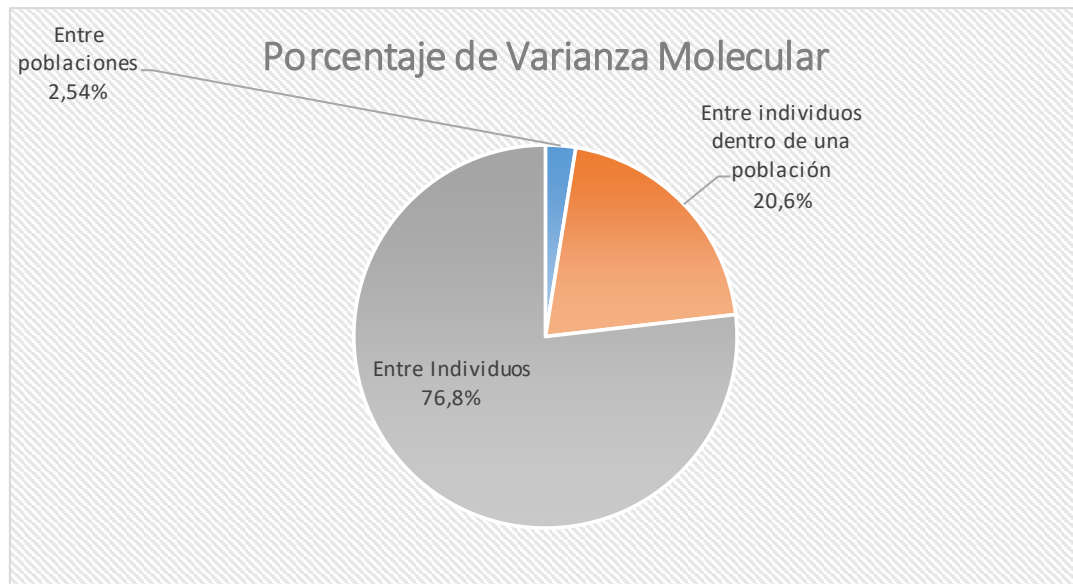
alto andinos es mayor que los nativos de Ecuador, por un manejo distinto que se da en ambos países, favoreciendo a la endogamia por una falta de información de un manejo adecuado.

**Tabla 15: Valores de FIS promedio para cada población de cuyes.**

| POBLACIÓN | FIS   |
|-----------|-------|
| PUNO      | 0.194 |
| CUZCO     | 0.184 |

#### **4.2.2. Análisis de varianza molecular**

El análisis de AMOVA, por medio del programa GenAlex 6.503 (Raymond, 1995), permitió la partición de la variabilidad genética total entre tres fuentes diferentes de variación: varianza molecular entre individuos, entre poblaciones e individuos dentro de las poblaciones. En la Figura 23 se observa que el porcentaje más alto de la variación resulta de la variabilidad entre los individuos tomándolas dos subpoblaciones como una población total con 76,8 por ciento, mientras que, el 20,6 por ciento de la variación se debió a la variabilidad en las frecuencias alélicas encontrada dentro de cada una de las dos poblaciones (Puno y Cuzco). El grado de diferenciación genética entre las poblaciones (FST) fue de 0,026, el cuál coincide con el resultado del programa Fstat 2.9.3.2., (Goudet 2002). Este valor según Wright (1978) indica poca diferenciación genética. Estos resultados son muy semejantes a los valores estimados por Avilés (2016), en el cual se realiza una varianza tomando como un solo grupo a los cuyes de Sudamérica y comparándolo con cuyes de España, dando como resultado muy poca diferenciación entre los individuos de este grupo sudamericano de cuyes.



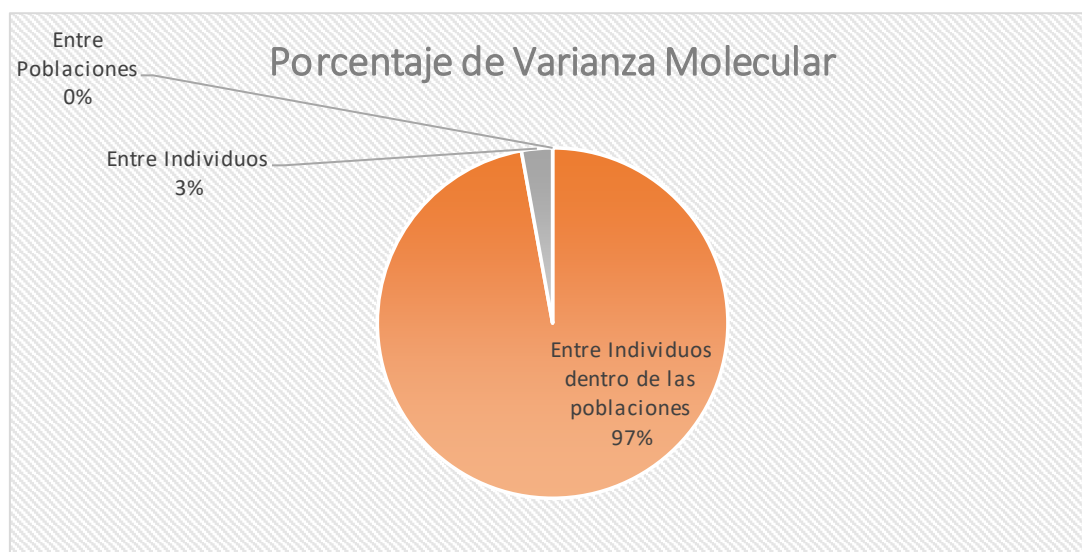
**Figura 23: Varianza molecular para el modelo de mutación simple**

**Tabla 16. Análisis de Varianza Molecular utilizando el modelo de mutación simple**

| Fuentes de Variación                   | Grados de Libertad | Suma de Cuadrados | Cuadrado Medio | Componente de Varianza | Porcentaje de Variación | FST   |
|--|--------------------|-------------------|----------------|------------------------|-------------------------|-------|
| Entre Poblaciones                      | 1                  | 20.048            | 20.048         | 0.100                  | 2.54                    | 0.027 |
| Entre Individuos dentro de Poblaciones | 170                | 785.286           | 4.619          | 0.807                  | 20.62                   |       |
| Entre Individuos                       | 172                | 517.000           | 3.006          | 3.006                  | 76.83                   |       |
| <b>Total</b>                           | <b>343</b>         | <b>1322.334</b>   |                | <b>3.912</b>           | <b>100</b>              |       |

En la prueba de AMOVA utilizando el modelo de mutación gradual o por pasos (stepwise mutation model) se obtuvo el estadístico  $RST = 0,00$ , el cual indica que la variación molecular entre subpoblaciones es 0 por ciento, indicando que las subpoblaciones presentan la misma composición a nivel molecular, la variación entre individuos dentro de poblaciones fue 97 por ciento y la variación genética entre individuos fue 3 por ciento. En este estudio, el estadístico  $Rst (0.000)$  mostró un valor de 0 (panmixia) indicando que las poblaciones indican una misma composición a nivel de frecuencias alélicas (Figura

24). El estadístico  $R_{st}$  se usa con la finalidad de reforzar o refutar el valor  $F_{st}$ , debido a su capacidad de rechazar la alta y compleja tasa de mutación presente en los microsatélites y por lo tanto evitar la sobreestimación del grado de diferenciación genética por homoplasia (Balloux y Lugon 2002, Estoup et al. 2002, Hardy et al. 2003).



**Figura 24: Varianza molecular para el modelo de mutación gradual o por pasos.**

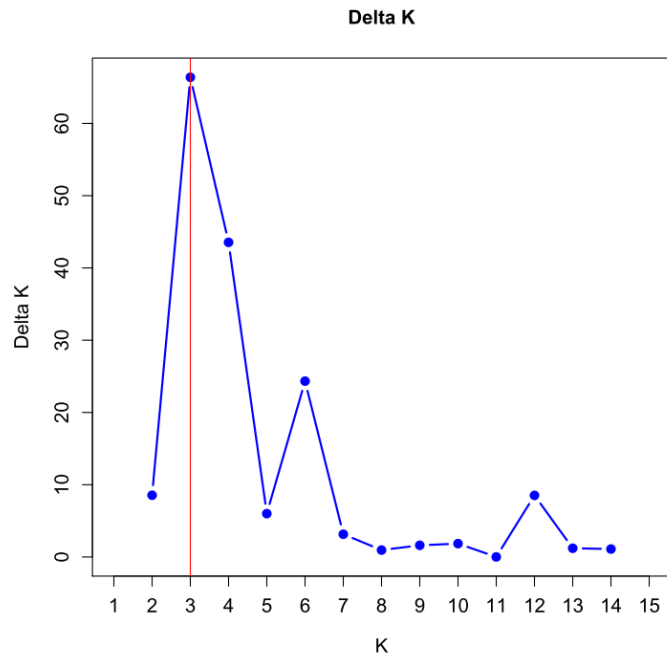
**Tabla 17. Análisis de Varianza Molecular utilizando el modelo de mutación gradual o por pasos.**

| Fuentes de Variación                          | Grados de Libertad | Suma de Cuadrados | Cuadrado Medio | Componente de Varianza | Porcentaje Variación | $R_{st}$ |
|---|--------------------|-------------------|----------------|------------------------|----------------------|----------|
| <b>Entre Poblaciones</b>                      | 1                  | 9545.097          | 9545.097       | 0.000                  | 0                    | 0.000    |
| <b>Entre Individuos dentro de Poblaciones</b> | 170                | 4422544.11        | 26014.965      | 12818.983              | 97                   |          |
| <b>Entre Individuos</b>                       | 172                | 64844.000         | 377.000        | 377.000                | 3                    |          |
| <b>Total</b>                                  | 343                | 4496933.21        |                | 13195.983              | 100                  |          |

### 4.2.3. Estructura de la población

La estructura poblacional en las dos poblaciones analizadas: Puno y Cuzco, mediante el uso de los 10 marcadores microsatélites, se evaluó mediante la inferencia bayesiana en *parallelStructure*. Con este programa se hace un análisis de agrupamiento de individuos estudiados en función a su semejante genético, en diferentes números de clusters (K) que representan la cantidad o el número de poblaciones asumidas utilizando un modelo bayesiano de mezcla en el cual cada genotipo podría ser variable con respecto a las poblaciones ancestrales de las que proviene (Estévez, 2009; Paredes 2013). La grafica (ver figura 26) que dibuja el programa se presenta n barras verticales, si esta es de un mismo color significa que el 100 por ciento del genoma de ese individuo pertenece a ese cluster (K), así mismo si tiene dos o más colores significa que comparte el genoma con otros clusters (K) (Darío 2008).

Mediante las corridas correspondientes al programa *parallelSTRUCTURE* (Pritchard et al. 2003), estas se realizaron 15 de manera independiente (K=1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15) y estas fueron repetidas para corroborar la consistencia de los resultados, para encontrar el verdadero valor de K, se usó en programa en línea *STRUCTURE HARVESTER* 0.6, descrito anteriormente, el cual indicó que el valor de K ideal es de tres (ver tabla 18), en la figura 26 se observa la composición molecular de cada departamento, en el departamento de Puno se observa claramente una diferenciación de entre las dos mitades de la población, esto se da debido a que los individuos tomados de la estación de la INIA en Puno pueden estar en un proceso de diferenciación genética, con un  $F_{st}$  del 16 por ciento, observándose una estructuración dentro de esta, mientras que en el departamento de Cuzco indica que sus individuos comparten alelos idénticos entre la población como lo demuestra Avilés (2016), puesto que en Cuzco hay un proceso de flujo genético alto, el cual se observa una falta de estructuración en esta población.



**Figura 25: Curva de Delta de K.**

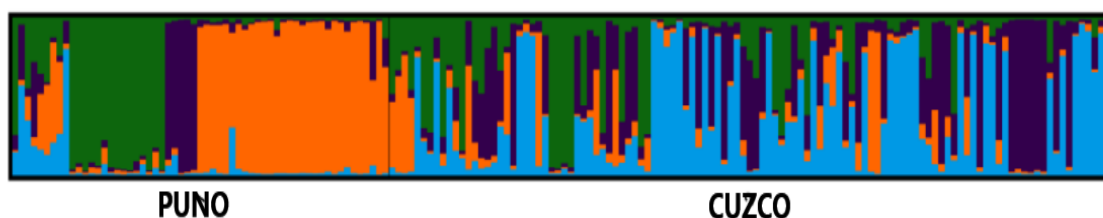
**Tabla 18: Mejor valor para Delta de K.**

| K  | Reps | Mean     | Stdev<br>LnP(K) | Ln'(K) | Ln''(K) | Delta K  |
|----|------|----------|-----------------|--------|---------|----------|
| 1  | 10   | -5868.52 | 0.18135         | NA     | NA      | NA       |
| 2  | 10   | -5674.18 | 2.41927         | 194.34 | 20.68   | 8.54802  |
| 3  | 10   | -5500.52 | 0.85739         | 173.66 | 56.92   | 66.38782 |
| 4  | 10   | -5383.78 | 1.13608         | 116.74 | 49.47   | 43.54466 |
| 5  | 10   | -5316.51 | 4.23935         | 67.27  | 25.43   | 5.99856  |
| 6  | 10   | -5223.81 | 2.7327          | 92.7   | 66.51   | 24.33854 |
| 7  | 10   | -5197.62 | 4.67613         | 26.19  | 14.74   | 3.15218  |
| 8  | 10   | -5156.69 | 9.18724         | 40.93  | 8.8     | 0.95785  |
| 9  | 10   | -5124.56 | 7.27968         | 32.13  | 11.77   | 1.61683  |
| 10 | 10   | -5080.66 | 15.19051        | 43.9   | 28.12   | 1.85116  |
| 11 | 10   | -5064.88 | 11.35809        | 15.78  | 0.1     | 0.0088   |
| 12 | 10   | -5049    | 9.04556         | 15.88  | 77.11   | 8.52462  |
| 13 | 10   | -5110.23 | 31.83384        | -61.23 | 38.54   | 1.21066  |
| 14 | 10   | -5210    | 82.08014        | -99.77 | 90.5    | 1.10258  |
| 15 | 10   | -5219.27 | 51.26294        | -9.27  | NA      | NA       |

K=3



K=4



**Figura 26: Estructura poblacional de los Departamentos de Puno Y Cuzco (K =3 Y K = 4).**

### 4.3. Flujo génico

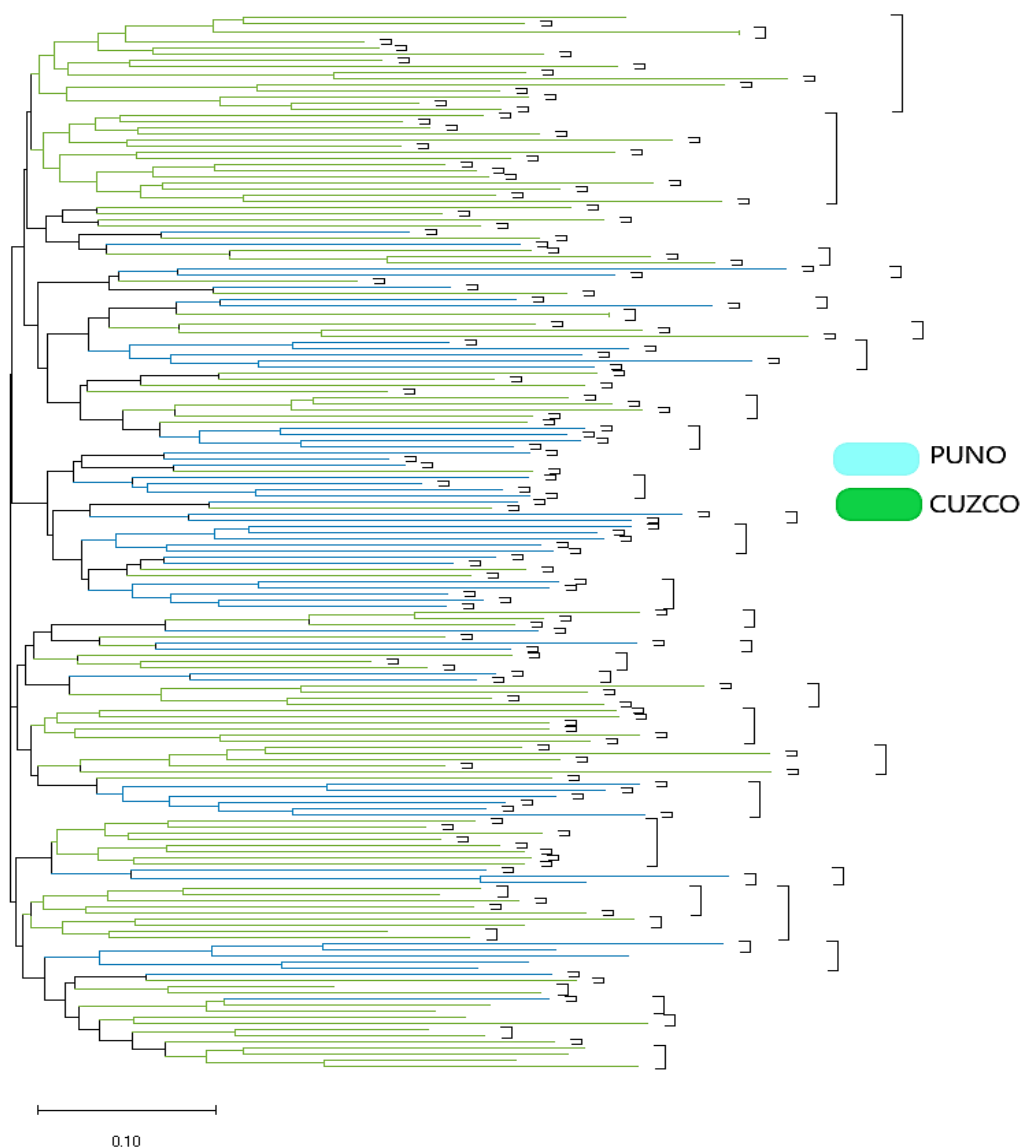
El software estadístico Genepop 4.7.0. (Peakall et al., 2012) fue utilizado para calcular el valor del flujo genético entre las poblaciones estudiadas. Primero se obtuvo el número de migrantes ( $Nm$ ) utilizando los alelos privados. La frecuencia promedio de alelos privados = 0,02 y un número de migrantes por generación igual a 3,84.

El número de migrantes por generación es igual a 3,84 (lo cual indica que migran 3,84 individuos cada generación) demostrando según Piñero (2008) una estructura genética muy baja entre las poblaciones de cuyes nativos en los dos departamentos estudiados, aunque existan migrantes, estos no son suficientes para que el comportamiento de la dos poblaciones en función a sus frecuencias alélicas sea como una población panmixica, así mismo, resaltar que en estas poblaciones no se da los efectos de la deriva génica y no se da una diferenciación local de cada población.

### 4.4. Árbol de distancias entre individuos

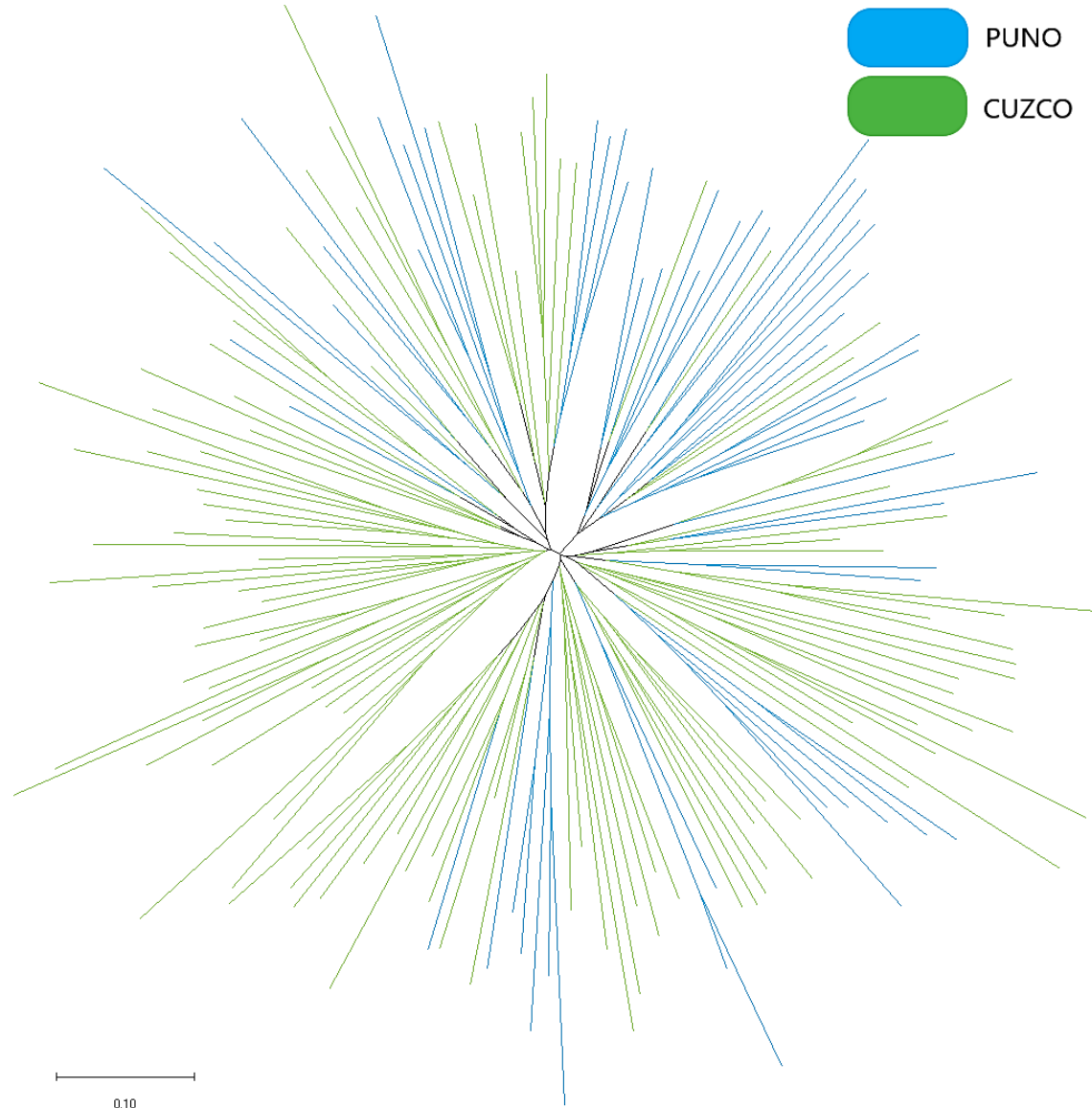
En la Figura 27 y Figura 28 se observan los árboles de distancias individuales  $D_{sa}$  (Bowcock et al. 1994, Avilés 2016) construido con el método de neighbor-joining, con

diferente representación de las dos poblaciones de cuyes, en estas figuras se observa algún tipo de agrupamiento tanto de los cuyes nativos domésticos de Puno como de Cuzco. Observando agrupaciones cercanas en las poblaciones de Cuzco y Puno, si bien existen agrupaciones en cada población están presentas tres o cuatro grupos un tanto distanciados dentro de cada población a diferencia de la tesis de Avilés (2016) donde los cuyes sudamericanos presentan distancias muy cercanas, pero no representan estas agrupaciones.



**Figura 27: Árbol de distancias individuales DSA construido con el método de Neighbor-Joining (Tipo tradicional).**



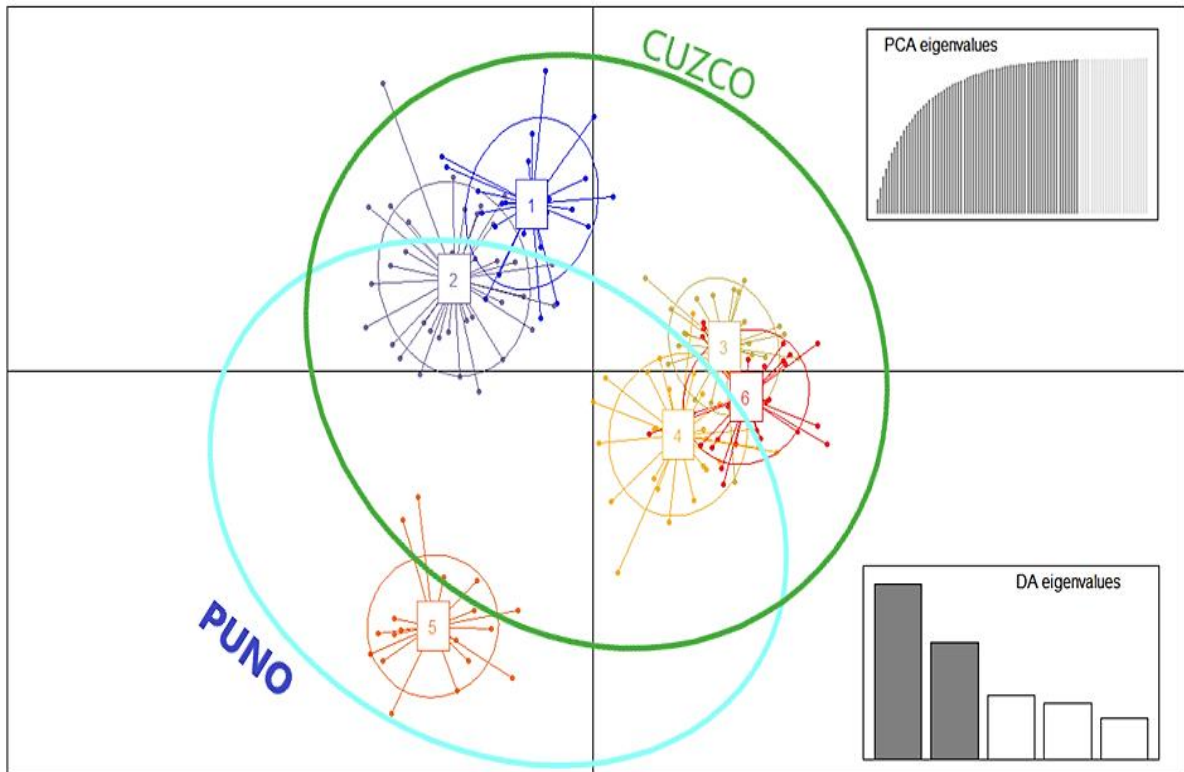


**Figura 28: Árbol de distancias individuales DSA construido con el método de Neighbor-Joining (Tipo radial).**

#### **4.5. Análisis discriminante de componentes principales (D.A.P.C)**

En el análisis DAPC, se encontró un  $K=3$ , usando los métodos k-means y snapclust. Con estos resultados del DAPC se demuestra como en las poblaciones de Puno y Cuzco se observa una estructuración genética. En la población de Puno se observó que presenta los tres tipos de clusters de manera proporcional y agregar que en la población de Puno se observa clusters más distanciados, dando a entender una estructuración más marcada en esta, mientras que en Cuzco se observa en mayoría dos tipos de cluster y un porcentaje muy bajo del tercer tipo de *cluster*. Tomando como a toda una población (Figura 29).

Agregar que en la Figura 29 se muestra que en el Análisis de Componentes un 75 por ciento de las variables explican un 95 por ciento de los resultados, así mismo en el análisis discriminante las dos primeras barras verticales explican un 90 por ciento de los resultados.



**Figura 29: Gráfica del Análisis discriminante de componentes principales (DAPC), señalando las regiones comprendidas de Puno y Cuzco.**

## V. CONCLUSIONES

- Los niveles de Heterocigosidad, el contenido de información polimórfica (PIC), el polimorfismo detectado, demuestran que este panel puede ser útil para realizar estudios de variabilidad genética en los cuyes domésticos colectados en zonas alejadas de los departamentos de Puno y Cuzco.
- Existe alto grado de diversidad en las poblaciones de Cuzco y Puno, gracias a los datos obtenidos de la diversidad genética de Nei y el Contenido de información polimórfica (PIC).
- El índice FIS relacionado al grado de endogamia en las poblaciones de Puno y Cuzco son elevados debido a la falta de un programa tecnificado de crianza de los campesinos ubicados en las zonas alejadas alto andinas.
- El análisis de la estructura genética inter-poblacional con marcadores microsatélites indicó que no existe una diferenciación significativa entre las dos poblaciones de cuyes estudiadas, sin embargo, se observó una diferenciación genética alta dentro de la población Puno.
- El DAPC es una herramienta útil para explotar la estructura de poblaciones basada en PCA y DA sin hacer suposiciones de Panmixia. Por lo tanto, esta técnica proporciona una alternativa robusta a los métodos de agrupamiento bayesianos como STRUCTURE.
- Este estudio contribuye al conocimiento de la diversidad genética del cuy; así mismo, es una línea base para tomar decisiones en cuanto a conservación de recursos genéticos

## **VI. RECOMENDACIONES**

- La diferenciación genética entre los fenotipos de cuyes de Puno y Cuzco debe ser estudiada mediante el análisis de alelos relacionados con diferencias fenotípicas observadas, estos podrían identificar variantes alélicas relacionadas a los fenotipos estudiados.
- Implementar un programa adecuado para cuyes domésticos nativos en el cual se pueda controlar el índice de endogamia.
- Se debe hacer una caracterización morfológica más completa y productiva en los cuyes en estudio, para complementar los datos obtenidos y realizar un programa de mejora genética de estos cuyes acorde a la relación de cada población.
- Aplicar un estudio a un mayor número de microsatélites polimórficos para la especie, y, para aquellos loci que se encuentran bajo la influencia de selección natural, determinar su relación con regiones que puedan estar ligadas a genes involucrados con procesos adaptativos que presentan estos cuyes nativos.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACUÑA, W. (2016). Determinación de la diversidad y estructura genética de patos criollos (*Cairina moschata l. 1758*) de los departamentos de Lambayeque y San Martín mediante el uso de microsatélites. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
2. ANDERSON, A.; CHURCHILL, G. A.; AUTRIQUE, J. E.; TANKSLEY S. D. Y SORRELLS M. (1993). Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome*.
3. ARANGUREN, J; JORDANA, J; Y M. GÓMEZ. (2001). Genetic diversity in Spanish donkey breeds using microsatellite DNA markers. *Genetics Selection and Evolution* 33: 243-252.
4. ARCHETTI, E. (1997). Guinea-pigs: Food, symbol, and conflict of knowledge in Ecuador.
5. ASHER, M., LIPPMANN, T., EPPLEN, JT., KRAUS, C., TRILLMICH, F., & SACHSER, N. (2008). Large males dominate: ecology, social organization, and mating system of wild cavies, the ancestors of the guinea pig. *Behav Ecol Sociobiol* 62: 1509-1521.
6. AVILÉS, D. (2016). Caracterización genética del cuy doméstico en américa del sur mediante marcadores moleculares. Universidad de Córdoba. Córdoba-España.
7. BACHER, J.W., L.F. HENNES, W. GU, ET AL. (1999). Pentanucleotide repeats: highly polymorphic genetic markers displaying minimal stutter artifact. *Proceedings of the Ninth International Symposium on Human Identification*. Madison, Wisconsin: Promega Corporation. Pp. 24–37.
8. BALLOUX F. & N. LUGON. (2002). The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology* 11(2): 155–165

9. BELKHIR, K., BORSA, P., CHIKHI, L., RAUFASTE, N., & BONHOMME, F. (2003). Genetix: 4.0.5. Logiciel sous Windows™ pour la genétique des populations, In: U. d. Montpellier Ed. Montpellier, France.
10. BELLO N., O. FRANCINO & A. SÁNCHEZ. (2001). Isolation of genomic DNA from feathers. *Journal of veterinary diagnostic investigation* 13(2): 162–164.
11. BOETTCHER P.J., M. TIXIER-BOICHARD, M.A. TORO, ET AL. (2010). Objectives, criteria and methods for using molecular genetic data in priority setting for conservation of animal genetic resources. *Animal Genetics* 41(1): 1–14.
12. BONIN, A; BELLEMAIN, E; BRONKEN, E; Y F. POMPANON. (2004). How to track and assess genotyping errors in population genetics studies. *Mol. Ecol.* 13: 3261-3273.
13. BOTSTEIN, D; WHITE, M; SKOLNICK, M; Y R. DAVIS. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.* 32: 314-331.
14. BOWCOCK, AM., RUIZ-LINARES, A., TOMFOHRDE, J., MINCH, E., KIDD, JR., & CAVALLI SFORZA, LL. (1994). High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature* 368:455-457.
15. BURGOS, W; CERÓN, M; SOLARTE, C. (2011). Genetic diversity and population structure of the Guinea pig (*Cavia porcellus*, Rodentia, Caviidae) in Colombia. *Sociedade Brasileira de Genética*. BrazilCabrera, A. (1953). Los roedores argentinos de la familia Caviidae. Universidad de Buenos Aires. Publicación 6: 48-56.
16. BUTLER J. M. (2005). Forensic DNA typing: biology, technology, and genetics of STR markers. United States of America: Elsevier Academic Press, 627 p. ISBN 0-12-147952-8.
17. CHAUCA, L. (1997). Producción de Cuyes (*Cavia porcellus*). Estudio de la FAO Producción y Sanidad Animal. [En línea]. La Molina – Perú. 77 p. Consultado 28 de febrero de 2017. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/w6562s/w6562s.htm#TopOfPage>
18. CHAUCA, L. (1999). Importancia de la crianza de cuyes en Latinoamérica y sistemas de producción. [En línea]: In Memorias del V Curso y Congreso Latinoamericano de Cuyecultura y Mesa Redonda sobre Cuyecultura Perubiana. Ed. FUDECI. Puerto Ayacucho, Venezuela. 159 p. Consultado 05 de marzo de 2017. Disponible en: <http://www.fudeci.org.ve/adds/congreso.pdf>

19. CHAUCA, L. (2007). Realidad y retrospectiva de la crianza de cuyes en los países andinos. [En línea]: In Archivo Latinoamericano de Producción animal. Vol. 15 (Supl. 1). XX Reunión ALFA. XXX Reunión APPA. Cusco - Perú. Consultado el 01 de marzo de 2017. Disponible en: [http://www.alpa.org.ve/PDF/Arch%2015%20Supl/s\\_cuyes.pdf](http://www.alpa.org.ve/PDF/Arch%2015%20Supl/s_cuyes.pdf).
20. CROW, J; Y M. KIMURA. (1970). An introduction to population genetics theory. (Harper y Row, Publishers, Inc., N.Y.)
21. DAWSON RJ, GIBBS HL, HOBSON KA, YEZERINAC SM. (1997). Isolation of microsatellite DNA markers from a passerine bird, *Dendroica petechia* (the yellow warbler), and their use in population studies. *Heredity*. (Pt 5):506-14.
22. DAVID, L; SCOTT, L; Y C. STEPHEN. (1993). An alternate universal forward primer for improved automated DNA sequencing of M13. *BioTechniques*, 15: 580—582.
23. DARÍO, R. (2008). Caracterización genética y morfológica del ovino criollo argentino de origen patagónico. Tesis para optar el grado de Doctor. Universidad Politécnica de Valencia.
24. DUNNER, S. Y CAÑON, J. (2001). Aplicaciones de Genómica en Laboratorios de Producción Animal. Laboratorio de Genética. Facultad de Veterinaria de la UCM. Madrid - España.
25. EGUIARTE, L. SOUZA, V. Y AGUIRRE, X. COMPS. (2007). *Ecología Molecular*. Primera edición. SEMARNAT, CONABIO. [En línea]. México, D.F. 608 p. Consultado el 02 de marzo de 2017. Disponible en: [http://www.ecologia.unam.mx/laboratorios/dinamica\\_de\\_poblaciones/gente\\_dinapo/b/meli/papers\\_pdf/libro\\_ecologia\\_molecular.pdf](http://www.ecologia.unam.mx/laboratorios/dinamica_de_poblaciones/gente_dinapo/b/meli/papers_pdf/libro_ecologia_molecular.pdf).
26. ESTÉVEZ, C. (2009). Estudio sobre la caracterización genética de las razas caprinas Mallorquina e Ibicenca. Tesis para optar el título de Magister en Zootecnia y Gestión Sostenible. Universidad de Córdoba.
27. ESTOUP A., P. JARNE & J. CORNUET. (2002). Homoplasy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetics analysis. *Molecular Ecology* 11(9): 1591–604.
28. EVANNO, G.S; REGNAUT & J. GOUDET. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14 :2611–2620.

29. FENDRI, M. (2008). Uso de Marcadores Microsatélites (SSRs) para el análisis de la variabilidad molecular y la identificación de las variedades de olivo del banco de germoplasma de “boughrara” (Sfax, Túnez). Tesis presentada para optar al título de Master en Olivicultura y Elaiotecnia, Córdoba.
30. FRANKHAM R., J.D. BALLOU & D.A. BRISCOE. (2002). Introduction to Conservation Genetics. Second Ed. New York: Cambridge University Press. 594pags.
31. GOUDET, J. (2002). FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). University of Lausanne, Department of Ecology and Evolution, Lausanne, Switzerland.
32. GUZMÁN, C. (2000). Caracterización de fenotipo y genotipo de cuyes *Cavia porcellus* para la determinación de razas o tipos. Tesis Ingeniero Agropecuario. Sangolquí – Ecuador, Escuela Politécnica del Ejército. 129 p.
33. HARDY, G. (1908). Mendelian proportions in a mixed population. *Science*. 28: 49-50.
34. HARDY O.J, N. CHARBONNEL, H. FRÉVILLE. (2003). Microsatellite allele sizes: a simple test to assess their significance on genetic differentiation. *Genetics* 163(4): 1467– 82.
35. HART D. L. & CLARK A.G. (1989). Principles of Population Genetics. Second ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, U.S.A.
36. HUCKINGHAUS, F. (1961). Zur Nomenclatur und Abstammung des Hausmeerchweinchens. Instituto de la Ciencia de animales domésticos de la Universidad Christian-Albrechts, Kiel, Alemania, 26(2): 65-128.
37. ISAGI Y. & SUHANDONO S. (1997). PCR primers amplifying microsatellite loci of *Quercus myrsinifolia* Blume and their conservation between oak species. *Molecular Ecology*, Vol. 6, No 9, p. 897-899.
38. JOMBART T., DEVILLARD S., BALLOUX F. (2010). Discriminant analysis of principal components: A new method for the analysis of genetically structured populations. *BMCgenetics* 11:94. Available at: <http://www.biomedcentral.com/1471-2156/11/94>.
39. KANITZ, R., TRILLMICH, F., & BONATTO, SL. (2009). Characterization of new microsatellite loci for the South-American rodents *Cavia aperea* and *C. magna*. *Conservation Genet Páginas*: 47–50.



40. KESSEL J., & BARROS H. (1997). *Manos sabias para criar la Vida*. Quito, Ecuador. Congreso Internacional de Americanistas. 186pp.
41. KOUAKOU, PK., SKILTON, R., APOLLINAIRE, D., AGATHE, F., BEATRICE, G., & CLÉMENT, AS. (2015). Genetic diversity and population structure of cavy (*Cavia porcellus* L) in three agro ecological zones of Côte d'Ivoire. *Internacional Journal of Agronomy and Agricultural Research* 6: 27-35.
42. KLOOSTERMAN A. D. & KERSBERGEN P. (2003). Efficacy and limits of genotyping low copy number DNA samples by multiplex PCR of STR loci. En *International Congress Series*. Elsevier. p. 795-798.
43. MISSIAGGIA, A; Y D. GRATTAPAGLIA. (2006). Plant microsatellite genotyping with 4-color fluorescent detection using multiple-tailed primers *Genetics and Molecular Research*. 5: 72-78.
44. MORÓN, J. (2013). *Caracterización Molecular en Ovinos (*Ovis aries*) Assaf, Blackbelly y Asblack Utilizando Marcadores Microsatélites*.
45. MULLIS K. (1990). The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci Am*: 56-61.
46. MURILLO, J. (2010). *Caracterización molecular de clones de theobroma cacao L., por medio de marcadores moleculares microsatélites*.
47. NEI, M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided population. *Proceedings of the National Academy of Science*. 70: 3321-3323.
48. NEI, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*. 89: 583-590
49. NEILAN, B; WILTON, A; Y D. JACOBS. (1997). A universal procedure for primer labeling of amplicons. *Nucleic Acids Research*. 25: 2938-2939.
50. OBLESSUC, P; CAMPOS, T; CARDOSO, K; SFORÇA, A; BARONI, M; SOUZA, P; Y L. BENCHIMOL. (2009). Adaptation of fluorescent technique for genotyping with new microsatellite markers in common bean. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 44:638-644
51. OETTING, S; LEE, K; FLANDERS, J; WEISNER, L; SELLERS, A; Y A. KING. (1995). Linkage analysis with multiplexed short tandem repeat polymorphisms using infrared fluorescence and M13 tailed cebador. *Genomics* 30: 450-458.
52. PACKER, B; YEAGER, M; STAATS, B; WELCH, R; CRENSHAW, A; KILEY, M; ECKERT, A; BEERMAN, M; MILLER, E; BERGEN, A; ROTHMAN, N; STRAUSBERG, R; Y S. CHANOCK. (2004). SNP500Cancer: a public resource for

- sequence validation and assay development for genetic variation in candidate genes. *Nucleic Acids Research*. Vol. 32.
53. PAREDES, G. (2013). Caracterización molecular de las llamas (*Lama glama*) ch'aku y ccara del banco de germoplasma de alpacas de color y llamas del centro experimental illpa-inia anexo quimsachata, usando marcadores microsatélites.
  54. PEAKALL, R; SMOUSE, P.E. (2012). GenALEX 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research- an update. *Bioinformatics*.
  55. PIÑERO, D. (2008). La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México, en *Capital natural de México*, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México, pp. 415-435.
  56. PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; & DONNELLY, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.
  57. PULGAR VIDAL J. (1952). El Curi o cuy. Colombia.
  58. RAMÍREZ, O. (2005). Diversidad genética entre poblaciones domésticas de cuyes y sus afinidades filogenéticas con los cuyes silvestres. Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia.
  59. RAYMOND, M. (1995). GENEPOP: Population genetics software for exact tests and ecumenism. Vers. 1.2. *J Heres*. 86:248-9
  60. REVISTA INSTITUCIONAL AGROINNOVA-INIA. (2014). Año 5 Edición Nro. 10.
  61. RIENTE, L. (2011). Conceptos de genética III. *Círculo Identitario Nietzsche*. (en línea). México. 15 p. Consultado el 20 de marzo del 2017. Disponible en: <http://circulo-identitario-nietzsche.blogspot.pe/2011/07/conceptos-basicos-de-genetica-iii.html>.
  62. ROUSSET, F. (2017). GENEPOP: Population genetics software for exact tests and ecumenism.
  63. RSTUDIO TEAM (2015). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
  64. SCHUELKE, M (2000) An economic method for the fluorescent labeling PCR fragments. *Nature Biotechnology*. 18: 233-234.
  65. SLATKIN, M. (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*. 139: 457-462
  66. SOLARTE, P. C. Y ROSERO, G. C. (2008). Aplicaciones Actuales y Potenciales de Genética en Producción Animal. [En línea]. *TENDENCIAS*, Revista de la Facultad

- de Ciencias Económica y Administrativas Universidad de Nariño: 1 – 19. Consultado 11 de marzo de 2017. Disponible en: <http://www.udenar.edu.co/general/tendencias/contenidos/Vol9.2/SOLARTE.pdf>.
67. TAUTZ D. (1989). Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research* 17: 6463-6471.
  68. URQUHART A., C. KIMPTON, T. DOWNES. (1994). Variation in short tandem repeat sequences a survey of twelve microsatellite loci for use as forensic identification markers. *International Journal of Legal Medicine* 107: 13–20.
  69. VALLEJO, A. (2008). Impacto de diferentes sistemas de manejo en la estructura genética poblacional de *Vicugna vicugna*. Tesis para optar el Grado de Magister Scientiae. UNALM. Especialidad en Producción Animal. Escuela de Post Grado. p. 60 - 120.
  70. WEINBERG W. (1908). Über den nachweis der vererbung beim menschen. *Jh Ver vaterl Naturk Wurttemb*. P.64:369-82.
  71. WEIR, BS., & COCKERHAM, CC. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
  72. WRIGHT, S. (1978). *Evolution and the Genetics of Populations vol. 4, Variability Within and Among Natural Populations*. University of Chicago Press, Chicago, IL.
  73. YALTA, CE. (2014). Variabilidad genética poblacional de alpacas *vicugna pacos* determinada por marcadores microsatélites en el Centro Piloto Munay Paqocha y del fundo Itita, Puno-Perú. Facultad de Ciencias biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
  74. ZALDÍVAR, A. M. (1976). Crianza de cuyes y generalidades. I Curso nacional de cuyes, Universidad Nacional del Centro, Huancayo, Perú. 23 pp.



**Anexo 2: Cuadro de la Toma de Muestras en la Población.**

| N° | Organismo | RAZA   | TIPO | COD. MUESTR A LABORATORIO | SEXO | TIPO DE MUESTR A | FECHA      | DEPARTAMENTO | PROVINCIA | DISTRITO | COMUNIDAD |
|----|-----------|--------|------|---------------------------|------|------------------|------------|--------------|-----------|----------|-----------|
| 1  | Cuy       | Nativo | 1    | CP-698                    | M    | Pelo             | 17/07/2017 | Puno         | Moho      | Moho     | Umuchi    |
| 2  | Cuy       | Nativo | 1    | CP-699                    | H    | Pelo             | 17/07/2017 | Puno         | Moho      | Moho     | Umuchi    |
| 3  | Cuy       | Nativo | 1    | CP-700                    | H    | Pelo             | 17/07/2017 | Puno         | Moho      | Moho     | Umuchi    |
| 4  | Cuy       | Nativo | 1    | CP-701                    | M    | Pelo             | 17/07/2017 | Puno         | Moho      | Moho     | Umuchi    |
| 5  | Cuy       | Nativo | 4    | CP-702                    | H    | Pelo             | 17/07/2017 | Puno         | Moho      | Moho     | Umuchi    |
| 6  | Cuy       | Nativo | 1    | CP-703                    | M    | Pelo             | 17/07/2017 | Puno         | Moho      | Moho     | Umuchi    |
| 7  | Cuy       | Nativo | 1    | CP-704                    | H    | Pelo             | 17/07/2017 | Puno         | Moho      | Moho     | Umuchi    |
| 8  | Cuy       | Nativo | 4    | CP-705                    | H    | Pelo             | 17/07/2017 | Puno         | Moho      | Moho     | Umuchi    |
| 9  | Cuy       | Nativo | 3    | CP-706                    | M    | Pelo             | 17/07/2017 | Puno         | Moho      | Moho     | Umuchi    |
| 10 | Cuy       | Nativo | 3    | CP-707                    | H    | Pelo             | 17/07/2017 | Puno         | Moho      | Moho     | Umuchi    |
| 11 | Cuy       | Nativo | 1    | CP-708                    | H    | Pelo             | 17/07/2017 | Puno         | Moho      | Moho     | Umuchi    |
| 12 | Cuy       | Nativo | 1    | CP-709                    | M    | Pelo             | 17/07/2017 | Puno         | Moho      | Moho     | Umuchi    |
| 13 | Cuy       | Nativo | 1    | CP-710                    | H    | Pelo             | 17/07/2017 | Puno         | Moho      | Moho     | Umuchi    |
| 14 | Cuy       | Nativo | 3    | CP-711                    | H    | Pelo             | 17/07/2017 | Puno         | Moho      | Moho     | Umuchi    |
| 15 | Cuy       | Nativo | 1    | CP-712                    | H    | Pelo             | 17/07/2017 | Puno         | Moho      | Moho     | Umuchi    |

Continuación...

|    |     |        |   |        |   |      |            |      |          |              |  |
|----|-----|--------|---|--------|---|------|------------|------|----------|--------------|--|
| 16 | Cuy | Nativo | 2 | CP-713 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Huancané | Vilque Chico |  |
| 17 | Cuy | Nativo | 4 | CP-714 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Huancané | Vilque Chico |  |
| 18 | Cuy | Nativo | 4 | CP-715 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Huancané | Vilque Chico |  |
| 19 | Cuy | Nativo | 4 | CP-716 |   | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Huancané | Vilque Chico |  |
| 20 | Cuy | Nativo | 1 | CP-717 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Huancané | Vilque Chico |  |
| 21 | Cuy | Nativo | 2 | CP-718 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Huancané | Vilque Chico |  |
| 22 | Cuy | Nativo | 2 | CP-719 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Huancané | Vilque Chico |  |
| 23 | Cuy | Nativo | 1 | CP-720 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Huancané | Vilque Chico |  |
| 24 | Cuy | Nativo | 2 | CP-721 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Huancané | Vilque Chico |  |
| 25 | Cuy | Nativo | 2 | CP-722 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Huancané | Vilque Chico |  |
| 26 | Cuy | Nativo | 2 | CP-723 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Huancané | Vilque Chico |  |
| 27 | Cuy | Nativo | 2 | CP-724 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Huancané | Vilque Chico |  |
| 28 | Cuy | Nativo | 2 | CP-725 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Huancané | Vilque Chico |  |
| 29 | Cuy | Nativo | 2 | CP-726 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Huancané | Vilque Chico |  |
| 30 | Cuy | Nativo | 2 | CP-727 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Huancané | Vilque Chico |  |
| 31 | Cuy | Nativo | 1 | CP-728 | M | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Huancané | Vilque Chico |  |
| 32 | Cuy | Nativo | 1 | CP-729 |   | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Moho     | Conima       |  |
| 33 | Cuy | Nativo | 2 | CP-730 |   | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Moho     | Conima       |  |

Continuación...

|    |     |        |   |        |   |      |            |      |      |             |  |
|----|-----|--------|---|--------|---|------|------------|------|------|-------------|--|
| 34 | Cuy | Nativo | 3 | CP-731 |   | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Moho | Conima      |  |
| 35 | Cuy | Nativo | 1 | CP-732 |   | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Moho | Conima      |  |
| 36 | Cuy | Nativo | 1 | CP-733 |   | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Moho | Conima      |  |
| 37 | Cuy | Nativo | 1 | CP-734 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Puno | Paucarcolla |  |
| 38 | Cuy | Nativo | 1 | CP-735 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Puno | Paucarcolla |  |
| 39 | Cuy | Nativo | 1 | CP-736 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Puno | Paucarcolla |  |
| 40 | Cuy | Nativo | 1 | CP-737 | M | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Puno | Paucarcolla |  |
| 41 | Cuy | Nativo | 1 | CP-738 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Puno | Paucarcolla |  |
| 42 | Cuy | Nativo | 1 | CP-739 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Puno | Paucarcolla |  |
| 43 | Cuy | Nativo | 1 | CP-740 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Puno | Paucarcolla |  |
| 44 | Cuy | Nativo | 1 | CP-741 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Puno | Paucarcolla |  |
| 45 | Cuy | Nativo | 1 | CP-742 | M | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Puno | Paucarcolla |  |
| 46 | Cuy | Nativo | 1 | CP-743 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Puno | Paucarcolla |  |
| 47 | Cuy | Nativo | 1 | CP-744 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Puno | Paucarcolla |  |
| 48 | Cuy | Nativo | 1 | CP-745 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Puno | Paucarcolla |  |
| 49 | Cuy | Nativo | 1 | CP-746 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Puno | Paucarcolla |  |
| 50 | Cuy | Nativo | 1 | CP-747 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Puno | Paucarcolla |  |
| 51 | Cuy | Nativo | 1 | CP-748 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno | Puno | Paucarcolla |  |

Continuación...

|    |     |        |   |        |   |      |            |       |          |             |  |
|----|-----|--------|---|--------|---|------|------------|-------|----------|-------------|--|
| 52 | Cuy | Nativo | 1 | CP-749 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno  | Puno     | Paucarcolla |  |
| 53 | Cuy | Nativo | 1 | CP-750 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno  | Puno     | Paucarcolla |  |
| 54 | Cuy | Nativo | 1 | CP-751 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno  | Puno     | Paucarcolla |  |
| 55 | Cuy | Nativo | 1 | CP-752 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno  | Puno     | Paucarcolla |  |
| 56 | Cuy | Nativo | 1 | CP-753 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno  | Puno     | Paucarcolla |  |
| 57 | Cuy | Nativo | 1 | CP-754 | M | Pelo | 18/07/2017 | Puno  | Puno     | Paucarcolla |  |
| 58 | Cuy | Nativo | 1 | CP-755 | M | Pelo | 18/07/2017 | Puno  | Puno     | Paucarcolla |  |
| 59 | Cuy | Nativo | 1 | CP-756 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno  | Puno     | Paucarcolla |  |
| 60 | Cuy | Nativo | 1 | CP-757 | H | Pelo | 18/07/2017 | Puno  | Puno     | Paucarcolla |  |
| 61 | Cuy | Nativo | 1 | CP-758 | M | Pelo | 18/07/2017 | Puno  | Puno     | Paucarcolla |  |
| 62 | Cuy | Nativo | 1 | CP-759 | M | Pelo | 18/07/2017 | Puno  | Puno     | Paucarcolla |  |
| 63 | Cuy | Nativo | 1 | CP-760 | M | Pelo | 18/07/2017 | Puno  | Puno     | Paucarcolla |  |
| 64 | Cuy | Nativo | 1 | CP-761 | M | Pelo | 18/07/2017 | Puno  | Puno     | Paucarcolla |  |
| 65 | Cuy | Nativo | 1 | CP-762 | M | Pelo | 18/07/2017 | Puno  | Puno     | Paucarcolla |  |
| 66 | Cuy | Nativo | 1 | CP-763 | M | Pelo | 18/07/2017 | Puno  | Puno     | Paucarcolla |  |
| 67 | Cuy | Nativo | 2 | CP-764 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay       |  |
| 68 | Cuy | Nativo | 2 | CP-765 | M | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay       |  |
| 69 | Cuy | Nativo | 2 | CP-766 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay       |  |



Continuación...

|           |     |        |   |        |   |      |            |       |          |       |  |
|-----------|-----|--------|---|--------|---|------|------------|-------|----------|-------|--|
| <b>70</b> | Cuy | Nativo | 2 | CP-767 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>71</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-768 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>72</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-769 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>73</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-770 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>74</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-771 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>75</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-772 | M | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>76</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-773 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>77</b> | Cuy | Nativo | 3 | CP-774 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>78</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-775 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>79</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-776 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>80</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-777 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>81</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-778 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>82</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-779 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>83</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-780 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>84</b> | Cuy | Nativo | 3 | CP-781 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>85</b> | Cuy | Nativo | 2 | CP-782 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>86</b> | Cuy | Nativo | 3 | CP-783 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>87</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-784 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |

Continuación...

|            |     |        |   |        |   |      |            |       |          |       |  |
|------------|-----|--------|---|--------|---|------|------------|-------|----------|-------|--|
| <b>88</b>  | Cuy | Nativo | 2 | CP-785 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>89</b>  | Cuy | Nativo | 3 | CP-786 | M | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>90</b>  | Cuy | Nativo | 1 | CP-787 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>91</b>  | Cuy | Nativo | 2 | CP-788 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>92</b>  | Cuy | Nativo | 2 | CP-789 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>93</b>  | Cuy | Nativo | 1 | CP-790 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>94</b>  | Cuy | Nativo | 1 | CP-791 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>95</b>  | Cuy | Nativo | 1 | CP-792 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>96</b>  | Cuy | Nativo | 1 | CP-793 | M | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>97</b>  | Cuy | Nativo | 1 | CP-794 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>98</b>  | Cuy | Nativo | 1 | CP-795 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>99</b>  | Cuy | Nativo | 3 | CP-796 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>100</b> | Cuy | Nativo | 3 | CP-797 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>101</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-798 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>102</b> | Cuy | Nativo | 3 | CP-799 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>103</b> | Cuy | Nativo | 4 | CP-800 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>104</b> | Cuy | Nativo | 2 | CP-801 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |
| <b>105</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-802 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Yucay |  |

Continuación...

|            |     |        |   |        |   |      |            |       |          |            |  |
|------------|-----|--------|---|--------|---|------|------------|-------|----------|------------|--|
| <b>106</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-803 | M | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Chincheros |  |
| <b>107</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-804 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Chincheros |  |
| <b>108</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-805 | M | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Chincheros |  |
| <b>109</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-806 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Chincheros |  |
| <b>110</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-807 | M | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Chincheros |  |
| <b>111</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-808 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras      |  |
| <b>112</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-809 | M | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras      |  |
| <b>113</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-810 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras      |  |
| <b>114</b> | Cuy | Nativo | 2 | CP-811 | M | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras      |  |
| <b>115</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-812 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras      |  |
| <b>116</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-813 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras      |  |
| <b>117</b> | Cuy | Nativo | 4 | CP-814 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras      |  |
| <b>118</b> | Cuy | Nativo | 3 | CP-815 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras      |  |
| <b>119</b> | Cuy | Nativo | 2 | CP-816 | M | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras      |  |
| <b>120</b> | Cuy | Nativo | 4 | CP-817 | M | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras      |  |
| <b>121</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-818 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras      |  |
| <b>122</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-819 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras      |  |
| <b>123</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-820 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras      |  |

Continuación...

|            |     |        |   |        |   |      |            |       |          |       |  |
|------------|-----|--------|---|--------|---|------|------------|-------|----------|-------|--|
| <b>124</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-821 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras |  |
| <b>125</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-822 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras |  |
| <b>126</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-823 | M | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras |  |
| <b>127</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-824 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras |  |
| <b>128</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-825 | M | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras |  |
| <b>129</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-826 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras |  |
| <b>130</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-827 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras |  |
| <b>131</b> | Cuy | Nativo | 2 | CP-828 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras |  |
| <b>132</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-829 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras |  |
| <b>133</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-830 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras |  |
| <b>134</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-831 | H | Pelo | 19/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras |  |
| <b>135</b> | Cuy | Nativo | 2 | CP-832 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lamay |  |
| <b>136</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-833 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lamay |  |
| <b>137</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-834 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lamay |  |
| <b>138</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-835 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lamay |  |
| <b>139</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-836 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lamay |  |
| <b>140</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-837 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lamay |  |
| <b>141</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-838 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lamay |  |

Continuación...

|     |     |        |   |        |   |      |            |       |       |       |  |
|-----|-----|--------|---|--------|---|------|------------|-------|-------|-------|--|
| 142 | Cuy | Nativo | 1 | CP-839 | M | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca | Lamay |  |
| 143 | Cuy | Nativo | 1 | CP-840 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca | Lamay |  |
| 144 | Cuy | Nativo | 1 | CP-841 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca | Lamay |  |
| 145 | Cuy | Nativo | 1 | CP-842 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca | Lamay |  |
| 146 | Cuy | Nativo | 2 | CP-843 | M | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca | Lamay |  |
| 147 | Cuy | Nativo | 2 | CP-844 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca | Lamay |  |
| 148 | Cuy | Nativo | 2 | CP-845 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca | Lamay |  |
| 149 | Cuy | Nativo | 3 | CP-846 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca | Lamay |  |
| 150 | Cuy | Nativo | 3 | CP-847 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca | Lamay |  |
| 151 | Cuy | Nativo | 3 | CP-848 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca | Lamay |  |
| 152 | Cuy | Nativo | 3 | CP-849 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca | Lamay |  |
| 153 | Cuy | Nativo | 1 | CP-850 | M | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca | Lamay |  |
| 154 | Cuy | Nativo | 1 | CP-851 | M | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca | Lamay |  |
| 155 | Cuy | Nativo | 1 | CP-852 | M | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca | Lamay |  |
| 156 | Cuy | Nativo | 1 | CP-853 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca | Lamay |  |
| 157 | Cuy | Nativo | 1 | CP-854 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca | Lamay |  |
| 158 | Cuy | Nativo | 2 | CP-855 | M | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca | Lamay |  |
| 159 | Cuy | Nativo | 1 | CP-856 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca | Lamay |  |

Continuación...

|     |     |        |   |        |   |      |            |       |          |       |                  |
|-----|-----|--------|---|--------|---|------|------------|-------|----------|-------|------------------|
| 160 | Cuy | Nativo | 2 | CP-857 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lamay |                  |
| 161 | Cuy | Nativo | 3 | CP-858 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lamay |                  |
| 162 | Cuy | Nativo | 1 | CP-859 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lares |                  |
| 163 | Cuy | Nativo | 1 | CP-860 | M | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lares |                  |
| 164 | Cuy | Nativo | 1 | CP-861 | M | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lares |                  |
| 165 | Cuy | Nativo | 1 | CP-862 | M | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lares |                  |
| 166 | Cuy | Nativo |   | CP-863 | M | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lares |                  |
| 167 | Cuy | Nativo | 3 | CP-864 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lares |                  |
| 168 | Cuy | Nativo | 3 | CP-865 | M | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lares |                  |
| 169 | Cuy | Nativo | 1 | CP-866 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lares |                  |
| 170 | Cuy | Nativo | 1 | CP-867 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lares |                  |
| 171 | Cuy | Nativo |   | CP-868 | M | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lares |                  |
| 172 | Cuy | Nativo | 2 | CP-869 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lares |                  |
| 173 | Cuy | Nativo | 1 | CP-870 | M | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lares |                  |
| 174 | Cuy | Nativo |   | CP-871 | M | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lares |                  |
| 175 | Cuy | Nativo | 1 | CP-872 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lares |                  |
| 176 | Cuy | Nativo | 3 | CP-873 | H | Pelo | 20/07/2017 | Cusco | Calca    | Lares |                  |
| 177 | Cuy | Nativo | 2 | CP-874 | H | Pelo | 21/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras | Media Luna Chico |

Continuación...

|            |     |        |   |        |   |      |            |       |          |       |                  |
|------------|-----|--------|---|--------|---|------|------------|-------|----------|-------|------------------|
| <b>178</b> | Cuy | Nativo | 3 | CP-875 | H | Pelo | 21/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras | Media Luna Chico |
| <b>179</b> | Cuy | Nativo | 3 | CP-876 | H | Pelo | 21/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras | Media Luna Chico |
| <b>180</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-877 | H | Pelo | 21/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras | Media Luna Chico |
| <b>181</b> | Cuy | Nativo | 2 | CP-878 | H | Pelo | 21/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras | Media Luna Chico |
| <b>182</b> | Cuy | Nativo | 2 | CP-879 | H | Pelo | 21/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras | Media Luna Chico |
| <b>183</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-880 | H | Pelo | 21/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras | Media Luna Chico |
| <b>184</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-881 | H | Pelo | 21/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras | Media Luna Chico |
| <b>185</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-882 | H | Pelo | 21/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras | Media Luna Chico |
| <b>186</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-883 | H | Pelo | 21/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras | Media Luna Chico |
| <b>187</b> | Cuy | Nativo |   | CP-884 | H | Pelo | 21/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras | Media Luna Chico |
| <b>188</b> | Cuy | Nativo | 2 | CP-885 | M | Pelo | 21/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras | Media Luna Chico |
| <b>189</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-886 | H | Pelo | 21/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras | Media Luna Chico |
| <b>190</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-887 | H | Pelo | 21/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras | Media Luna Chico |
| <b>191</b> | Cuy | Nativo | 2 | CP-888 | M | Pelo | 21/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras | Media Luna Chico |
| <b>192</b> | Cuy | Nativo | 1 | CP-889 | M | Pelo | 21/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras | Media Luna Chico |
| <b>193</b> | Cuy | Nativo | 2 | CP-890 | H | Pelo | 21/07/2017 | Cusco | Urubamba | Maras | Media Luna Chico |

### Anexo 3: Cuadro de la Cuantificación de ADN en la Población.

#### Cuantificación ADN Stock

| Name   | 260/280 | 260/230 | ng/ $\mu$ L | V STOCK i |
|--------|---------|---------|-------------|-----------|
| CP-698 | 1.877   | 0.602   | 253.648     | 120       |
| CP-699 | 1.806   | 0.402   | 50.823      | 100       |
| CP-700 | 1.843   | 0.508   | 189.382     | 150       |
| CP-701 | 1.949   | 0.72    | 258.539     | 150       |
| CP-702 | 1.8     | 0.512   | 347.279     | 150       |
| CP-703 | 1.961   | 0.781   | 376.199     | 120       |
| CP-704 | 2.174   | 1.374   | 122.348     | 100       |
| CP-705 | 2.191   | 1.893   | 368.98      | 150       |
| CP-706 | 2.105   | 1.106   | 208.091     | 120       |
| CP-707 | 2.109   | 1.187   | 423.911     | 150       |
| CP-708 | 2.154   | 1.484   | 324.587     | 100       |
| CP-709 | 2.163   | 1.423   | 122.658     | 100       |
| CP-710 | 2.14    | 1.357   | 114.259     | 100       |
| CP-711 | 1.871   | 0.561   | 110.753     | 120       |
| CP-712 | 2.002   | 0.804   | 117.732     | 100       |
| CP-713 | 2.107   | 0.847   | 52.922      | 80        |
| CP-714 | 2.187   | 2.303   | 557.182     | 150       |
| CP-715 | 2.179   | 2.354   | 332.544     | 120       |
| CP-716 | 2.157   | 2.22    | 110.108     | 100       |
| CP-717 | 2.111   | 2.51    | 98.495      | 100       |
| CP-718 | 1.981   | 1.004   | 249.949     | 120       |
| CP-719 | 2.122   | 2.154   | 120.191     | 100       |
| CP-720 | 1.826   | 0.7     | 131.942     | 120       |
| CP-721 | 2.151   | 2.238   | 176.337     | 100       |
| CP-722 | 2.183   | 2.293   | 328.417     | 120       |
| CP-723 | 2.17    | 2.19    | 193.128     | 100       |
| CP-724 | 2.17    | 2.312   | 358.94      | 150       |
| CP-725 | 2.156   | 2.218   | 288.277     | 120       |
| CP-726 | 2.037   | 1.124   | 488.671     | 200       |
| CP-727 | 2.121   | 2.252   | 84.543      | 100       |
| CP-728 | 2.174   | 2.297   | 284.006     | 120       |
| CP-729 | 2.187   | 2.265   | 402.976     | 120       |
| CP-730 | 2.142   | 1.918   | 115.304     | 100       |
| CP-731 | 2.119   | 1.973   | 390.911     | 120       |
| CP-732 | 2.171   | 2.288   | 207.036     | 120       |
| CP-733 | 2.175   | 2.364   | 169.57      | 100       |



Continuación...

|        |       |       |          |     |
|--------|-------|-------|----------|-----|
| CP-734 | 2.137 | 2.153 | 151.736  | 100 |
| CP-735 | 2.175 | 2.325 | 129.224  | 120 |
| CP-736 | 2.169 | 2.238 | 234.293  | 200 |
| CP-737 | 2.099 | 1.83  | 63.066   | 100 |
| CP-738 | 2.173 | 2.299 | 557.465  | 150 |
| CP-739 | 2.158 | 2.314 | 328.296  | 150 |
| CP-740 | 2.149 | 2.316 | 262.48   | 120 |
| CP-741 | 2.155 | 2.292 | 210.159  | 120 |
| CP-742 | 2.165 | 2.229 | 169.207  | 120 |
| CP-743 | 2.171 | 2.311 | 388.854  | 150 |
| CP-744 | 2.129 | 2.268 | 198.835  | 150 |
| CP-745 | 2.168 | 2.163 | 104.145  | 120 |
| CP-746 | 2.159 | 2.345 | 236.044  | 120 |
| CP-747 | 2.152 | 2.264 | 94.336   | 100 |
| CP-748 | 2.113 | 2.386 | 116.646  | 120 |
| CP-749 | 2.122 | 2.412 | 127.097  | 120 |
| CP-750 | 2.162 | 2.307 | 233.409  | 120 |
| CP-751 | 2.15  | 2.372 | 151.222  | 120 |
| CP-752 | 2.112 | 2.182 | 72.76    | 120 |
| CP-753 | 2.128 | 2.233 | 88.683   | 120 |
| CP-754 | 2.176 | 2.3   | 591.945  | 150 |
| CP-755 | 2.116 | 2.071 | 90.664   | 120 |
| CP-756 | 2.04  | 0.965 | 251.841  | 200 |
| CP-757 | 2.113 | 2.208 | 81.977   | 100 |
| CP-758 | 2.158 | 2.064 | 394.439  | 120 |
| CP-759 | 2.173 | 2.291 | 194.427  | 120 |
| CP-760 | 2.055 | 1.051 | 221.402  | 200 |
| CP-761 | 2.05  | 1.025 | 328.48   | 150 |
| CP-762 | 2.15  | 2.316 | 100.46   | 150 |
| CP-763 | 2.169 | 2.367 | 303.898  | 150 |
| CP-764 | 2.093 | 1.332 | 215.027  | 150 |
| CP-765 | 2.077 | 1.487 | 95.161   | 100 |
| CP-766 | 2.107 | 1.659 | 109.102  | 120 |
| CP-767 | 2.066 | 2.297 | 185.972  | 150 |
| CP-768 | 2.225 | 1.854 | 9.019    | 100 |
| CP-769 | 2.004 | 0.896 | 268.621  | 200 |
| CP-770 | 1.997 | 0.9   | 59.703   | 100 |
| CP-771 | 1.887 | 0.591 | 87.87    | 150 |
| CP-772 | 2.116 | 2.333 | 1293.576 | 150 |
| CP-773 | 2.164 | 2.322 | 49.645   | 120 |
| CP-774 | 2.16  | 2.461 | 69.822   | 100 |
| CP-775 | 2.176 | 2.27  | 129.63   | 100 |
| CP-776 | 1.872 | 0.699 | 83.401   | 120 |

Continuación...

|        |       |        |         |     |
|--------|-------|--------|---------|-----|
| CP-777 | 2.196 | 2.386  | 151.625 | 150 |
| CP-778 | 2.19  | 2.311  | 262.377 | 150 |
| CP-779 | 2.114 | 2.265  | 56.216  | 80  |
| CP-780 | 2.014 | 1.56   | 74.047  | 100 |
| CP-781 | 2.197 | 2.291  | 552.576 | 150 |
| CP-782 | 2.176 | 2.123  | 220.154 | 120 |
| CP-783 | 1.964 | 1.18   | 99.575  | 120 |
| CP-784 | 2.182 | 2.599  | 72.549  | 100 |
| CP-785 | 2.185 | 2.378  | 335.99  | 150 |
| CP-786 | 2.18  | 2.009  | 459.112 | 150 |
| CP-787 | 2.163 | 2.271  | 195.806 | 120 |
| CP-788 | 2.06  | 0.971  | 158.722 | 120 |
| CP-789 | 2.187 | 2.496  | 293.092 | 150 |
| CP-790 | 2.155 | 2.183  | 277.361 | 100 |
| CP-791 | 2.192 | 2.424  | 285.082 | 200 |
| CP-792 | 1.992 | 0.928  | 76.79   | 150 |
| CP-793 | 2.092 | 1.329  | 160.008 | 150 |
| CP-794 | 2.066 | 1.262  | 152.619 | 150 |
| CP-795 | 2.183 | 2.511  | 191.698 | 120 |
| CP-796 | 1.978 | 0.998  | 82.492  | 150 |
| CP-797 | 2.129 | 1.614  | 270.242 | 150 |
| CP-798 | 2.018 | 0.929  | 258.319 | 150 |
| CP-799 | 2.073 | 1.238  | 310.84  | 200 |
| CP-800 | 2.174 | 2.577  | 211.165 | 120 |
| CP-801 | 2.163 | 2.255  | 182.856 | 120 |
| CP-802 | 2.167 | 2.144  | 237.235 | 120 |
| CP-803 | 2.141 | -3.513 | 14.731  | 100 |
| CP-804 | 2.159 | 6.622  | 30.614  | 100 |
| CP-805 | 2.363 | 3.034  | 67.056  | 100 |
| CP-806 | 2.212 | 2.491  | 216.559 | 120 |
| CP-807 | 2.333 | -1.212 | 6.481   | 80  |
| CP-808 | 2.203 | 6.667  | 26.444  | 100 |
| CP-809 | 2.187 | 2.369  | 298.385 | 150 |
| CP-810 | 2.061 | 1.108  | 197.525 | 150 |
| CP-811 | 2.16  | 2.649  | 126.825 | 120 |
| CP-812 | 2.017 | 1.921  | 24.923  | 80  |
| CP-813 | 2.193 | 2.755  | 127.76  | 120 |
| CP-814 | 2.162 | 2.457  | 144.343 | 120 |
| CP-815 | 2.175 | 2.479  | 253.985 | 150 |
| CP-816 | 2.077 | 1.323  | 210.642 | 150 |
| CP-817 | 2.236 | 4.495  | 48.891  | 100 |
| CP-818 | 2.128 | 1.615  | 179.95  | 120 |
| CP-819 | 2.209 | 2.893  | 104.516 | 100 |

Continuación...

|        |       |       |         |     |
|--------|-------|-------|---------|-----|
| CP-820 | 2.195 | 3.209 | 74.173  | 100 |
| CP-821 | 2.126 | 1.736 | 127.63  | 200 |
| CP-822 | 2.215 | 3.508 | 46.919  | 100 |
| CP-823 | 2.172 | 2.777 | 92.284  | 150 |
| CP-824 | 2.147 | 2.687 | 116.151 | 100 |
| CP-825 | 2.178 | 2.469 | 133.927 | 120 |
| CP-826 | 1.879 | 0.673 | 85.72   | 100 |
| CP-827 | 1.765 | 0.568 | 54.86   | 150 |
| CP-828 | 2.139 | 1.626 | 205.767 | 200 |
| CP-829 | 2.127 | 3.486 | 67.087  | 100 |
| CP-830 | 1.968 | 0.799 | 114.601 | 200 |
| CP-831 | 2.025 | 1.074 | 205.526 | 200 |
| CP-832 | 1.845 | 0.585 | 64.604  | 150 |
| CP-833 | 2.102 | 1.376 | 177.687 | 150 |
| CP-834 | 2.055 | 1.257 | 209.631 | 150 |
| CP-835 | 2.037 | 1.271 | 77.097  | 120 |
| CP-836 | 1.937 | 0.991 | 34.621  | 100 |
| CP-837 | 2.04  | 1.218 | 141.339 | 120 |
| CP-838 | 2.193 | 2.28  | 490.778 | 150 |
| CP-839 | 2.166 | 2.883 | 88.683  | 100 |
| CP-840 | 2.137 | 1.658 | 349.471 | 150 |
| CP-841 | 2.196 | 3.075 | 81.143  | 120 |
| CP-842 | 2.108 | 1.444 | 489.157 | 200 |
| CP-843 | 2.041 | 1.002 | 492.595 | 150 |
| CP-844 | 1.838 | 0.632 | 183.007 | 200 |
| CP-845 | 2.079 | 1.287 | 463.828 | 200 |
| CP-846 | 2.083 | 1.157 | 256.864 | 150 |
| CP-847 | 2.117 | 1.527 | 754.091 | 250 |
| CP-848 | 2.177 | 2.356 | 617.081 | 200 |
| CP-849 | 2.19  | 2.641 | 211.286 | 200 |
| CP-850 | 2.118 | 1.55  | 470.735 | 250 |
| CP-851 | 2.274 | 6.367 | 20.538  | 150 |
| CP-852 | 1.941 | 0.822 | 220.156 | 150 |
| CP-853 | 2.176 | 5.481 | 31.456  | 100 |
| CP-854 | 2.169 | 9.607 | 27.26   | 100 |
| CP-855 | 2.179 | 2.498 | 233.642 | 150 |
| CP-856 | 1.906 | 0.752 | 94.589  | 150 |
| CP-857 | 2.01  | 1.041 | 183.295 | 150 |
| CP-858 | 2.114 | 1.591 | 222.995 | 150 |
| CP-859 | 2.091 | 1.551 | 150.918 | 150 |
| CP-860 | 2.129 | 1.708 | 268.177 | 150 |
| CP-861 | 2.043 | 1.09  | 110.831 | 150 |
| CP-862 | 2.194 | 2.48  | 261.231 | 200 |

Continuación...

|        |       |       |         |     |
|--------|-------|-------|---------|-----|
| CP-863 | 2.17  | 2.118 | 139.745 | 120 |
| CP-864 | 2.15  | 2.088 | 159.105 | 120 |
| CP-865 | 2.186 | 2.464 | 373.358 | 200 |
| CP-866 | 2.095 | 1.43  | 181.507 | 150 |
| CP-867 | 2.175 | 2.851 | 119.247 | 120 |
| CP-868 | 2.114 | 1.5   | 207.006 | 150 |
| CP-869 | 1.975 | 0.863 | 83.103  | 150 |
| CP-870 | 2.021 | 1.029 | 96.271  | 120 |
| CP-871 | 2.048 | 1.125 | 134.877 | 120 |
| CP-872 | 1.987 | 0.873 | 110.964 | 120 |
| CP-873 | 2.192 | 2.562 | 215.069 | 200 |
| CP-874 | 2.149 | 4.156 | 38.257  | 100 |
| CP-875 | 2.183 | 2.403 | 422.612 | 150 |
| CP-876 | 2.147 | 2.672 | 159.629 | 150 |
| CP-877 | 2.197 | 4.439 | 45.741  | 120 |
| CP-878 | 2.082 | 1.485 | 94.842  | 120 |
| CP-879 | 2.159 | 2.442 | 69.288  | 150 |
| CP-880 | 2.085 | 1.579 | 59.272  | 120 |
| CP-881 | 2.14  | 8.364 | 9.907   | 100 |
| CP-882 | 2.168 | 2.28  | 81.88   | 150 |
| CP-883 | 2.182 | 2.301 | 309.032 | 150 |
| CP-884 | 2.079 | 1.331 | 32.258  | 100 |
| CP-885 | 2.187 | 2.326 | 104.57  | 100 |
| CP-886 | 1.902 | 0.658 | 78.841  | 200 |
| CP-887 | 2.172 | 2.204 | 109.053 | 120 |
| CP-888 | 2.088 | 1.237 | 79.231  | 120 |
| CP-889 | 2.157 | 2.199 | 129.269 | 120 |
| CP-890 | 2.166 | 2.263 | 357.815 | 150 |

### Cuantificación ADN Dilución

| Name   | 260/280 | 260/230 | ng/ $\mu$ L |
|--------|---------|---------|-------------|
| CP-698 | 1.829   | 0.631   | 24.973      |
| CP-700 | 1.808   | 0.563   | 30.503      |
| CP-701 | 1.95    | 0.793   | 32.202      |
| CP-702 | 1.764   | 0.535   | 31.123      |
| CP-703 | 1.879   | 0.839   | 32.188      |
| CP-704 | 2.147   | 2.119   | 32.836      |
| CP-705 | 2.054   | 2.027   | 31.602      |
| CP-706 | 2.044   | 1.339   | 33.574      |
| CP-707 | 2.109   | 1.37    | 32.492      |
| CP-708 | 2.141   | 1.762   | 33.07       |
| CP-709 | 2.088   | 2.425   | 35.175      |
| CP-710 | 2.121   | 2.515   | 31.152      |
| CP-711 | 1.866   | 0.718   | 33.061      |
| CP-712 | 1.976   | 1.056   | 34.35       |
| CP-714 | 2.195   | 2.604   | 31.505      |
| CP-715 | 2.185   | 2.249   | 31.539      |
| CP-716 | 2.157   | 2.287   | 32.2        |
| CP-717 | 2.154   | 1.815   | 33.289      |
| CP-718 | 2.028   | 0.935   | 33.076      |
| CP-719 | 2.177   | 1.745   | 34.428      |
| CP-720 | 1.798   | 0.671   | 31.722      |
| CP-721 | 2.124   | 1.942   | 35.955      |
| CP-722 | 2.112   | 1.867   | 34.47       |
| CP-723 | 2.072   | 1.997   | 31.05       |
| CP-724 | 2.165   | 2.158   | 33.807      |
| CP-725 | 2.153   | 1.96    | 33.018      |
| CP-726 | 1.983   | 1.14    | 30.659      |
| CP-727 | 2.125   | 2.261   | 31.204      |
| CP-728 | 2.22    | 2.264   | 30.961      |
| CP-729 | 2.182   | 2.074   | 54.016      |
| CP-730 | 2.081   | 2.008   | 40.161      |
| CP-731 | 2.203   | 1.855   | 29.536      |
| CP-732 | 2.204   | 2.33    | 32.678      |
| CP-733 | 2.173   | 2.109   | 32.479      |
| CP-734 | 2.148   | 1.99    | 32.15       |
| CP-735 | 2.181   | 2.143   | 31.174      |
| CP-736 | 2.063   | 2.003   | 32.343      |
| CP-738 | 2.11    | 1.889   | 30.534      |
| CP-739 | 2.016   | 1.891   | 33.531      |
| CP-740 | 2.136   | 2.099   | 31.565      |
| CP-741 | 2.193   | 2.185   | 31.703      |
| CP-742 | 2.181   | 2.081   | 30.73       |
| CP-743 | 2.123   | 1.955   | 30.34       |
| CP-745 | 2.111   | 2.319   | 30.786      |
| CP-746 | 2.156   | 2.471   | 31.93       |
| CP-747 | 2.136   | 1.891   | 33.364      |

Continuación...

|        |       |       |        |
|--------|-------|-------|--------|
| CP-748 | 2.139 | 2.525 | 32.312 |
| CP-749 | 2.267 | 2.109 | 32.72  |
| CP-750 | 2.164 | 2.188 | 31.615 |
| CP-753 | 2.116 | 2.123 | 30.553 |
| CP-754 | 2.162 | 1.997 | 30.813 |
| CP-755 | 2.141 | 2.105 | 31.682 |
| CP-756 | 2.003 | 0.848 | 30.377 |
| CP-757 | 1.836 | 1.348 | 30.329 |
| CP-758 | 2.145 | 1.588 | 34.783 |
| CP-759 | 2.213 | 2.355 | 35.891 |
| CP-760 | 2.043 | 1.031 | 32.755 |
| CP-761 | 2.038 | 0.992 | 30.834 |
| CP-762 | 2.024 | 2.184 | 30.871 |
| CP-763 | 2.181 | 2.273 | 30.891 |
| CP-764 | 2.144 | 1.452 | 31.284 |
| CP-765 | 1.564 | 1.757 | 25.892 |
| CP-766 | 2.097 | 1.671 | 31.452 |
| CP-767 | 2.318 | 2.256 | 30.358 |
| CP-771 | 1.924 | 0.645 | 28.108 |
| CP-772 | 2.034 | 1.967 | 2.989  |
| CP-775 | 2.15  | 2.059 | 37.5   |
| CP-776 | 1.817 | 0.675 | 29.852 |
| CP-777 | 3     | 2.355 | 20.958 |
| CP-778 | 2.144 | 2.198 | 40.252 |
| CP-781 | 1.809 | 1.902 | 59.919 |
| CP-782 | 2.094 | 2.137 | 37.848 |
| CP-783 | 2.057 | 1.285 | 28.654 |
| CP-785 | 2.146 | 2.337 | 31.354 |
| CP-786 | 2.279 | 3.124 | 28.215 |
| CP-787 | 2.135 | 2.355 | 32.25  |
| CP-788 | 2.051 | 1.065 | 32.576 |
| CP-789 | 2.133 | 2.705 | 30.874 |
| CP-790 | 2.135 | 2.592 | 33.172 |
| CP-791 | 2.21  | 2.918 | 27.584 |
| CP-793 | 1.957 | 1.455 | 31.084 |
| CP-794 | 2.066 | 1.292 | 30.249 |
| CP-795 | 2.178 | 2.396 | 30.813 |
| CP-796 | 1.95  | 0.995 | 30.055 |
| CP-797 | 2.16  | 1.601 | 27.168 |
| CP-798 | 1.99  | 0.912 | 30.227 |
| CP-799 | 2.003 | 1.229 | 34.366 |
| CP-800 | 2.129 | 2.538 | 34.758 |
| CP-801 | 2.153 | 2.363 | 31.809 |
| CP-802 | 2.159 | 2.182 | 31.77  |
| CP-806 | 2.171 | 3.103 | 30.34  |
| CP-809 | 2.195 | 2.088 | 33.609 |
| CP-810 | 2.068 | 1.26  | 31.068 |

Continuación...

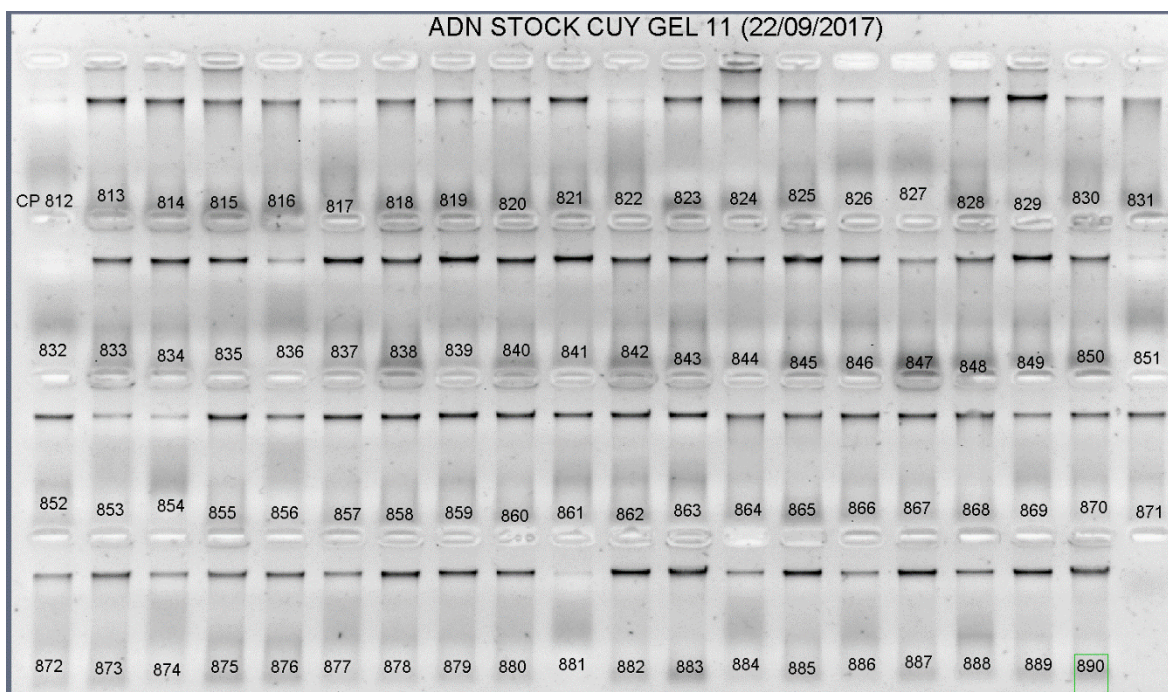
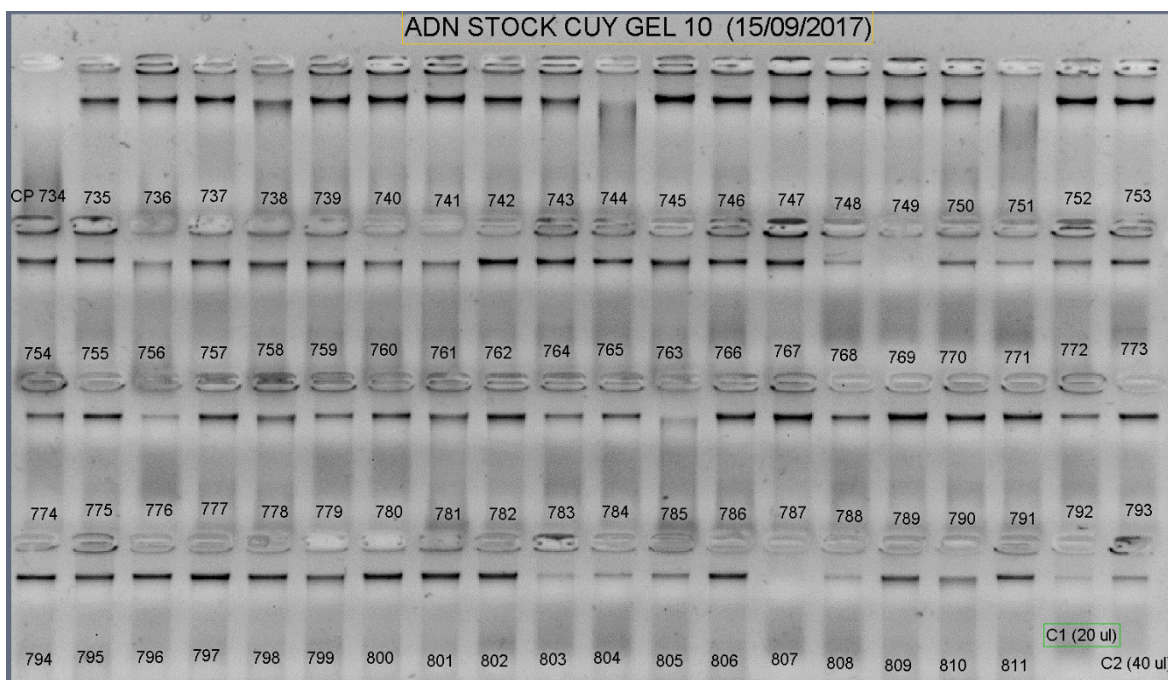
|        |       |       |        |
|--------|-------|-------|--------|
| CP-811 | 2.188 | 2.943 | 29.628 |
| CP-813 | 2.179 | 3.673 | 30.806 |
| CP-814 | 2.219 | 2.926 | 30.666 |
| CP-815 | 2.482 | 4.289 | 25.983 |
| CP-816 | 2.051 | 1.315 | 30.655 |
| CP-818 | 2.107 | 1.613 | 31.533 |
| CP-819 | 2.164 | 2.633 | 30.258 |
| CP-821 | 2.122 | 1.72  | 31.515 |
| CP-823 | 2.124 | 2.636 | 30.739 |
| CP-824 | 2.065 | 2.363 | 31.55  |
| CP-825 | 2.038 | 2.513 | 30.536 |
| CP-826 | 1.839 | 0.708 | 31.809 |
| CP-828 | 2.183 | 1.586 | 31.666 |
| CP-830 | 1.874 | 0.827 | 30.765 |
| CP-833 | 2.088 | 1.437 | 31.1   |
| CP-834 | 2.032 | 1.419 | 31.176 |
| CP-837 | 2.051 | 1.293 | 31.393 |
| CP-838 | 2.194 | 2.774 | 31.022 |
| CP-839 | 2.194 | 3.186 | 30.768 |
| CP-840 | 2.11  | 1.83  | 31.509 |
| CP-841 | 2.155 | 2.898 | 30.249 |
| CP-842 | 2.098 | 1.442 | 32.047 |
| CP-843 | 2.03  | 0.995 | 30.665 |
| CP-844 | 1.796 | 0.593 | 29.652 |
| CP-845 | 2.036 | 1.257 | 31.761 |
| CP-846 | 2.01  | 1.157 | 31.967 |
| CP-847 | 2.068 | 1.698 | 32.698 |
| CP-848 | 2.16  | 2.55  | 31.914 |
| CP-849 | 2.188 | 2.671 | 30.834 |
| CP-850 | 2.039 | 1.767 | 30.234 |
| CP-852 | 1.951 | 0.856 | 31.309 |
| CP-855 | 2.236 | 3.045 | 33.114 |
| CP-856 | 1.883 | 0.769 | 30.978 |
| CP-857 | 1.99  | 1.139 | 31.344 |
| CP-858 | 2.175 | 1.731 | 30.049 |
| CP-859 | 2.178 | 1.786 | 33.209 |
| CP-860 | 2.115 | 1.677 | 30.756 |
| CP-861 | 2.01  | 1.07  | 30.71  |
| CP-862 | 2.178 | 2.455 | 30.462 |
| CP-863 | 2.024 | 2.117 | 30.894 |
| CP-864 | 2.072 | 2.037 | 31.045 |
| CP-865 | 2.01  | 2.332 | 31.133 |
| CP-866 | 2.052 | 1.592 | 30.33  |
| CP-867 | 2.181 | 3.035 | 32.229 |
| CP-868 | 2.125 | 1.536 | 30.834 |
| CP-869 | 2.066 | 0.84  | 31.509 |
| CP-870 | 2.315 | 0.852 | 21.9   |

Continuación...

|        |       |       |        |
|--------|-------|-------|--------|
| CP-871 | 2.037 | 1.167 | 32.791 |
| CP-872 | 1.978 | 0.901 | 32.742 |
| CP-873 | 2.162 | 3.114 | 30.806 |
| CP-875 | 2.238 | 2.546 | 31.385 |
| CP-876 | 2.198 | 3.038 | 30.021 |
| CP-878 | 2.073 | 1.544 | 30.351 |
| CP-882 | 2.141 | 2.229 | 30.504 |
| CP-883 | 2.159 | 2.398 | 29.75  |
| CP-885 | 2.212 | 2.479 | 30.791 |
| CP-886 | 1.839 | 0.668 | 30.943 |
| CP-887 | 2.069 | 2.703 | 29.881 |
| CP-888 | 1.977 | 1.302 | 30.844 |
| CP-889 | 2.089 | 2.311 | 30.862 |
| CP-890 | 2.179 | 1.703 | 36.138 |



#### Anexo 4: ADN Stock en geles de Agarosa al uno por ciento.



## Anexo 5: Protocolos de Amplificación.

### Dúplex: FAM: (MSV, CUY03)

|                   | Con. Stock |       | Conc. Final |    | 1 Rx. | 50     |
|-------------------|------------|-------|-------------|----|-------|--------|
| H2O MQ            |            |       |             |    | 3.93  | 196.25 |
| BUFFER            | 5          | X     | 1           | X  | 2.00  | 100    |
| dNTPs             | 2.5        | mM    | 0.2         | mM | 0.80  | 40     |
| MgCl <sub>2</sub> | 25         | mM    | 2           | mM | 0.80  | 40     |
| PRIMER F: CUY03   | 5          | μM    | 0.03        | mM | 0.06  | 3      |
| PRIMER R: CUY03   | 5          | μM    | 0.06        | mM | 0.12  | 6      |
| PRIMER F:MSV      | 5          | μM    | 0.02        | μM | 0.03  | 1.5    |
| PRIMER R:MSV      | 5          | μM    | 0.03        | μM | 0.06  | 3      |
| TAIL M13          | 20         | μM    | 0.25        | μM | 0.13  | 6.25   |
| TAQ               | 5          | U     | 0.5         | U  | 0.08  | 4      |
|                   |            |       |             |    |       | 400    |
| DNA               | 30         | ng/μL |             |    | 2     |        |
|                   |            |       |             |    |       |        |
| Volumen /mix      |            |       |             |    |       | 8      |
| Volumen total     |            |       |             |    | 10    |        |

### Multiplex VIC: (CUY07, CUY05, CAVY03\*)

|                   | Con. Stock |       | Conc. Final |    | 1 Rx. | 50     |
|-------------------|------------|-------|-------------|----|-------|--------|
| H2O MQ            |            |       |             |    | 3.17  | 158.45 |
| BUFFER            | 5          | X     | 1           | X  | 2.00  | 100    |
| DNTPs             | 2.5        | mM    | 0.2         | mM | 0.80  | 40     |
| MgCl <sub>2</sub> | 25         | mM    | 2,5         | mM | 1.00  | 50     |
| PRIMER F: CUY05   | 5          | μM    | 0.02        | μM | 0.04  | 1.8    |
| PRIMER R: CUY05   | 5          | μM    | 0.03        | μM | 0.06  | 3      |
| PRIMER F: CAVY03* | 5          | μM    | 0.04        | μM | 0.08  | 4      |
| PRIMER R:CAVY03*  | 5          | μM    | 0.08        | μM | 0.16  | 8      |
| PRIMER F: CUY07   | 5          | μM    | 0.06        | μM | 0.12  | 6      |
| PRIMER R:CUY07    | 5          | μM    | 0.12        | μM | 0.24  | 12     |
| TAIL M13          | 20         | μM    | 0.25        | μM | 0.13  | 6.25   |
| TAQ               | 5          | U     | 0.5         | U  | 0.09  | 4.5    |
|                   |            |       |             |    |       | 400.00 |
| DNA               | 30         | ng/μL |             |    | 2     |        |
|                   |            |       |             |    |       |        |
| Volumen /mix      |            |       |             |    |       | 8      |
| Volumen total     |            |       |             |    | 10    |        |

**Multiplex NED: (MSIII, CUY16, Cavy9)**

|                       | Con. Stock |       | Conc. Final |    | 1 Rx. | 50     |
|-----------------------|------------|-------|-------------|----|-------|--------|
| H2O MQ                |            |       |             |    | 3.07  | 143.45 |
| BUFFER                | 5          | X     | 1           | X  | 2     | 100    |
| dNTPs                 | 2.5        | mM    | 0.3         | mM | 1.2   | 60     |
| MgCl <sub>2</sub>     | 25         | mM    | 3           | mM | 1.2   | 60     |
| PRIMER F: MSIII,Cavy9 | 5          | μM    | 0.02        | μM | 0.036 | 1.80   |
| PRIMER R: MSIII,Cavy9 | 5          | μM    | 0.04        | μM | 0.072 | 3.60   |
| PRIMER F: CUY16       | 5          | μM    | 0.05        | μM | 0.1   | 5.00   |
| PRIMER R: CUY16       | 5          | μM    | 0.1         | μM | 0.2   | 10.00  |
| TAIL M13              | 20         | μM    | 0.25        | μM | 0.125 | 6.25   |
| TAQ                   | 5          | U     | 0.5         | U  | 0.09  | 4.5    |
|                       |            |       |             |    |       | 400    |
| DNA                   | 30         | ng/μL |             |    | 2     |        |
|                       |            |       |             |    |       |        |
| Volumen /mix          |            |       |             |    |       | 8      |
| Volumen total         |            |       |             |    | 10    |        |

**Dúplex PET: (Cavy11, CUY12)**

|                           | Con. Stock |       | Conc. Final |    | 1 Rx. | 50     |
|---------------------------|------------|-------|-------------|----|-------|--------|
| H2O MQ                    |            |       |             |    | 3.96  | 197.75 |
| BUFFER                    | 5          | X     | 1           | X  | 2     | 101.00 |
| dNTPs                     | 2.5        | mM    | 0.2         | mM | 0.8   | 40.00  |
| MgCl <sub>2</sub>         | 25         | mM    | 1.5         | mM | 0.6   | 30.00  |
| PRIMER F:(Cavy11*,CUY12)  | 5          | μM    | 0.03        | μM | 0.06  | 3      |
| PRIMER R: (Cavy11*,CUY12) | 5          | μM    | 0.08        | μM | 0.16  | 8      |
| TAIL M13                  | 20         | μM    | 0.25        | μM | 0.125 | 6.25   |
| TAQ                       | 5          | U     | 0.5         | U  | 0.08  | 4.00   |
|                           |            |       |             |    |       | 400    |
| DNA                       | 30         | ng/μL |             |    | 2     |        |
|                           |            |       |             |    |       |        |
| Volumen /mix              |            |       |             |    |       | 8      |
| Volumen total             |            |       |             |    | 10    |        |