



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Departamento de Genética

Tesis Doctoral

“CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DEL CUY DOMÉSTICO EN AMÉRICA
DEL SUR MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES”

DIANA FERNANDA AVILÉS ESQUIVEL

CORDOBA, ESPAÑA

2016

TITULO: *Caracterización genética del cuy doméstico de América del Sur mediante marcadores moleculares.*

AUTOR: *Diana Aviles Esquivel*

© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. 2016
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

www.uco.es/publicaciones
publicaciones@uco.es

Dra. Amparo Martínez Martínez

INFORMA:

Que la tesis titulada CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DEL CUY DOMÉSTICO EN AMERICA DEL SUR MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES, realizada por Dña. Diana Fernanda Avilés Esquivel bajo mi dirección y asesoramiento, en el Departamento de Genética de la Universidad de Córdoba, reúne las condiciones y calidad científica necesaria para su lectura y defensa con vistas a optar al Título de Doctor.

Para que conste y a los efectos oportunos, firmo el presente.

Córdoba a 19 de Enero del 2016.



Amparo Martínez Martínez

Dr. Vincenzo Landi

INFORMA:

Que la tesis titulada CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DEL CUY DOMÉSTICO EN AMERICA DEL SUR MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES, realizada por Dña. Diana Fernanda Avilés Esquivel bajo mi dirección y asesoramiento, en el Departamento de Genética de la Universidad de Córdoba, reúne las condiciones y calidad científica necesaria para su lectura y defensa con vistas a optar al Título de Doctor.

Para que conste y a los efectos oportunos, firmo el presente.

Córdoba a 19 de Enero del 2016.



Vincenzo Landi Periatì



TÍTULO DE LA TESIS: CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DEL CUY DOMÉSTICO EN AMÉRICA DEL SUR MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES

DOCTORANDO/A: DIANA FERNANDA AVILÉS ESQUIVEL

INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS

(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

El cuy, *Cavia porcellus*, es un mamífero roedor que se encuentra distribuido a lo largo de la cordillera de los Andes, ligado íntimamente a los habitantes de las áreas rurales, no solo como fuente de carne de alta calidad proteica y baja en grasa, sino también como parte fundamental del acervo cultural del pueblo preincaico desde hace unos 7000 años. En este trabajo de tesis se aborda por primera vez la caracterización genética del cuy doméstico de Ecuador y se establecen las relaciones genéticas con las poblaciones de cuyes de otros países andinos en los que la cría del cuy es habitual como Perú, Colombia y Bolivia, utilizándose como outgroup una población de España en donde se utiliza como animal de compañía. Hasta el momento, son escasos los estudios realizados en cuyes domésticos con marcadores moleculares (microsatélites) por lo que se inicia el estudio diseñando un panel de marcadores eficaz para realizar el estudio planteado y se realiza un amplio muestreo que abarca toda la zona andina en la que se distribuye este recurso genético animal. Los resultados obtenidos se ajustan a los objetivos inicialmente propuestos y son de gran interés como demuestra el hecho de que algunos de ellos ya han sido publicados o presentados en congresos especializados:

Publicaciones:

- Avilés, D., V. Landi, J. V. Delgado, J. L. Vega-Pla, and A. Martínez. 2015. Isolation and characterisation of a dinucleotide microsatellite set for a parentage and biodiversity study in domestic guinea pig (*Cavia porcellus*). Italian Journal of Animal Science 14 [4]: 615-620.
- Avilés, D., Landi, V., Delgado J., & Martínez, A. 2014. El pueblo ecuatoriano y su relación con el cuy. Actas Iberoamericanas de Conservación Animal. 4: 38-40.
- Avilés, D., Martínez, A., Landi, V., & Delgado JV. 2014. El cuy (*Cavia porcellus*). Un recurso andino de interés agroalimentario. Recursos Genéticos Animales 55: 87-91.

Trabajos en Congresos:

- Avilés Esquivel, D., Martínez Martínez, A., Landi V., Alvarez, L., Stemmer, A., Gómez Urviola, N., Delgado Bermejo, J.V. 2015. Caracterización genética del cuy doméstico (*Cavia porcellus*) de los países Andinos (Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia). XVI Simposio Iberoamericano sobre Conservación y Utilización de Recursos Zoogenéticos. Villavicencio, Colombia.
- Avilés Esquivel, D.F., Landi, V., Delgado Bermejo, J.V., Martínez Martínez, A. 2015. Diversidad y estructura genética del cuy doméstico en Ecuador. XI Congreso de la Federación iberoamericana de razas criollas y autóctonas (FIRC). Zaragoza, España.
- Avilés, D., Martínez, A., Landi, V2, Delgado, J.V. 2014. Diseño de un panel de microsatélites para realizar estudios de diversidad genética en cuy doméstico (*Cavia porcellus*). IX Congreso Ibérico sobre recursos genéticos animales. Palencia, España.
- Avilés Esquivel, D.F., Landi, V., Delgado Bermejo, J.V., Martínez Martínez, A. 2014. El pueblo ecuatoriano y su relación con el cuy. XV Simposio Iberoamericano sobre Conservación y Utilización de Recursos Zoogenéticos. Chiapas. México.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 20 de enero de 2016

Firma de los directores



Fdo.: Amparo Martínez Martínez



Fdo.: Vincenzo Landi

El presente trabajo ha sido realizado en el Departamento de Genética de la Universidad de Córdoba, España y financiado por los fondos de la Dirección de Investigación y Desarrollo (DIDE) de la Universidad Técnica de Ambato, Ecuador. Diana Fernanda Avilés Esquivel ha sido beneficiaria de una beca para estudios de posgrado en el extranjero de la Fundación Carolina de España en convenio con la Universidad Técnica de Ambato, Ecuador.

Dedicado a:

Dios,

A mi esposo Miguel Terán,

A mi familia.

AGRADECIMIENTOS

Principalmente a Dios porque sin él nada de esto hubiera sido posible, por darme la sabiduría necesaria para no derrumbarme en los momentos más difíciles y mostrar el camino correcto.

- A la Universidad Técnica de Ambato – Ecuador (UTA)
- A la Fundación Carolina- España
- Al Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca – Ecuador (MAGAP)
- A la Universidad de Córdoba – España (UCO)
- Al Departamento de Genética de la Universidad de Córdoba grupo PAI AGR-218
- A los miembros de red “Conservación de la Biodiversidad de los Animales Domésticos locales”(CONBIAND)
- A mis Directores, Dra. Amparo Martínez Martínez y Dr. Vincenzo Landi, por su apoyo incondicional.
- Al Dr. Juan Vicente Delgado Bermejo por invitarme a ser parte de su equipo.
- Al Dr. José Luis Vega por aportar con su invaluable experiencia.
- Al Ing. MSc. Julio Benítez por depositar su confianza en mí y brindarme esta oportunidad.
- A María Miro y Mayra Gómez por su apoyo desinteresado.
- A mis compañeros de Departamento y de Máster por compartir magníficos momentos en este hermoso País y en esta ciudad Córdoba que nos brinda su encanto e historia.

RESUMEN

El cuy, *Cavia porcellus* es un mamífero roedor que se encuentra distribuido a lo largo de la cordillera de los Andes, ligado íntimamente a los humanos no solo como fuente de carne de alta calidad proteica y baja en grasa, sino también ligado a las creencias religiosas y culturales del pueblo preincaico desde hace 7000 años (Wing, 1986). La justificación de este trabajo se basa en la necesidad de caracterizar las poblaciones nativas de cuyes andinos, con el objeto de describir los recursos genéticos que en la actualidad se encuentran en grave peligro de extinción. Los cuyes domésticos nativos de Ecuador están siendo absorbidos sin ningún control por la introducción agresiva de líneas comerciales mejoradas, que en un principio entraron desde el Perú a mediados del siglo XX. Las conclusiones de este trabajo servirán para la toma de decisiones en el ámbito de la conservación y utilización de dichos recursos, que juegan un importante papel en el sustento económico y nutricional de las familias de las áreas rurales de los países andinos. Se obtuvieron aleatoriamente muestras de pelo provenientes de la grupa de los cuyes de las líneas comerciales Andina (**AND**), Perú (**LPR**) e Inti (**INTI**) y de cuyes nativos ecuatorianos (**NTVE**) de las diez provincias Andinas del Ecuador: Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Bolívar, Chimborazo, Cañar, Azuay y Loja. En el caso de las líneas comerciales, los animales muestreados se clasificaron de acuerdo a las características fenotípicas, en base al tamaño y caída de sus orejas, a la conformación del cuerpo en forma de un paralelepípedo y al color del pelaje característico de cada línea: Andina (94) color blanco completo, Inti (94) bayo-amarillo, Perú (94) alazán-rojo. Se muestrearon 94 animales de cuyes nativos del Ecuador de acuerdo a su morfología tipo: orejas de tamaño variado y erectas; conformación de cuerpo angulosa y de varios colores como el negro, gris, moro, alazán, lobo, violeta, bayo, blanco y sus combinaciones. Se obtuvieron muestras de cuyes nativos de los países andinos que consumen carne de cuy actualmente: Colombia, **COL** (17); Perú, **PERU** (41) y Bolivia, **BOL** (13). Como outgroup se incluyeron 29 muestras de España, **SPAIN**. Se diseñó un panel de 20 microsatélites específico para estudiar la diversidad genética del cuy doméstico. La eficiencia del panel se probó en 100 muestras de animales no relacionadas de Ecuador, Colombia, Perú, Bolivia y España. La amplificación de los microsatélites se realizó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y los fragmentos obtenidos en la PCR se separaron mediante electroforesis en un secuenciador automático ABI 3130. El análisis de los fragmentos y la tipificación alélica se realizó mediante los programas Genescan 3.1.2 y Genotyper 2.5 respectivamente. Se detectó un

total de 216 alelos (10,8 alelos por *locus*). Los 20 microsatélites han resultado polimórficos, con una Heterocigosidad esperada de 0,778 y observada de 0,589. El valor medio de PIC (0,746) y los valores de heterocigosidad indican que los microsatélites son altamente informativos. La variabilidad genética de las poblaciones de cuyes del Ecuador (AND, INTI, LPR y NTVE) fue relativamente elevada (He: 0,791; Ho: 0,710), el número medio de alelos fue elevado (10,94); se detectó un déficit de heterocigotos (F_{IS} : 0,103; $p < 0,05$) y una escasa diferenciación genética entre las poblaciones ecuatorianas, con un valor de F_{ST} muy bajo (0,2 %). Mediante el Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) no se encontraron diferencias significativas entre los cuyes de los países andinos (F_{ST} : 2,9%); sin embargo se detectó una diferenciación genética del 16,67% entre las poblaciones sudamericanas y la población de España (SPAIN). No se encontró estructura genética entre los cuyes de Ecuador, ni entre los cuyes de Ecuador y los de los demás países andinos, ni entre las líneas nativas y las líneas comerciales. Solamente se diferencia claramente la población de España, población que fue separada del continente americano hace 500 años. Los resultados indican que, en su conjunto, la población de cuyes de Iberoamérica tiene una variabilidad genética elevada y una escasa estructura poblacional. Los resultados encontrados sugieren que sería preciso tomar medidas urgentes para evitar que continúe la erosión genética de los cuyes nativos de Ecuador y del resto de los países andinos. Habría que diseñar e implementar planes de recuperación y conservación de los cuyes nativos de Ecuador para impedir la pérdida de este recurso genético autóctono de América del Sur.

ABSTRACT

The guinea pig, *Cavia porcellus* is a rodent mammal that is distributed along the Andes, closely linked to humans not only as a source of high quality meat protein and low in fat but also linked to pre-Inca people religious and cultural beliefs since 7000 years (Wing, 1986) ago. The justification for this work is based on the need to characterize the native populations of the Andean guinea pigs, in order to describe the genetic resources that currently suffer a serious endangerment risk of extinction. Native of ecuadorean domestic guinea pigs are being absorbed without any control by the aggressive introduction of improved commercial lines, which initially entered Perú since the mid-twentieth century. The conclusions of this work will serve for decision-making in the field of the conservation and utilization of these resources, which play an important role in the economic and nutritional livelihood of families in rural areas of the Andean countries. Random samples of hair from the rump of the guinea pigs from commercial lines Andina (AND), Peru (LPR) and Inti (INTI) and Ecuadorian native guinea pigs (NTVE). Ten Andean provinces from Ecuador were obtained: Carchi, Imbabura , Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Bolivar, Chimborazo, Canar, Azuay and Loja. For commercial lines, the sampled animals were classified according to their phenotypic characteristics, based on the size and hang of their ears, to the body shape in the form of a parallelepiped and characteristic coat color of each line: Andina (94) white full, Inti (94) bay-yellow, Peru (94) sorrel-red. 94 native from Ecuador guinea pigs were sampled according to their morphology type: erect ears varied size; Angled body conformation and various colors like black, grey, moro, sorrel, wolf, violet, fawn, white and their combinations. Samples from native Andean guinea pigs from currently guinea pig meat consuming countries were obtained: Colombia, COL (17); Peru, PERU (41) and Bolivia, BOL (13). As an outgroup 29 samples from Spain, SPAIN were included. A panel of 20 specific microsatellite was designed to study the genetic diversity of domestic guinea pig. The panel efficiency was tested on 100 samples of animals unrelated to Ecuador, Colombia, Peru, Bolivia and Spain. Microsatellite amplification was performed through polymerase chain reaction (PCR) and the PCR fragments obtained were separated through electrophoresis in an automated sequencer ABI 3130. The analysis of the fragments and allelic typing were performed using 3.1.2 Genescan and Genotyper 2.5 programs respectively. A total of 216 allele (10.8 alleles per locus) was detected. The 20 microsatellites have been polymorphic, with an expected heterozygosity of 0.778 and 0.589 observed. The average value of PIC (0.746) and heterozygosity values indicated

that microsatellites are highly informative. The genetic variability in populations of guinea pigs from Ecuador (AND, INTI, LPR and NTVE) was relatively high (H_e : 0.791; H_o : 0,710), the average number of alleles was high (10.94); and little genetic differentiation among Ecuadorian populations, with a value of F_{ST} very low (0.2%): a deficit of heterozygotes (F_{IS} : 0,103; $p < 0,05$) was detected. By analysis of molecular variance (AMOVA) no significant differences among the guinea pigs of the Andean countries (F_{ST} 2.9%) were found; however a genetic differentiation of 16.67% between South American populations and the population of Spain (SPAIN) was detected. No genetic structure between Ecuador guinea pigs, guinea pigs or between Ecuador and the other Andean countries or between native lines and commercial lines was found. Only clearly differentiates the population of Spain, population was separated from the American continent 500 years ago. The results indicate that, overall, the population of Latin America guinea pig has a high genetic variability and poor population structure. The results suggest that it is necessary to take urgent measures to prevent further genetic erosion of native guinea pigs of Ecuador and other Andean countries. We should design and implement recovery plans and conservation of native Ecuador guinea pigs to prevent the loss of this autochthonous genetic resource of South America.

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| INTRODUCCIÓN | 2 |
| OBJETIVOS..... | 5 |
| REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA..... | 7 |
| Generalidades | 7 |
| Origen..... | 7 |
| El cuy doméstico en Ecuador..... | 9 |
| El cuy silvestre en Ecuador..... | 10 |
| Adaptación climática..... | 10 |
| Distribución y dispersión actual..... | 10 |
| Importancia del cuy a nivel mundial..... | 11 |
| Importancia del cuy en los países Andinos..... | 12 |
| Distintas aplicaciones del cuy..... | 14 |
| Producción de carne..... | 14 |
| Producción de estiércol..... | 16 |
| Animal de trabajo y guardia..... | 17 |
| Conejillo de indias..... | 19 |
| Medicina tradicional..... | 19 |
| Tipos de cuyes..... | 20 |
| Clasificación según el pelaje..... | 20 |
| Líneas Comerciales (cuyes mejorados)..... | 22 |
| Línea de cuyes Perú..... | 22 |
| Línea de Cuyes Inti..... | 23 |
| Línea de Cuyes Andina..... | 24 |
| Clasificación según la conformación..... | 24 |
| CONSERVACIÓN DE RECURSOS ZOOGENÉTICOS | 26 |
| Biodiversidad de los animales domésticos (DAD)..... | 27 |

| | |
|--|-----------|
| Componentes de la diversidad de los animales domésticos (DAD)..... | 28 |
| Pérdida de diversidad en los animales domésticos..... | 29 |
| Genética de la Conservación..... | 31 |
| Marcadores moleculares..... | 31 |
| Aplicaciones..... | 32 |
| Microsatélites..... | 32 |
| Clasificación y origen..... | 32 |
| Técnicas para la caracterización alélica de microsatélites..... | 33 |
| Extracción de ácidos nucleicos..... | 33 |
| La reacción en cadena de la polimerasa..... | 34 |
| Diseño de parejas de cebadores..... | 35 |
| Aplicaciones de los microsatélites en genética animal..... | 36 |
| Caracterización genética..... | 36 |
| Estructura y distancias entre poblaciones..... | 39 |
| MATERIALES Y MÉTODOS..... | 53 |
| Muestreo y Localización de las poblaciones de cuyes de América del Sur y España..... | 53 |
| Diseño del panel de microsatélites para cuy doméstico..... | 55 |
| Diseño de microsatélites en silico..... | 55 |
| Muestreo para probar la eficacia del panel de microsatélites..... | 57 |
| Obtención del ADN..... | 57 |
| Selección de los microsatélites..... | 57 |
| Tipificación de los microsatélites..... | 59 |
| Electroforesis capilar..... | 59 |
| Genotipado de los microsatélites..... | 59 |
| Análisis Estadísticos..... | 60 |
| Evaluación del panel de microsatélites para cuy doméstico..... | 60 |
| Diversidad Genética de las poblaciones de cuyes en Ecuador..... | 61 |

| | |
|---|-----------|
| Procesamiento y análisis de las muestras | 61 |
| Análisis estadísticos para determinar la diversidad genética intra-racial de las poblaciones de cuyes del Ecuador..... | 62 |
| Análisis estadísticos para determinar la diversidad genética inter-racial de las poblaciones de cuyes del Ecuador..... | 62 |
| Estudio de la relaciones genéticas entre las poblaciones de cuyes del Ecuador y de los Países de América del Sur y un outgroup internacional..... | 63 |
| Procesamiento y análisis de las muestras | 63 |
| RESULTADOS | 67 |
| Diseño del panel de Marcadores Microsatélites..... | 67 |
| Eficiencia estadística del panel. | 68 |
| Diversidad genética intra-racial de las poblaciones de cuyes del Ecuador | 70 |
| Número medio de alelos y heterocigosis..... | 70 |
| Equilibrio Hardy-Weinberg..... | 70 |
| Diversidad genética inter-racial de las poblaciones de cuyes del Ecuador | 71 |
| G_{ST} y Estadísticos F..... | 71 |
| Distancias genéticas y árboles de distancias genéticas. | 72 |
| Árbol de distancias entre individuos. | 75 |
| Análisis factorial de correspondencia. | 76 |
| Estructura genética de las poblaciones de cuyes del Ecuador..... | 77 |
| Estudio de la relaciones genéticas entre las poblaciones de cuyes del Ecuador y de los Países de América del Sur y un outgroup internacional..... | 79 |
| Número medio de alelos y heterocigosis..... | 79 |
| Equilibrio Hardy-Weinberg..... | 79 |
| G_{ST} y Estadísticos F..... | 80 |
| Distancias genéticas y árboles filogenéticos. | 83 |
| Análisis factorial de correspondencia. | 86 |
| Estructura genética de las poblaciones de cuyes de América del Sur. | 87 |
| DISCUSIÓN..... | 90 |

| | |
|---|-----|
| Diseño del panel de microsatélites para <i>Cavia porcellus</i> | 90 |
| Diversidad genética intra-racial de las poblaciones de cuyes del Ecuador | 92 |
| Diversidad genética inter-racial de las poblaciones de cuyes del Ecuador | 94 |
| Relaciones Genéticas..... | 95 |
| Estudio de la relaciones genéticas entre las poblaciones de cuyes del Ecuador y de los Países de América del Sur y un outgroup internacional..... | 96 |
| CONCLUSIONES | 99 |
| RECOMENDACIONES | 101 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 103 |
| ANEXOS..... | 115 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1: Características reproductivas y de crecimiento de las especies ganaderas seleccionadas para producción cárnica* Lammers et al. (2009) | 12 |
| Tabla 2: Valor nutricional de la carne de cuy comparada con otras especies cárnicas. Sandra Zumárraga 2011..... | 15 |
| Tabla 3: Cantidad, calidad y valor del estiércol de cuy comparado con otras especies. Aliaga 2009..... | 17 |
| Tabla 4: AMOVA para análisis de grupos de poblaciones | 43 |
| Tabla 5. Muestreo de Cuyes. Número de muestras (N), origen de los diferentes departamentos de donde se tomaron las muestras, colores de pelo, conformación del cuerpo. | 55 |
| Tabla 6: Detalle de los microsatélites seleccionados, secuencia final del par de cebadores diseñados para <i>Cavia porcellus</i> | 56 |
| Tabla 7: Características generales de la amplificación los microsatélites: código de acceso al Genbank (GB); motivo de repetición de los microsatélites (RP); reacción multiplex donde se amplifica el <i>locus</i> (MX); Temperatura de hibridación de la PCR (Tm), rango de tamaños (SR) y secuencias del cebador directo y reverso | 58 |
| Tabla 8: Condiciones de amplificación de los microsatélites. Reacción múltiple; temperatura de hibridación de la PCR (Tm); rango de tamaños (RT); fluorocromo y color. | 62 |
| Tabla 9: Descripción estadística de 20 microsatélites: número total de alelos (NA), riqueza alélica (AR), heterocigosis observada (Ho) y esperada (He), contenido de información polimórfica (PIC), desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) y estadístico F_{IS} | 68 |
| Tabla 10: Descripción estadística de la probabilidad de exclusión: un primer padre (NE-1P), un segundo padre (NE-2P), un par de padres (NE-PP), la identidad de dos individuos no relacionados (NE-I) la identidad de dos hermanos (NE-SI) y probabilidad de exclusión combinada (PEC)..... | 69 |
| Tabla 11: Número de muestras analizadas (N), número medio de alelos (NMA), desviación estándar (Ds), heterocigosis esperada (He), heterocigosis observada (Ho) y F_{IS} con sus intervalos de confianza calculados con 20 microsatélites para las 4 poblaciones de cuy doméstico del Ecuador..... | 70 |
| Tabla 12: Desviaciones del Equilibrio de Hardy-Weinberg por loci y población ecuatoriana, línea comercial Andina (AND), línea comercial Inti (INTI), línea comercial Perú (LPR) y nativa de Ecuador (NTVE). | 71 |
| Tabla 13: Valores del coeficiente de variación genética (G_{ST}) y estadísticos F (F_{IS} , F_{IT} y F_{ST}), promedio y desviación estándar (Ds) para 20 microsatélites en 4 poblaciones ecuatorianas de cuyes domésticos. | 72 |

| | |
|--|----|
| Tabla 14: Fst entre pares de poblaciones (arriba de la diagonal) y matriz de distancias de Reynolds (debajo de la diagonal) para 4 poblaciones de cuyes domésticos ecuatorianos, línea comercial Andina (AND), línea comercial Inti (INTI), línea comercial Perú (LPR) y nativa de Ecuador (NTVE). | 73 |
| Tabla 15: Número medio de alelos (NMA), desviación estándar (Ds), heterocigosis esperada (He), heterocigosis observada (Ho)) y F_{IS} con sus intervalos de confianza calculados con 20 microsatélites para todas poblaciones de cuy doméstico..... | 79 |
| Tabla 16: Equilibrio de Hardy-Weinberg por loci y población, línea comercial Andina (AND), línea comercial Inti (INTI), línea comercial Perú (LPR) y nativa de Ecuador (NTVE), peruana (PERU), boliviana (BOL), colombiana (COL) y España (SPAIN)..... | 80 |
| Tabla 17: Valores del coeficiente de variación genética (G_{ST}) y estadísticos F (F_{IS} , F_{IT} y F_{ST}), promedio y desviación estándar (Ds), número de alelos (NA) para 20 microsatélites en 8 poblaciones de cuyes. | 81 |
| Tabla 18: Variación genética de cuyes domésticos entre las poblaciones ecuatorianas y las poblaciones de los países de América del Sur y España. | 82 |
| Tabla 19: Variación genética de los cuyes domésticos entre la poblaciones de América del Sur y España. | 83 |
| Tabla 20: Matriz de distancia Reynolds (arriba de la diagonal) matriz de distancia de Nei (debajo de la diagonal), línea comercial Andina (AND), línea comercial Inti (INTI), línea comercial Perú (LPR) y nativa de Ecuador (NTVE), peruana (PERU), boliviana (BOL), colombiana (COL) y España (SPAIN)..... | 84 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1: Los Incas..... | 7 |
| Figura 2 Representación del cuy en una cerámica de la cultura Chimú (1200-1438 dc)..... | 8 |
| Figura 3: Distribución del género Cavia en América del Sur..... | 8 |
| Figura 4: Cavia patzelti.. .. | 10 |
| Figura 5: Convento de las Madres de San Diego, Quito-Ecuador..... | 12 |
| Figura 6: Cuyes criados en la cocina..... | 13 |
| Figura 7: Foso de cuyes en Salasaca.. .. | 13 |
| Figura 8: Decorativo de cocina. | 14 |
| Figura 9: Asado de cuy en Ecuador..... | 15 |
| Figura 10: Diferentes formas de preparar cuy..... | 16 |
| Figura 11: Canales de cuy deshuesado y al vacío.. .. | 16 |
| Figura 12: Tocte de los Andes..... | 18 |
| Figura 13: Cuyes mascota | 19 |
| Figura 14: Soba del cuy..... | 20 |
| Figura 15: Tipo 1. Pelo corto, lacio y pegado al cuerpo..... | 21 |
| Figura 16: Tipo 2. Pelo corto, lacio, forma remolinos a lo largo del cuerpo..... | 21 |
| Figura 17: Tipo 3. Pelo largo con remolinos o lacio, usados como mascotas..... | 21 |
| Figura 18: Tipo 4. Pelo ensortijado a erizado..... | 22 |
| Figura 19: Cuy línea Perú..... | 23 |
| Figura 20: Cuy línea Inti | 23 |
| Figura 21: Cuy línea Andina | 24 |
| Figura 22: Cuy tipo A. Anónimo..... | 25 |
| Figura 23: Cuy tipo B..... | 25 |
| Figura 24: Mapa de los países Andinos que consumen carne de cuy..... | 54 |
| Figura 25: Esquema de electroforesis del panel de 20 microsatélites seleccionados | 60 |

| | |
|---|----|
| Figura 26: Árbol de distancias de Reynolds construido con el método UPGMA de las poblaciones de cuyes domésticos del Ecuador, línea comercial Andina (AND), línea comercial Inti (INTI), línea comercial Perú (LPR) y nativa de Ecuador | 74 |
| Figura 27: Split graph con el método de neighbornet de las poblaciones de cuyes domésticos del Ecuador, línea comercial Andina (AND), línea comercial Inti (INTI), línea comercial Perú (LPR) y nativa de Ecuador (NTVE) | 74 |
| Figura 28: Árbol de distancias individuales D_{SA} construido con el método de Neighbor-Joining | 75 |
| Figura 29: Árbol de distancias de D_{SA} construido por el método de Neighbor-Joining | 76 |
| Figura 30: Análisis factorial de correspondencia entre las poblaciones de cuyes domésticos de Ecuador . | 77 |
| Figura 31: Análisis factorial de correspondencia entre cuyes domésticos del Ecuador | 77 |
| Figura 32: Análisis de la estructura de las poblaciones de cuyes domésticos del Ecuador de $K=2$ a $K=6$ con el programa Structure, Pritchard <i>et al.</i> , (2000) | 78 |
| Figura 33: Árbol de distancias D_A de Nei construido con el método de neighbor-joining | 85 |
| Figura 34: Split graph con el método de NeighborNet de todas la poblaciones de cuyes domésticos..... | 85 |
| Figura 35: Árbol de distancias de Reynolds construido con el método de neighbor-joining | 86 |
| Figura 36: Análisis factorial de correspondencia de todas la poblaciones de cuyes domésticos | 87 |
| Figura 37: Análisis factorial de correspondencia de todas las poblaciones de cuyes domésticos..... | 87 |
| Figura 38: Análisis de la estructura de todas las poblaciones de cuyes domésticos de $K=2$ a $K=7$ con el programa Structure, Pritchard <i>et al.</i> , (2000)..... | 88 |

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Después de la Cumbre de tierra de las Naciones Unidas celebrada en Río de Janeiro en 1992, nació la preocupación de obtener un mejor conocimiento sobre los recursos zoogenéticos, y más aún sobre las poblaciones autóctonas de animales domésticos de cada región, ya que su adaptabilidad y prolificidad potencia los nuevos retos de las ganaderías ecológicas y sostenibles.

El cuy, *Cavia porcellus* es un mamífero roedor domesticado en la región de los Andes, que desde épocas preincaicas mantiene una relación muy estrecha con el humano, gracias a las creencias inculcadas por nuestros antepasados, se le han atribuido diversos usos que han tomado fuerza en la actualidad como: animal de compañía y exposición, animal de trabajo y guardián, animal de experimentación, medicina tradicional, producción de estiércol de buena calidad para cultivos ecológicos, peletería, amuleto de buena suerte y prosperidad para los recién casados, alimentación sostenible para las poblaciones rurales de escasos recursos económicos de los países andinos y también actualmente en algunos países asiáticos y africanos (Benín, Camerún, Costa de Marfil, Congo, Ghana, Nigeria, Tanzania y Kenya) ya que no compite con los humanos por insumos alimenticios. Puede ser usado como reciclador de algunos desperdicios orgánicos de la cocina, además de ser un delicioso plato exótico fuera de los países que consumen su carne habitualmente (Avilés *et al.*, 2014).

Los trabajos de investigación en cuyes domésticos empezaron en Perú en la década del '60, en Colombia y Ecuador en el '70, Bolivia en el '80 y Venezuela en el '90 (Chauca, 2005), estos trabajos reportados en su mayoría en Ecuador y Perú, han servido de marco referencial para considerar a esta especie como productora de carne, ya que constituye un producto alimenticio de alto valor nutricional con niveles elevados de proteína 21% y bajo en grasa 3%, contribuye a dar seguridad alimentaria y económica a la población rural de escasos recursos económicos de los países andinos. Los cuyes domésticos se dividen en dos grupos: los mejorados y los nativos. Los cuyes mejorados son el resultado de la selección y cruzamientos realizados en los años 1994 – 2007 el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) de Perú, obteniendo diferentes líneas de cuyes domésticos caracterizados fenotípicamente, con destino comercial (Andina, Inti y Perú) para mejorar el rendimiento a la canal, estas líneas se encuentran ampliamente distribuidas en los principales países andinos que consumen carne de cuy (Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia). Los

cuyes nativos, tienen una menor producción de carne (Ramírez, 2005) pero de mayor palatabilidad que en los cuyes mejorados. En Ecuador, la crianza de cuyes nativos se denomina familiar o tradicional, tiene su origen durante la fase Guangala entre 100 AC y 800 DC (Stahl & Norton, 1984), aún se lo puede encontrar en varias etnias indígenas como los Chibuleos, Salascas, Saraguros, etc. 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, al vender los excedentes en fechas de inicio de clases de sus hijos. 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. Los cuyes son altamente prolíficos, los ciclos reproductivos de cuy son cortos (62 días de gestación y ovulación postparto), podría tener cinco (5) partos al año, con un promedio de tres (3) crías viables por parto (Chauca, 1997), lo cual dificulta a los criadores el manejo de los empadres controlados y la elección de los cuyes para la comercialización. La comercialización del cuy mejorado peruano se ha ido introduciendo a los mercados de los países andinos que consumen carne de cuy hace 45 años aproximadamente, ya que su tamaño, peso, color uniforme del pelo y conformación son más atractivas para el consumidor, provocando así el ocaso del cuy nativo. Se desconoce la variabilidad genética del cuy doméstico, y si los cuyes nativos representan líneas genéticas descendientes directamente de las poblaciones domesticadas en tiempos precolombinos o si en realidad todas estas poblaciones actuales pertenecen a un solo grupo genético con altos niveles de diversidad fenotípica (Ramírez, 2005). Si los cuyes nativos 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.

El descubrimiento de los marcadores moleculares, ha proporcionado relevantes y múltiples aplicaciones en ciencia animal. Los microsatélites han sido utilizados ampliamente para estudios de caracterización y diversidad genética, relaciones genéticas entre poblaciones, influencia de una o varias razas sobre otra, pruebas de paternidad, consanguinidad y son una herramienta poderosa para determinar la diferenciación genética entre poblaciones; hasta la fecha no se ha realizado ningún estudio genético completo con cuyes domésticos de América del Sur. Para planificar este

estudio se ha obtenido información de investigaciones sobre cuyes silvestres de Dunnum & Salazar-Bravo (2010), también del trabajo realizado por Kanitz, Trillmich & Bonatto (2009) del cual se obtuvieron cuatro (4) pares de cebadores dinucleótidos Cavy02, Cavy03, Cavy11 y Cavy12 usados para caracterizar cuyes silvestres (*Cavia aperea* y *Cavia magna*) previamente descrito por Asher, Lippmann, Epplen, Kraus, Trillmich & Sachser (2008) (Cavy02, Cavy03), usados en un trabajo de ecología y comportamiento de *C. Aperea*. Según este escenario, existe un vacío de la diversidad genética de cuy para lo cual hemos tomado estos trabajos como punto de partida para diseñar un panel de microsatélites eficiente para cuyes domésticos mejorados y nativos.

Atendiendo a todo lo expuesto, nos hemos trazado los siguientes objetivos específicos:

OBJETIVOS

- Diseñar un panel de microsatélites para *Cavia porcellus*.
- Estudiar la diversidad genética intra-racial de la especie *Cavia porcellus* criada en Ecuador a través de marcadores moleculares.
- Estudiar la diversidad genética inter-racial, la estructura genética y las relaciones genéticas entre las razas/líneas criadas en Ecuador.
- Establecer las relaciones genéticas entre diferentes razas/líneas de la especie *Cavia porcellus* procedentes de diversos países de América del Sur y un outgroup internacional.

REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA

REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA

GENERALIDADES

Antes de la colonización, las poblaciones andinas ya criaban esta especie animal en cautiverio, y utilizaba su carne como alimento básico en su dieta diaria. Así, los primeros colonizadores 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. El cuy, conjuntamente con la papa, la quinua, el maíz, el melloco, la oca y los camélidos sudamericanos, constituían la fuente alimenticia prioritaria de esa época (Figura 1).

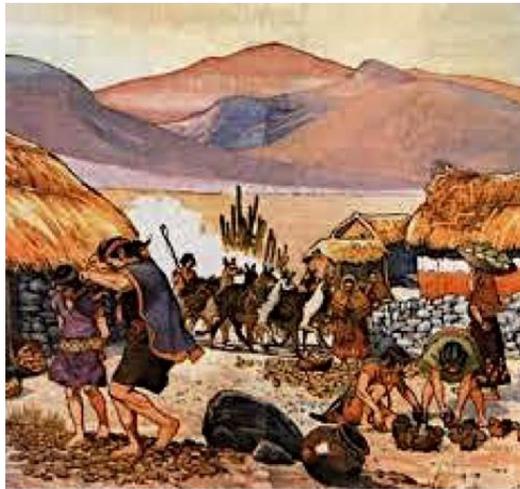


Figura 1: Los Incas. Anónimo.

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).

Origen.

Los conejillos de Indias han sido durante mucho tiempo un animal asociado a los seres humanos (Figura 2). La presencia del cuy en algunas excavaciones arqueológicas de Perú y Colombia hacen datar su presencia en los asentamientos humanos desde por lo menos 9.000 años y hacen retroceder su domesticación para la alimentación y usos espirituales a un periodo entre 7000 y 4500 años (Wing, 1986).



Figura 2 Representación del cuy en una cerámica de la cultura Chimú (1200-1438 dc). Museo Nacional de Arqueología, Antropología e Historia del Perú, Lima.

Las formas silvestres del género *Cavia* y el cuy doméstico (*Cavia porcellus*), son endémicas de América del Sur, se encuentran en la mayor parte del continente, con la excepción de la Amazonía y las regiones sur de Chile y Argentina (Figura 3). Se asocian principalmente con los pastizales, aunque también se producen alrededor de los bordes y pantanos forestales (Dunnum & Salazar –Bravo, 2009).

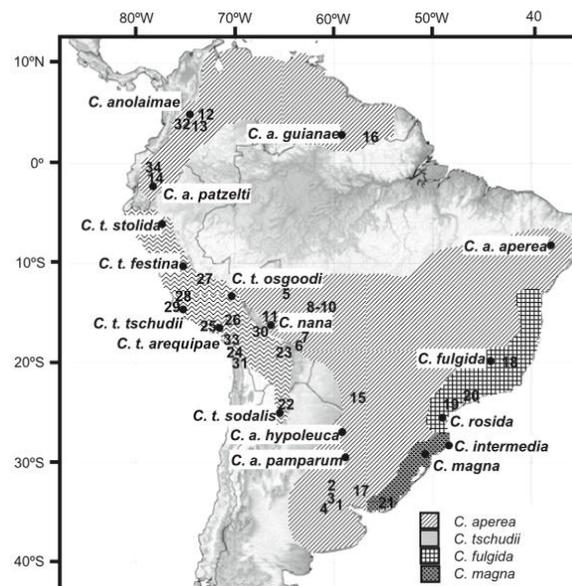


Figura 3: Distribución del género *Cavia* en América del Sur. Dunnum & Salazar-Bravo, 2009.

Dunnum & Salazar –Bravo, (2009) exponen sus recientes esfuerzos por comprender el origen del cuy doméstico. Una variedad de especies silvestres del cuy se han propuesto como el progenitor

del cuy doméstico, basados en datos que van desde el comportamiento a los análisis filogenéticos moleculares. Estos investigadores han indicado que *C. porcellus* es probablemente el resultado de un solo evento de domesticación inicial, con la siguiente diversificación: la domesticación precolombina inicial de una especie silvestre de conejillo de indias, todavía criados hoy como variedad autóctona en todos los países andinos, una segunda etapa que implica a los colonizadores europeos, que tomaron algunos cuyes autóctonos hace varios cientos de años, y los transformaron en animales de laboratorio y mascotas de hoy en día, y una tercera etapa que implica un régimen de selección moderna de cuyes autóctonos para producir un animal mejorado para la producción de carne (Spotorno *et al.*, 2006). El análisis de datos moleculares y cuyes momificados procedentes de yacimientos arqueológicos sugieren varios posibles lugares y especies para la domesticación inicial; lo más probable parece ser *C. tschudii* desde el sur de Perú, donde se encuentra el sitio arqueológico más antiguo con restos de cuyes (Ayamachay). Un segundo candidato es *C. anolaimae* de las tierras altas cerca de Bogotá, Colombia, donde hay un sitio arqueológico de edad similar (Tequendama). Un tercero quizás menos probable es *C. patzelti* desde las tierras altas de Chimborazo, Ecuador. Con base en su análisis e interpretación de la evidencia disponible, Dunnum y Salazar-Bravo concluyen que el cuy doméstico *C. porcellus* muy probablemente deriva de las poblaciones de *C. tschudii* (Wing, 1977) de la región costera alrededor de Ica, Perú (Spotorno *et al.*, 2006 ; Dunnum & Salazar –Bravo, 2009).

El cuy doméstico en Ecuador.

La primera evidencia arqueológica del cuy doméstico (*Cavia porcellus*) en Ecuador fue registrada en Salango, al sur de la Provincia de Manabí, durante la fase Guangala que fue descrita entre 100 AC y 800 DC. En este lugar se encontraron muy pocos individuos, lo que puede sugerir que estos animales no eran criados en el sitio. Esta costa representaba una antigua red comercial de la concha *Spondilus calcyfer* (Stahl & Norton, 1984) o *Mullu* (llamada así durante el imperio Inca), por el océano Pacífico que relacionaba a pueblos desde Michoacán en México, cruzando Centro América, Colombia y Ecuador, hasta llegar a Perú y Bolivia (Hocquenghem, 2009). Por lo tanto, es muy probable que animales tan pequeños como el cuy y el pato fueran transportados tan fácilmente por comerciantes precolombinos, para ser usados como alimento o regalo a los caciques.

El cuy silvestre en Ecuador.

En el año 1982 fue descrito por Schliemann el cuy silvestre del Ecuador, fue en la reserva faunística ubicada en el páramo de la provincia de Chimborazo, nombrado como subespecie *Cavia aperea patzelti*, en honor a su primer descubridor el biólogo alemán Erwin Patzelt, quien vivió varios años en Ecuador como docente del colegio Alemán y colaboraba en el estudio de la flora y fauna autóctona del Ecuador; en el año 2010 el taxón fue elevado a nivel de especie *Cavia patzelti* en el estudio realizado por Dunnum y Salazar-Bravo (Figura 4).



Figura 4: *Cavia patzelti*. Erwin Patzelt.

Adaptación climática.

Por su capacidad de adaptación a diversas condiciones climáticas, los cuyes pueden encontrarse desde la costa o el llano, hasta alturas de los 4500 metros sobre el nivel del mar. Las ventajas de la crianza de cuyes incluyen su calidad de especie herbívora, su ciclo reproductivo corto, la facilidad de adaptación a diferentes ecosistemas y su alimentación versátil que utiliza insumos no competitivos con la alimentación de otros monogástricos (Chauca, 1997).

Distribución y dispersión actual.

En los países Andinos existe una población más o menos estable de 36 millones de cuyes (Chauca, 1997), no se han encontrado datos actuales; la mayor producción y consumo de esta especie se encuentra en el Perú con 12.695.030 cuyes (INEI, 2012), en segundo lugar el Ecuador con 5.067.049 cuyes (INEC, 2002), Colombia en tercer lugar con 1.292.244 cuyes (ENA, 2007), finalmente Bolivia con 650.000 cuyes (MACA, 2004).

En la actualidad las provincias de cada país andino que tienen la mayor población a nivel de Sud América son Nariño en Colombia, Azuay en Ecuador, Cajamarca en Perú y Cochabamba en Bolivia. Es notable reconocer que la crianza de cuyes se encuentra dispersa en diferentes ecosistemas pero su mayor desarrollo, medido en la mayor población y la mejor producción se debe a que los animales en estos lugares se mantienen en un equilibrio que les da confort por mantenerlos siempre dentro de los márgenes de su temperatura 38-39°C (Chauca, 1997).

IMPORTANCIA DEL CUY A NIVEL MUNDIAL

La crisis mundial, la inseguridad alimentaria, el exceso de población son problemas críticos para la humanidad. El desarrollo y el fomento de sistemas agropecuarios convencionales ha obligado a destruir grandes extensiones de bosque primario y suplirlos por el monocultivo para la producción de leche y carne vacuna, que solo con una gran inversión monetaria podría sacarla adelante, esto ha dejado a varios pequeños productores rurales fuera del negocio. En varios países en vías de desarrollo los pequeños agricultores plantean una diversidad de especies de ganado y con frecuencia plantean múltiples especies simultáneamente. Alta fecundidad, la flexibilidad de la dieta y la adaptabilidad a una amplia gama de enfoques de vivienda y de gestión son los rasgos esenciales de las especies ganaderas muy adecuados para la producción de carne para el consumo doméstico y la comercialización en el contexto de los pequeños productores rurales (Lammers, Carlson, Zdorkowski, & Honeyman, 2009). El potencial del cuy para mejorar la seguridad alimentaria y aumentar los ingresos familiares de los pequeños productores rurales está tomando interés en varios países de Asia y África como Benín, Camerún, Costa de Marfil, Congo, Ghana, Nigeria, Tanzania y Kenia. Aunque la aceptación cultural de cobaya como fuente de nutrición e ingresos es menos omnipresente que la de cerdo, pollo y otras especies, las ventajas biológicas, ecológicas y económicas de conejillo de indias para aliviar la pobreza en el mundo y la inseguridad alimentaria son visibles en la Tabla 1.

Tabla 1: Características reproductivas y de crecimiento de las especies ganaderas seleccionadas para producción cárnica* Lammers et al. (2009)

| Nombre | Edad de apareamiento (días) | Ciclo estral (días) | Período de gestación (días) | Tamaño de camada | Edad de mercado (días) | Peso de mercado (Kg) | Rendimiento a la canal (%) |
|--|-----------------------------|---------------------|-----------------------------|------------------|------------------------|----------------------|----------------------------|
| Bovino (<i>Bos taurus</i>) | 440 | 19 | 280 | 1 a 2 | 550 | 570 | 56 |
| Pollo (<i>Gallus domesticus</i>) | 150 | continuo | 21** | 6 a 9 | 70 | 1,7 | 76 |
| Caprino (<i>Capra hircus</i>) | 360 | 20 | 150 | 1 a 3 | 244 | 30 | 50 |
| Cuy (<i>Cavia porcellus</i>) | 90 | 16 | 68 | 3 a 4 | 90 | 1,1 | 56 |
| Cunicola (<i>Orytolagus cuniculus</i>) | 180 | continuo | 30 | 5 a 8 | 120 | 2 | 55 |
| Porcino (<i>Sus scrofa</i>) | 220 | 21 | 114 | 8 a 10 | 210 | 100 | 70 |
| Ovino (<i>Ovis aries</i>) | 300 | 16 | 147 | 1 a 3 | 236 | 43 | 54 |

*Las características presentadas son directrices generales para las pequeñas explotaciones agrícolas .

**Periodo de incubación

IMPORTANCIA DEL CUY EN LOS PAÍSES ANDINOS

El cuy representa la identidad de los países andinos por su historia y las necesidades que solventa este pequeño animal, esto se ve reflejado en templos católicos de Ecuador (Figura 5) y Perú. De la infinidad de obras de arte religioso del convento de San Diego (siglo XVI), sobresale el cuadro de gran formato de Miguel de Santiago el cual representada la última cena, en la que se ven junto a Jesús un cuy asado en la mesa y un plato de humitas quiteñas.



Figura 5: Convento de las Madres de San Diego, Quito-Ecuador. Miguel de Santiago.

La crianza tradicional o familiar en Ecuador se puede encontrar en diferentes maneras, en las cocinas de las casas, ya que el fuego y el humo ayudan a mantener una temperatura cálida y libre de insectos (Figura 6).



Figura 6: Cuyes criados en la cocina.

En algunas comunidades indígenas aún se conserva la tradición de criar sus cuyes y conejos bajo las camas. Por ejemplo los Salasacas son una etnia indígena descendiente de un antiguo grupo mitimae de Bolivia radicados en Ecuador específicamente en la provincia de Tungurahua, algunas familias conservan a sus cuyes bajo sus camas para protegerlos del frío y de los depredadores (perros, gatos y raposas), pero también se los puede encontrar en construcciones muy rústicas como los fosos (Figura 7).



Figura 7: Foso de cuyes en Salasaca. Michael Palomino 2011.

Culturalmente, regalar una pareja de cuyes a los recién casados es de buena suerte, la prolificidad de los cuyes significa el éxito conyugal y económico de la pareja humana, en la mayoría de los casos la mujer es la que asume la crianza de los cuyes y destinada la carne de cuy a la venta en mercados los días de feria, o auto-consumo en ocasiones festivas como bautizos, matrimonios, grados, etc. Es tradición en varias comunidades, cuando la mujer (dueña) de los cuyes muere, su plantel cavícola es enterrado con ella (Archetti, 1997).

Los cuyes domésticos continúan siendo criados por los humanos y actualmente se lo considera la vaca de América de Sur, son parte de la gastronomía y turismo de los países andinos, encontrándose en varios motivos decorativos (Figura 8).



Figura 8: Decorativo de cocina.

DISTINTAS APLICACIONES DEL CUY

Producción de carne.

Como alimento, la carne de cuy es saludable, altamente digestible y una valiosa fuente de proteínas, superior a otros productos cárnicos (Tabla 2), baja en contenidos de colesterol (65mg/100g) y sodio, contiene vitaminas especialmente del complejo B (15mg/100g) (Crespo, 2012). Además la presencia de ácidos grasos Linoleico y Linolénico, esenciales para el ser humano; cabe resaltar que la existencia de dichos ácidos grasos son bajísimos o casi inexistente en otras carnes, y son precursores de la conformación del Acido Araquidónico (AA) y Acido Docosahexaenoico (DHA). Estas sustancias AA y DHA son vitales para el desarrollo de las neuronas (especialmente cerebrales), membranas celulares (protección contra agentes externos) y forman el cuerpo de los espermatozoides, además está especialmente recomendado para mujeres embarazadas y niños (Vinuesa, 2003). El rendimiento promedio en carne de cuyes enteros es de 65%. El 35% restante involucra las vísceras (26.5%), pelos (5.5%) y sangre (3.0%) (FAO, 2000).

Tabla 2: Valor nutricional de la carne de cuy comparada con otras especies cárnicas. Sandra Zumárraga 2011.

| Especie animal | Humedad % | Proteína % | Grasa % | Minerales % | Carbohidratos % |
|----------------|-------------|-------------|------------|-------------|-----------------|
| Cuy | 76,3 | 21,4 | 3,0 | 0,8 | 0,5 |
| Ave | 70,2 | 18,3 | 9,3 | 1,0 | 1,2 |
| Vacuno | 58,0 | 17,5 | 21,8 | 1,0 | 0,7 |
| Ovino | 50,6 | 16,4 | 31,1 | 1,0 | 0,9 |
| Porcino | 46,8 | 14,5 | 37,3 | 0,7 | 0,8 |

La carne de cuy contribuye a la seguridad alimentaria rural y urbana de los países andinos, gracias a su gran prolificidad y precosidad que permite disminuir los costos de producción (Chauca, 1997), en Ecuador son consumidos principalmente asados y condimentados de manera tradicional, sostenidos por un madero o solamente sobre una parrilla (Figura 9).



Figura 9: Asado de cuy en Ecuador.

Existen diferentes formas de consumir el cuy ya sea en embutidos como las salchichas, locro (el quechua ruqru o luqru, es un guiso a base de papas), ceviche o innovando como en la pizza (Figura 10).



Figura 10: Diferentes formas de preparar cuy.

Durante la última década los habitantes de América del Sur y Central han migrado hacia Estados Unidos y Europa; en menor proporción a Asia y África, lo cual ha generado una demanda de alimentos autóctonos, que poco a poco se han ido introduciendo en diferentes países, y que ahora tienen un valor muy apreciado, al igual que las exigencias de los consumidores, los cuyes son empacados al vacío y conservados en cámaras de refrigeración adecuadas (Figura 11), un ejemplo de exportaciones se reportó en el Perú durante el año 2001 y el primer semestre del 2007 la carne congelada de cuy alcanzó un valor acumulado de 306.864.00 dólares americanos (Gil, 2007), la carne de cuy se ha convertido en un exquisito plato exótico en diversos lugares del mundo.



Figura 11: Canales de cuy deshuesado y al vacío. Lilia Chauca 2007.

Producción de estiércol.

El ser humano tiene una simpatía por el cuy ya que desde tiempos preincaicos se los considera como un animal que proporciona suerte y como pequeñas aspiradoras que limpian de impurezas

energéticas del medio ambiente, lo cual le ha servido para ser admitido dentro de muchos hogares campesinos, pues si bien ensucia el suelo con sus excrementos, estos brindan abono de excelente calidad para los cultivos (Rodríguez, 1995). El estiércol de cuy contiene carbohidratos, que son el producto del metabolismo de la fibra que digiere este animal, también tienen una consistencia seca, pues por lo general el cuy no consume agua, la obtiene de los alimentos verdes que ingiere, al no contener agua evita la proliferación de moscas que prefieren otro tipo de estiércol como el de los equinos y vacunos (Espinoza, Furushio & Rodríguez, 2008).

La producción de estiércol del cuy es la más alta en cantidad y calidad en comparación a otras especies (Tabla 3), cuya incorporación al suelo mejora la textura y la proliferación de microorganismos, lo cual permite un cultivo limpio, libre de agroquímicos y residuos nocivos para la salud humana (Aliaga *et al.*, 2009).

Tabla 3: Cantidad, calidad y valor del estiércol de cuy comparado con otras especies. Aliaga 2009.

| Especie | Toneladas/año | N Kg/t | N Kg. por año | N producido USD * |
|---------|---------------|--------|---------------|-------------------|
| Cerdo | 35,55 | 4,5 | 159,55 | 92,53 |
| Cuy | 29,02 | 15,08 | 437,62 | 253,81 |
| Vaca | 26,66 | 5,04 | 134,36 | 77,92 |
| Caballo | 17,77 | 6,2 | 110,17 | 63,89 |
| Oveja | 13,33 | 12,6 | 167,96 | 97,41 |
| Gallina | 10 | 14,2 | 142 | 82,36 |

N (Nitrógeno)

* Valor del estiércol en función del N producido en dólares americanos (2007)

Animal de trabajo y guardia.

En la Sierra ecuatoriana durante los meses de julio, agosto y septiembre los campesinos cosechan el fruto del Nogal de los Andes (*Juglans neotropica*), conocido como “tocte” (Figura 12), cuyos frutos son colocados en el cuyero (pozas o jaulas) para que los cuyes roan su cáscara blanda, dejando el fruto con su cáscara dura y limpia para ser comercializada (Pazmiño, 2005). En España, específicamente en las Islas Canarias, se obtuvo información de forma oral, que los cuyes, denominados en este lugar cobayas, eran usados como animales de protección para gallinas, en contra de las ratas en los establos (Avilés *et al.*, 2014).



Figura 12: Tocte de los Andes.

Exhibición y compañía.

Comerciantes españoles, holandeses e ingleses llevaron cuyes a Europa en el siglo XV, donde se hicieron populares como mascotas exóticas entre la realeza y la clase alta, entre ellos la Reina Isabel (Morales, 1995). Se ha reportado que existen aproximadamente 1,3 millones de cuyes en Estados Unidos que son mantenidos como mascotas (Zimmerman, Moore & Smith, 2015). Aunque hay muchas líneas de cuyes, sólo una pocas se encuentran comúnmente como mascotas (Figura 13). Para este fin, los aficionados han fundado diversas organizaciones de cría competitiva como: American Cavy Breeders Association de los Estados Unidos y Canadá; The British Cavy Council en el Reino Unido; en Australia (Australian National Cavy Council) y Nueva Zelanda (New Zealand Cavy Club); cada club pública su propia norma de juzgamiento.



Figura 13: Cuyes mascota

Conejillo de indias.

El cuy como conejillos de indias en la experimentación científica se remonta al menos al siglo XVII, cuando los biólogos italianos Marcello Malpighi y Carlo Fracassa que realizaron vivisección de cuyes en sus exámenes de las estructuras anatómicas (Guerrini, 2003). El cuy es uno de los pocos animales que, como los humanos y otros primates, no pueden sintetizar la vitamina C, lo deben obtener de su dieta, por lo tanto son ideales para la investigación de escorbuto (Gad, 2007). Por ejemplo el cuy es utilizado en la empresa farmacéutica en pruebas de valoración de tintes para el cabello, ya que su pelo posee características estructurales similares a las del ser humano. También en varios países se está utilizando la sangre de cuy para el tratamiento de algunas clases de tumores o neoplasias, ya que ésta presenta una enzima que han denominado como alfa asparaginasa (Esquivel, 1994).

Medicina tradicional.

Cuyiwn fichai (Soba del cuy)

Son practicadas por los sobadores (*jambi runa*), es simple pero está saturada de significados sociales y simbólicos. El sobador pide por lo general un cuy que viva con la familia del paciente, Rodríguez (1995) indica que el cuy debe ser sano y del mismo sexo que el paciente, la sobada tiene que hacerse directamente sobre la piel, el *jambi runa* suele tomar al cuy con su mano derecha y restregarlo contra el cuerpo del enfermo en una relación de correspondencia corporal: pecho con pecho, abdomen con abdomen y espalda con espalda, el *jambi runa* escoge los días martes y viernes para la sobada, por su conexión energética con las esferas de Marte y Venus,

favorecen a la curación (Figura 14). El animal muere durante la ceremonia, finalmente, el sobador observa los órganos del cuy con el objetivo de encontrar la enfermedad que aqueja al paciente (mal aire). La hipótesis que guía esta búsqueda es que el cuy “absorbe” la enfermedad y permite de esta manera su identificación (Barahona, 1892).



Figura 14: Soba del cuy.

TIPOS DE CUYES

El estudio de los tipos y variedades fue descrito por Chauca (1997) y es usado en la actualidad, donde se ha agrupado a los cuyes en tres clasificaciones de acuerdo a su pelaje, líneas comerciales y conformación.

Clasificación según el pelaje.

Se inicio el estudio de clasificación de cuyes sin mejora, tomando en cuenta su pelaje, ya que el cuy doméstico presenta diversas formas del manto, podrían ser: lacio, corto, ensortijado, pegado al cuerpo, formando rosetas o remolinos, de la misma manera los colores son diversos: blanco entero, bayo (amarillo), alazán (rojo), negro entero, violeta, moro, lobo y combinados entre si.

- Tipo 1. Es de pelo corto, lacio y pegado al cuerpo, es el más difundido. Puede o no tener remolino en la frente. Se encuentran de colores simples claros, oscuros o combinados. Es el que tiene el mejor comportamiento como productor de carne (Figura 15).

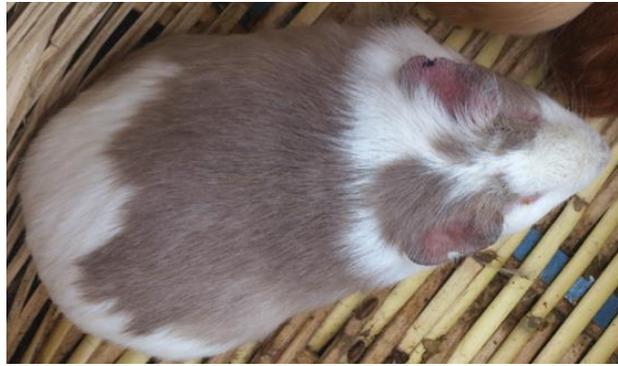


Figura 15: Tipo 1. Pelo corto, lacio y pegado al cuerpo.

· Tipo 2. Es de pelo corto, lacio pero forma rosetas o remolinos a lo largo del cuerpo, es menos precoz. Está presente en poblaciones de cuyes nativos, existen de diversos colores. No es una población dominante, por lo general en cruzamiento con otros tipos se pierde fácilmente. Tiene buen comportamiento como productor de carne (Figura 16).



Figura 16: Tipo 2. Pelo corto, lacio, forma remolinos a lo largo del cuerpo.

· Tipo 3. Es de pelo largo y lacio, se presenta en varios colores pudiendo presentar un remolino o rosetas en la frente y en todo el cuerpo. Está poco difundido en los países que consumen carne de cuy ya que no es buen productor de carne, pero es bastante solicitado como mascota por la belleza que muestra. (Figura 17).



Figura 17: Tipo 3. Pelo largo con remolinos o lacio, usados como mascotas.

· Tipo 4. Es de pelo ensortijado, característica que presenta sobre todo al nacimiento, ya que se va perdiendo a medida que el animal se desarrolla, tornándose en erizado. Este cambio es más prematuro cuando la humedad relativa es alta. Su forma de cabeza y cuerpo es redondeado, de tamaño medio. Tiene una buena implantación muscular y con grasa de infiltración, el sabor de su carne destaca a este tipo. (Figura 18).



Figura 18: Tipo 4. Pelo ensortijado a erizado.

LÍNEAS COMERCIALES (cuyes mejorados)

La investigación en cuyes se inicia en el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) de Perú en Febrero de 1964 con el Proyecto Mejoramiento por selección del cuy peruano. Se mantuvo en selección tres líneas más una control, se seleccionaron cuyes por su peso (L1), prolificidad (L2), peso y prolificidad (L3) lo que en el tiempo 34 generaciones dio origen a la raza Perú, 35 generaciones a la Andina y 42 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 Perú, la prolificidad de Andina con la Inti han permitido en 10 años tener un híbrido sintético (Chauca, 2013).

Línea de cuyes Perú.

Se caracterizan por poseer un pelaje lacio corto (tipo 1) y presentar color alazán (rojo) en algunas partes del cuerpo y otras de color blanco; además tiene forma redondeada (Figura 19). Los adultos alcanzan su mayor peso de venta a las nueve semanas de vida, además tienen una prolificidad media (mayor número de crías por camada) pues cada hembra puede parir 2.8 crías por parto. Las hembras entran a empadre a las 8 semanas (56 días) con un porcentaje de fertilidad del 98%, sin embargo, su período de gestación dura 68 días el cual es ligeramente más largo que las otras líneas. Puede presentar un índice de conversión alimentaria (cantidad de alimento a

consumir para aumentar 1 kg. de peso) de 3,81 si son alimentados en condiciones óptimas (Instituto Nacional de Innovación Agraria, 2004).



Figura 19: Cuy línea Perú

Línea de Cuyes Inti.

Se caracteriza por poseer un pelaje lacio y corto, además de presentar colores bayo (amarillo) en todo el cuerpo o combinado con blanco, posee forma redondeada (Figura 20). Presenta una alta prolificidad pues cada hembra llega a parir 3.2 crías por parto. El periodo de gestación es de 66 días aproximadamente. Es la que mejor se adapta a niveles intensivos de producción pues las crías al nacer llegan a pesar cerca de 332 gr. y puede alcanzar los 850 gramos de peso a las diez semanas de vida (2.5 meses) siempre y cuando sean alimentados en condiciones óptimas (Instituto Nacional de Innovación Agraria, 2005).



Figura 20: Cuy línea Inti

Línea de Cuyes Andina.

Se caracteriza por poseer un pelaje liso y corto (tipo 1) y presentar un color blanco en todo el cuerpo (Figura 21); posee forma ligeramente alargada. Son de crecimiento lento porque las hembras están listas para el empareamiento a los 75 días y los machos a los 84 días, sin embargo son altamente prolíficos pues cada hembra llega a parir en promedio 4.2 crías, por parto. El periodo de gestación es de 67 días aproximadamente. La ventaja de esta línea se basa en que se adapta a condiciones de costa, sierra y selva alta, desde el nivel del mar hasta los 3,500 m.s.n.m. (Instituto Nacional de Innovación Agraria, 2007).



Figura 21: Cuy línea Andina

Clasificación según la conformación.

Una vez desarrolladas las líneas mejoradas, se clasificó a los cuyes para que los comerciantes, cavicultores y público en general pueda poder diferenciar de mejor manera a los cuyes nativos (menos productores de carne) de los cuyes mejorados (mayor productores de carne), en los siguientes tipos:

- Tipo A. Cuyes mejorados que tienen una conformación enmarcada dentro de un paralelepípedo, clásico en las razas productoras de carne. La tendencia es producir animales que tengan una buena longitud, profundidad y ancho. Esto expresa el mayor grado de desarrollo muscular, fijado en una buena base ósea. Son de temperamento tranquilo, orejas grandes y caídas, responden eficientemente a un buen manejo y tienen buena conversión alimenticia (Chauca, 1997) (Figura 22).



Figura 22: Cuy tipo A. Anónimo

· Tipo B. Cuyes nativos, son de forma angulosa, su cuerpo tiene poca profundidad y desarrollo muscular escaso. La cabeza es triangular y alargada. Tienen mayor variabilidad en el tamaño de la oreja, pero erectas. Es muy nervioso, lo que hace dificultoso su manejo (Chauca, 1997) (Figura 23).



Figura 23: Cuy tipo B

Actualmente las líneas mejoradas de cuyes domésticos fenotípicamente caracterizadas se encuentran distribuidas en todos países andinos y algunos países del mundo. Los cuyes nativos debido a su menor producción de carne están siendo reemplazados por los animales genéticamente mejorados. Se desconoce la variabilidad genética del cuy doméstico sin mejora por lo cual es imposible saber si los 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. Si los cuyes nativos que se mantienen en lugares alejados son líneas genéticas regionales puras, lo cual es probable, se tendría la oportunidad única para identificar la variabilidad genética del

cuy doméstico con un enorme potencial de aplicaciones. Entre ellas, la identificación del origen del cuy doméstico, genotipificación y establecimiento de razas seleccionadas, y la aplicación de programas para conservación de esta especie que podría estar en peligro de extinción (Ramírez, 2005).

CONSERVACIÓN DE RECURSOS ZOOGENÉTICOS

La preocupación por la conservación de la variabilidad genética comenzó con los animales silvestres, tratándose primero la conservación de las especies y posteriormente el mantenimiento de la diversidad genética dentro de cada especie. Esta preocupación dió lugar al desarrollo de zoológicos, de áreas naturales protegidas, y a la aplicación de medidas conservacionistas como las vedas, las reservas, las especies protegidas, etc. La conservación del mundo salvaje se entiende como la salvaguarda de un patrimonio, no siendo prioritario el concepto de funcionalidad. Hasta mediados del siglo pasado no se hizo extensiva esta preocupación conservacionista al mundo doméstico, ya que no se tomó conciencia del peligro que se cernía sobre la variabilidad genética de las especies domésticas, a nivel de raza y dentro de cada raza (Revidatti, 2009).

La ausencia de medidas de protección ha producido en el mundo salvaje la extinción de las muchas especies, y en el doméstico un proceso progresivo de homogeneización de las mismas, con la pérdida de multitud de razas que pudieron tener una aptitud genética especial para algunos propósitos que por diversos motivos pasan a carecer de importancia. Estos conceptos son reconocidos por muchos autores entre los que se puede citar a Camacho (2004) quien afirma que la conservación de los recursos genéticos de los animales de granja, se refiere a todas las actividades humanas, con inclusión de las estrategias, los planes, las políticas y las medidas que se adoptan para garantizar el mantenimiento de la diversidad de dichos recursos, a fin de contribuir a la producción y a la productividad alimentaria y agrícola ahora y en el futuro, alegando además que el último objetivo de la conservación es el bienestar de las personas a lo largo del tiempo y por ello el valor que se les asigna no debe limitarse exclusivamente a su peso económico de mercado, ni a su singularidad genética, sino que se debe incluir el valor social y cultural.

En un sentido más amplio los recursos genéticos animales (RGA) forman parte de la biodiversidad en general, cuyos antecedentes y preocupación por conservar se remontan según

Simón (1984) a los esfuerzos de Vavilov en 1928 por fundar un banco de germoplasma vegetal en Leningrado, después de la I Guerra Mundial y está presente en la conciencia científica desde finales de la década del 50. A partir de la década del 60 se sucedieron esfuerzos por comprender la situación de los RGA, en especial en Europa y Asia. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) organiza grupos de estudios y discusiones sobre el tema en Roma, Copenhague & Nouzilly entre 1966 y 1973. Ese año fue creado el “Rare Breeds Survival Trust” (RBST) para conservar el ganado nativo británico el cual asegura que desde entonces, ninguna raza de animal de granja británico se ha extinguido (<http://www.rbst.org.uk/>).

En la década de los 80, el interés suscitado en torno a la conservación de las especies de animales domésticos, incluyendo los recursos genéticos y ecosistemas, se pone de manifiesto cuando FAO organiza una Consulta Técnica sobre Recursos Genéticos Animales, Conservación y Manejo, en Roma, cuyo documento final sienta las bases y recomendaciones para el trabajo sobre los recursos genéticos en cada país, dando lugar al “Boletín de Información sobre Recursos Genéticos Animales”, iniciado en 1983, siendo el fruto de esta cooperación la creación del Banco de Datos de Recursos Genéticos Animales. En 1985 la FAO es indicada como responsable de la Estrategia Mundial para el Manejo de los RGA. En junio de 1992 en Río de Janeiro, Brasil, se lleva a cabo la “II Cumbre de las Naciones Unidas (ONU) acerca del ambiente”, donde se reconoce la importancia de los RGA en la Agenda 21 y la Convención para la Diversidad Biológica (CDB), con la finalidad de conservar la biodiversidad; el uso sostenible de sus componentes; la distribución justa de los beneficios para el uso de RGA; y la transferencia de tecnologías apropiadas para el desarrollo y conservación de los RGA. Ese año, con la finalidad de monitorear el manejo global de los RGA la FAO implementa el Sistema de Información sobre la Diversidad de los Animales Domésticos (DAD-IS Domestic Animal Diversity Information System) que colecta y organiza la información de especies, razas y actividades de conservación (Revidatti, 2009).

Biodiversidad de los animales domésticos (DAD).

De acuerdo con la Convención sobre Biodiversidad (CBD), biodiversidad es el conjunto de ecosistemas, especies y variedades genéticas existentes en un país y, si bien cada país posee la soberanía y la responsabilidad sobre sus propios recursos genéticos, estos deben ser considerados como un bien de la humanidad. Según la citada convención, las principales causas de la pérdida

de biodiversidad son la aceleración del crecimiento de la población humana, el incremento del consumo de los recursos naturales y su explotación no planificada (ONU, 1992).

La DAD contribuye de forma esencial a la biodiversidad en general y a la producción alimenticia en particular, proveyendo directa o indirectamente el 30 al 40 % del valor total mundial de la producción agrícola y de alimentos (FAO, 1998). La DAD se define como las diferencias entre individuos que son heredables y por lo tanto permanentes y pueden encontrarse entre clases taxonómicas, familias, especies, razas, poblaciones y entre individuos (Loftus & Scherf, 1993).

Componentes de la diversidad de los animales domésticos (DAD).

La DAD, está compuesta por los recursos genéticos animales (RGA), que comprenden todas las especies, razas y estirpes que revisten interés económico, científico y cultural para la agricultura, tanto ahora como en el futuro. Las especies comunes comprenden ovejas, cabras, bovinos, caballos, cerdos, búfalos y aves de corral (FAO, 1998).

Los RGA considera a todas las poblaciones que tengan rasgos genéticos particulares y únicos, con base en el valor de uso que tengan. En este sentido es importante considerar el concepto de raza como el componente principal de la diversidad de los animales domésticos (DAD), ya que las razas son el resultado de la diversificación genética dentro de las distintas especies durante el proceso evolutivo y por lo tanto toda la diversidad de la especie está representada por sus razas (Hodges, 1990). Rodero & Herrera (1998) conciben la raza como una categoría taxonómica de orden subespecífico en cuya formación intervienen dos procesos, uno biológico y otro antropológico, que determinan las siguientes etapas en su desarrollo: a) Subespecies geográficas, previas a la domesticación. b) Razas primitivas, con limitada intervención del hombre. c) Razas naturales, etapa de transición a las actuales. d) Razas actuales, intensa intervención humana pero conservando el carácter regional. e) Razas mejoradas, que tienen proyección internacional.

Sostienen además que los mecanismos que intervienen en la diferenciación de las razas son: el efecto de las mutaciones, el aislamiento reproductivo, la deriva genética, la selección natural y la artificial. También estos mecanismos intervienen en la formación de distintos grupos subraciales:

Subrazas: Se forman principalmente por el efecto de la selección natural.

Varietades: Se forman principalmente por el efecto de la selección artificial.

Estirpes: Son poblaciones de una raza aisladas reproductivamente por algunos ganaderos, con apareamientos consanguíneos, sin introducción de material externo al menos durante cinco generaciones.

Líneas: Son una subdivisión de la estirpe, originadas por métodos de cruzamientos reproductivos idóneos que exigen un aislamiento de un menor número de generaciones que la estirpe. Por último, definen raza como: “poblaciones que se distinguen por un conjunto de caracteres visibles exteriormente, que están determinados genéticamente y que se han diferenciado de otras de la misma especie a lo largo de proceso histórico, teniendo en cuenta que se han originado y localizado en un área determinada con un ambiente común”.

Una definición clásica de raza es la de Aparicio Sánchez (1956) “Conjunto de individuos con caracteres morfológicos, fisiológicos y psicológicos propios, por los que se les distingue de otros de su misma especie y que son transmisibles por herencia dentro de un margen de fluctuación conocido”.

Existen otras definiciones como la de Alderson (1974) “Grupo de animales de características similares que reproduciéndose entre sí dan una progenie del mismo tipo, dentro de los estándares publicados por la organización de registro”, o la de Scherf (2000) “Grupo subespecífico de animales domésticos con características externas definidas e identificables que le permite ser diferenciado por apreciación visual de otros grupos definidos de la misma especie”, a la cual añade una variante “Grupo de animales para el cual la separación geográfica y/o cultural de otros fenotípicamente similares, le ha permitido que se acepte para ellos una identidad distinta, en este sentido la raza es a menudo aceptada mas como un concepto cultural que técnico”. Esta definición es la propuesta oficialmente por la FAO y siendo éste un organismo sufragado por la mayor parte de los países de nuestro contexto iberoamericano, ésta es sin duda la definición a la que nos debemos referir oficialmente.

Pérdida de diversidad en los animales domésticos.

La diversidad de las razas de animales domésticos permite seleccionar poblaciones u obtener nuevas razas que respondan a los cambios del medio ambiente, a los nuevos conocimientos sobre las necesidades de nutrición humana, a las amenazas de enfermedades, a la situación del mercado y a las necesidades sociales, factores todos ellos en gran parte imprevisibles (FAO, 1998). A pesar de la necesidad de mantener la diversidad de los animales domésticos existentes. Los

factores que provocan la disminución de la misma, de hecho según los registros de FAO, en Europa la mitad de las razas que existían a principios del siglo XX se han perdido; el 41 % de las 1500 razas restantes corren peligro de desaparición en los próximos 20 años. La mayor amenaza para la diversidad zoogenética es la especialización de la producción animal moderna. La ganadería comercial en el mundo desarrollado, se basa en la explotación de muy pocas razas altamente seleccionadas para producir carne, leche o huevos en gran cantidad y bajo condiciones ambientales muy reguladas (FAO, 1998).

Esta situación produce los siguientes efectos: a) la disminución de la variabilidad dentro de las razas o líneas altamente productivas; b) el progresivo reemplazo de las razas locales por razas o líneas especializadas; c) la desaparición o el riesgo de extinción de un número creciente de razas adaptadas a ambientes locales. En síntesis, los sistemas productivos de altos insumos se caracterizan por ser poco diversos pero altamente productivos, mientras que los de bajos insumos suelen ser genéticamente diversos pero poco productivos. La difusión de estos sistemas de producción intensivos en el mundo en desarrollo pone en riesgo a millares de razas locales y además las pocas razas comerciales que se utilizan en la producción intensiva no ofrecen una reserva genética suficiente para el futuro (FAO, 1998).

Planteado de esta forma puede parecer que la mejora genética moderna y la aplicación de nuevas biotecnologías a los programas de mejora son los máximos responsables de la pérdida de la biodiversidad animal. Sin embargo, es importante destacar que la mejora genética moderna y las nuevas biotecnologías aplicadas son un conjunto de herramientas y técnicas que dependiendo de cómo se utilicen, pueden incrementar, mantener o disminuir la biodiversidad y al mismo tiempo producir un aumento de la productividad (Nuez *et al.*, 1997).

Otras razones que provocan la pérdida de razas o variedades o las sitúa al borde de la extinción son: a) demanda cambiante de los mercados, b) los cruzamientos absorbentes con otras razas, c) la degradación de los ecosistemas donde habitan, d) desastres naturales como sequías muy prolongadas, e) políticas ganaderas equivocadas que promueven soluciones inmediatas y no sostenibles a largo plazo (FAO, 1998), f) globalización de los mercados internacionales (Delgado, 2007).

Genética de la Conservación.

La genética de la conservación tiene como principal objetivo minimizar los riesgos de extinción debido a factores genéticos. Se entiende también como el uso de la genética con el fin de mantener a las poblaciones y/o especies como unidades dinámicas, las cuales puedan evolucionar con el fin de lidiar con los cambios ambientales y minimizar su riesgo de extinción (Frankham *et al.*, 2002; Frankham, 2003).

Según Shaffer (1981) las extinciones biológicas se deben a los efectos combinados de factores determinísticos (pérdida de hábitat, la sobreexplotación, especies introducidas y contaminación) y factores estocásticos (demográficos, ambientales, genéticos y catástrofes). Frankel (1970, 1974) fue el primero en proponer que la pérdida de la diversidad genética eleva el riesgo de extinción, principalmente por poner en peligro la respuesta adaptativa a los cambios ambientales. Frankel & Soulé (1981) incorporan los efectos nocivos de la consanguinidad al argumento, y concluyen que los factores genéticos tienen un importante papel en causar extinciones. Lande (1988, 1995) y Lynch *et al.* (1995) introducen los problemas de la acumulación de mutaciones. El cruzamiento de poblaciones que han divergido también puede causar efectos deletéreos sobre la capacidad reproductiva (depresión exogámica), pero sus efectos son menos importantes que la depresión endogámica (Frankham *et al.*, 2002).

MARCADORES MOLECULARES

Se define como marcadores moleculares a las biomoléculas que se relacionan con un rasgo genético. Los primeros marcadores se desarrollaron a finales de los años 70, se basaron en la identificación de proteínas o isoenzimas. Los marcadores se utilizan para conocer la estructura y heterogeneidad genética entre diferentes especies, variedades y poblaciones de distinto origen geográfico (Avise, 1994, 2000; Gillet, 1999; Moritz & Hillis, 1996).

Un buen marcador molecular debe reunir las siguientes características para que sea máxima su utilidad: ser de herencia co-dominante, ser frecuente y estar distribuido uniformemente en el genoma, comportamiento neutral, fácil y rápida accesibilidad, alto grado de polimorfismo, debe poder repetirse con fiabilidad y fácil intercambio de datos entre laboratorios (Avise, 1994; Gillet, 1999).

Aplicaciones.

Las aplicaciones de los marcadores moleculares son muy diversas y cada vez se les encuentran nuevos usos. Actualmente se los utiliza en la diferenciación de individuos, análisis filogenéticos y taxonómicos, mapeo de genomas, cuantificación de variabilidad génica intra e interespecífica, mejoras genéticas, detección de infecciones o propensión a sufrirlas, localización de resistencia a enfermedades, biología y ecología de poblaciones, y dispersión de especies (Avisé, 1994, 2000; De Vienne & Santoni, 1998; Gillet, 1999). Una serie de técnicas han sido desarrolladas para estimar la diversidad genética, pero ninguna técnica sola es universalmente ideal; cada técnica disponible presenta tanto fortalezas como debilidades.

Microsatélites

Los microsatélites conocidos como SSRs (Simple Sequence Repeats), STRs (Short Tandem Repeats), SSLPs (Simple Sequence Length Polymorphisms), SSMs (Simple Sequence Motifs), STMs (Sequence Target Microsatellites). Son regiones no codificantes de ADN compuestas por moléculas de 1 a 6 nucleótidos repetidas en tándem (Fries *et al.*, 1990; Goldstein & Pollock, 1997; Mommens *et al.*, 1999). Se encuentran distribuidos al azar por todo el genoma, son muy abundantes, exhiben gran polimorfismo y son fáciles de identificar; estas circunstancias hacen que se utilicen como marcadores genéticos. Los microsatélites tienen el particular atributo de sufrir tasas de mutaciones más altas que en el resto del genoma (Jarne, 1996). La ventaja de los microsatélites son su estabilidad y la posibilidad de realizar reacciones denominadas múltiplex, amplificando varios *loci* al mismo tiempo (Kimpton *et al.*, 1993). Por otra parte su análisis se ha facilitado con el uso de los secuenciadores automáticos de ADN.

Clasificación y origen.

Los microsatélites se clasifican según el tipo de repetición en las secuencias, como perfectos, imperfectos, interrumpidos o compuestos. En los microsatélites denominados perfectos las secuencias repetidas no son interrumpidas por ninguna base que no pertenezcan a las mismas, como por ejemplo: GAGAGAGAGAGA. Los microsatélites imperfectos son reconocidos porque existe un par de bases entre las secuencias repetidas que no coincide con la misma, como el caso de la siguiente secuencia, TATATATGTTATATATA. En el caso de los microsatélites interrumpidos, se observa una pequeña secuencia que no corresponde a las repeticiones,

CGCGCGCGTAGCCG. Finalmente, un microsatélite compuesto contiene dos secuencias distintivas adyacentes, *CGCGCGCGTATATATATATA* (Oliveira *et al.*, 2006).

TÉCNICAS PARA LA CARACTERIZACIÓN ALÉLICA DE MICROSATÉLITES

Extracción de ácidos nucleicos.

Actualmente la extracción de ADN o ARN a partir de los distintos tejidos no suele presentar grandes dificultades. El protocolo a seguir variará dependiendo del material biológico que dispongamos (sangre periférica, semen, pelo, tejido epitelial, heces, etc.) así como de la utilización posterior del ácido nucleico obtenido.

El ADN genómico de mamíferos se puede obtener a partir de diferentes tipos de tejidos con técnicas diversas. La elección del protocolo de extracción depende exclusivamente de la disponibilidad del material de origen y de la posibilidad de desarrollar la técnica escogida. En general, los protocolos constan de dos partes, en una primera se pretende lisar las células y solubilizar el ADN y, en la segunda, eliminar por métodos enzimáticos y/o químicos, las proteínas, el ARN y otras macromoléculas. Estas técnicas tienen muchas ventajas, entre ellas la eficacia, es decir, la obtención de grandes cantidades de ADN de alto peso molecular a partir de pequeñas muestras de tejido fresco o congelado, así como la posibilidad de mantener conservado durante meses el material obtenido.

El ADN eucariótico purificado se ha obtenido clásicamente sometiendo muestras de tejidos a una digestión con proteinasa K en presencia de SDS y EDTA, varias extracciones con fenol y cloroformo y finalmente precipitación alcohólica en presencia de sales (Blin & Stafford, 1976), (Maniatis *et al.*, 1982), (David *et al.*, 1986). A partir de este protocolo inicial han surgido otros que intentan reducir el riesgo al manipulador, el tiempo empleado para obtener el ADN purificado y, por último, los costes. Así, Bowtell emplea un agente caotrópico, el hidrocloreuro de guanidina en sustitución de la digestión con proteinasa K en presencia de SDS y la extracción con fenol y cloroformo (Bowtell, 1987). Jeanpierre (1987) y también Ciulla *et al.* (1988) adoptan este método para la obtención de ADN a partir de muestras de sangre periférica, incorporando algunas modificaciones.

En el caso de utilizar el ADN obtenido exclusivamente para amplificarlo mediante la PCR, las exigencias de purificación disminuyen enormemente habiéndose diseñado estrategias realmente sencillas para preparar la muestra. Kawasaki (1990) diseña un método que consiste en digerir una muestra de unos pocos microlitros de sangre con proteinasa K y emplear directamente el producto de la digestión en la PCR.

La reacción en cadena de la polimerasa.

Durante los años 1985 y 1986 se desarrolló una técnica para la amplificación específica de un segmento corto y concreto de ADN *in vitro* usando una polimerasa de ADN, desoxinucleósidos trifosfato, ADN genómico, y oligonucleótidos específicos que flanquean el segmento a amplificar (Saiki *et al.*, 1985), (Mullis *et al.*, 1986). A esta técnica la denominaron reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y con ella se podían producir grandes cantidades de ADN específico partiendo de tan sólo una molécula de ADN molde sin la introducción del mismo en una bacteria. Esta técnica podía ser ejecutada sobre varias muestras a la vez y requería tan sólo unas horas para realizarse y no los días necesarios para el cultivo y aislamiento de clones recombinantes.

Durante los últimos años esta técnica ha impulsado el análisis y conocimiento de los ácidos nucleicos consolidándose como una herramienta poderosa en el desarrollo de técnicas de biología molecular y aplicaciones en genética, clínica, medicina forense, etc.

Las polimerasas de ADN llevan a cabo la síntesis de una cadena complementaria de ADN en dirección 5'→3' usando un molde de cadena simple, pero empezando a partir de un punto de doble cadena con un extremo 3' libre. La reacción está basada en el acoplamiento y extensión de dos cebadores (oligonucleótidos de 17-25 pares de bases) que flanquean un segmento diana de ADN. Después de la desnaturalización de la cadena de ADN, cada cebador se une a cada una de las dos cadenas separadas. Los cebadores unidos se extienden gracias a una polimerasa termoestable. Estos tres pasos de desnaturalización, unión de los cebadores y síntesis de ADN representan un ciclo de la PCR. Después de la desnaturalización que separa las dos cadenas de la molécula de ADN los cebadores se unen a las cadenas simples a una temperatura que normalmente se encuentra entre 50° y 65°C. Tras ello la polimerasa es capaz de añadir nucleótidos al extremo 3' de los cebadores, de acuerdo con la secuencia original de ADN, este paso es realizado a la temperatura óptima de la enzima que suele ser de 72°C. Como

consecuencia, repetidos ciclos de desnaturalización, acoplamiento de los cebadores y extensión generan una acumulación exponencial de un fragmento de ADN. Esta amplificación exponencial resulta porque, bajo las condiciones apropiadas, los productos sintetizados en el ciclo actúan como moldes para los otros cebadores en el ciclo $n+1$. El segmento de ADN que se amplifica depende de los cebadores elegidos, ya que estos determinan los sitios de unión al ADN diana. La amplificación sólo se desarrolla cuando la distancia entre estos sitios de unión no es demasiado grande (varios cientos de pares de bases es lo ideal).

Tras la fase exponencial, los productos que se acumulan empiezan a ser inespecíficos. Se puede calcular el número de ciclos ideal para que el producto amplificado sea lo más específico posible, considerando una eficiencia de la *Taq* del 70% y un rendimiento final de aproximadamente 10^{12} copias, resultando en la mayoría de aplicaciones de biología molecular próximo a 30 ciclos (Cha & Thilly, 1993).

Los requerimientos de la reacción son simples: desoxinucleósidos trifosfato que proporcionan energía y nucleótidos para la síntesis de la nueva cadena, polimerasa de ADN, cebadores y un tampón adecuado con sales de magnesio. Los desoxinucleósidos y los cebadores se disponen en exceso. Los ciclos de calentamiento y enfriamiento (desnaturalización, hibridación y síntesis) se repiten hasta que la reacción se desequilibra y disminuye el rendimiento o la calidad del producto sintetizado. Generalmente de 30 a 35 ciclos son suficientes para producir de 100 ng a 1 μ g de ADN a partir de una copia simple de ADN molde.

El pelo y la sangre son, en la mayoría de las ocasiones, la fuente de material genético a estudiar. Se han descrito técnicas para amplificar secuencias a partir de muestras de sangre y pelo utilizando resinas quelantes como Chelex 100[®] (Biorad) para eliminar iones y metales (Walsh *et al.*, 1991)

Diseño de parejas de cebadores.

Una vez conocida la secuencia del fragmento de ADN que se quiere amplificar mediante la PCR, se escogen los cebadores, una pareja de oligonucleótidos que flanquean dicha secuencia. Se trata de un paso crítico pues si la selección de los cebadores no es adecuada no habrá síntesis de ADN (Dieffenbach *et al.*, 1993). Aunque la selección de una pareja de oligonucleótidos puede parecer trivial, aplicaciones como PCR múltiple complican mucho la misma. La selección manual de los

oligonucleótidos óptimos puede llegar a ser bastante tediosa, en la actualidad se pueden encontrar programas informáticos que sirven de ayuda (Lowe *et al.*, 1990), (Tamura *et al.*, 1991), (Montpetit *et al.*, 1992).

El diseño de los cebadores se enfoca a obtener un equilibrio entre dos objetivos: especificidad y eficiencia de la amplificación. La especificidad se define como la frecuencia de acoplamiento con la secuencia blanco sin cometer errores y viene determinada por la longitud y secuencia de los cebadores, la duración de las distintas etapas de la reacción y la temperatura a que se llevan a cabo. Baja especificidad tiende a producir amplificaciones indeseables. La eficiencia es definida como la capacidad de incrementar hasta el doble el producto obtenido en un ciclo de PCR. La eficiencia está generalmente controlada por la longitud del cebador y la temperatura de hibridación de la PCR.

Los cebadores deberían mantener una razonable proporción de citosina y guanina, una proporción igual o mayor de GC a la que presenta el fragmento que va a ser amplificado. Como norma general, un contenido de un 50% de estos dos nucleótidos en un cebador de 20 bases proporciona una T_m elevada para una longitud dada. Esto permite una buena eficiencia sin pérdida de especificidad. Además, las T_m de cada uno de ellos deberían ser parecidas, si se diferencian mucho, habría que disminuir la temperatura de hibridación de la PCR y el cebador con la T_m mayor podría perder especificidad.

Aplicaciones de los microsatélites en genética animal.

Los marcadores microsatélites han sido utilizados ampliamente para estudios de caracterización y diversidad genética, relaciones genéticas entre poblaciones, influencia de una o varias razas sobre otra (*admixture*), pruebas de paternidad, consanguinidad, cuellos de botella genéticos entre otros y son una herramienta poderosa para determinar la diferenciación genética entre especies domésticas como los bovinos, caprino, ovino y cerdos (Buchanan *et al.*, 1994; Zamorano *et al.*, 1998; Diez-Tascón *et al.*, 2000; Martínez *et al.*, 2000; Casellas *et al.*, 2004).

Caracterización genética.

En estudios de caracterización y diversidad genética, los índices que se han utilizado con mayor frecuencia son: Heterocigosis observada y esperada, frecuencias alélicas, contenido de información polimórfica, número medio de alelos y número efectivo de alelos.

Bajo la coordinación de la FAO, se puso en marcha la iniciativa denominada MoDAD (Measurement of Domestic Animal Diversity), con objeto de elaborar una serie de recomendaciones técnicas para realizar estudios de diversidad genética con marcadores moleculares, concretamente microsatélites, en animales de granja.

Heterocigosis: se puede resumir como la proporción o frecuencia promedio de individuos de una población que ostentan dos alelos diferentes en un *locus* concreto. Del concepto de Heterocigosis se originan la Heterocigosis observada (H_o) y esperada (H_e). La H_o se obtiene dividiendo el número de individuos heterocigotos para cada *locus* por el total de individuos analizados. La H_o media para varios *loci* es una buena medida del grado de variación genética (Sosa, 1991; Aranguren, 2002). La H_e es la probabilidad que dos alelos seleccionados aleatoriamente sean diferentes en una población en equilibrio. Es calificada como una medida más apropiada de la variación genética y conocida como índice de diversidad genética de Nei (Nei, 1977, 1987).

Número medio de alelos por *locus* (N_a): es el promedio de alelos por *locus* presente en una población. Gracias a esta medida obtenemos información complementaria a la que tenemos con el polimorfismo. Su cálculo sólo requiere contabilizar los alelos por *locus*, y hacer el promedio.

Número efectivo de alelos (N_e): Esta medida indica el número de alelos esperados en cada *locus* de una determinada población y está afectada por la proporción de *loci* polimórficos, el número de alelos por *locus* polimórfico, y las frecuencias alélicas. El cálculo de este índice se realiza mediante la ecuación de (Kimura & Crow, 1964).

Frecuencias Alélicas: es el cociente que se obtiene del número de alelos iguales en una población dividido por el número total de alelos. El cálculo de las frecuencias se hace por recuento alelos presentes, asumiendo que la observación de un solo alelo se corresponde la condición de homocigosis y por lo tanto que no hay alelos nulos.

Contenido de Información Polimórfica (PIC): desde el punto de vista cualitativo, un marcador es denominado polimórfico si contiene por lo menos dos alelos y generalmente el criterio más utilizado es que un *locus* será polimórfico si el alelo más común presenta una frecuencia menor al 99% en la población que se encuentra bajo estudio (Shete *et al.*, 2000). Es un parámetro frecuentemente utilizado para medir la capacidad discriminatoria de los *loci*. Existen varias ecuaciones matemáticas que lo definen y en todas ellas sus valores varían siempre entre 0 y 1. El cálculo del PIC de cada microsatélite se aplica una fórmula propuesta por (Botstein *et al.*, 1980).

Con dicho índice es posible determinar si un marcador es o no informativo, los valores de PIC superiores a 0,5 son altamente informativos, valores entre 0,25 y 0,5 son medianamente informativos y los valores inferiores a 0,25 son poco informativos.

Ley de Equilibrio de Hardy-Weinberg: El 10 de julio de 1908, Godfrey Harold Hardy en Inglaterra y Wilhelm Weinberg en Alemania demostraron que las frecuencias génicas de una población, bajo ciertas condiciones, permanecían esencialmente constantes de una generación a otra, constituyendo la denominada Ley de Hardy-Weinberg. La ley se cumple fundamentándose en las siguientes suposiciones: 1) Hay apareamientos aleatorios en la población. 2) No actúan fuerzas de selección. 3) No existe migración. 4) No hay mutación. Consideradas, en conjunto, estas condiciones son suficientes para que la población esté en equilibrio, sin embargo se debe tener en cuenta que no implica que se cumplan todas las condiciones enumeradas anteriormente. De hecho, alguna o varias de estas condiciones pueden ser violadas y las frecuencias genotípicas seguir presentando las proporciones predichas por la ley. Por otro lado, existen ciertas condiciones que por sí mismas son capaces de variar las frecuencias esperadas en el equilibrio de Hardy-Weinberg. Una de las condiciones que afecta las proporciones esperadas en el equilibrio de Hardy-Weinberg es el cruzamiento no al azar de los gametos en una población, como el caso de la de la selección artificial por parte de la acción humana.

El equilibrio Hardy-Weinberg es una condición previa en el estudio de la estructura genética de poblaciones, como el caso de los métodos basados en modelos Bayesianos en los que se requiere que la población esté en equilibrio. Bajo esta suposición, cada alelo de cada *locus* en cada genotipo, es una muestra independiente; la idea es asignar, en la medida de lo posible, cada individuo a su grupo (Pritchard *et al.*, 2000).

El procedimiento común de calcular si existen desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg es la de comparar los genotipos observados con los esperados dentro de una muestra. Se usa la prueba de χ^2 para detectar la discordancia de las frecuencias genotípicas para cada combinación *locus*/población. Se construye una tabla de contingencia de genotipos y se hace un cálculo de χ^2 con los datos de los genotipos observados frente a los esperados. Con este procedimiento se obtienen resultados aceptables cuando el tamaño de la muestra es grande y el número de alelos de cada *locus* es pequeño.

Sin embargo, cuando la muestra es pequeña y la cantidad de alelos es grande los valores de χ^2 no son fiables. Estos inconvenientes se evitan utilizando programas informáticos que generan una distribución sintética de la población a partir de los genotipos observados. Se usan métodos como el de Monte Carlo que unen alelos aleatoriamente en genotipos, repitiendo esta operación por un cierto número de repeticiones, con lo que se produce una nueva distribución de frecuencias alélicas que son evaluadas para el HWE haciendo una prueba de χ^2 . Por ejemplo con el programa informático Genepop (Raymond & Rousset, 1995) si hay más de cuatro alelos se utiliza la estimación no sesgada (Guo & Thompson, 1992).

Estructura y distancias entre poblaciones.

Existe una serie de cálculos para determinar tanto la estructura de las poblaciones que se están estudiando, como para establecer las relaciones genéticas entre las mismas. Estos métodos son: Estadísticos F de Wright (1965) o Weir & Cockerham (1984), el análisis de varianza molecular o AMOVA, matrices de distancia, árboles de distancias genéticas, las redes filogenéticas o *Phylogenetic Networks* (Klopper & Huson, 2008), análisis multivariado como el factorial de correspondencias (Belkhir *et al.*, 2003) y modelos basados en técnicas bayesianas (Pritchard *et al.*, 2000).

Estadísticos F: La estructura de las poblaciones consiste en dos partes distintas pero relacionadas: la estructura poblacional y la genética. La estructura de poblaciones las determinan los procesos asociados al nacimiento, muerte, dispersión y sistema de apareamiento. La estructura genética está determinada por la estructura de la población, los procesos genéticos como la selección, la recombinación y la mutación. De los tres pioneros de la teoría de la genética de poblaciones (Fisher, Haldane & Wright), este último se interesó en la estructura de las poblaciones y su papel en la evolución. Gran parte del trabajo teórico de Wright puede ser considerado como una demostración de cómo la estructura poblacional determina la estructura genética. Wright propone tres parámetros: F_{IS} , F_{IT} y F_{ST} para medir las desviaciones de frecuencias genotípicas en poblaciones subdivididas.

El estadístico F_{IT} es la correlación relativa a la población total o índice de fijación de los individuos respecto al total de la población, o desviación de las frecuencias genotípicas observadas en la población total respecto a las esperadas considerando que existe equilibrio

Hardy-Weinberg. Si la población total se encuentra en panmixia (individuos con igual probabilidad de cruzarse) el valor sería 0.

El estadístico F_{IS} es la correlación entre dos alelos, relativa a la subpoblación o el exceso o déficit de heterocigotos que podría ser entre individuos de la misma subpoblación y este parámetro puede variar entre -1 a 1. Valores negativos de F_{IS} indican exceso de heterocigotos en la población respecto a las proporciones esperadas de equilibrio de Hardy Weinberg y valores positivos indican déficit de heterocigotos.

El estadístico F_{ST} es la correlación entre dos alelos tomando al azar uno de cada subpoblación. Ha sido interpretado como el grado de diferenciación genética o flujo genético entre las poblaciones denominándose, índice de diferenciación genética y su valor varía de 0 a 1 y a diferencia del F_{IS} y el F_{IT} , no puede ser un valor negativo (Nei, 1973). Un valor de cero indica que las frecuencias alélicas son iguales en las poblaciones analizadas y por el contrario, un valor de 1 demuestra que las frecuencias alélicas están fijadas y son diferentes en las poblaciones. Valores de 0,00 y 0,05 se consideran bajos, 0,05 y 0,15 indican diferenciación genética moderada y un rango de 0,15 y 0,25 señalan que la diferenciación es alta y valores superiores a 0,25 la diferenciación es muy alta (Wright, 1943; Wright, 1978; Montoya *et al.*, 2005).

Cabe destacar que la idea inicial de Wright se aplicaba al análisis de un solo *locus* y un par de alelos neutrales y número infinito de subpoblaciones aunque existe controversia en la forma de calcularlos, de ahí que Weir y Cockerham (1984) incluyen los parámetros F , θ y f que corresponden con los estadísticos F de Wright: $F = F_{IT}$, $\theta = F_{ST}$ y $f = F_{IS}$.

Por otro lado, la diferenciación genética se ve condicionada por la tasa de migración (Nm) de manera que cuando hay un mayor flujo genético entre dos poblaciones, menor será la diferenciación entre ellas. Existe una relación entre la F_{ST} y el Nm expresada mediante la ecuación descrita por Wright (1969).

De esta manera un flujo que supera el valor de 1 sería suficiente para que no se considere como poblaciones diferentes, según Wright (1931) y valores por encima de 2 serían suficientes para contrarrestar los efectos de la deriva. Si el valor de Nm es muy bajo, predomina el efecto de la deriva y la mayoría de las poblaciones estarán fijadas. Si Nm es grande, la deriva genética será

poco importante y contrarrestada por la migración; por tanto, las subpoblaciones tenderán a mantener las mismas frecuencias génicas.

Otro método para estimar Nm es el de alelos privados (Slatkin, 1981), en el que con base en muestras de distintas localidades se obtiene un valor $p(1)$, que es la media de frecuencia de alelos que están en una muestra. Encontró que para el modelo de islas y el de *stepping stone* $\log_{10}[p(1)]$ está linealmente relacionado con $\log_{10}(Nm)$, por lo que:

$$\log_{10}[P(1)] = a \log_{10}(Nm) + b$$

Donde $p(1)$ es la frecuencia promedio de los alelos privados y a y b son constantes que dependen del número de individuos muestreados en cada subpoblación y son determinadas por datos simulados (Slatkin, 1985). Este método y la estimación de Nm a partir de F_{ST} son parecidos. Sin embargo, simulaciones han demostrado que el método de alelos privados es más sensible a errores en la colección de datos (Slatkin, 1994).

Análisis de Varianza Molecular (AMOVA): El análisis de varianza molecular (AMOVA) fue concebido inicialmente, como una extensión del análisis de frecuencias génicas (Cockerham, 1973; Weir & Cockerham, 1984), particularmente en sistemas haploides.

La entrada de datos en AMOVA, consiste en una matriz con pares de distancias de tipo Euclidianas entre múltiples haplotipos y archivos que contienen las frecuencias de esos haplotipos entre cada población. Este mismo sistema puede ser utilizado para organismos diploides. Bajo la particular definición de distancias entre haplotipos, el AMOVA también puede ser aplicado en datos de microsatélites (Michalakis & Excoffier, 1996) para obtener un estadístico análogo al R_{st} de Slatkin, (Slatkin, 1995). El AMOVA, también provee el marco general para el análisis de la estructura genética de una población, bajo el supuesto de que la evolución de un polimorfismo se encuentra dentro de la definición de una distancia Euclidiana sin afectar la estructura del análisis.

Puede existir diferenciación genética, cuando hay un fraccionamiento de una población original en subpoblaciones aisladas. La heterocigosis de éstas subpoblaciones, disminuye respecto a la población inicial y con un tamaño menor y la erosión genética empujaría hacia una fijación más rápida de alelos diferentes que las que podrían ocurrir en una población más grande. Este pudo ser el caso de las poblaciones criollas en América.

El AMOVA trata cualquier tipo de dato como un vector booleano \mathbf{p}_i , que es una matriz 1 x n de 1's y 0's, siendo 1 presencia de marcador y 0 ausencia de marcador (Excoffier *et al.*, 1992). Se calculan las distancias Euclidianas entre todos los pares de vectores sustrayendo los vectores booleanos de un alelo a otro de acuerdo a la fórmula $(\mathbf{p}_i - \mathbf{p}_k)$ y luego se construyen matrices y submatrices correspondientes a la subdivisión dentro de la población (Excoffier *et al.*, 1992a). Estas matrices presentan un arreglo tal que la submatriz de la diagonal de la matriz mayor son pares de individuos de la misma población mientras que aquellas fuera de la diagonal representan pares de individuos de poblaciones diferentes. La suma de las diagonales de las matrices y submatrices produce una suma de cuadrados de varios niveles jerárquicos de la población. Esta suma de cuadrados puede ser entonces analizada en un análisis de varianza anidado. Un ANOVA anidado difiere del ANOVA simple en que los datos son arreglados jerárquicamente y los cuadrados medios son calculados, agrupándolos en todos los niveles de la jerarquía. Esto permite a la prueba de hipótesis, entre grupos y dentro de grupos diferenciar, los distintos niveles de las jerarquías.

En el estudio de variabilidad entre genotipos, los estadísticos F se pueden calcular según F_{ct} , F_{st} y F_{sc} de la siguiente manera:

$F_{ct} = \sigma^2_a / \sigma^2$ permutaciones dentro de grupos.

$F_{sc} = \sigma^2_b / \sigma^2_b + \sigma^2_c$ permutaciones entre poblaciones y dentro de grupos

$F_{st} = \sigma^2_a + \sigma^2_b / \sigma^2$ permutaciones entre poblaciones y entre grupos.

A continuación se presenta la tabla 4 de AMOVA.

Tabla 4: AMOVA para análisis de grupos de poblaciones

| Fuente de Variación | g.l. | Suma de Cuadrados | Cuadrado Medio |
|--|------|--|--|
| Entre grupos | G-1 | (entre grupos) | $\sigma^2c+n'+\sigma^2b+n''+\sigma^2a$ $\sigma^2c +n'+ \sigma^2b$ |
| Entre poblaciones dentro de grupos | p-G | (entre poblaciones/dentro de grupos) | |
| Entre individuos dentro de poblaciones | 2N-p | (entre individuos dentro de poblaciones) | σ^2c |
| Total | 2N-1 | (Total) | |

En la columna de g.l. (grados de libertad), G es número de grupos; p total de poblaciones; N cantidad de individuos.

Distancias Genéticas: la distancia genética entre pares de poblaciones muestra un valor estimado del tiempo que ha pasado desde el momento que se inicio 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. A su vez pueden presuponer que cualquier alelo tiene la misma oportunidad de surgir como las distancias de Nei (1972), Nei (1973) & Nei (1977), Reynolds (1983) y Cavalli-Sforza & Edwards (1967), o bien que éstos seguían un orden en su aparición como los algoritmos propuestos por Slatkin (1995) & Goldstein (1995).

En estudios de distancia genética, la distancia estándar o D_S de Nei (Nei 1972) era la medida más utilizada. También la medida de Cavalli-Sforza original, DC (Cavalli Sforza, 1969), que está influenciada por la existencia de alelos raros y disminuye a medida que aumenta el tamaño de la

muestra. La distancia de Cavalli-Sforza modificada (Nei *et al.*, 1983) es aplicada para poblaciones relacionadas donde la deriva genética es la principal determinante de la diferenciación evolutiva. Nei *et al.* (1983), modificaron esta medida para corregir esta deficiencia e introdujeron la distancia D_A . Desde el punto de vista de la evolución, en periodos de tiempo cortos la D_A es lineal con el tiempo astronómico, pero esta relación se rompe a medida que aumenta la distancia genética por encima de un determinado nivel. Este problema es particularmente agudo con datos de microsatélites de poblaciones divergentes debido a una alta tasa de mutación y un elevado número de alelos. Por otro lado, 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 & Voelm, 1991).

Árboles filogenéticos: para construir árboles filogenéticos, hay una diversidad de métodos de los cuales destacan dos, que son: el unweighted pair group method using arithmetic averages (UPGMA) y neighbor-joining (NJ).

Para poder tener valores fiables se utilizan las técnicas de remuestreo. El más utilizado es el bootstrap, que permite la evaluación de la topología mediante la técnica de Monte Carlo. Dado que los datos consisten en n observaciones, un bootstrap genera una muestra de n dibujos al azar, realizado por medio del reemplazamiento de los valores iniciales. De esta manera, todas las observaciones originales tienen la misma probabilidad de ser reemplazadas, y al final el valor de los nuevos datos será el promedio para el parámetro muestreado (Tivang *et al.*, 1994). El proceso se realiza repetidamente, en cientos hasta miles de veces, creando una gran cantidad de datos, pudiendo calcular promedios y desviaciones estándares (Felsenstein, 1988).

Red filogenética (“phylogenetic network”): la distancia genética entre pares de poblaciones muestra un valor estimado del tiempo que ha pasado desde el momento que se inicio la diferenciación entre las mismas. En distancias pequeñas puede que exista flujo genético entre las poblaciones o también un completo aislamiento de las mismas pero la separación ha sido reciente. Cuando están aisladas genéticamente, los procesos de mutación y deriva llevan a la diferenciación en las frecuencias alélicas; conforme se incrementa el tiempo de separación, las frecuencias alélicas también se diferencian.

Las redes filogenéticas son gráficos que son utilizados para representar relaciones filogenéticas entre diferentes poblaciones y son usualmente empleados cuando las representaciones mediante

árboles no son suficientes. Se distinguen dos tipos de redes filogenéticas, las redes implícitas y las explícitas: las implícitas proveen herramientas para visualizar y analizar señales filogenéticas incompatibles tales como los “networks”. Las explícitas proveen escenarios para estudios de evolución tales como hibridación y recombinación (Klopper & Huson, 2008).

Si un árbol filogenético se define comúnmente como un árbol que posee diferentes ramas y que representan la historia evolutiva de un conjunto de taxones. El concepto de una red filogenética o “phylogenetic network” no está claramente definido, y existen diferentes aplicaciones al término. Sobre este tema, se ha propuesto definir el concepto de “phylogenetic Network” como cualquier red en la cual, cada taxa es representada por nodos y sus relaciones evolutivas son representadas por bordes o paralelas. Para los árboles filogenéticos, las paralelas se los denominan ramas. Bajo este concepto general, se puede distinguir entre distintos números de redes. Los árboles filogenéticos constituirían un tipo de red y los “splits network” son un segundo tipo de red que se obtiene como una generalización combinatoria de árboles filogenéticos y está diseñado para representar las incompatibilidades previstas dentro y entre los grupos de datos (Huson & Bryant, 2006).

Un tercer tipo de red, el “reticulate network” representa historias evolutivas en la presencia de eventos como hibridación, transferencia horizontal de genes, o recombinación. Existen otros tipos adicionales de redes, como por ejemplo, las que se utilizan para representar la duplicación de genes y filogenias (Durand *et al.*, 2005).

Una de las mayores confusiones que surgen del término “phylogenetic network” es que diversos autores lo definen de una forma genérica y en casos muy particulares en sus estudios. Las redes reticulares o “reticulate Networks” proveen una representación explícita de la historia evolutiva, generalmente como un árbol filogenético con líneas paralelas adicionales. Los nodos internos en estas redes representan especies ancestrales y los nodos con más de dos parientes corresponden a eventos tales como hibridación o recombinación (Huson & Bryant, 2006).

“Split Network”: Los “splits network” se utilizan para representar señales incompatibles y ambiguas en un conjunto de datos. En dicha red, existen líneas paralelas, en lugar de ramas individuales y se utilizan para representar las diferencias calculadas a partir de los datos. Para poder resolver esta divergencia en los datos, es necesario que estos “splits Networks” contengan nodos que no representen especies ancestrales de esta manera proporcionan un perfil implícito de

la historia evolutiva. En un “split network”, cada extremo de la rama está asociado con uno de los taxones, pero puede haber una serie de líneas paralelas relacionadas con cada división. La distancia “fenética” entre dos taxones en un “split network” se define como la suma de los pesos longitudes de las líneas paralelas a lo largo del camino más corto entre los taxones (Bryant & Moulton, 2004). Esta distancia puede ser calculada directamente de las divisiones y los pesos asociados y no cambia con las diferentes representaciones de los “split network”. El “split network”, es una representación gráfica de una colección de divisiones con sus respectivas ponderaciones. La interpretación de esta red depende exactamente de cómo las divisiones fueron construidas y se asignaron los pesos y varía considerablemente entre los métodos y sus diferentes aplicaciones.

“NeighborNet”: debido que se ha hecho más evidente la importancia de procesos evolutivos complejos tales como recombinación, hibridación, transferencia lateral de genes y conversión de genes, los biólogos han mostrado un interés creciente en el uso de redes (networks) como herramienta auxiliar en el análisis filogenético. En muchos casos, un solo árbol no es la imagen más exacta para representar las relaciones subyacentes de la evolución. Las redes pueden ofrecer una mejor alternativa que los árboles, ya que pueden permitir la representación simultánea de múltiples árboles, o al menos nos dan una visión adicional en la estructura interna de los datos a examinar. El “NeighborNet” es un método que selecciona y agrupa pares de taxones de forma iterativa. Sin embargo, no aglomera los datos inmediatamente como en la construcción de los árboles, sino que lo hace en una etapa posterior cuando asocia pares que comparten un nodo en común. De esta manera, “NeighborNet” genera un sistema (ponderado) o “circular split system” en vez de crear un árbol, que posteriormente puede ser representado por un gráfico denominado “split graph”. En estos gráficos se muestran biparticiones de los taxones o “splits” que son representados por líneas paralelas y de señales conflictivas o incompatibilidades que se observan como cajones. Una ventaja importante del enfoque de aglomeración es que “NeighborNet” tiende a producir “Networks” con mejor resolución que los producidos por otros métodos, especialmente cuando el número de taxones crece.

Análisis Factorial de Correspondencias (AFC): El análisis multivariante es un conjunto de métodos estadísticos cuya finalidad es analizar simultáneamente grupos de datos en el sentido de que hay variables medidas para cada individuo u objeto estudiado. Debido a que las variables se consideran simultáneamente, estas permiten realizar interpretaciones más complejas que en los

métodos univariados. El análisis multivariado utiliza las relaciones entre las variables o entre los objetos que el método univariado no considera directamente. El AFC es una técnica multivariante que analiza las relaciones de interdependencia entre variables. El AFC permite descubrir similitudes entre conjuntos de variables, presentando matrices o tablas de contingencia de frecuencias y valores promedios. Es el equivalente del procedimiento de Componentes Principales para variables cualitativas e intenta explicar una variable hipotética denominada factor, mediante un modelo lineal en el que uno o varios factores es la función de un grupo de variables perceptibles. La técnica es descriptiva para representar tablas en donde se recoge la frecuencia de ocurrencia de dos o más variables cualitativas en un conjunto de elementos. El Análisis de Componentes Principales y el Análisis Factorial de Correspondencia tienen como objetivo encontrar la estructura más sencilla reduciendo la dimensionalidad de las variables sin perder información importante. Para realizar esta reducción se simplifica el número de variables a un pequeño número de índices. Cuando trabajamos con microsatélites se cuenta con el programa Genetix V4.05 (Belkhir *et al.*, 2003), donde elabora un cuadro que corresponde a una codificación más conveniente para los datos de la genética de los organismos diploides tal como fue propuesto por (She *et al.*, 1987). Los objetos analizados se ven como una nube de puntos en un hiperespacio que tiene tantas dimensiones como alelos. El algoritmo busca las direcciones independientes en este hiperespacio y la longitud de las cuales es la inercia. Estas direcciones, que son definidas por los vectores propios de la matriz, determinan una serie de ejes factoriales. Por convenio, el primer eje es el que tiene la contribución mayor a la inercia total. Para utilizar los datos genotípicos individuales, cada individuo está representado por su resultado para cada modalidad de cada variable categórica, asignando 0 para la ausencia, 1 para la presencia del alelo en el estado heterocigoto y 2 para el estado homocigoto. El Análisis de Correspondencia puede condensar la información de un gran número de alelos y *loci* en pocas variables sintéticas. Con este método las frecuencias alélicas de las poblaciones en todos los *loci*, se usan como variables y el cluster de cada población se representa gráficamente (Li *et al.*, 2005).

Asignación de individuos a una población: se ha descrito una variedad de procedimientos para obtener la correcta asignación de individuos a una población a la que podría pertenecer. Originalmente se utilizaban metodologías descritas por (Paetkau *et al.*, 1995; Rannala & Mountain, 1997; Cornuet *et al.*, 1999). Posteriormente se han utilizado otras metodologías basadas en modelos bayesianos (Pritchard, *et al.*, 2000; Corander *et al.*, 2008) donde se considera

el área geográfica, que han resultado más precisos. Otros trabajos exploran la utilización de coordenadas geográficas basadas en mosaicos de voronoi (Durand *et al.*, 2005; Guillot, 2008; Guillot *et al.*, 2009).

Los dos métodos más utilizados para asignar individuos a poblaciones son: basados en distancias genéticas y modelos probabilísticos.

Modelos basados en distancias: Se han descrito anteriormente y consisten en establecer una distancia entre el individuo y la población. Se han definido numerosos métodos de distancias genéticas: las distancias entre poblaciones (Cavalli-Sforza & Edwards, 1967; Nei, 1972) y las distancias entre individuos (Bowcock *et al.*, 1994). Se construye una matriz entre pares de individuos, se crea una representación gráfica con apariencia de un árbol y los grupos son identificados visualmente. La presencia de alelos nulos, patrón de mutación, y la homoplasia (similitud no debida a parentesco), pueden ser factores de error que afectan la utilidad de estas herramientas.

Métodos probabilísticos: Funcionan con dos supuestos que deben cumplirse: que no haya desequilibrio de ligamiento y que las frecuencias alélicas se encuentren en equilibrio Hardy-Weinberg.

Método de frecuencias: Descrito originalmente por Paetkau *et al.* (1995), consiste en asignar un individuo a una población basándose en el valor de probabilidad de su genotipo individual de pertenecer a ella. La asignación por este método se realiza en tres etapas: Las frecuencias alélicas de todas las poblaciones potenciales se calculan luego, la probabilidad de ocurrencia de cada genotipo y finalmente asigna el individuo a la población en la cual el genotipo obtuvo la mayor probabilidad.

Métodos bayesianos: (Pritchard *et al.*, 2000) introdujeron un método para identificar poblaciones diferentes considerando dos modelos: el primero es un “no admixture model” o modelo de individuos no mezclados, en él que se asume que los individuos son puros provenientes de alguna de las k poblaciones y el “admixture model” o modelo mezclado, en el que se supone que han existido cruzamientos de los ancestros; es decir, una fracción q_k del genoma de un individuo viene de la subpoblación \mathbf{K} ($\sum_k q_k = 1$) en el que se asume que no hay ligamiento dando información propia de los ancestros. Posteriormente se incluyó en el modelo la existencia de ligamiento entre marcadores, en el modelo combinado, que contabiliza la

correlación entre los marcadores ligados que surgen del resultado de esa mezcla. Este modelo permite la estimación del origen de la región del cromosoma dentro del individuo y proporciona una mejor resolución en el estudio del proceso histórico de la muestra (Falush *et al.*, 2003). Los principales supuestos para estos modelos son que las frecuencias alélicas están en equilibrio de ligamiento y que existe equilibrio Hardy-Weinberg dentro de las poblaciones, por tanto, la similitud del genotipo del individuo está condicionada por las frecuencias alélicas en su población de origen (Pritchard *et al.*, 2000).

Inferencia de la estructura espacial de datos de una población: con el reciente mejoramiento de las técnicas moleculares combinadas con las nuevas herramientas estadísticas como la geoestadística, la máxima verosimilitud y las estimaciones Bayesianas, además de contar con ordenadores más veloces y con mayor capacidad, ha surgido un campo novedoso, la genética paisajista, que es la combinación de la genética de poblaciones y la ecología paisajista. Se define como ecología paisajista, al estudio de la interacción entre patrones espaciales y los procesos ecológicos. La genética paisajista tiene como objetivo proveer información acerca de la interacción entre el paisaje natural y los procesos microevolucionarios, tales como flujo genético, erosión genética y selección. También ayuda a la identificación de fronteras ocultas que provocan rupturas en el flujo genético a través de una población, sin causa evidente. Las dos claves de la genética paisajista son: la detección de discontinuidades genéticas y correlacionarlas con el paisaje y características del ambiente tales como, montañas o gradientes de humedad. Este enfoque es de gran utilidad para diversas disciplinas, como es el caso de biólogos evolucionistas y ecologistas para entender cómo el movimiento de individuos o gametos influyen sobre la estructura genética de una población (Manel *et al.*, 2003). Los métodos de agrupamiento y similitud tienen el potencial de congregar individuos en unidades poblacionales y detectar migrantes sin necesitar una definición a priori de establecer los límites (Pritchard *et al.*, 2000; Falush *et al.*, 2003), pero no toman en cuenta la naturaleza espacial del problema de localizar discontinuidades genéticas. En otros términos, están basados sobre la suposición de que la asignación a una población es *a priori*, independiente e idénticamente distribuida entre individuos. Como consecuencia no utilizan coordenadas espaciales de los individuos muestreados, excepto en algunos esquemas *ad hoc* postproceso como los gráficos espaciales convexos sobre cada una de las poblaciones inferidas (Guillot *et al.*, 2005a). El modelo propuesto por Guillot *et al.* (2005) asume que existen frecuentemente, dependencias de espacio entre individuos. Sobre la

base de este supuesto se desarrollan modelos jerárquicos en que se inyecta información *a priori* sobre cómo los individuos están organizados espacialmente. Además de la detección de discontinuidades genéticas, el modelo toma en cuenta los siguientes puntos:

Eliminar coordenadas confusas de la muestra individual, estimar el número de la población en el área de estudio, cuantificar la dependencia espacial en los datos asignar el individuo a su población de origen y detectar migrantes entre poblaciones.

El conjunto de individuos muestreados es visto como la representación de una o varias poblaciones panmícticas separadas por fronteras geográficas a lo largo del espacio. Primero se especifica cómo la población está espacialmente organizada y luego se especifican las propiedades genéticas estadísticas de cada población condicionada su organización espacial.

En este modelo, la probabilidad de que dos individuos pertenezcan a la misma población disminuye con el incremento de la distancia geográfica que hay entre ambos. Modelos de mezcla como los de Pritchard *et al.* (2000) ponen igual importancia a todas las particiones, mientras que este modelo tiende a favorecer las particiones que se encuentran organizados espacialmente.

Por otro lado tiene la ventaja que posibilita una mejor clasificación con pocos datos debido a una información previa y una inferencia directa acerca de los rangos y sus límites máximos. Sin embargo con grandes cantidades de datos para una K dada, la asignación posterior de los individuos debe ser la misma bajo ambos modelos. El parámetro λ controla el número de polígonos en \square y por lo tanto depende de agrupamientos ocultos espaciales. Valores bajos de λ corresponden a una partición de \square y por lo tanto una fuerte dependencia de organizaciones espaciales ocultas de las poblaciones, mientras que altos valores de λ corresponden a una alta fragmentación y una débil dependencia espacial. Cuando el número de puntos es muy grande, cada mosaico contiene solamente una muestra individual y el modelo de mosaico se comporta de forma similar a los modelos de Pritchard *et al.* (2000) o Corander *et al.* (2003).

Diversos autores han señalado que diferentes algoritmos de agrupamiento pueden inferir diferentes soluciones de la partición óptima de un set de datos. Se han encontrado incongruencias entre BAPS, GENELAND Y STRUCTURE cuando se analizaron datos genéticos de sapos en Inglaterra (Rowe & Beebe, 2007). Este fenómeno se debe a diferencias en los modelos subyacentes, en los estimadores estadísticos o en los algoritmos utilizados para calcular los estimadores. Es importante considerar que todos los programas mencionados anteriormente se

basan en metodología Monte Carlo por cadenas de Markov (MCMC) y por lo tanto, propenso a la convergencia. Esto significa que las salidas de los programas no pueden ser en muchos casos la solución exacta sino una aproximación en que ciertas categorías permanecen desconocidas. Una estrategia eficiente es realizar un gran número de corridas y revisar aquellas que tienen resultados similares. Debido a que estas diferencias en los algoritmos pueden producir diferencias en las soluciones, sería buena práctica analizar datos genéticos con más de un método. Si las salidas coinciden, sugiere la presencia de una fuerte señal genética. Si una o varias salidas no coinciden, se podría especular que las suposiciones de las que uno parte interaccionan con el usual flujo de convergencia de MCMC. Es importante no ignorar los síntomas de convergencia evitando seleccionar el agrupamiento de manera a priori (Frantz *et al.*, 2009). En un trabajo donde se estudiaba la influencia de cinco variables sobre el agrupamiento de individuos con marcadores, tales como número de loci, tamaño de la muestra, número de grupos, dispersión geográfica de la muestra y suposiciones acerca de la correlación de la frecuencia alélicas (Rosenberg *et al.*, 2005) se observó que cada una de estas variables tuvo efecto sobre el “clustering” o agrupamiento. Cuando tomaban la variable dispersión geográfica, tomando las demás variables constantes, ésta tenía un efecto muy pequeño sobre la capacidad de agrupar o “clusteredness” (Helmer *et al.*, 2003). A diferencia de la dispersión geográfica, el número de loci y el tamaño de la muestra mostraron una fuerte correlación con la capacidad de agrupar.

Con el incremento de la cantidad de modelos y programas se consolida la necesidad de herramientas para seleccionar los modelos. Es un problema notorio en estadística y en el caso de los modelos genéticos y ecológicos ya que son esencialmente descriptivos y no hay una selección obvia sobre qué criterios deben ser utilizados para comparar modelos.

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES Y MÉTODOS

MUESTREO Y LOCALIZACIÓN DE LAS POBLACIONES DE CUYES DE AMÉRICA DEL SUR Y ESPAÑA.

El tipo de muestreo fue aleatorio, donde se obtuvieron un total de mil trescientas once (1411). Para obtener las muestras de las provincias andinas del Ecuador, se pidió la colaboración de los veterinarios del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca del Ecuador (MAGAP), ya que ellos están organizados por zonas y tienen identificadas granjas de distintas especies domésticas en todas las provincias, antes de la recolección de muestras, se planificó capacitaciones y foros sobre el uso de registros, características para identificar en los cuyes nativos y mejorados, toma de muestras y entrega de material para la recolección e identificación de los cuyes. En el caso de las líneas comerciales Andina (**AND**), Perú (**LPR**) e Inti (**INTI**) los animales muestreados se clasificaron de acuerdo a las características fenotípicas, acorde a la descripción de conformación (tipo **A**), donde consta el tamaño grande de las orejas, la conformación del cuerpo parecido a un paralelepípedo (mayor profundidad, longitud y ancho) (Chauca, 1997), y al color del pelaje característico de cada línea: Andina (94) color blanco completo, Inti (94) bayo-amarillo, Perú (94) alazán-rojo. Para los cuyes nativos del Ecuador (**NTVE**) se muestrearon animales tomando en cuenta la misma descripción de conformación (tipo **B**), donde consta el tamaño variable de las orejas, la conformación angulosa del cuerpo y diversos colores característicos de los cuyes nativos como por ejemplo: negro, gris, violeta, moro, lobo, blanco, bayo, alazán (Chueca, 1972; Zaldívar, 1976), estos colores se admitieron completos en el todo el cuerpo del animal y en combinaciones. Las muestras de pelo provienen de la grupa de los cuyes, ya que se observó que al quitarlos, los cuyes no se incomodaban con la acción y se obtenía una gran cantidad de pelo sin necesidad de utilizar fuerza.

Se recolectaron 1311 muestras, con el objetivo de hacer un estudio de diversidad de los cuyes de Ecuador. Las muestras se tomaron de diez (10) provincias Andinas del Ecuador: Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Bolívar, Chimborazo, Cañar, Azuay y Loja; Como

3. Materiales y métodos

paso previo se realizó un remuestreo para comprobar la existencia o no de diferenciación o estructura genética entre diversas regiones del Ecuador. Se seleccionaron 94 muestras para cada una de las cuatro (4) poblaciones del Ecuador, dando un total de 376 muestras recogidas en las 10 provincias anteriormente citadas. También, se obtuvieron muestras de cuyes nativos de los países andinos que consumen carne de cuy: Colombia, **COL** (17); Perú, **PERU** (41); Bolivia, **BOL** (13) como se muestra en la Figura 24. Como población de referencia se incluyeron 29 muestras de España, **SPAIN** (Tabla 5), donde son conocidos como cobayas y utilizados fundamentalmente como animales de compañía. La mayor cantidad de muestras obtenidas en el Ecuador se debe a que el objetivo principal del estudio es caracterizar los cuyes de las provincias andinas de este país; y el objetivo secundario es estudiar sus relaciones genéticas con otros países.

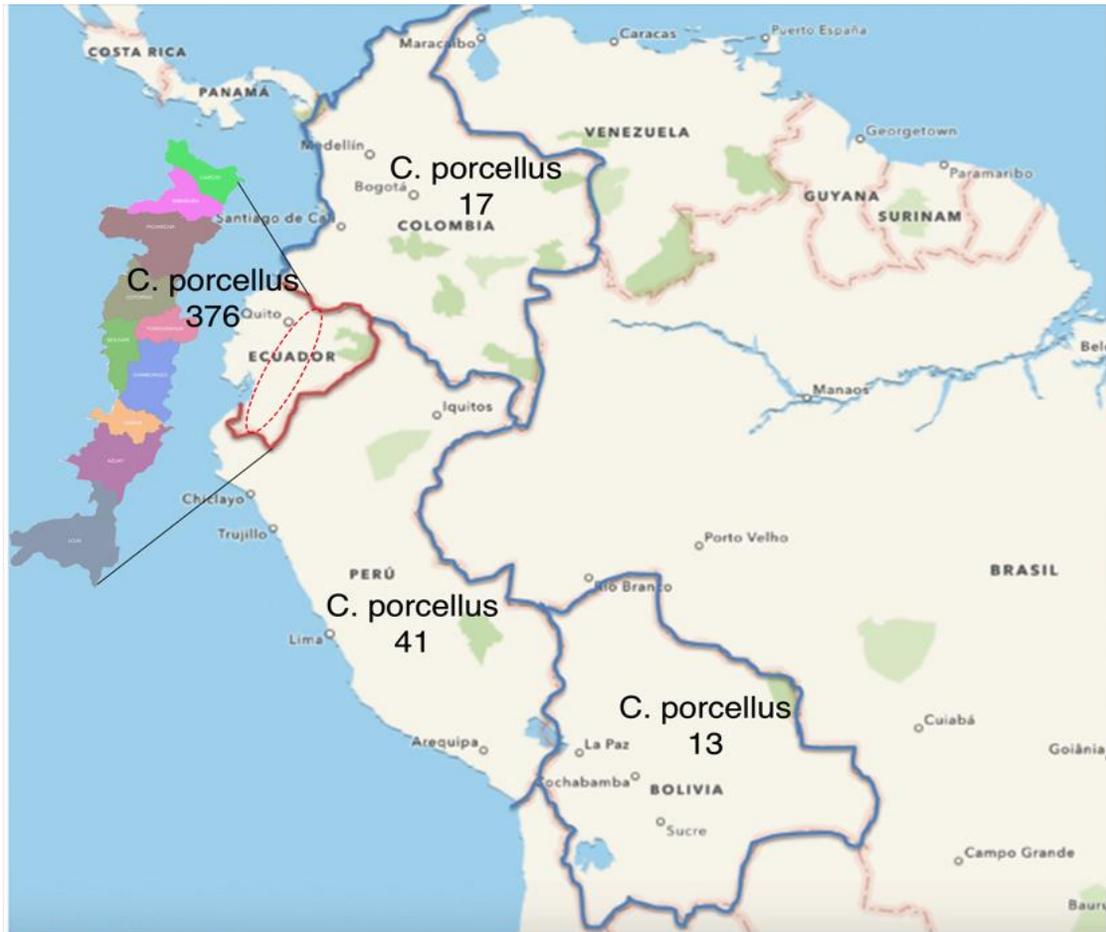


Figura 24: Mapa de los países Andinos que consumen carne de cuy

Tabla 5. Muestreo de Cuyes. Número de muestras (N), origen de los diferentes departamentos de donde se tomaron las muestras, colores de pelo, conformación del cuerpo.

| Población | Código | N | Origen | Colores | Conformación |
|----------------|--------|------|----------------|-----------------|--------------|
| Línea Andina | AND | 314 | Ecuador * | Blanco completo | Tipo A*** |
| Línea Inti | INTI | 340 | Ecuador * | Bayo/amarillo | Tipo A*** |
| Línea Peru | LPR | 438 | Ecuador * | Alazán/rojo | Tipo A*** |
| Nativa Ecuador | NTVE | 219 | Ecuador * | ** | Tipo B*** |
| Peruana | PERU | 41 | Apurímac | ** | Tipo B*** |
| Boliviana | BOL | 13 | Cochabamba | ** | Tipo B*** |
| Colombiana | COL | 17 | Cauca y Nariño | ** | Tipo B*** |
| España | SPAIN | 29 | San Sebastian | ** | Mascota |
| Total | | 1411 | | | |

* Diez provincias andinas de Norte a Sur (Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Bolívar, Chimborazo, Cañar, Azuay y Loja)

**Colores variados: negro, gris, violeta, moro, lobo, blanco, bayo, alazán (completos o combinados)

*** Conformacion por TipoA (paralelepípedo y orejas grandes) y Tipo B (angulos, orejas variadas y erectas)

DISEÑO DEL PANEL DE MICROSATÉLITES PARA CUY DOMÉSTICO

Diseño de Microsatélites *en silico*

El cavPo3 (nombre de la secuenciación genómica del *Cavia porcellus*) fue usado para obtener las secuencias de microsatélites en http://www.ensembl.org/Cavia_porcellus/Info/Index y a través del buscador del Centro Internacional de Información Biotecnológica (NCBI) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Se eligieron microsatélites con las siguientes características: dinucleótidos AG, AC, AT, TC, CA y GT de ≥ 18 pares de bases (pb). Un total de 25 secuencias fueron elegidas. los datos generales se encuentran en la Tabla 6.

Los pares de cebadores utilizados para amplificar la secuencia de ADN mediante PCR se diseñaron con el programa PRIMER3 software V0.4.0 (Rozen & Skaletsky, 2000), permite el diseño del par de cebadores con tamaños de los productos esperados para PCR que van de 80 a 350pb. Para el diseño de los cebadores se tuvieron en cuenta los siguientes parámetros: tamaño óptimo 20pb ± 5 bp; temperatura óptima de fusión $\sim 60 \pm 5^\circ$ C y contenido de guanina-citosina (GC %) entre 20 y 80%. Los cebadores seleccionados se sintetizaron en la empresa Stabvida, Costa de Caparica (Portugal).

3. Materiales y métodos

Tabla 6: Detalle de los microsatélites seleccionados, secuencia final del par de cebadores diseñados para *Cavia porcellus*

| Nombre | Descripción de la secuencia de origen | Número de acceso | Dinucleotidos (número de repeticiones) | Longitud de amplificación | Cebador directo | Cebador reverso |
|--------|---|------------------|--|---------------------------|-------------------------|------------------------|
| CUY01 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-497P15, complete sequence. | AC171739.3 | GT(18) | 273 | cttccaggcaataggcatcc | gcagctggactacagagca |
| CUY02 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-9K24, complete sequence. | AC173430.3 | CA(22) | 258 | caagatgccatcaacttctgt | tgttgcctgagatgctcttt |
| CUY03 | <i>Cavia porcellus</i> clone -24932957J7, complete sequence | AC165221.3 | GT(18) | 228 | gcaagtcaaatcatcctga | gagtcctgccaagcaaaatc |
| CUY04 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-14J14, complete sequence | AC175208.3 | GT(22) | 223 | tcatctcgtctcagcatttg | aatggtcaggggctaggatt |
| CUY05 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-497P15, complete sequence. | AC171739.3 | CA(20) | 156 | ggccaaagcaggaatgtcta | tagggcaagcattgatgatg |
| CUY06 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-9K24, complete sequence. | AC173430.3 | CA(18) | 162 | tggtctgtcttcttttgg | ctgtctcagcattgcattt |
| CUY07 | <i>Cavia porcellus</i> clone B64 microsatellite sequence | GU045442.1 | CA(18) | 187 | gatgcagtcagaggagtc | tgtgtggtttgtgtgtgagg |
| CUY08 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-402D11, complete sequence | AC175781.3 | TC(21) | 190 | tgattgcacctgagaagtgg | ccaagtgttcttggtgcttg |
| CUY09 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-334G9, complete sequence | AC181988.3 | GT(18) | 120 | gctggaatgcaagacaagc | tgagtttccagctgfatgagt |
| CUY10 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-9K24, complete sequence. | AC173430.3 | GT(21) | 117 | ttccaagcatttcagaaaaca | tgacttcccaaccaagga |
| CUY11 | <i>Cavia porcellus</i> clone C15 microsatellite sequence | GU045440.1 | TG(20) | 156 | aaaatgtgtccatgggatg | gcatgtgtttatcgctctg |
| CUY12 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-34N9, complete sequence | AC174609.3 | AG(28) | 242 | ggaatgggtgcaaacctcta | tctcctcctcctcctctc |
| CUY13 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-34N9, complete sequence | AC174609.3 | AG(24) | 273 | tgccaaatgagaatggatga | ggggtaatggcaatgtgtc |
| CUY14 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-386E16, complete sequence | AC216606.3 | CA(22) | 250 | agcaagaggcacacaagtca | ggggtaatggcaatgtgtc |
| CUY15 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-14J14, complete sequence | AC175208.3 | AG(25) | 153 | aaagcttggactcggaaga | ttccttctcctcctctcc |
| CUY16 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-14J14, complete sequence | AC175208.3 | AT(25) | 248 | tttgagtcaagccgtgaaca | gcctgtttgaaactgtttactg |
| CUY17 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-33F4, complete sequence. | AC174824.3 | TC(19) | 154 | tgatggacaatatactgggaacc | tagcatgcatgaagccctaa |
| CUY18 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-33F4, complete sequence. | AC174824.3 | CA(21) | 210 | tgctacttctactccacca | tcccaaacctctgtttgct |
| CUY19 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-261L8, complete sequence. | AC181987.3 | TC(22) | 196 | tcccaaggctgagcatatc | tggtcaatttgcctcatgtg |
| CUY20 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-261L8, complete sequence. | AC181987.3 | AT(22) | 231 | tcttggaaatggcctacattt | tggtctctaggggatccatt |
| CUY21 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-176E17, complete sequence. | AC171368.3 | TC(27) | 262 | atcttctctgcccctcttc | tggtgccacacacctgta |
| CUY22 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-487I3, complete sequence. | AC171142.3 | TC(21) | 248 | cgaacatccaagcagatta | acaccagtctctgccacat |
| CUY23 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-487I3, complete sequence. | AC171142.3 | CA(21) | 195 | gcaaatgtgccatctgtgt | aagttggtttggggattt |
| CUY24 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-176E17, complete sequence. | AC171368.3 | CA(27) | 222 | tgctgcagcctcttgaata | ccacagtggttaaatgatcgag |
| CUY25 | <i>Cavia porcellus</i> clone CH234-497P15, complete sequence. | AC171739.3 | CA(23) | 108 | aaatcgcctacagcaattc | tttatggcaccagagagagc |

Muestreo para probar la eficacia del panel de microsatélites.

Se utilizaron un total de 100 muestras de pelo tomadas al azar entre todas las disponibles buscando la máxima diversidad posible. Estas muestras representaron la población de *Cavia porcellus* recolectadas en países de América del sur que consumen carne de cuy y España, donde son utilizados como animales de compañía. Las 100 muestras se repartieron de la siguiente manera: Ecuador: **AND**, **LPR**, **INTI** y **NTVE** (40); **COL** (15), **BOL** (13), **PERU** (15) y **SPAIN** (20).

Obtención del ADN

Las muestras de pelo se recogieron en bolsas plásticas con cierre zip y almacenadas a temperatura ambiente hasta su ingreso en el laboratorio de Genética Molecular Aplicada del grupo de investigación PAIDI-AGR-218 del Departamento de Genética de la Universidad de Córdoba (España).

Para la extracción de ADN se seleccionaron de 3 a 5 pelos por muestra y se introdujeron ordenadamente en los pocillos de una placa de 8 x12, de forma que la raíz quedase en el fondo del pocillo. Se añadieron 100 µl de una solución de Chelex-100 (biorad) al 5% a cada muestra, se calentaron a 95°C durante 15 min, 60°C durante 20 min y a 99°C durante 3 min. Se cubrió la placa con una lámina selladora numerando la placa con la identificación correspondiente a la tanda y se congelaron hasta su uso posterior.

SELECCIÓN DE LOS MICROSATÉLITES

Para comprobar el polimorfismo de los microsatélites seleccionados, se realizó una PCR para cada *locus* con un volumen total de 25µl que contenía ~10-30ng de ADN genómico; 0,2µM de cada par de cebadores, solución tampón 1X de un buffer de PCR que contiene NH₄SO₄, 2,5 mM de MgCl₂, 200µM de cada dNTPs y 1U Taq polimerasa (AIDLAB, Beijing-China). La amplificación se realizó utilizando el siguiente programa de PCR: una fase inicial a 95°C por 10` minutos, 35 ciclos de 95°C por 30`` segundos, 56°C por 50`` segundos y 72°C por 1` minuto y una fase final a 72°C durante 10` minutos.

Un total de 5ul de producto de la PCR se diluyó con 2ul de tampón de carga 6X que contiene : Azul de Bromofenol 0,25% (0,0025g), Xylene Cianol 0,25% (0,0025g) y Sacarosa (0,4g). Los productos de PCR fueron visualizados en un gel de agarosa al 3% teñido con Bromuro de Etidio (C₂₁H₂₀BrN₃) en razón de 3ug por litro a 150V/cm en tampón TBE IX y confrontado con un marcador de peso molecular de 100pb, que contiene: 0,5ug/10 de buffer

de carga, 10mM de EDTA, 10% de glicerol 0,015% azul Bromofenol y 0,17% de SDS (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA).

De los 25 microsatélites iniciales, se seleccionaron 16 parejas de cebadores en base a la cantidad de amplificación y ausencia de productos inespecíficos. Algunos productos de la PCR fueron secuenciados utilizando el kit BigDye® Cycle Sequencing kit 2.0 (Life technologies, Carlsbad, CA, USA), los resultados se obtuvieron por medio del secuenciador ABI PRISM 3130 y presentados en el GenBank (KP115879 a KP115894; Tabla 7) después de controlar la alineación con la secuencia del clon original (Tabla 6). Además de los 16 microsatélites seleccionados se analizaron 4 microsatélites con algunas modificaciones (Tabla 7) del trabajo de Kanitz et al. (2009) y Asher et al. (2008).

Tabla 7: Características generales de la amplificación los microsatélites: código de acceso al Genbank (GB); motivo de repetición de los microsatélites (RP); reacción multiplex donde se amplifica el *locus* (MX); Temperatura de hibridación de la PCR (Tm), rango de tamaños (SR) y secuencias del cebador directo y reverso

| <i>Locus</i> | GB | RP | MX | Tm | SR | Cebador directo | Cebador reverso |
|--------------|----------|----|----|----|---------|-------------------------|------------------------|
| CUY01 | KP115879 | GT | 2 | 55 | 271-285 | cttfcaggcaataggcatcc | gcagcttgactacagagca |
| CUY02 | KP115880 | CA | 2 | 55 | 250-262 | caagatgcatcaacttctgt | tgtgtctgagatgctgcttt |
| CUY03 | KP115881 | GT | 1 | 55 | 212-252 | gcaagtcaaatcatccctga | gagtctctccaagcaaaatc |
| CUY04 | KP115882 | GT | 2 | 55 | 210-230 | tcattctgcttcagcatttg | aatgtgcaggggctaggatt |
| CUY05 | KP115883 | CA | 2 | 55 | 141-163 | ggccaaagcaggaatgtcta | tagggcaagcattgatgatg |
| CUY06 | KP115884 | CA | 4 | 55 | 158-168 | tggcttgctttctctttggt | ctgtgctcagcattgcattt |
| CUY07 | KP115885 | CA | 2 | 55 | 183-197 | gatgcagtgagaggagtca | tgtgtggtttgtgtgtgagg |
| CUY08 | KP115886 | TC | 1 | 55 | 181-217 | tgattgcacctgagaagtgg | ccaagtgtcttggtgcttg |
| CUY09 | KP115887 | GT | 2 | 55 | 116-130 | gctggaatgcaagacaagc | tgagtttcagctgtgatgagt |
| CUY10 | KP115888 | GT | 1 | 55 | 106-128 | ttccaagcatttcagaaaaca | tgacttccaaccaaggaaa |
| CUY12 | KP115889 | AG | 4 | 55 | 232-250 | ggaatggtggcaaaactccta | tctctctctctctctctc |
| CUY16 | KP115890 | AT | 3 | 60 | 223-247 | tttgagtaagccgtgaaca | gcctgtttgaaactgtttactg |
| CUY17 | KP115891 | TC | 4 | 55 | 152-170 | tgatggacaatatactgggaacc | tagcatgcatgaagccctaa |
| CUY18 | KP115892 | CA | 2 | 55 | 176-214 | tgtcacttctcactccacca | tcccaaacctctgtttgct |
| CUY20 | KP115893 | AT | 4 | 55 | 218-258 | tcttggaaatggcctacatttt | tggtctctaggggtatccatt |
| CUY22 | KP115894 | TC | 4 | 55 | 206-232 | cgaacatgccaagcagatta | acaccagttcctgcccacat |
| Cavy02* | AJ496560 | AC | 2 | 55 | 124-154 | ggccattatgcccccaac | agctgctcctgtgctgtag |
| Cavy03* | AJ496561 | CT | 1 | 55 | 195-225 | acagcgatcacaatctgcac | gcagtggttaaccagaatgg |
| Cavy11* | AC192015 | CT | 1 | 55 | 140-180 | ccgtgctttctctgtctttg | tggacccaatctgacatag |
| Cavy12* | AC182323 | AG | 1 | 55 | 143-187 | agaatgcctttgggactgg | agatcttgcctctgcacttg |

* Loci seleccionados de Kanitz et al. (2009) y Asher et al. (2008)

TIPIFICACIÓN DE LOS MICROSATÉLITES

Electroforesis capilar

Se diseñó la distribución y colores (juego de colorantes ABI Dye Set) de los microsatélites en función de sus rangos de tamaños en geles para ser visualizados mediante electroforesis de los productos obtenidos en diferentes multiplex PCR. La PCR fue realizada por separado para cada *locus* con un volumen total de 25 μ l que contenían ~ 10-30 ng de ADN genómico, 0,2 μ M de cada par de cebadores, tampón de PCR 1X (NH₄SO₄/KCl), 3 mM de MgCl₂, 200 μ M de dNTPs y 1U Taq polimerasa (AIDLAB, Beijing-China). Se utilizaron 8 muestras para establecer la temperatura óptima a través de gradiente de PCR, que consintió en una PCR donde la temperatura de hibridación variaba entre 50° – 62°C usando un Biometra Tgradient termociclador (Biorad).

Los tamaños de los alelos de los microsatélites se visualizaron utilizando un secuenciador capilar ABI PRISM 3130 (Life Technology), utilizando el polímero POP7 y el estándar interno GeneScan500 - Rox (Life Technology). El análisis de los fragmentos amplificados y el genotipado se realizó con los programas informáticos GeneScan Analisis 3.1.2 y Genotyper 3.7 NT (Applied Biosystems) respectivamente.

Genotipado de los Microsatélites.

En base al éxito de la eficiencia de amplificación y en ausencia de amplificación inespecífica, de los 25 microsatélites inicialmente seleccionados, se descartaron 9 de ellos. Se sintetizaron los cebadores marcados con fluorocromos de los 16 microsatélites restantes: CUY01, CUY02, CUY03, CUY04, CUY05, CUY06, CUY07, CUY08, CUY09, CUY10, CUY12, CUY16, CUY17 , CUY18, CUY20, CUY22. Para completar el panel y trabajar con al menos 20 microsatélites, se seleccionaron cuatro microsatélites dinucleótidos tomados de Kanitz et al. (2009) y Asher et al. (2008): Cavy02, Cavy03, Cavy11 y Cavy12, basados en la longitud de la secuencia y al polimorfismo del marcador (Tabla 6). Se realizaron pequeñas modificaciones en la secuencia de los cebadores de Cavy11 y Cavy12 para mejorar el parámetro de temperatura de fusión.

El sistema de cuatro colores (ABI Dye Set) predispuestas a una distancia mínima de ~20pb entre loci se utilizó para diseñar el patrón de electroforesis, de lo cual resultó una distancia inusualmente grande debido a la falta de datos referenciales sobre el doméstico y al rango de información alélica esperada no existente. La amplificación por PCR del panel resultó en 4

PCR multiplex dividido en 3 geles de electroforesis (Figura 25). Como resultado de la amplificación en gradiente para determinar la temperatura óptima de hibridación, se optó por trabajar a $55^{\circ}\text{C}\pm 0,5$, además se añadió una fase final a 72°C durante 1 hora para forzar el efecto plusA y obtener así unas bandas más claras para todos los microsatélites. El marcador CUY16 se amplificó solo a una temperatura de hibridación de $60^{\circ}\text{C} \pm 0,5$. Como no existían referencias previas para poder realizar una denominación alélica estandarizada, los alelos fueron llamados en base al tamaño relativo en pares de bases. Se eligieron dos muestras como controles para estandarizar la denominación alélica en el laboratorio.

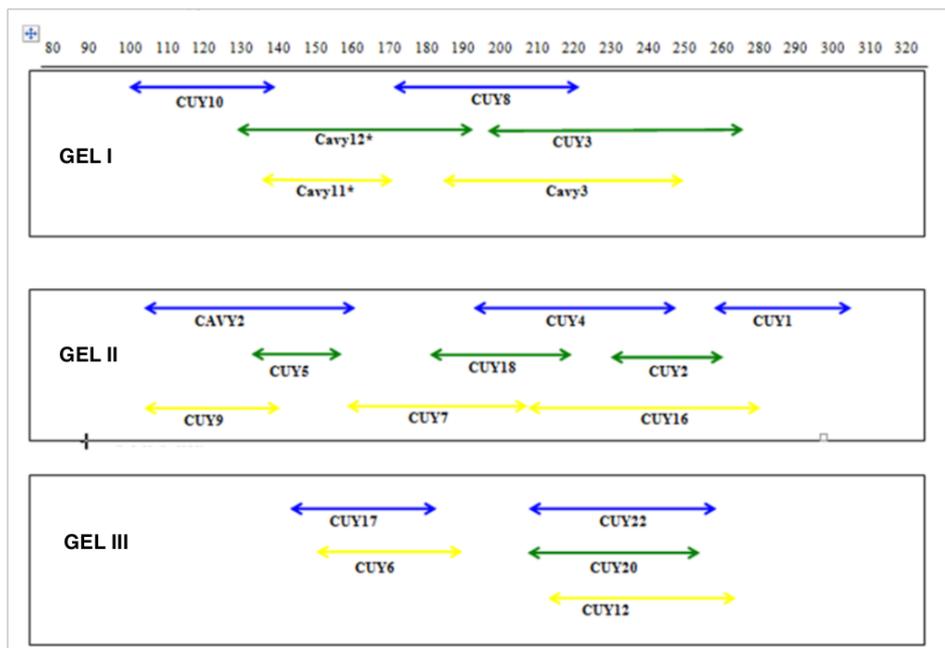


Figura 25: Esquema de electroforesis del panel de 20 microsatélites seleccionados

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Evaluación del panel de Microsatélites para cuy doméstico

Para evaluar el panel de microsatélites seleccionados, se calcularon los siguientes parámetros: el número medio de alelos por *locus* (NA), frecuencias alélicas, la heterocigosis observada (H_o) y esperada (H_e) y el contenido de información polimórfica (PIC) de cada microsatélite con la fórmula propuesta por Botstein et al. (1980) usando el complemento para Microsoft Excel, Microsatellite Toolkit (Park, 2001).

Las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg y los valores de F_{IS} con un intervalo de confianza del 95% (Wright, 1965) se calcularon con el programa GENEPOP V.3.1c (Raymond & Rousset, 1995), que aplica el test exacto de Fisher usando el método en cadena

de Monte Carlo Markov (Guo & Thompson, 1992) y Genetix v.4.02 (Belkhir, Borsa, Chikhi, Raufaste & Bonhomme, 2003) respectivamente.

La probabilidad de exclusión considerando primero (NE-1P), segundo (NE-2P), un par de padres (NE-PP), individual (NE-I) y la semejanza entre hermanos (NE-SI), el equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) fue calculado con el software CERVUS V.3.0.3 (Marshall *et al.*, 1998; Kalinowski *et al.*, 2007).

DIVERSIDAD GENÉTICA DE LAS POBLACIONES DE CUYES EN ECUADOR

Procesamiento y análisis de las muestras

Se utilizaron 376 muestras de pelo, repartidos en 94 muestras por cada una de las poblaciones de cuyes del Ecuador AND, INTI, LPR y NTVE. Una vez aprobado y puesto en marcha el nuevo panel de 20 microsatélites para *Cavia porcellus* (Avilés *et al.*, 2015) se los puede observar en la Tabla 7. Se procedió con la extracción del ADN de las muestras de pelo de los cuyes ecuatorianos; se tomaron de 3 a 5 pelos por muestra y se introdujeron en el fondo del pocillo. Se añadieron 100 µl de una solución de Chelex-100 (biorad) al 5% a cada muestra, se calentaron a 95°C durante 15 min, 60°C durante 20 min y a 99°C durante 3 min. La placa fue conservada a -20°C. Para llevar a cabo la PCR se tomaron ~10-30ng de ADN genómico; 0,2µM de cada par de cebadores, solución tampón 1X de un buffer de PCR que contiene NH₄SO₄, 2,5 mM de MgCl₂, 200µM de cada dNTPs y 1U Taq polimerasa (AIDLAB, Beijing-China) con un volumen total de 25µl. La amplificación se realizó utilizando el siguiente programa de PCR: una fase inicial a 95°C por 10` minutos, 35 ciclos de 95°C por 30`` segundos, 56°C por 50`` segundos y 72°C por 1` minuto y una fase final a 72°C durante 10` minutos. Los microsatélites fueron amplificados en PCR múltiple (multiplex) Tabla 8. Los productos de la PCR fueron secuenciados utilizando el kit BigDye® Cycle Sequencing kit 2.0 (Life technologies, Carlsbad, CA, USA), los resultados se obtuvieron por medio del secuenciador ABI PRISM 377. El análisis de los fragmentos amplificados y el genotipado se realizó con los programas informáticos GeneScan Analisis 3.1.2 y Genotyper 3.7 NT (Applied Biosystems) respectivamente.

Tabla 8: Condiciones de amplificación de los microsatélites. Reacción múltiplex; temperatura de hibridación de la PCR (T_m); rango de tamaños (RT); fluorocromo y color.

| Microsatélites | Múltiplex | T_m | RT | Fluorocromo | Color |
|----------------|-----------|-------|---------|-------------|----------|
| Cavy02 | 2 | 55 | 271-285 | HEX | Verde |
| Cavy03 | 2 | 55 | 250-262 | NED | Amarillo |
| Cavy11 | 1 | 55 | 212-252 | NED | Amarillo |
| Cavy12 | 2 | 55 | 210-230 | FAM | Azul |
| CUY01 | 2 | 55 | 141-163 | FAM | Azul |
| CUY02 | 4 | 55 | 158-168 | HEX | Verde |
| CUY03 | 2 | 55 | 183-197 | HEX | Verde |
| CUY04 | 1 | 55 | 181-217 | FAM | Azul |
| CUY05 | 2 | 55 | 116-130 | HEX | Verde |
| CUY06 | 1 | 55 | 106-128 | NED | Amarillo |
| CUY07 | 4 | 55 | 232-250 | NED | Amarillo |
| CUY08 | 3 | 60 | 223-247 | FAM | Azul |
| CUY09 | 4 | 55 | 152-170 | NED | Amarillo |
| CUY10 | 2 | 55 | 176-214 | FAM | Azul |
| CUY12 | 4 | 55 | 218-258 | NED | Amarillo |
| CUY16 | 4 | 55 | 206-232 | NED | Amarillo |
| CUY17 | 2 | 55 | 124-154 | FAM | Azul |
| CUY18 | 1 | 55 | 195-225 | HEX | Verde |
| CUY20 | 1 | 55 | 140-180 | HEX | Verde |
| CUY22 | 1 | 55 | 143-187 | FAM | Azul |

Análisis estadísticos para determinar la diversidad genética intra-racial de las poblaciones de cuyes del Ecuador

Se calcularon las frecuencias alélicas, el número medio de alelos, las Heterocigosis esperada y observada y el PIC mediante el programa Microsatellite Toolkit (Park, 2001). Los valores de F_{IS} con un intervalo de confianza del 95% se determinan con el programa Genetix V. 4.02 (Belkhir *et al.* 2003). El equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) fue calculado con el programa GENEPOP V.3.1c (Raymond & Rousset, 1995).

Análisis estadísticos para determinar la diversidad genética inter-racial de las poblaciones de cuyes del Ecuador

El cálculo del coeficiente de diferenciación genética (G_{ST}) y la riqueza alélica fueron efectuadas con el software FSTAT de Goudet (2001); los índices de fijación (Estadísticos F) de Wright (1969) y Weir & Cockerham (1984): $F = F_{IT}$, $\theta = F_{ST}$ y $f = F_{IS}$ y el análisis factorial de correspondencia (AFC) se ha realizado con el programa GENETIX V.4.05 (Belkhir *et al.*,

2003). Se han calculado las matrices de distancias genéticas: D_{SA} (distancia individual) de Bowcock et al. (1994), D_A de Nei et al. (1983) y de Reynolds D_R (1983). Con las matrices se han construido árboles filogenéticos que reflejaron las relaciones genéticas entre las poblaciones cavícolas, con el paquete POPULATIONS V.1.2.28 (Olivier Langella, <http://www.cnrs-gif.fr/pge/bioinfo/populations/>). Los árboles filogenéticos se han visualizado con el programa TREEVIEW (Page, 1996) y con la matriz de distancias D_A de Nei se construyeron “splits graph” mediante el algoritmo “NeighborNet” con el programa SPLITS TREE V.4.10 (Bryant & Moulton, 2004; Huson & Bryant, 2006).

Para determinar la estructura genética de las poblaciones de cuyes domésticos se aplicó el análisis de varianza molecular (AMOVA), estimando los componentes de varianza entre grupos ($F_{ST} = \sigma_a + \sigma_b + \sigma_t$), entre poblaciones y entre grupos ($F_{SC} = \sigma_b / \sigma_b + \sigma_c$) y total de la población entre grupos ($F_{CT} = \sigma_a / \sigma_t$), mediante el software ARLEQUIN V.3.5 de Excoffier y Lischer (2010). Con el programa STRUCTURE V.2.3.4 (Pritchard, Stephens & Donnelly, 2000) se ha realizado el análisis de la estructura de las poblaciones, que asigna individuos a clusters relacionando a los más parecidos genéticamente por medio de un algoritmo bayesiano que emplea el modelo de Markov, que estima la distribución *a posteriori* de cada coeficiente de mezcla de cada individuo (q). La estimación de la proporción que el genoma de un individuo tiene de las poblaciones parentales es representada por la media de esta distribución.

ESTUDIO DE LA RELACIONES GENÉTICAS ENTRE LAS POBLACIONES DE CUYES DEL ECUADOR Y DE LOS PAÍSES DE AMÉRICA DEL SUR Y UN OUTGROUP INTERNACIONAL

Procesamiento y análisis de las muestras

Se utilizaron 476 muestras de pelo, recolectadas en los países andinos donde se consume carne de cuy; se obtuvieron 41 muestras peruanas (PERU), 17 muestras colombianas (COL), 13 muestras bolivianas (BOL), 29 muestras de España (SPAIN) usadas como outgroup, donde se los considera mascotas o animales de experimentación y 94 muestras por cada una de las poblaciones de cuyes del Ecuador AND, INTI, LPR y NTVE. Las muestras de los países diferentes a Ecuador fueron facilitadas por los miembros de la RED COMBIAND. El número de muestras inferior de los países andinos, radica en la dificultad de encontrar cuyes nativos puros sin cruce con mejorados.

Se utilizó el mismo panel de 20 microsatélites para *Cavia porcellus* (Avilés *et al.*, 2015) se los puede observar en la Tabla 7. Se procedió con la extracción del ADN de las muestras de pelo de los cuyes ecuatorianos; se tomaron de 3 a 5 pelos por muestra y se introdujeron en el fondo del pocillo. Se añadieron 100 μ l de una solución de Chelex-100 (biorad) al 5% a cada muestra, se calentaron a 95°C durante 15 min, 60°C durante 20 min y a 99°C durante 3 min. La placa fue conservada a -20°C. Para llevar a cabo la PCR se tomaron ~10-30ng de ADN genómico; 0,2 μ M de cada par de cebadores, solución tampón 1X de un buffer de PCR que contiene NH₄SO₄, 2,5 mM de MgCl₂, 200 μ M de cada dNTPs y 1U Taq polimerasa (AIDLAB, Beijing-China) con un volumen total de 25 μ l. La amplificación se realizó utilizando el siguiente programa de PCR: una fase inicial a 95°C por 10` minutos, 35 ciclos de 95°C por 30`` segundos, 56°C por 50`` segundos y 72°C por 1` minuto y una fase final a 72°C durante 10` minutos. Los microsatélites fueron amplificados en PCR múltiple (multiplex) Tabla 8. Los productos de la PCR fueron secuenciados utilizando el kit BigDye® Cycle Sequencing kit 2.0 (Life technologies, Carlsbad, CA, USA), los resultados se obtuvieron por medio del secuenciador ABI PRISM 377. El análisis de los fragmentos amplificados y el genotipado se realizó con los programas informáticos GeneScan Analisis 3.1.2 y Genotyper 3.7 NT (Applied Biosystems) respectivamente. Se calcularon las frecuencias alélicas, el número medio de alelos, las Heterocigosis esperada y observada y el PIC mediante el programa Microsatellite Toolkit (Park, 2001). Los valores de F_{IS} con un intervalo de confianza del 95% se determinan con el programa Genetix V. 4.02 (Belkhir *et al.* 2003). El equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) fue calculado con el programa GENEPOP V.3.1c (Raymond & Rousset, 1995).

El cálculo del coeficiente de diferenciación genética (G_{ST}) y la riqueza alélica fueron efectuadas con el software FSTAT de Goudet (2001); los índices de fijación (Estadísticos F) de Wright (1969) y Weir & Cockerham (1984): $F = F_{IT}$, $\theta = F_{ST}$ y $f = F_{IS}$ y el análisis factorial de correspondencia (AFC) se ha realizado con el programa GENETIX V.4.05 (Belkhir *et al.*, 2003). Se han calculado las matrices de distancias genéticas: D_{SA} (distancia individual) de Bowcock *et al.* (1994), D_A de Nei *et al.* (1983) y de Reynolds D_R (1983). Con las matrices se han construido árboles filogenéticos que reflejaron las relaciones genéticas entre las poblaciones cavícolas, con el paquete POPULATIONS V.1.2.28 (Olivier Langella, <http://www.cnrs-gif.fr/pge/bioinfo/populations/>). Los árboles filogenéticos se han visualizado con el programa TREEVIEW (Page, 1996) y con la matriz de distancias D_A de Nei se

construyeron “splits graph” mediante el algoritmo “NeighborNet” con el programa SPLITS TREE V.4.10 (Bryant & Moulton, 2004; Huson & Bryant, 2006).

Para determinar la estructura genética de las poblaciones de cuyes domésticos se aplicó el análisis de varianza molecular (AMOVA), estimando los componentes de varianza entre grupos ($F_{ST} = \sigma_a + \sigma_b + \sigma_t$), entre poblaciones y entre grupos ($F_{sc} = \sigma_b / \sigma_b + \sigma_c$) y total de la población entre grupos ($F_{CT} = \sigma_a / \sigma_t$), mediante el software ARLEQUIN V.3.5 de Excoffier y Lischer (2010). Con el programa STRUCTURE V.2.3.4 (Pritchard, Stephens & Donnelly, 2000) se ha realizado el análisis de la estructura de las poblaciones, que asigna individuos a clusters relacionando a los más parecidos genéticamente por medio de un algoritmo bayesiano que emplea el modelo de Markov, que estima la distribución *a posteriori* de cada coeficiente de mezcla de cada individuo (q). La estimación de la proporción que el genoma de un individuo tiene de las poblaciones parentales es representada por la media de esta distribución.

RESULTADOS

RESULTADOS

DISEÑO DEL PANEL DE MARCADORES MICROSATÉLITES

Se diseñó un panel de dieciséis (16) marcadores microsatélites para caracterizar las poblaciones de cuyes domésticos: CUY01, CUY02, CUY03, CUY04, CUY05, CUY06, CUY07, CUY08, CUY09, CUY10, CUY12, CUY16, CUY17, CUY18, CUY20, CUY22 y cuatro (4) microsatélites dinucleótidos tomados de Kanitz et al. (2009) y Asher et al. (2008): Cavy02, Cavy03, Cavy11 y Cavy12.

La eficacia del panel se estudió en 100 muestras seleccionadas entre todas las disponibles intentando tener la máxima representatividad y variabilidad genética. En las siguientes tablas se puede observar valores subrayados, indican el valor más bajo y valores con negrita, indican el valor más alto. En la Tabla 9 se encuentran los valores de los microsatélites, el número promedio de alelos fue $10,8 \pm 3,49$. Todos los microsatélites fueron altamente polimórficos con un número mínimo de alelos de 6 (CUY06) y un máximo de 18 (Cavy12). El promedio de riqueza alélica fue $6,277 \pm 1,43$ el rango de riqueza alélica fue de un mínimo de 4,002 para CUY09 y un máximo de 9,969 para Cavy12. El promedio de heterocigosis observada fue $0,589 \pm 0,115$ el valor mínimo de 0,373 para CUY07 y un máximo de 0,777 para Cavy11 y el promedio de heterocigosis esperada fue $0,778 \pm 0,080$ el valor mínimo fue de 0,547 para CUY09 y un máximo de 0,913 para Cavy12. Una vez evaluados los valores de PIC para cada marcador se obtuvieron valores altos que van de 0,503 y 0,902 de CUY09 de Cavy12 y un valor promedio de $0,746 \pm 0,1$. La desviación del equilibrio Hardy-Weinberg fue encontrado en 9 de 20 loci (Cavy03, CUY01, CUY02, CUY04, CUY06, CUY07, CUY08, CUY18, CUY22), el valor medio de F_{IS} 0,174.

Tabla 9: Descripción estadística de 20 microsátelites: número total de alelos (NA), riqueza alélica (AR), heterocigosis observada (Ho) y esperada (He), contenido de información polimórfica (PIC), desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) y estadístico F_{IS} .

| <i>Locus</i> | NA | AR | Ho | He | PIC | HW | F_{IS} |
|--------------|-----------|--------------|--------------|--------------|--------------|----|----------|
| Cavy02 | 9 | 5,093 | 0,670 | 0,723 | 0,675 | NS | -0,038 |
| Cavy03 | 13 | 6,469 | 0,573 | 0,816 | 0,788 | ** | 0,228 |
| Cavy11 | 17 | 8,193 | 0,777 | 0,872 | 0,854 | NS | 0,068 |
| Cavy12 | 18 | 9,969 | 0,500 | 0,913 | 0,902 | ND | 0,427 |
| CUY01 | 8 | 5,196 | 0,588 | 0,756 | 0,718 | * | 0,076 |
| CUY02 | 7 | 5,131 | 0,447 | 0,728 | 0,682 | ** | 0,283 |
| CUY03 | 11 | 5,997 | 0,650 | 0,790 | 0,756 | NS | 0,034 |
| CUY04 | 9 | 5,832 | 0,500 | 0,708 | 0,680 | ** | 0,186 |
| CUY05 | 12 | 6,863 | 0,728 | 0,835 | 0,810 | NS | 0,097 |
| CUY06 | 6 | 4,266 | 0,461 | 0,723 | 0,668 | ** | 0,270 |
| CUY07 | 7 | 4,551 | 0,373 | 0,690 | 0,639 | ** | 0,457 |
| CUY08 | 17 | 8,166 | 0,621 | 0,860 | 0,841 | ** | 0,180 |
| CUY09 | 7 | 4,002 | 0,398 | 0,547 | 0,503 | NS | 0,242 |
| CUY10 | 11 | 6,299 | 0,573 | 0,790 | 0,760 | NS | 0,232 |
| CUY12 | 9 | 5,278 | 0,703 | 0,754 | 0,716 | NS | 0,039 |
| CUY16 | 11 | 7,229 | 0,767 | 0,829 | 0,808 | NS | 0,025 |
| CUY17 | 10 | 6,857 | 0,713 | 0,840 | 0,816 | NS | 0,097 |
| CUY18 | 10 | 6,287 | 0,578 | 0,800 | 0,770 | ** | 0,212 |
| CUY20 | 14 | 6,800 | 0,578 | 0,737 | 0,713 | NS | 0,178 |
| CUY22 | 10 | 7,068 | 0,590 | 0,847 | 0,825 | * | 0,193 |
| Promedio | 10,8 | 6,277 | 0,589 | 0,778 | 0,746 | | 0,174 |
| Ds | 3,49 | 1,430 | 0,115 | 0,080 | 0,100 | ** | |

*Significancia estadística:**p < 0.05; **p < 0.01;

Eficiencia estadística del panel.

En la Tabla 10 se indican los valores de la probabilidad de exclusión. El primer valor corresponde al promedio de la probabilidad de exclusión para un primer padre (NE-1P) el valor más alto fue para CUY09 (0.836) y el valor más bajo para Cavy12 (0,309); el promedio de la probabilidad de exclusión para un segundo progenitor del sexo opuesto (NE-2P) el valor más alto fue para CUY09 (0.676) y el valor más bajo para Cavy12 (0,183); al promedio de la probabilidad de exclusión para el par de padres (NE-PP) el valor más alto fue para CUY09 (0.499) y el valor más bajo para Cavy12 (0,053); al promedio de la probabilidad de

exclusión de la identidad de dos individuos no relacionados (NE-I) el valor más alto fue para CUY09 (0.249) y el valor más bajo para Cavy12 (0,015); al promedio de la probabilidad de exclusión de identidad de dos hermanos (NE-SI) el valor más alto fue para CUY09 (0.540) y el valor más bajo para Cavy12 (0,299); se calculó la probabilidad de exclusión combinada (PEC) siguiendo la fórmula de Jamieson (1994) (Tabla 10). Los resultados de PEC muestran todos los valores altos (0,99) excepto para la identidad de dos individuos no relacionados (0,84).

Tabla 10: Descripción estadística de la probabilidad de exclusión: un primer padre (NE-1P), un segundo padre (NE-2P), un par de padres (NE-PP), la identidad de dos individuos no relacionados (NE-I) la identidad de dos hermanos (NE-SI) y probabilidad de exclusión combinada (PEC).

| <i>Locus</i> | NE-1P | NE-2P | NE-PP | NE-I | NE-SI |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Cavy02 | 0.683 | 0.510 | 0.321 | 0.123 | 0.421 |
| Cavy03 | 0.538 | 0.363 | 0.181 | 0.059 | 0.359 |
| Cavy11 | 0.417 | 0.262 | 0.102 | 0.031 | 0.324 |
| Cavy12 | 0.309 | 0.183 | 0.053 | 0.015 | 0.299 |
| CUY01 | 0.640 | 0.460 | 0.269 | 0.096 | 0.398 |
| CUY02 | 0.677 | 0.502 | 0.313 | 0.119 | 0.417 |
| CUY03 | 0.586 | 0.409 | 0.222 | 0.076 | 0.376 |
| CUY04 | 0.678 | 0.489 | 0.279 | 0.112 | 0.426 |
| CUY05 | 0.502 | 0.332 | 0.156 | 0.049 | 0.347 |
| CUY06 | 0.702 | 0.532 | 0.356 | 0.130 | 0.423 |
| CUY07 | 0.723 | 0.552 | 0.365 | 0.146 | 0.443 |
| CUY08 | 0.440 | 0.281 | 0.113 | 0.035 | 0.331 |
| CUY09 | 0.836 | 0.676 | 0.499 | 0.249 | 0.540 |
| CUY10 | 0.578 | 0.399 | 0.208 | 0.072 | 0.375 |
| CUY12 | 0.643 | 0.462 | 0.271 | 0.097 | 0.399 |
| CUY16 | 0.502 | 0.330 | 0.147 | 0.048 | 0.350 |
| CUY17 | 0.493 | 0.323 | 0.149 | 0.047 | 0.344 |
| CUY18 | 0.565 | 0.389 | 0.202 | 0.068 | 0.369 |
| CUY20 | 0.632 | 0.446 | 0.234 | 0.092 | 0.406 |
| CUY22 | 0.478 | 0.311 | 0.139 | 0.043 | 0.339 |
| PEC | 0,99 | 0,99 | 0,99 | 0,84 | 0,99 |

DIVERSIDAD GENÉTICA INTRA-RACIAL DE LAS POBLACIONES DE CUYES DEL ECUADOR

Para realizar este estudio se analiza trescientas setenta y seis (376) muestras de pelo provenientes de la grupa de los cuyes de las líneas comerciales Andina (**AND**), Perú (**LPR**) e Inti (**INTI**) y de cuyes nativos del Ecuador (**NTVE**) de las diez provincias Andinas del Ecuador: Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Bolívar, Chimborazo, Cañar, Azuay y Loja.

Número medio de alelos y heterocigosis.

En la Tabla 11 se puede observar que los valores de NMA, el valor promedio fue 10,94 para las 4 poblaciones de cuyes domésticos del Ecuador, la línea comercial Andina tiene al valor más bajo (10,8), mientras que el valor más alto (11,15) es para la línea comercial Inti, existiendo similitud de valores 10,90 entre la Línea comercial Perú y la nativa de Ecuador.

El valor promedio de heterocigosis esperada (H_e) fue 0,791 el valor más bajo (0,787) para la línea comercial Inti y el valor más alto (0,797) para la nativa de Ecuador, la heterocigosis observada (H_o) promedio fue 0,710 el valor más bajo (0,697) para la nativa de Ecuador y el más alto (0,735) para la línea comercial Andina, el promedio de F_{IS} fue 0,103 para todas las poblaciones del Ecuador.

Tabla 11: Número de muestras analizadas (N), número medio de alelos (NMA), desviación estándar (Ds), heterocigosis esperada (H_e), heterocigosis observada (H_o) y F_{IS} con sus intervalos de confianza calculados con 20 microsatélites para las 4 poblaciones de cuy doméstico del Ecuador.

| Población | Código | N | NMA | H_e | He Ds | H_o | Ho Ds | Fis | IC 95% |
|----------------|--------|----|--------------|--------------|-------|--------------|-------|-------|---------------|
| Línea Andina | AND | 94 | <u>10,80</u> | 0,792 | 0,017 | 0,735 | 0,010 | 0,072 | 0,029 - 0,107 |
| Línea Inti | INTI | 94 | 11,15 | <u>0,787</u> | 0,020 | 0,700 | 0,011 | 0,112 | 0,063 - 0,152 |
| Línea Perú | LPR | 94 | 10,90 | 0,789 | 0,019 | 0,709 | 0,011 | 0,103 | 0,057 - 0,141 |
| Nativa Ecuador | NTVE | 94 | 10,90 | 0,797 | 0,019 | <u>0,697</u> | 0,011 | 0,127 | 0,074 - 0,172 |
| Promedio | | | 10,94 | 0,791 | | 0,710 | | 0,103 | |

Equilibrio Hardy-Weinberg.

El Equilibrio de Hardy-Weinberg por *locus* y por población se encuentran en la Tabla 12. La población con mayor cantidad de loci (9) en desequilibrio es la nativa de Ecuador (NTVE) que representa el 45% del total de loci estudiados (Cavy3, Cavy11, Cavy12, CUY07, CUY12,

CUY16, CUY17 y CUY18), la población con menos loci desequilibrados (5) fue la Línea comercial Andina (AND).

Los microsatélites más desequilibrados (2) fueron el Cavy12 y el CUY07, los microsatélites en equilibrio en las cuatro líneas de Ecuador (7) fueron Cavy02, CUY01, CUY05, CUY06, CUY08, CUY20 y CUY22 en 4 poblaciones.

Tabla 12: Desviaciones del Equilibrio de Hardy-Weinberg por loci y población ecuatoriana, línea comercial Andina (AND), línea comercial Inti (INTI), línea comercial Perú (LPR) y nativa de Ecuador (NTVE).

| <i>Locus</i> | AND | INTI | LPR | NTV | Total** |
|--------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| CAVY02 | | | | | 0 |
| CAVY03 | | | * | * | 2 |
| CAVY11 | * | | | * | 2 |
| CAVY12 | * | * | * | * | 4 |
| CUY01 | | | | | 0 |
| CUY02 | * | | * | | 2 |
| CUY03 | * | | | | 1 |
| CUY04 | | | * | | 1 |
| CUY05 | | | | | 0 |
| CUY06 | | | | | 0 |
| CUY07 | * | * | * | * | 4 |
| CUY08 | | | | | 0 |
| CUY09 | | * | * | * | 3 |
| CUY10 | | * | * | | 2 |
| CUY12 | | | | * | 1 |
| CUY16 | | | | * | 1 |
| CUY17 | | * | | * | 2 |
| CUY18 | | * | * | * | 3 |
| CUY20 | | | | | 0 |
| CUY22 | | | | | 0 |
| | 5 | 6 | 8 | 9 | |

* Microsatélites en desequilibrio HW ($p < 0,05$)

** Total de poblaciones que presentan locus en desequilibrio

DIVERSIDAD GENÉTICA INTER-RACIAL DE LAS POBLACIONES DE CUYES DEL ECUADOR

G_{ST} y Estadísticos F.

Los valores del coeficiente de diferenciación genética G_{ST} y los Estadísticos F para los 20 marcadores microsatélites en las 4 poblaciones ecuatorianas se presentan en la Tabla 13. El valor de G_{ST} para todos los loci fue $0,002 \pm 0,004$. El valor de F_{ST} para todos los loci fue $0,003 \pm 0,05$, es bastante similar al de G_{ST} ; un resultado superior a 0,10 indica cierto nivel de diferenciación. Por lo cual tanto el valor de F_{ST} (0,3%) y el valor de G_{ST} (0,2%) muestran escasa diferenciación genética entre poblaciones en función de las frecuencias alélicas.

El valor de F_{IS} para todos los loci fue $0,103 \pm 0,110$ oscilando entre $-0,045$ para el *locus* CUY16 y $0,453$ para el *locus* CUY07. Los valores negativos indican que hay un exceso de heterocigotos aunque en ningún caso se alcanzó el valor $-0,1$. El valor de F_{IT} para todos los loci fue $0,106 \pm 0,06$ oscilando entre $-0,045$ para el *locus* CUY16 hasta $0,452$ para el *locus* CUY07.

Tabla 13: Valores del coeficiente de variación genética (G_{ST}) y estadísticos F (F_{IS} , F_{IT} y F_{ST}), promedio y desviación estándar (Ds) para 20 microsatélites en 4 poblaciones ecuatorianas de cuyes domésticos.

| <i>Locus</i> | NA | G_{ST} | F_{IS} | F_{IT} | F_{ST} |
|--------------|-----------|----------|---------------|---------------|---------------|
| Cavy02 | 9 | 0,001 | 0,002 | 0,003 | 0,001 |
| Cavy03 | 13 | -0,001 | 0,164 | 0,163 | -0,001 |
| Cavy11 | 17 | 0,002 | 0,105 | 0,106 | 0,002 |
| Cavy12 | 18 | 0,001 | 0,313 | 0,313 | 0,001 |
| CUY01 | 8 | -0,001 | 0,026 | 0,025 | -0,001 |
| CUY02 | 7 | 0,012 | 0,085 | 0,100 | 0,017 |
| CUY03 | 11 | 0,004 | 0,103 | 0,107 | 0,005 |
| CUY04 | 9 | 0,001 | 0,087 | 0,089 | 0,002 |
| CUY05 | 12 | 0,001 | 0,051 | 0,052 | 0,001 |
| CUY06 | 6 | 0,001 | 0,071 | 0,072 | 0,001 |
| CUY07 | 7 | -0,002 | 0,453 | 0,452 | <u>-0,002</u> |
| CUY08 | 17 | 0,001 | 0,048 | 0,049 | 0,002 |
| CUY09 | 7 | -0,002 | 0,085 | 0,083 | <u>-0,002</u> |
| CUY10 | 11 | 0,001 | 0,101 | 0,103 | 0,001 |
| CUY12 | 9 | 0,010 | 0,077 | 0,090 | 0,013 |
| CUY16 | 11 | 0,000 | <u>-0,045</u> | <u>-0,045</u> | 0,001 |
| CUY17 | 10 | 0,011 | 0,103 | 0,116 | 0,014 |
| CUY18 | 10 | -0,002 | 0,161 | 0,159 | <u>-0,002</u> |
| CUY20 | 14 | 0,001 | 0,054 | 0,055 | 0,001 |
| CUY22 | 10 | 0,002 | 0,026 | 0,028 | 0,002 |
| Promedios | | 0,002 | 0,103 | 0,106 | 0,003 |
| Ds | | 0,004 | 0,110 | 0,109 | 0,005 |

Distancias genéticas y árboles de distancias genéticas.

En la Tabla 14 se muestran los valores de F_{ST} (arriba de la diagonal) de las 4 poblaciones de cuyes domésticos del Ecuador, el valor más bajo se observa entre **LPR:INTI** (0,0006) y el

valor más alto entre **NTVE:LPR** (0,0047). Los valores de distancias de Reynolds (debajo de la diagonal) muestra el valor más bajo entre **LPR:INTI** (0,0012) y el valor más alto entre **LPR:NTVE** (0,0054), las dos matrices presentan similares resultados.

Tabla 14: Fst entre pares de poblaciones (arriba de la diagonal) y matriz de distancias de Reynolds (debajo de la diagonal) para 4 poblaciones de cuyes domésticos ecuatorianos, línea comercial Andina (AND), línea comercial Inti (INTI), línea comercial Perú (LPR) y nativa de Ecuador (NTVE).

| | AND | INTI | LPR | NTVE |
|------|--------|--------|--------|--------|
| AND | - | 0,0028 | 0,0013 | 0,0044 |
| INTI | 0,0033 | - | 0,0006 | 0,0023 |
| LPR | 0,0019 | 0,0012 | - | 0,0047 |
| NTVE | 0,0050 | 0,0030 | 0,0054 | - |

La Figura 26 muestra el árbol de distancias de Reynolds construido por el método UPGMA. De acuerdo con el árbol de distancias .entre las líneas comerciales **INTI:PERU** (58) muestran la existencia de una mayor relación genética entre ellas que también se pueden apreciar en la Tabla 14, estas dos líneas comerciales en relación con la **AND** (58), se observa más lejana a la **NTVE** (47), sin embargo todos estos valores son bajos. La Figura 27 muestra la relación entre las 4 poblaciones ecuatorianas en pocos splits (líneas paralelas), se aprecia la relación entre las líneas comerciales **INTI:PERU**, un poco más alejada a la línea **AND** y finalmente alejándose claramente a **NTVE**.

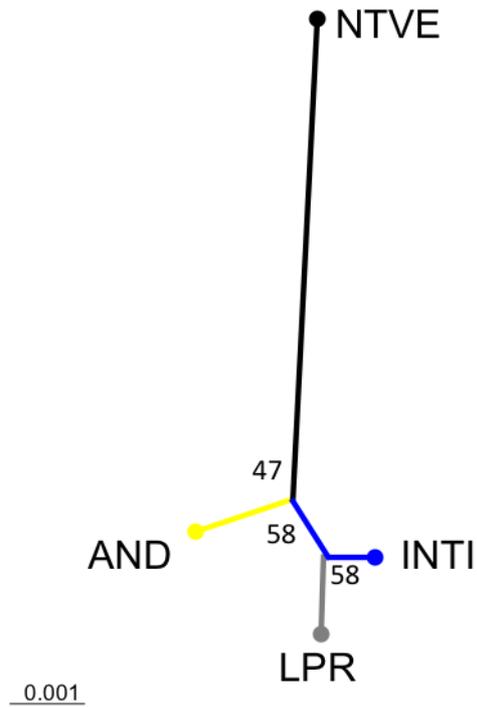


Figura 26: Árbol de distancias de Reynolds construido con el método UPGMA de las poblaciones de cuyes domésticos del Ecuador, línea comercial Andina (AND), línea comercial Inti (INTI), línea comercial Perú (LPR) y nativa de Ecuador

Figura 26: (NTVE).

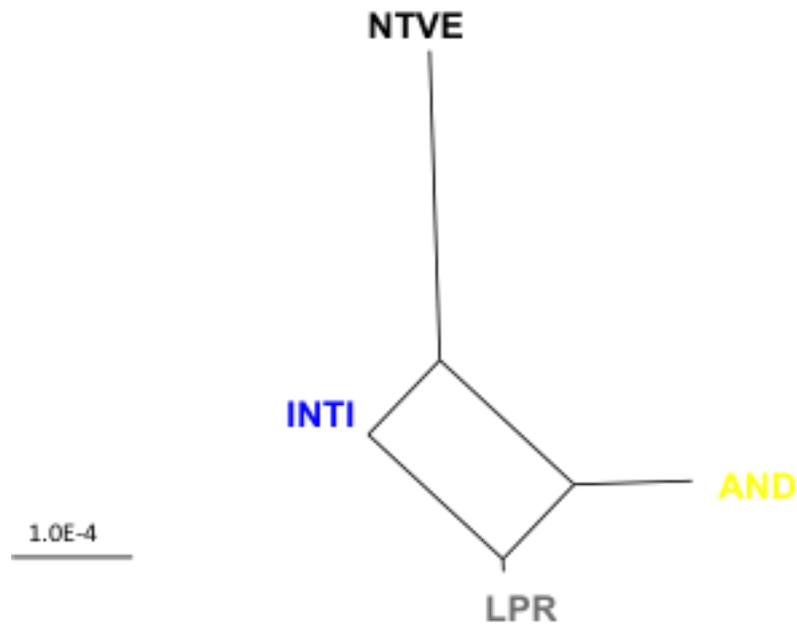


Figura 27: Split graph con el método de neighbor-net de las poblaciones de cuyes domésticos del Ecuador, línea comercial Andina (AND), línea comercial Inti (INTI), línea comercial Perú (LPR) y nativa de Ecuador (NTVE)

Árbol de distancias entre individuos.

En la Figura 28 y Figura 29 se observan los árboles de distancias individuales D_{SA} (Bowcock *et al.*, 1994) construido con el método de neighbor-joining, con diferente representación de tres líneas comerciales Andina (AND), Perú (LPR) e Inti (INTI) y de cuyes nativos del Ecuador (NTVE), en estas figuras no se observa ningún tipo de agrupamiento.

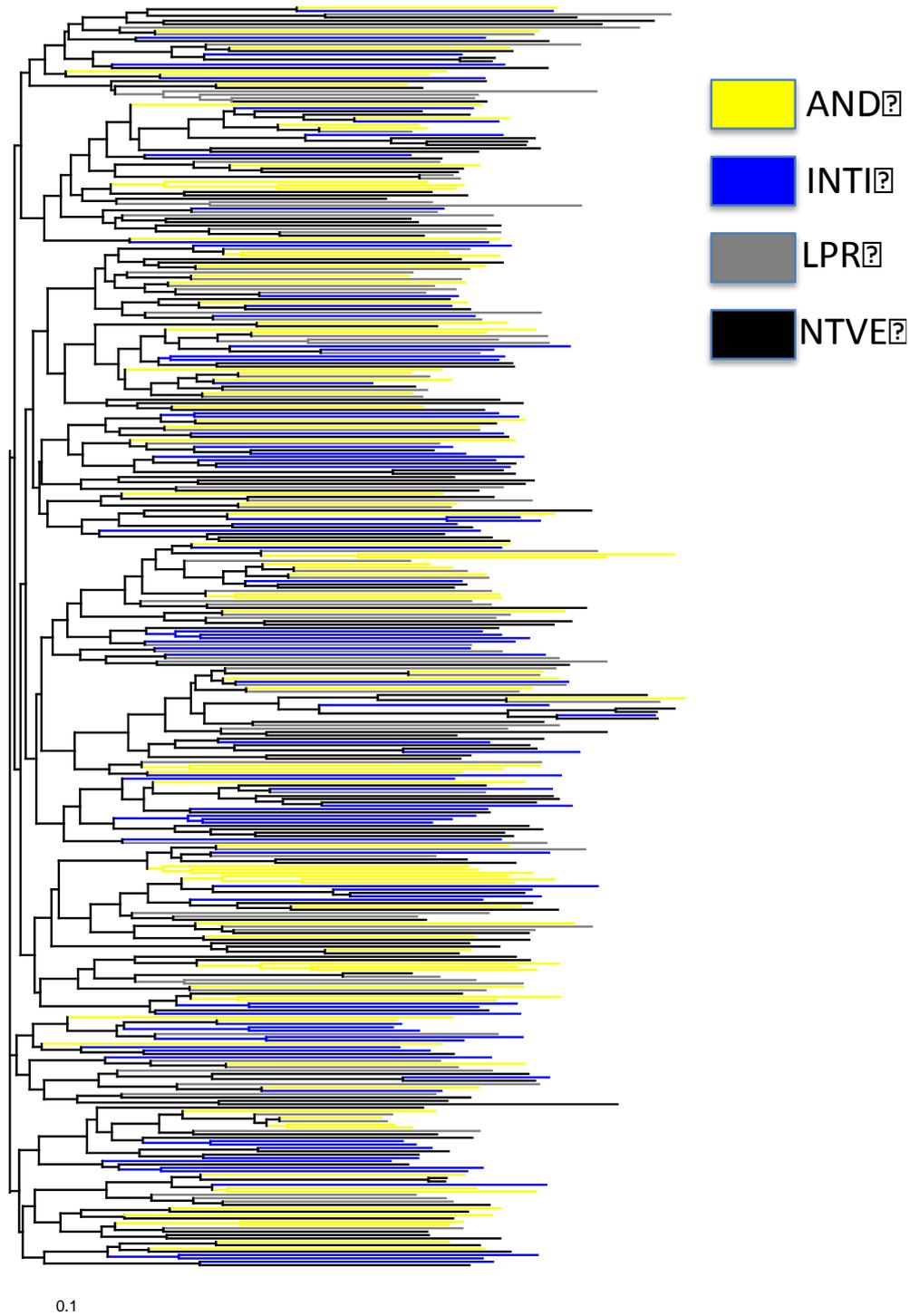


Figura 28: Árbol de distancias individuales D_{SA} construido con el método de Neighbor-Joining

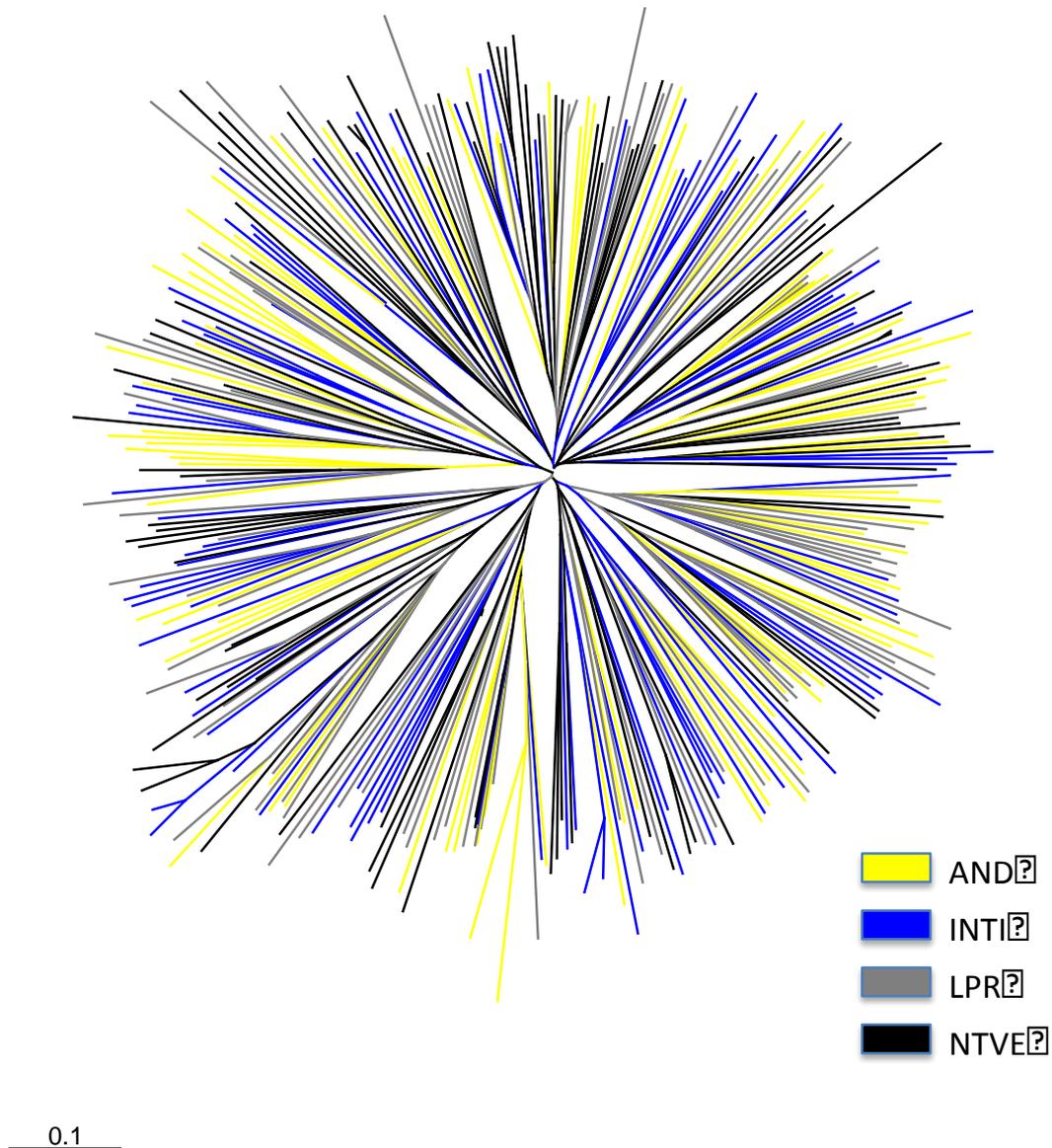


Figura 29: Árbol de distancias de D_{SA} construido por el método de Neighbord-Joining

Análisis factorial de correspondencia.

Las Figura 30 y Figura 31 muestran el análisis factorial de correspondencia en tres dimensiones de cuatro poblaciones ecuatorianas, se observa el agrupamiento de las 4 líneas en el centro, sin embargo se puede apreciar un agrupamiento más íntimo entre las líneas comerciales Perú (**LPR**) e Inti (**INTI**), los cuyes nativos del Ecuador (**NTVE**) y la línea Andina (**AND**) se observan más alejados del centro, notándose mayor dispersión en la línea Andina.

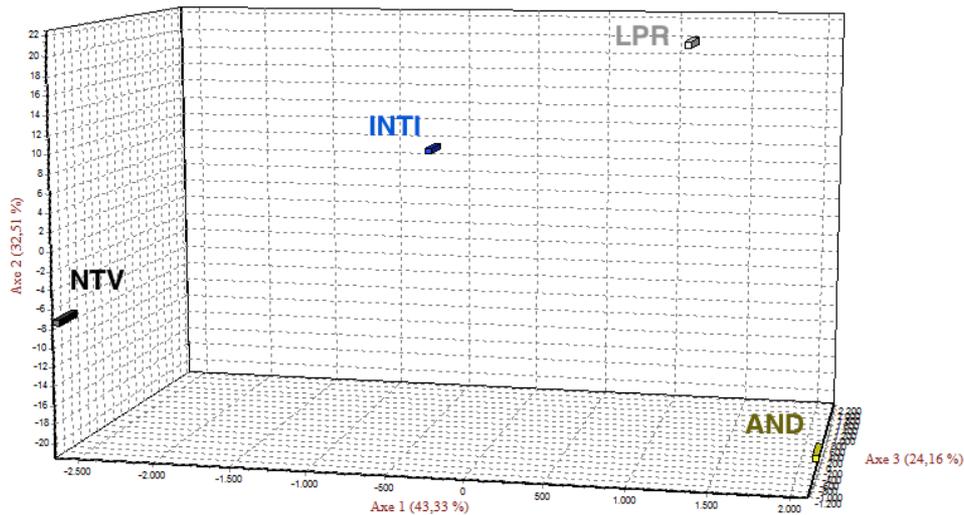


Figura 30: Análisis factorial de correspondencia entre las poblaciones de cuyes domésticos de Ecuador

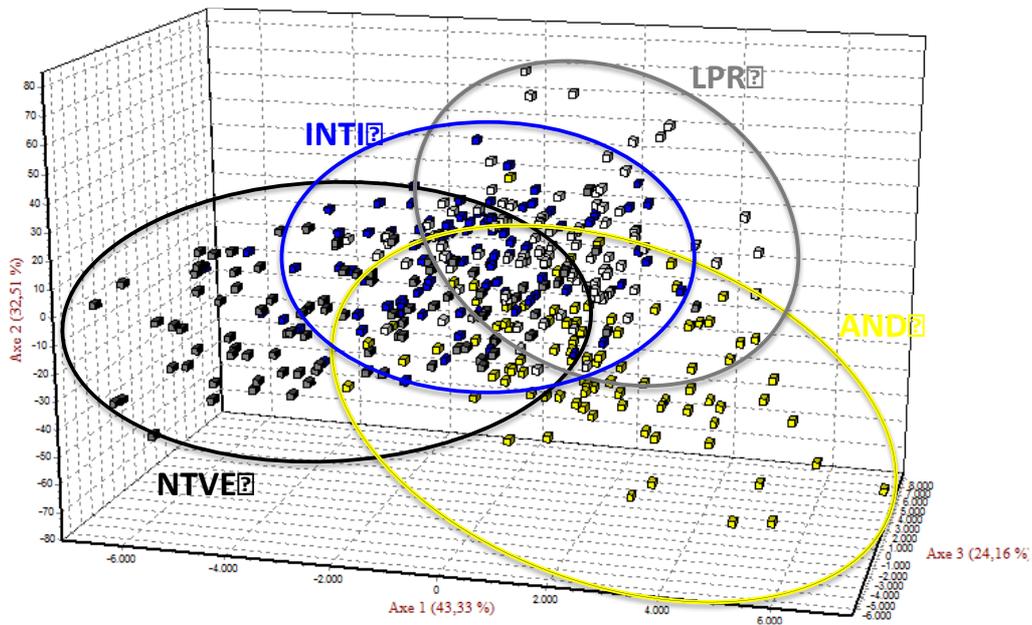


Figura 31: Análisis factorial de correspondencia entre cuyes domésticos del Ecuador

Estructura genética de las poblaciones de cuyes del Ecuador.

En la Figura 32 se representa gráficamente los valores de $K=2$ a $K=6$, donde cada individuo está representado por una barra vertical de color, no se observa ninguna estructura entre las poblaciones de cuyes domésticos del Ecuador.

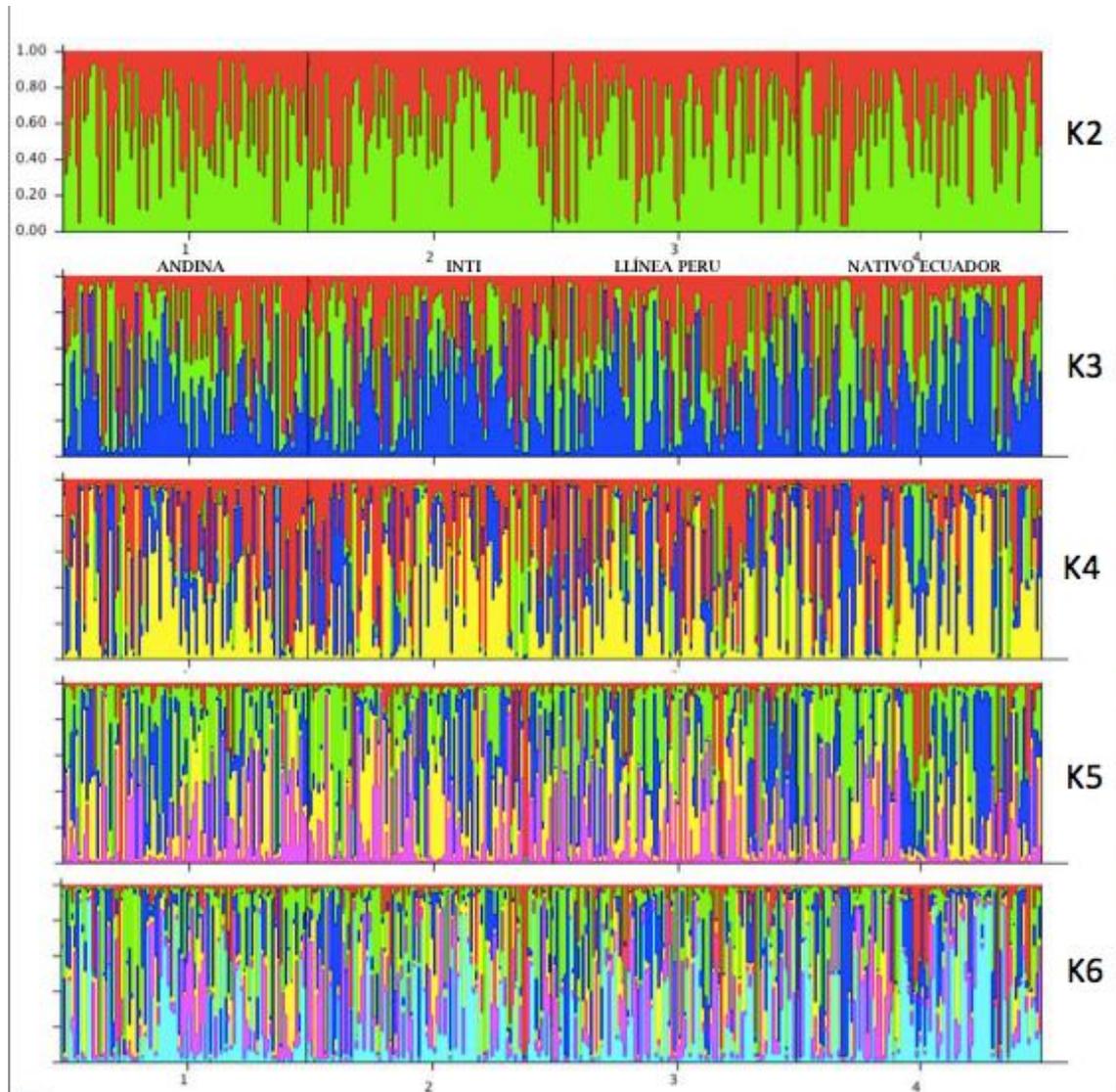


Figura 32: Análisis de la estructura de las poblaciones de cuyes domésticos del Ecuador de K=2 a K=6 con el programa Structure, Pritchard *et al.*, (2000)

ESTUDIO DE LA RELACIONES GENÉTICAS ENTRE LAS POBLACIONES DE CUYES DEL ECUADOR Y DE LOS PAÍSES DE AMÉRICA DEL SUR Y UN OUTGROUP INTERNACIONAL

Para realizar este estudio se incluyeron, además de las cuatro poblaciones de Ecuador, poblaciones de cuyes muestreadas en Bolivia, Colombia y Perú. Como población outgroup se emplearon cuyes muestreados en España.

Número medio de alelos y heterocigosis.

En la Tabla 15 se puede observar el valor promedio de NMA (8,67) el valor más bajo fue para SPAIN (4,85) y el más alto fue para INTI (11,15).

El valor de heterocigosis esperada (He) promedio fue 0,733 el valor más bajo fue para SPAIN (0,504) y el más alto para NTVE (0,797). El valor promedio de heterocigosis observada (Ho) fue 0,625 el valor más bajo fue para SPAIN (0,424) y el valor más alto fue para AND (0,735). El valor promedio de F_{IS} fue 0,153.

Tabla 15: Número medio de alelos (NMA), desviación estándar (Ds), heterocigosis esperada (He), heterocigosis observada (Ho)) y F_{IS} con sus intervalos de confianza calculados con 20 microsatélites para todas poblaciones de cuy doméstico.

| Población | Código | NMA | He | He Ds | Ho | Ho Ds | F_{IS} | IC 95% |
|----------------|--------|--------------|--------------|-------|--------------|-------|----------|---------------|
| Línea Andino | AND | 10,80 | 0,792 | 0,017 | 0,735 | 0,010 | 0,072 | 0,031 - 0,107 |
| Línea Inti | INTI | 11,15 | 0,787 | 0,020 | 0,700 | 0,011 | 0,112 | 0,060 - 0,153 |
| Línea Perú | LPR | 10,90 | 0,789 | 0,019 | 0,709 | 0,011 | 0,103 | 0,056 - 0,142 |
| Nativa Ecuador | NTVE | 10,90 | 0,797 | 0,019 | 0,697 | 0,011 | 0,127 | 0,072 - 0,178 |
| Peruana | PERU | 8,50 | 0,761 | 0,020 | 0,707 | 0,016 | 0,072 | 0,005 - 0,114 |
| Boliviana | BOL | 5,45 | 0,694 | 0,032 | 0,474 | 0,031 | 0,327 | 0,098 - 0,457 |
| Colombiana | COL | 6,80 | 0,736 | 0,020 | 0,556 | 0,027 | 0,250 | 0,057- 0,371 |
| España | SPAIN | <u>4,85</u> | <u>0,504</u> | 0,051 | <u>0,424</u> | 0,021 | 0,162 | 0,035 - 0,261 |
| Promedio | | 8,67 | 0,733 | | 0,625 | | 0,153 | |

Equilibrio Hardy-Weinberg.

El Equilibrio de Hardy-Weinberg por *locus* y por población se encuentran en la Tabla 16. la población con mayor cantidad de loci (10) en desequilibrio la boliviana (BOL) que representa el 50% del total de loci estudiados (Cavy3, Cavy11, Cavy12, CUY02, CUY03, CUY05,

CUY07, CUY10, CUY17 Y CUY18), las poblaciones con menos loci desequilibrados (4) fueron la peruana (PERU) y España (SPAIN).

Los microsatélites más desequilibrados en 7 poblaciones de 8 fueron el Cavy12 y el CUY07, los microsatélites en equilibrio fueron Cavy02, CUY01 y CUY20.

Tabla 16: Equilibrio de Hardy-Weinberg por loci y población, línea comercial Andina (AND), línea comercial Inti (INTI), línea comercial Perú (LPR) y nativa de Ecuador (NTVE), peruana (PERU), boliviana (BOL), colombiana (COL) y España (SPAIN).

| <i>Locus</i> | AND | INTI | LPR | NTV | PERU | BOL | COL | SPAIN | Total** |
|--------------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|----------|----------|----------|
| CAVY02 | | | | | | | | | 0 |
| CAVY03 | | | * | * | * | * | * | | 5 |
| CAVY11 | * | | | * | | * | | | 3 |
| CAVY12 | * | * | * | * | * | * | * | | 7 |
| CUY01 | | | | | | | | - | 0 |
| CUY02 | * | | * | | | * | * | * | 5 |
| CUY03 | * | | | | | * | | | 2 |
| CUY04 | | | * | | | | | | 1 |
| CUY05 | | | | | | * | | | 1 |
| CUY06 | | | | | | | | * | 1 |
| CUY07 | * | * | * | * | * | * | | * | 7 |
| CUY08 | | | | | * | | * | * | 3 |
| CUY09 | | * | * | * | | | | | 3 |
| CUY10 | | * | * | | | * | * | | 4 |
| CUY12 | | | | * | | | | | 1 |
| CUY16 | | | | * | | | | | 1 |
| CUY17 | | * | | * | | * | * | | 4 |
| CUY18 | | * | * | * | | * | * | | 5 |
| CUY20 | | | | | | | | | 0 |
| CUY22 | | | | | | | * | | 1 |
| | 5 | 6 | 8 | 9 | 4 | 10 | 8 | 4 | |

* *Microsatélites en desequilibrio HW ($p < 0,05$)*

** *Total de poblaciones que presentan locus en desequilibrio*

G_{ST} y Estadísticos F.

Los valores de G_{ST} y los Estadísticos F para los 20 marcadores microsatélites en las 8 poblaciones se presentan en la Tabla 17. El valor de G_{ST} para todos los loci fue $0,064 \pm 0,073$. El valor de F_{ST} para todos los loci fue $0,029 \pm 0,015$; un resultado superior a 0,10 indica cierto nivel de diferenciación. Por lo cual tanto el valor de F_{ST} (2,9 %) y el valor de G_{ST} (6,4%) muestran una diferenciación genética baja entre poblaciones en función de las frecuencias alélicas.

El valor promedio de F_{IS} para todos los loci fue $0,111 \pm 0,107$ oscilando entre -0,002 para el locus Cavy02 y 0,442 para el locus CUY07. Los valores negativos indican que hay un exceso

de heterocigotos aunque en ningún caso se alcanzó el valor -0,1. El valor F_{IT} para todos los loci fue $0,138 \pm 0,101$ oscilando entre -0,013 para el locus CUY16 y 0,446 para el locus CUY07.

Tabla 17: Valores del coeficiente de variación genética (G_{ST}) y estadísticos F (F_{IS} , F_{IT} y F_{ST}), promedio y desviación estándar (Ds), número de alelos (NA) para 20 microsatélites en 8 poblaciones de cuyes.

| <i>Locus</i> | NA | G_{ST} | F_{IS} | F_{IT} | F_{ST} |
|--------------|-----------|--------------|---------------|---------------|--------------|
| Cavy02 | 9 | 0,083 | <u>-0,002</u> | 0,040 | 0,041 |
| Cavy03 | 13 | 0,066 | 0,171 | 0,196 | 0,031 |
| Cavy11 | 17 | 0,032 | 0,103 | 0,116 | 0,014 |
| Cavy12 | 18 | 0,030 | 0,328 | 0,336 | 0,013 |
| CUY01 | 8 | 0,110 | 0,019 | 0,057 | 0,039 |
| CUY02 | 7 | 0,107 | 0,113 | 0,163 | 0,055 |
| CUY03 | 11 | 0,111 | 0,104 | 0,145 | 0,047 |
| CUY04 | 9 | 0,081 | 0,094 | 0,128 | 0,037 |
| CUY05 | 12 | 0,047 | 0,059 | 0,077 | 0,019 |
| CUY06 | 6 | 0,126 | 0,087 | 0,134 | 0,050 |
| CUY07 | 7 | 0,017 | 0,442 | 0,446 | <u>0,007</u> |
| CUY08 | 17 | 0,085 | 0,075 | 0,110 | 0,037 |
| CUY09 | 7 | 0,023 | 0,101 | 0,110 | 0,009 |
| CUY10 | 11 | 0,066 | 0,110 | 0,134 | 0,027 |
| CUY12 | 9 | 0,020 | 0,068 | 0,085 | 0,018 |
| CUY16 | 11 | 0,040 | -0,028 | <u>-0,013</u> | 0,015 |
| CUY17 | 10 | 0,043 | 0,106 | 0,130 | 0,026 |
| CUY18 | 10 | 0,063 | 0,163 | 0,185 | 0,026 |
| CUY20 | 14 | 0,044 | 0,068 | 0,084 | 0,016 |
| CUY22 | 10 | 0,096 | 0,046 | 0,088 | 0,044 |
| Promedio | | 0,064 | 0,111 | 0,138 | 0,029 |
| Ds | | 0,073 | 0,107 | 0,101 | 0,015 |

La Tabla 18 muestra el AMOVA e índices de fijación (F_{ST}) con la finalidad de cuantificar el grado de diferenciación genética entre las poblaciones ecuatorianas (AND, INTI, LPR, NTVE) y poblaciones de otros países como: Colombia, Perú, Bolivia y España. El porcentaje de variación observado dentro de poblaciones resultó 92% y un índice de fijación F_{ST} de 0,08. Mientras entre grupos fue 7,68% con FCT 0,0768.

Tabla 18: Variación genética de cuyes domésticos entre las poblaciones ecuatorianas y las poblaciones de los países de América del Sur y España.

| Fuente de Variación | Grados de libertad | Suma de cuadrados | de Componentes de variación | % variación |
|------------------------------------|--------------------|-------------------|-----------------------------|-------------|
| Entre grupos | 4 | 253,426 | 0,629 | Va 7,68 |
| Entre poblaciones dentro de grupos | 3 | 37,275 | 0,026 | Vb 0,32 |
| Dentro de poblaciones | 944 | 7117,24 | 7,539 | Vc 92 |
| Total | 951 | 7407,941 | 8,195 | |

Índices de Fijación
FST: 0,0800
FSC: 0,0034
FCT: 0,0768

Significancia de los test (1023 permutaciones)

| | | |
|----------|------------------------------|-------------------|
| Vc y FST | P(rand. value < obs. value) | 0,0000* |
| | P(rand. value = obs. value) | 0,0000* |
| | P(rand. value <= obs. value) | 0,0000+- 0,0000* |
| Vb y FSC | P(rand. value > obs. value) | 0,00098* |
| | P(rand. value = obs. value) | 0,0000* |
| | P(rand. value >= obs. value) | 0,00098+-0,00098* |
| Va y FCT | P(rand. value > obs. value) | 0,0000* |
| | P(rand. value = obs. value) | 0,02346* |
| | P(rand. value >= obs. value) | 0,02346+-0,00415* |

*p<0,05

Por países. Grupo1: Poblaciones de Ecuador (Andina, Inti, Perú y Nativa del Ecuador). Grupo2: Población colombiana. Grupo3: Población peruana. Grupo4: Población boliviana. Grupo5: Población española.

La Tabla 19 muestra el AMOVA e índices de fijación (FST, FSC, FCT) con la finalidad de cuantificar el grado de diferenciación genética entre las poblaciones de América del Sur que incluye: AND, INTI, LPR, NTVE (ecuatorianas) más la colombiana, peruana, boliviana con la española. El porcentaje de variación observado dentro de poblaciones resultó 82,34% y un índice de fijación FST de 0,1766. Mientras entre grupos fue 16,67% con FCT 0,1667; lo cual muestra una gran diferenciación genética de la población española con las demás poblaciones.

Tabla 19: Variación genética de los cuyes domésticos entre la poblaciones de América del Sur y España.

| Fuente de Variación | Grados de libertad | Suma de cuadrados | de Componentes de variación | % variación |
|------------------------------------|--------------------|-------------------|-----------------------------|-------------|
| Entre grupos | 1 | 179,712 | 1,527 | Va 16,67 |
| Entre poblaciones dentro de grupos | 6 | 110,989 | 0,091 | Vb 0,99 |
| Dentro de poblaciones | 944 | 7117,24 | 7,539 | Vc 82,34 |
| Total | 951 | 7407,941 | 9,157 | |

Índices de Fijación

FST: 0,1766
FSC: 0,0119
FCT: 0,1667

Significancia de los test (1023 permutaciones)

| | | |
|----------|------------------------------|------------------|
| Vc y FST | P(rand. value < obs. value) | 0,0000* |
| | P(rand. value = obs. value) | 0,0000* |
| | P(rand. value <= obs. value) | 0,0000+- 0,0000* |
| Vb y FSC | P(rand. value > obs. value) | 0,0000* |
| | P(rand. value = obs. value) | 0,0000* |
| | P(rand. value >= obs. value) | 0,0000+-0,0000* |
| Va y FCT | P(rand. value > obs. value) | 0,0000* |
| | P(rand. value = obs. value) | 0,13294 |
| | P(rand. value >= obs. value) | 0,13294+-0,01139 |

*p<0,05

Por continentes. Grupo1: Cuyes Sur Americanos , poblaciones de Ecuador (Andina, Inti, Perú y Nativa del Ecuador) y poblaciones colombiana, peruana, boliviana. Grupo2: Población española

Distancias genéticas y árboles filogenéticos.

En la Tabla 20 se muestran los valores de la matriz de distancia de Reynolds (arriba de la diagonal) de todas poblaciones de cuyes domésticos, el valor más bajo se observa entre **LPR:INTI** (0,0012) y el valor más alto entre **BOL:SPAIN** (0,3392). Los valores de distancias de Nei (debajo de la diagonal) muestra el valor más bajo entre **NTVE:INTI** (0,0254) y el valor más alto entre **BOL:SPAIN** (0,4390).

Tabla 20: Matriz de distancia Reynolds (arriba de la diagonal) matriz de distancia de Nei (debajo de la diagonal), línea comercial Andina (AND), línea comercial Inti (INTI), línea comercial Perú (LPR) y nativa de Ecuador (NTVE), peruana (PERU), boliviana (BOL), colombiana (COL) y España (SPAIN).

| | AND | INTI | LPR | NTVE | PERU | BOL | COL | SPAIN |
|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| AND | - | 0,0033 | 0,0019 | 0,0050 | 0,0190 | 0,0440 | 0,0236 | 0,2029 |
| INTI | 0,0309 | - | 0,0012 | 0,0030 | 0,0202 | 0,0355 | 0,0330 | 0,2026 |
| LPR | 0,0305 | 0,0292 | - | 0,0054 | 0,0165 | 0,0340 | 0,0265 | 0,2046 |
| NTVE | 0,0367 | 0,0254 | 0,0371 | - | 0,0278 | 0,0521 | 0,0255 | 0,2032 |
| PERU | 0,0893 | 0,0916 | 0,0849 | 0,1007 | - | 0,0420 | 0,0465 | 0,2224 |
| BOL | 0,1899 | 0,1840 | 0,1747 | 0,2142 | 0,1920 | - | 0,0718 | 0,3392 |
| COL | 0,1336 | 0,1418 | 0,1298 | 0,1360 | 0,1898 | 0,2589 | - | 0,2966 |
| SPAIN | 0,3268 | 0,3255 | 0,3306 | 0,3299 | 0,3310 | 0,4390 | 0,4212 | - |

En la Figura 33 muestra la representación del árbol de distancias D_A de Nei (1893) construido con el método de neighbor-joining. En esta figura se observa un grupo pequeño formado por cuatro ramas de color beige ubicado en parte inferior derecha donde se han agrupado las poblaciones ecuatorianas, tres líneas comerciales Andina (**AND**), Perú (**LPR**) e Inti (**INTI**) y de cuyos nativos del Ecuador (**NTVE**), mientras que el resto de ramas se observan individuales: peruana (**PERU**), boliviana (**BOL**), colombiana (**COL**) y España (**SPAIN**). La Figura 34 muestra la relación entre las 4 poblaciones ecuatorianas con varios splits (líneas paralelas), se aprecia la relación entre las líneas comerciales y al igual que en la Figura 33 se observan poblaciones individuales relacionadas a su país de procedencia.

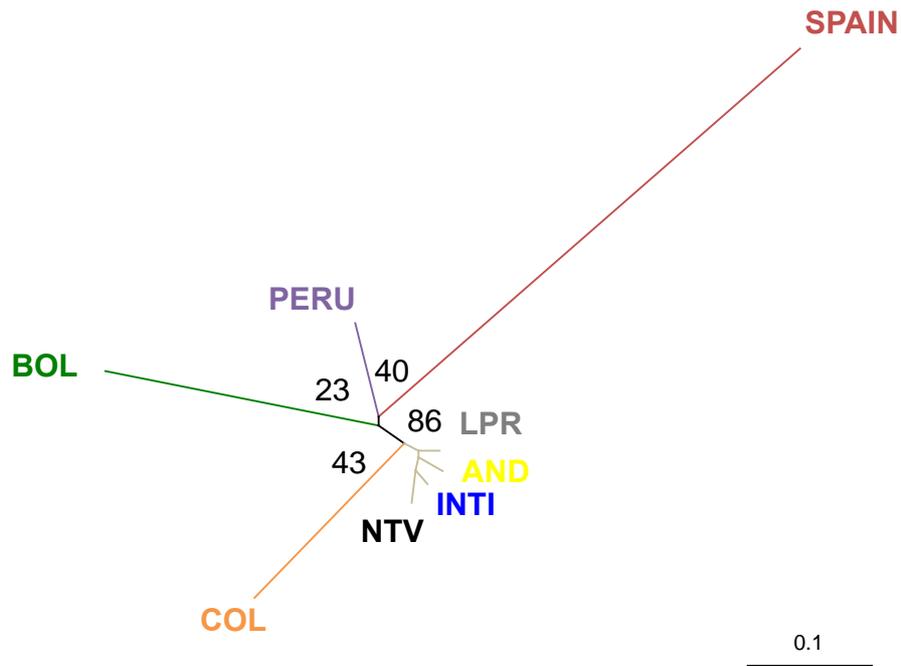


Figura 33: Árbol de distancias D_A de Nei construido con el método de neighbor-joining

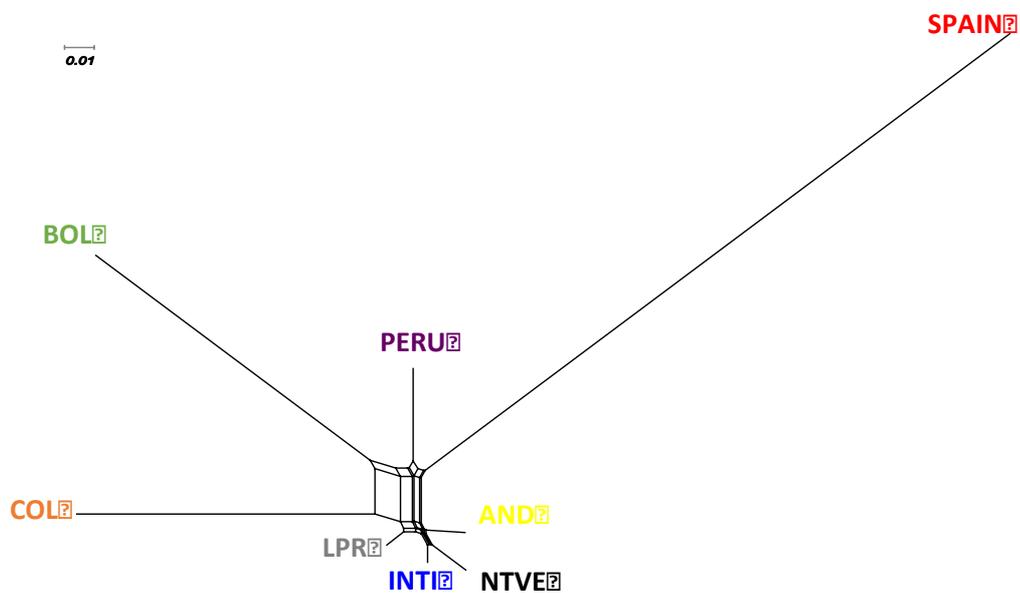


Figura 34: Split graph con el método de NeighborNet de todas la poblaciones de cuyes domésticos

En la Figura 35 se muestra el árbol de distancias entre poblaciones de Reynolds construido con el método de neighbor-joining. Es evidente la separación de los animales usados como mascotas en Europa (**SPAIN**) ya que fueron llevados del nuevo continente hace aproximadamente 500 años, donde evolucionaron en un entorno distinto, la población de

cuyes bolivianos (**BOL**) también muestran una relación más lejana del resto de los cuyes andinos, ya que las muestras fueron obtenidas del departamento de Cochabamba donde los pobladores aprecian al cuy nativo que al cuy mejorado, por el sabor de su carne.

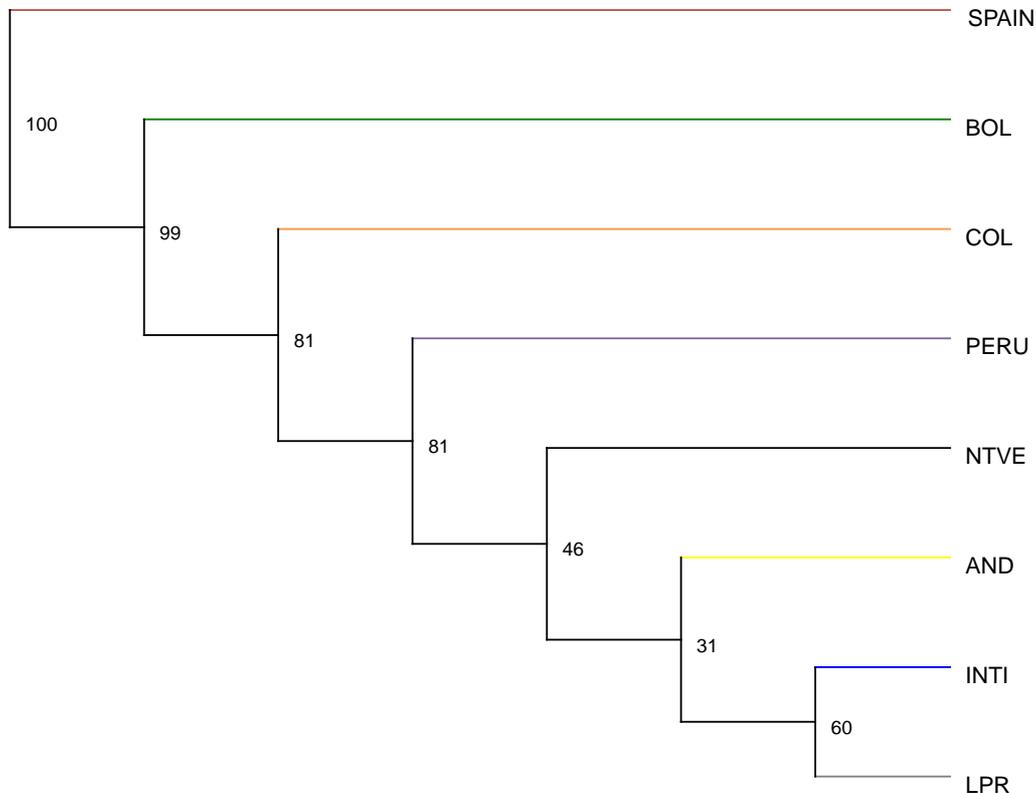


Figura 35: Árbol de distancias de Reynolds construido con el método de neighbor-joining

Análisis factorial de correspondencia.

Las Figura 36 y Figura 37 muestran el análisis factorial de correspondencia en tres dimensiones de todas poblaciones de cuyes domésticos, tres líneas comerciales Andina (**AND**), Perú (**LPR**) e Inti (**INTI**), cuyes nativos del Ecuador (**NTVE**) se agrupan en el centro ya que todos provienen del Ecuador, las poblaciones sudamericanas: peruana (**PERU**), boliviana (**BOL**), colombiana (**COL**) se encuentran más alejadas de las ecuatorianas y la población europea se aleja notablemente de todas.

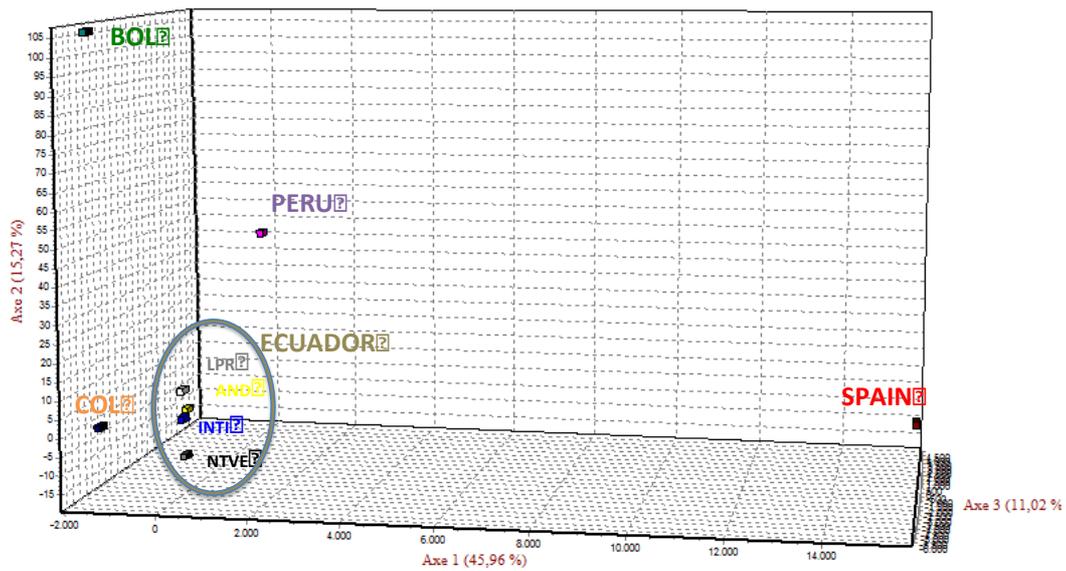


Figura 36: Análisis factorial de correspondencia de todas las poblaciones de cuyes domésticos

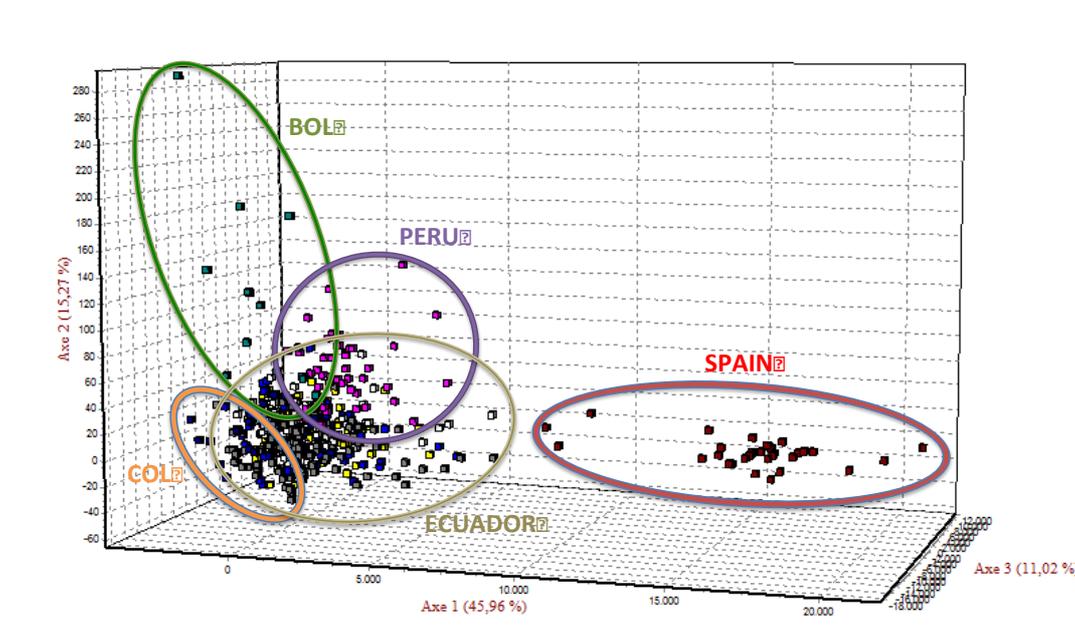


Figura 37: Análisis factorial de correspondencia de todas las poblaciones de cuyes domésticos

Estructura genética de las poblaciones de cuyes de América del Sur.

En la Figura 38 se representa gráficamente los valores de $K=2$ a $K=7$, donde cada individuo está representado por una barra vertical de color, no se observa ninguna estructura entre las poblaciones de Ecuador (1,2,3,4) en las poblaciones sudamericanas (5,6) tampoco se aprecia ninguna estructura sin embargo en la población boliviana posición 7 y la posición 8 se observa una definición muy clara.

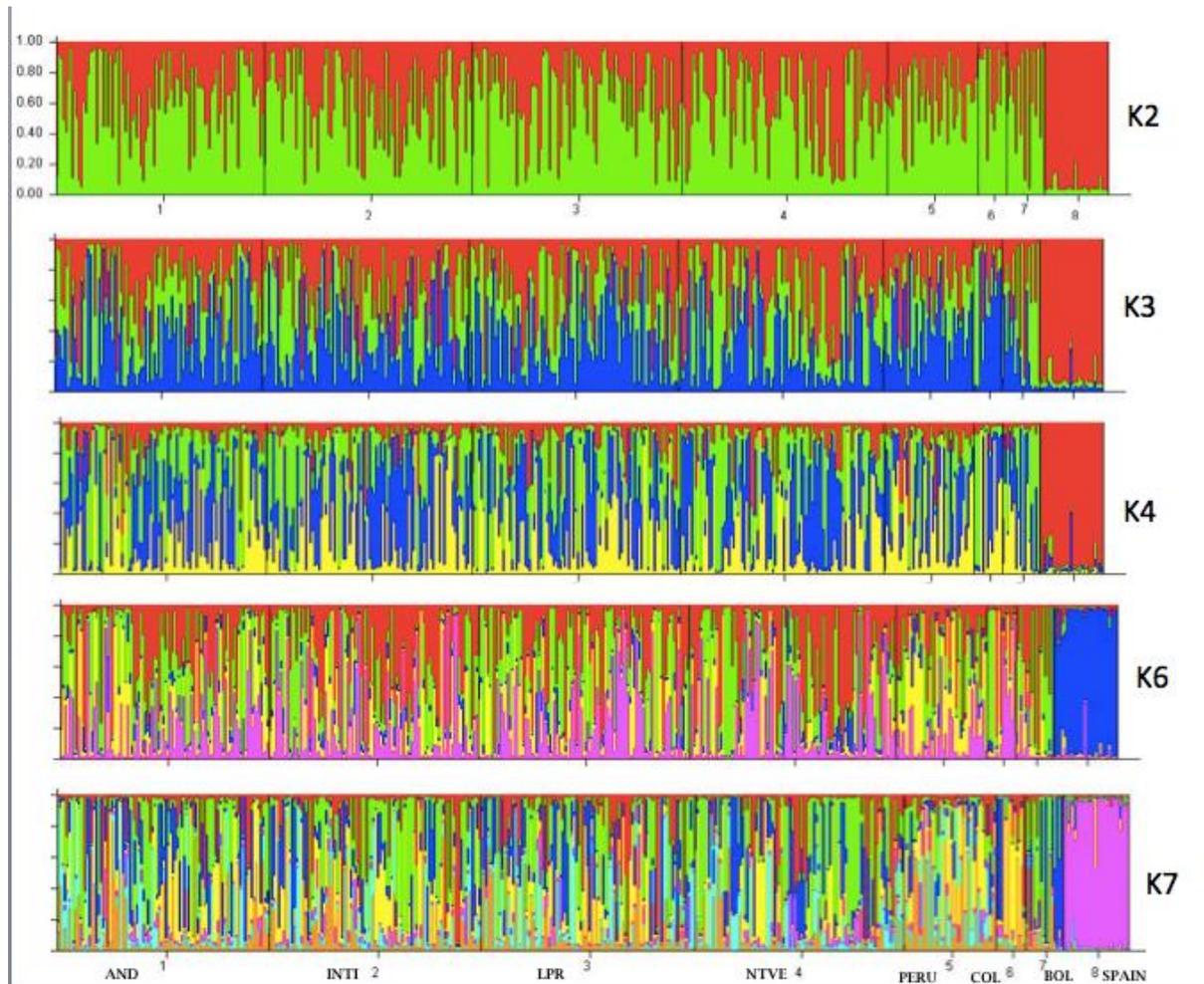


Figura 38: Análisis de la estructura de todas las poblaciones de cuyes domésticos de K=2 a K=7 con el programa Structure, Pritchard *et al.*, (2000).

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

Las poblaciones de cuyes domésticos (nativos y mejorados) no han sido identificadas como tales, a pesar de ser originarias de América del Sur, debido probablemente a la falta de información y despreocupación de sus gobernantes y habitantes; en varias comunidades indígenas alejadas y muchas en los páramos con gran altitud (3000 y 4000 m.s.n.m) conjuntamente con las zonas rurales de las ciudades de los países andinos, el cuy nativo de baja producción de carne, en comparación a las líneas comerciales introducidas desde el Perú en la década de los '70, adquieren relevancia en las zonas donde se crían, por su interés religioso - cultural, gran adaptabilidad, mayor palatabilidad y la calidad nutricional de su carne, que es diferente del cuy mejorado y a su uso como animal de trabajo en el sector agrario. Tomando en cuenta que las poblaciones de cuyes nativos y mejorados no están caracterizadas genéticamente hasta el presente, estas poblaciones de acuerdo a la clasificación del estado de riesgo de las razas domésticas reconocidas por la FAO, podría encuadrarse en la categoría “desconocido”, ya que no hay información disponible que permita evaluar objetivamente la situación de la población, siendo ésta la situación más lábil de una raza.

De acuerdo a este panorama, se ha propuesto en este estudio la caracterización genética de las poblaciones de cuyes del Ecuador y relacionarlas con las poblaciones de los países andinos. Como primer paso para la caracterización genética, fue diseñado un panel de microsatélites para *Cavia porcellus*, se continuó con el estudio de la diversidad genética intra-racial de las poblaciones de Ecuador, a continuación se estudió la diversidad genética inter-racial de las poblaciones de cuyes del Ecuador, y finalmente el estudio las relaciones genéticas entre diferentes poblaciones de cuyes de América del Sur y un outgroup internacional.

DISEÑO DEL PANEL DE MICROSATÉLITES PARA *Cavia porcellus*

En este estudio fue fundamental diseñar un panel con mayor cantidad de microsatélites altamente polimórficos para determinar la diversidad genética de los cuyes domésticos y que posteriormente pueda ser usado en análisis de parentesco y paternidad. Los microsatélites son poderosos marcadores genéticos usados para identificar estructura genética, análisis de pedigrí, variación genética de especies estrechamente relacionadas (Abdul-Muneer, 2014). Antes del presente estudio, pocos estudios fueron reportados en caviás silvestres, usando un

panel reducido de microsatélites (Asher *et al.* 2008; Kanitz *et al.* 2009) o AFLP loci (Solarte *et al.* 2010). En Colombia por Burgos-Paz, Cerón-Muñoz y Solarte-Portilla (2011) se estudió cuyes domésticos con el panel propuestos por Asher *et al.* (2008). El estudio más reciente sobre diversidad genética y estructura poblacional en cuyes domésticos fue reportado en el continente africano por Kouakou, Skilton, Apollinaire, Agathe, Beatrice y Clément (2015) en Costa de Marfil, usando el panel de marcadores de Kanitz *et al.* (2009). Sin embargo en dos últimos trabajos realizados en cuyes domésticos los autores no encontraron diferencias genéticas claras entre las poblaciones analizadas. Existen estudios con ADN mitocondrial de Spotorno *et al.* (2004, 2006 & 2007) encaminados a descubrir que especie silvestre de cavia dio origen al cavia doméstico, el resultado fue que *Cavia tschudii* es la especie más cercana al relacionada al *C. Pocellus*. El estudio más completo sobre el género cavia, fue realizado en ADN mitocondrial (Dunnum & Salazar-Bravo, 2010), en el cual cuyes domésticos fueron incluidos como out-group. El principal objetivo de este trabajo fue comparar la diversidad genética del cuy doméstico incluyendo líneas mejoradas y nativas. Por esta razón, hemos diseñado un panel de marcadores de microsatélites para examinar los acontecimientos evolutivos recientes, relacionar la estructura de la población y la diferenciación genética entre las diferentes poblaciones de cuyes. Además, la importancia del cuy para la economía rural de varios países de América Latina aumenta la necesidad de herramientas moleculares para nuevas iniciativas entre ellos programas de conservación, selección y mejora genética (Mommens *et al.* 1998; Tozaki *et al.* 2001; Bonete *et al.* 2002). A pesar de la difusión en las comunidades locales y el bajo nivel tecnológico necesario para la cría de cuyes, existe una intensa actividad comercial de estos animales; tanto es su éxito que en varios países de África, por ejemplo en Camerón se lo aprecia por la baja inversión de capital requerida para empezar con un producción cavícola, las labores de mantenimiento las pueden realizar cualquier persona del hogar (mujeres, niños, ancianos, etc), carne palatable, no produce olores desagradables como para mantenerlo dentro de casa (NCR, 1991), brinda seguridad alimentaria e incrementa la economía de las poblaciones rurales (Lammers *et al.*, 2009; Niba *et al.*, 2012). En Costa de Marfil al cuy lo denominan cavia doméstico y es una fuente de nutrición importante ya que el país a sufrido desafortunados conflictos civiles y armados, obligando a muchos a migrar a otras localidades, perdiendo su ganadería convencional; los cuyes brindan a esta población seguridad alimentaria y económica ya que pueden trasportarlos fácilmente debido a su pequeño tamaño y su alta prolificidad (Kouakou *et al.*, 2015) Los microsatélites dinucleótidos están siendo utilizados como marcadores genéticos para la identificación de la estructura de la población, la cartografía del genoma, el análisis de

pedigrí y resolver ambigüedades taxonómicas en muchos otros animales, además del cuy (Xu & Liu, 2011; Martínez et al., 2012; Gama *et al.*, 2013; Abdul-Muneer, 2014).

Se aislaron con éxito, 25 secuencias de microsatélites, de los cuales dieciséis (16) fueron seleccionados, más cuatro (4) microsatélites tomados de Kanitz et al. (2009) y Asher et al. (2008), en total el panel final contiene 20 microsatélites dinucleótidos en base a su calidad técnica. Todos los marcadores propuestos pueden ser fácilmente amplificados en reacciones de PCR multiplex. Se identificó un total de 216 alelos de un total de 100 muestras de cuyes domésticos *Cavia porcellus* (Avilés *et al.*, 2015), valores superiores a los encontrados por Burgos-Paz et al. (2011), donde reportaron 35 alelos de 384 individuos provenientes de Colombia.

Todos los loci tenían un muy alto número de alelos ($10,8 \pm 3,40$), que fue superior a los valores encontrados en Costa de Marfil $5,98 \pm 0,37$ alelos en cuyes criollos por Kouakuo et al. (2015); en Colombia $6,8 \pm 1,64$ alelos por Burgos-Paz et al. (2011) en caviás domésticos (una línea nativa 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); así como una alta, media de rango alélico (25 pb), que se aprecian en la tabla 6. Aunque sólo 11 loci de los 20 estaban en equilibrio HW en la muestra general, los valores del índice F_{IS} eran muy altas (0.173). Estos resultados, a pesar del alto número de alelos, pueden explicarse por el número de muestra pequeña utilizada en este estudio preliminar, que puede dar lugar a la maximización de los valores de exceso de heterocigotos (Wahlund 1928), como se destaca también por el desequilibrio HW calculado por la población separada que muestra el valor significativo para el 6 de población sólo en 2 marcadores (Cavy12 y CUY07). Según información recolectada de estos datos puede ser también por el sistema de apareamiento particular de estos animales basado en el uso de animales consanguíneos y por el intenso intercambio de machos y hembras en los mercados de países andinos.

La probabilidad de exclusión total combinada destacó que los 20 loci son suficientes para obtener un buen rendimiento para las pruebas de paternidad y trazabilidad.

DIVERSIDAD GENÉTICA INTRA-RACIAL DE LAS POBLACIONES DE CUYES DEL ECUADOR

Los cuyes domésticos son una importante fuente de ingresos para las familias campesinas de Ecuador. Además de proveer de carne nutritiva para los miembros del hogar. En la actualidad es muy difícil encontrar cuyes nativos dentro de las explotaciones ya que se ha introducido

líneas mejoradas provenientes desde el Perú hace 45 años aproximadamente. Estos cuyes mejorados fueron aceptados rápidamente por su tamaño y peso superior al del cuy nativo, los cavicultores iniciaron cruces sin ningún control o capacitación previa, entre los cuyes mejorados y los cuyes nativos, denominando a este cruce cuy “criollo”, este término está mal usado ya que criollo se refiere a las especies nacidas en América pero con descendencia europea según la Real Academia de la Lengua Española; el cual no es el caso del cuy ya que es nativo del América del sur, descrito por primera vez por Konrad Von Gesner en 1554. Los cuyes nativos han ido desapareciendo en estos años, pudiendo encontrar algunos de pelaje negro que no presentan cruce con mejorados ya que son usados para la medicina tradicional y la preferencia del color para los *jambi runas* (Shamanes) es negro. Por medio de este estudio se propuso identificar las poblaciones de cuyes del Ecuador, tomando muestras de las diez provincias andinas en las cuales la producción, comercialización y consumo es alto. El interés radica principalmente en la pérdida de animales nativos, ya que provocaría una disminución de la diversidad genética, y con ella la rusticidad de los animales nativos, el sabor palatable de su carne y la pérdida de un recurso nacional.

Los resultados de los análisis estadísticos empleados para cuantificar la diversidad intra-racial de las poblaciones de cuyes del Ecuador, tales como el número medio de alelos (10,94), la heterocigosidad esperada (0,791) y observada (0,710), indican altos niveles de variabilidad genética en la población total. Los marcadores encontrados fuera del HWE (11) representando el 55%, fueron probablemente el resultado de una heterocigosidad observada inferior a la esperada, así como la variabilidad dentro de la población estimada por F_{IS} (0,103) indicando un moderado déficit de heterocigotos.

En las cuatro poblaciones ecuatorianas (una nativa y tres comerciales) el promedio de número de alelos fue 10,94 resultó con valores superiores a los encontrados en Costa de Marfil 5,98 alelos en cuyes criollos por Kouakuo et al. (2015), en Colombia 6,4 alelos por Burgos-Paz et al. (2011) en caviar domésticos (una línea nativa y líneas comerciales no especificadas) y en caviar silvestres del Brasil 7,4 alelos Kanitz et al. (2009) y del Uruguay 10 alelos por Asher et al. (2008). El alto número de alelos encontrados puede indicar gran variación en las poblaciones iniciales, las cuales fueron identificadas fenotípicamente por colores de pelo o tipo de pelo y conformación del cuerpo, para posteriormente generar las líneas comerciales que ahora conocemos.

La población nativa del Ecuador llama la atención entre las 4 poblaciones analizadas presentando un mayor número de microsatélites en desequilibrio de HWE (45%), con un NMA (10,90), el valor más bajo de H_o (0,697) y el valor más alto de F_{IS} (0,127), al compararla con el trabajo de Burgos-Paz et al. (2011) en la población nativa de Colombia, observamos que el valor de F_{IS} de la población colombiana es más elevado (0,309) mostrando mayor cantidad de homocigotos, en Costa de Marfil el valor de F_{IS} fue 0,225 indicando una alta deficiencia de heterocigotos, sin embargo nuestros datos también muestran un déficit de heterocigotos aunque no tan elevado como el otros estudios. Lo mismo sucede con las líneas comerciales en Ecuador: Inti, Andina y Perú introducidas desde el Perú, los valores de NMA, H_o y H_e son superiores a los reportados por Burgos-Paz et al. (2011) en líneas comerciales en Colombia introducidas desde el Perú, con la diferencia que el valor de F_{IS} en Burgos-Paz et al. (2011) es superior (0,333) a la encontrada en este estudio.

Cuando una población tiene varios microsatélites en desequilibrio, probablemente indica que la población está bajo alguna fuerza que cambia las frecuencias genotípicas: mutación, selección, migración o deriva. En el caso de esta población se debe a la selección empírica por parte de los criadores, que en su mayoría son campesinos que eligen a los cuyes más grandes para autoconsumo en ocasiones especiales como bautizos, bodas, grados etc, y venden sus excedentes en los mercados los días de feria o cuando la temporada de clases inicia y necesitan dinero para los útiles escolares, venden todo lo que sea necesario para solventar estos rubros y dejan pocos animales, generalmente los más pequeños para la reposición (Avilés *et al.*, 2014).

DIVERSIDAD GENÉTICA INTER-RACIAL DE LAS POBLACIONES DE CUYES DEL ECUADOR

Los valores del coeficiente de diferenciación genética G_{ST} , los Estadísticos F y el AMOVA son herramientas indispensables para observar diferenciación entre las poblaciones. Los valores de G_{ST} (0,2%) y F_{ST} (0,3%) son bastante similares e indican escasa diferenciación genética entre las poblaciones del Ecuador.

En el trabajo de Burgos-Paz et al. (2011) y Kouakuo et al. (2015) los valores de F_{ST} fueron 0,01 y 0,0258 respectivamente, ambos indicaron una baja diferenciación genética entre sus poblaciones.

Estos hallazgos de escasa diferenciación entre poblaciones del Ecuador puede atribuirse al intercambio que existe entre los cavicultores, que durante las ferias ganaderas fijadas un día a

la semana en cada pueblo, compran o intercambian animales para reproducción, lo cual demuestra el déficit de heterocigotos se debió al apareamiento no aleatorio de las poblaciones ya que en su mayoría los cuyes domésticos son criados en espacios comunes sin empadres controlados.

Relaciones Genéticas

A pesar de encontrar escasa diferenciación entre las poblaciones de Ecuador al realizar las matrices, los árboles de distancias de diferentes autores y el AFC, se aprecia a la nativa de Ecuador (**NTVE**) más distante de las otras tres líneas comerciales. Es interesante comentar la cercanía que existe entre las líneas comerciales Inti y Perú, ya que los colores de su manto son similares tanto el Bayo (amarillo) como el Alazán (rojo) pero se pueden admitir combinaciones con blanco, por este motivo es más común que los cavicultores tengan juntas a estas dos líneas para la reproducción, lo que no sucede con la línea comercial Andina que todo su cuerpo esta rodeado de un manto blanco sin opción a combinaciones, en el hecho de querer participar en exhibición y ser considerada como línea Andina debe tener el 100% de pelo blanco en todo su cuerpo. En los arboles y matrices de este estudio se observa su distinción.

En el trabajo realizado por Burgos-Paz et al. (2011) se observa en la matriz de distancias la relación muy cercaba entre la nativa de Colombia y las líneas comerciales, pudiendo ser debido a que el consumo de cuy en Colombia se realiza en provincias que limitan con el Ecuador, en este caso Nariño, donde la introducción de las líneas comerciales se realizó de manera rápida, ya que los comerciantes ecuatorianos vieron la oportunidad económica de introducir cuyes de líneas comerciales que a ellos los habían entregado los comerciantes Peruanos.

Al analizar la estructura de las poblaciones de cuyes del Ecuador, al igual que el trabajo de Burgos-Paz et al. (2011) y Kouakuo et al. (2015), no se a podido observar estructura genética clara. Problemente ha que desde tiempos preincaicos las culturas originarias de América empezaron a incursionar en nuevos territorios, crando rutas desde Michoacan en México hasta Bolivia, en estre trayecto intercambiando sus productos entre ellos la apreciada *Mullu* que es la concha *Spondilus calcyfer*, llebando a sus largos viajes fuentes de alimento como los cuyes y los patos de un lugar a otro por su facilidad de tranporte, contando así con alimento fresco y rico en proteínas (Sthal & Norton, 1984). De esta manera asosiamos la falta de estructura y diferenciación de las poblaciones de América. Este intercambio aún se realiza

entre los países, no ha existido un aislamiento concreto de alguna población específica ya que los criadores de cuyes (cavicultores) llevan sus mejores cuyes a las ferias donde consiguen gran precio por los cuyes de gran peso, longitud y colores claros, estos no son usados precisamente para ser pie de cría sino que son consumidos en días festivos (Avilés *et al.*, 2014).

ESTUDIO DE LA RELACIONES GENÉTICAS ENTRE LAS POBLACIONES DE CUYES DEL ECUADOR Y DE LOS PAÍSES DE AMÉRICA DEL SUR Y UN OUTGROUP INTERNACIONAL.

Durante siglo XV, la época del descubrimiento de América un animal exótico y tierno llamo la atención de los conquistadores, el cuy fue llevado al viejo continente donde es conocido como cobayo/a y estableció un rol diferente al que llevaba en América del Sur, ahora era considerado una afectuosa mascota con mucho éxito entre los más altos estratos. Con esta introducción se observa en los resultados una gran diferenciación de la estructura genética de cuy (mascota o laboratorio) en Europa frente al cuy doméstico (carne, piel, abono, etc.) de América del Sur.

Al incluir muestras de los países andinos que consumen carne de cuy (Colombia, Perú y Bolivia) COL, PERU Y BOL respectivamente, más el outgroup internacional SPAIN, se encontró que el NMA en la población española de cuyes mascota es el más bajo (4,85), similar a la reportada por Burgos-Paz *et al.* (2011) de 4,8 alelos en cuyes mascota también, otro valor similar es el de cuyes colombianos 6,8 en este trabajo y 6,2 en Burgos-Paz *et al.* (2011), otra población con valores bajos es la boliviana (5,5), debido a que el número de animales muestreados fue bajo en Bolivia, estas poblaciones citadas indican poca variación genética ya que la dificultad de conseguir muestras nativas sin intervención de líneas mejoradas fue una búsqueda de varios meses.

El AMOVA tabla 19, donde se muestra el grupo 1, a las poblaciones de América del Sur (AND, INTI, LPR, NTVE, COL, PERU, BOL) y al grupo 2 la población SPAIN como outgroup internacional; muestra una diferenciación del 16,67%.

En las matrices de distancias, árboles filogenéticos y análisis factorial de correspondencia se observan todas las poblaciones, muy juntas las americanas, excepto la boliviana, probablemente por el muestreo que fue realizado en zonas muy alejadas de las explotaciones con cuyes comerciales llevados desde el Perú; y muy distante se encontró a la población española. En el trabajo realizado por Burgos-Paz *et al.* (2011) se observa en la matriz de

distancias y en la figura de Neighbor- Joining a la población mascota también muy alejada de las demás, debido probablemente a que la preferencia de los compradores de cuyes mascotas es el pelo largo y de apariencia graciosa.

El programa Structure, en base a los resultados obtenidos identifica estructura genética entre los cuyes americanos y la población europea de cuyes mascota, debido a su migración hace 500 años con el descubrimiento de América. En el trabajo de Burgos-Paz et al. (2011), se observa con mucha dificultad algo de la estructura de la población de cuyes mascota de Colombia, tal vez por el pequeño número de individuos (21) usados o identificados como mascotas en ese país.

No se observa estructura dentro de la población ecuatoriana, ni en la población total de América del sur, en los trabajos realizados por Spotorno et al. (2004, 2006, 2007) demostraron que *Cavia porcellus* es el resultado de un solo evento de domesticación inicial seguido de dos etapas posteriores dieron lugar a las razas europeas del comercio de animales y de laboratorio y las formas actuales de América del Sur que conocemos hoy en día, en estos importantes estudios también indica que *C. tschudii* es la especie más cerca relacionada a la domesticación de *C. porcellus*, Dunnun y Salazar-Bravo (2010) corroboran el estudio del origen de la domesticación de *Cavia porcellus* y además proveen contundente evidencia acerca del origen geográfico de la domesticación del género, cerca de Ica que es un departamento en la región costa del Perú; en el mismo estudio ofrecen una estimación temporal de la evolución del género *Cavia*, la misma que parece extenderse hasta el Mioceno tardío.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- Se ha diseñado un panel de 20 microsatélites dinucleotídicos eficaz para estudios de diversidad, diferenciación y estructura genética en el cuy doméstico (*Cavia porcellus*). El panel está formado por 16 microsatélites nuevos descritos y diseñados en este estudio, y cuatro marcadores más previamente utilizados en estudios de diversidad genética en otras especies de cavia.
- El polimorfismo detectado, los niveles de Heterocigosidad, el Contenido de Información Polimórfica y la Probabilidad de Exclusión Combinada, demuestran que este panel puede ser útil para realizar caracterización genética y controles de filiación como ayuda a la gestión de los cuyes domésticos de América del Sur.
- Las poblaciones de cuyes ecuatorianos analizadas muestran una alta variabilidad genética, una diferenciación no significativa y una nula estructura poblacional. No se han detectado diferencias genéticas entre los cuyes nativos de Ecuador y las líneas comerciales introducidas desde Perú.
- Las poblaciones de cuyes de América del Sur presentan una alta diversidad genética. Los valores de diferenciación genética demostraron que no existen diferencias significativas ni estructura genética entre las poblaciones de cuyes de América del Sur. Estos resultados podrían ser la consecuencia de la existencia de un sistema reproductivo abierto entre todas las poblaciones estudiadas lo que favorecería la migración entre las mismas.

RECOMENDACIONES

RECOMENDACIONES

- En la actualidad, la FAO es el principal organismo internacional encargado de la conservación de los recursos genéticos animales, el cual ha desarrollado un protocolo para la conservación de poblaciones en peligro de extinción, siguiendo este protocolo se recomienda continuar con la descripción general de la población; la caracterización morfométrica; realizar un programa de conservación genética *in situ* (el objetivo prioritario es la conservación y mantenimiento de animales vivos con la máxima diversidad genética y con el mínimo incremento de consanguinidad posible por generación); realizar un programa de conservación genética *ex situ* (conservación de animales vivos en granjas o parques, conservación criogénica de germoplasma), y por último, realizar un programa de mejora animal (mejorar genéticamente algún carácter de las poblaciones autóctonas de cuyes existentes en los andes).
- Es importante destacar que en África (Benin, Congo, Cameroon, Kenya, Ghana, Nigeria y Tanzania) se realizan estudios de producción en cuyes con el fin de generar una fuente alta en proteína e ingresos económicos extras, ya que es un animal fácil de cuidar, se adapta a condiciones climáticas adversas, a los tres meses de edad se puede consumir o comercializar, es altamente prolífico y se puede conseguir hasta 5 partos por año con un promedio de 3 crías por parto. Para futuros trabajos incluir estas poblaciones residentes en África, Brasil y Asia.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Abdul-Muneer, PM. 2014. Application of Microsatellite Markers in Conservation Genetics and Fisheries Management: Recent Advances in Population Structure Analysis and Conservation Strategies, Genetics Research International, vol. 2014, Article ID 691759, 11 pp.
- Alderson, L. 1974. Genetic conservation and breed improvement. *The Ark* 1:98.
- Aliaga, L., Moncayo, R., Rico, E. & Caycedo, A. 2009. Producción de Cuyes. Fondo editorial de la Universidad Católica Sedes Sapientiae, Lima, Perú, 484pp.
- Aparicio Sánchez, G. 1956. Exterior de los grandes animales domésticos. Morfología externa e identificación individual. Imprenta Moderna. Córdoba España.
- Archetti, E. 1997. Guinea-pigs: Food, symbol, and conflict of knowledge in Ecuador.
- Aranguren, M. 2002. Caracterización y relaciones filogenéticas de cinco razas asnales españolas en peligro de extinción mediante la utilización de marcadores microsatélites: su importancia en los programas de conservación, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona
- 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.
- Avilés, D., Martínez, MA., Landi, V., & Delgado JV. 2014. El cuy (*Cavia porcellus*). Un recurso andino de interés agroalimentario. *Recursos Genéticos Animales* 55: 87-91pp.
- Avilés, D., Landi, V., Delgado JV., Vega-Pla, JL., & Martínez, MA. 2015. Isolation and characterisation of dinucleotide microsatellite set for a parentage and biodiversity study in domestic guinea pig (*Cavia porcellus*). *Italian Journal of Animal Science*. 14(3960): 615-620pp.
- Avise, JC. 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. 1st Edition. Chapman & Hall Ed. New York.
- Avise, JC. 2004. *Molecular markers, natural, natural history, and evolution*. Second edition. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts.
- Barahona, C. 1982. “La soba del Cuy”. En: José Sánchez Praga et. al., *Política de salud y comunidad andina*, CAAP Editores, Quito.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N., & Bonhomme, F. 2003. Genetix: 4.05 Logiciel sous Windows™ pour la genetique des populations, In: U. d. Montpellier (ed.) Montpellier, France.
- Blin, N., & Stafford, DW. 1976. Isolation of high molecular weight DNA. *Nucleic Acids Research* 3: 2303-2308.
- Botstein, D., White, RL., Skolmick, H. & Davis, RW. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *American Journal of Human Genetics*. 32, 314-331.
- 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.
- Bowtell, D. 1987. Rapid isolation of eukaryotic DNA. *Analytical Biochemistry* 162: 463-465.
 - Bradley, B.J., & Vigilant. 2002. False alleles derived from microbial DNA pose a potential source of error in microsatellite genotyping of DNA from faeces. *Molecular Ecology notes* 2: 602-605.
 - Bryant, D., & Moulton, V. 2004. Neighbor-Net: An Agglomerative Method for the Construction of Phylogenetic Networks. *Mol Biol Evol* 21:255-265.
 - Buchanan, F.C., Adams, L.J., Littlejohn, R.P., Maddox, J.F. & Crawford, A.M. 1994. Determination of evolutionary relationships among sheep breeds using microsatellites. *Genomics*. 22, 397-403.
 - Cabrera, A. 1953. Los roedores argentinos de la familia Cavidae. Universidad de Buenos Aires. Publicación 6: 48-56.
 - Camacho, M.E. 2004. Conservación: Estrategias y Programas. V Curso Internacional de Especialización en la Conservación y Utilización de las Razas de Animales Domésticos Locales en Sistemas de Explotación Tradicionales-CYTED-Subprograma XII: Diversidad biológica Red XII.H: Red Iberoamericana sobre la conservación de la biodiversidad de los animales domésticos locales para el desarrollo rural sostenible. Córdoba, España.
 - Casellas, J., Noguera, J.L., Varona, L., Sánchez, A., Arqué, M., Piedrafita, J. 2004. Viability of Iberian x Meishan F2 newborn pigs. II. Survival analysis up to weaning. *Journal of Animal Science*, 82:1925-1930.
 - Cavalli-Sforza, L.L., & Edward, A.W.F. 1967. Phylogenetic analysis models and estimation procedures. *Amer. J. Hum. Genet.* 9: 233-257.
 - Cavalli-Sforza, L.L. 1969. Human diversity. *Proceedings of 12th. International Congress of Genetics*. Tokyo. 3, 405-416.
 - Censo Agropecuario III. 2002. Ecuador desde: <http://www.inec.gov.ec>
 - Censo Agropecuario–CENAGRO. 2012. Perú desde: <http://www.inei.gob.pe>.
 - Cha, R.S., & Thilly, W.G. 1993. Specificity, efficiency, and fidelity of PCR. *PCR Methods Appl.* 3(3):18-29.
 - Chauca, L. 1997. Producción de cuyes (*Cavia porcellus*). FAO, Roma, Italia. 77pp.
 - Chauca, L. 2005. Informe Final – Sub Proyecto: “Generación de Líneas Mejoradas de Cuyes del Alta Productividad” Convenio INIA – INCAGRO 2002-04.
 - Chauca, L. 2013. Crianza del cuy *Cavia porcellus* y su impacto en el desarrollo rural. Instituto Nacional de Innovación Agraria. XXXVIII Reunión de la Asociación Peruana de Producción Animal APPA.
 - Chueca, W.C. 1972. Escala cromática y consideraciones preliminares del pelaje del cobayo en el Perú. Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima. 79 pp. (Tesis.)
 - Ciulla, T.A., Sklar, M., & Hauser, S.L. 1988. A simple method for DNA purification from peripheral blood. *Analytical Biochemistry* 174: 485-488.
 - Cockerham, C.C. 1973. Analyses of gene frequencies. *Genetics*. 74, 679-700.
 - Corander, J., Waldmann, P., & Sillanpää, M.J. 2003. Bayesian analysis of genetic differentiation between populations. *Genetics*. 163: 367–374.

- Corander, A., Siren, J.J., & Arjas, E. 2008. Bayesian spatial modelling of genetic population structure. *Computational Statistics* 23:111-129.
- Cornuet, J.M., Piry, S., Luikart, G., Estoup, A., & Solignac, M. 1999. New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics* 153: 1989-2000.
- Crespo, N.J. 2012. La Carne de Cuy: nuevas propuestas para su uso. Cuenca desde: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/1563/1/tgas26.pdf>.
- David, L.G., Dibner, M.D., & Battey, J.F. 1986. *Basic methods in molecular biology*. Elsevier, New York, USA.
- Delgado, J.V. 2007. Un estudio sociogenético de la colonización zootécnica Iberoamericana. *Memorias VIII Simposio Iberoamericano sobre utilización de recursos zoogenéticos*. Quevedo. Ecuador, ISBN 84-95609-60-6. :1-21.
- Dieffenbach, C.W., Lowe, T. & Dveksler, G.S. 1993. General concepts for PCR primer design. *PCR Methods and Applications*. 3, 30-37.
- Díez-Tascón, C., Littlejohn, R.P., Almeida, P.A.R. & Crawford, A.M. 2000. Genetic variation within the Merino sheep breed: analysis of closely related populations using microsatellites. *Animal Genetics*. 31, 243-251.
- Dunnun, J.L., & Salazar-Bravo, J. 2010. Molecular systematics, taxonomy and biogeography of the genus *Cavia* (Rodentia: Caviidae). *J Zool Syst Evol Res* 48(4): 376-388.
- Durand, D., Halldorsson, B.V., & Vernet, B. 2005. Hybrid micro- macroevolutionary approach to gene tree reconstruction.
- Ehrlich, H.E. & Arnheim, N. 1992. Genetic analysis using the polymerase chain reaction. *Annuary Review of Genetics*. 26: 479-506.
- Encuesta Nacional Agropecuaria. 2007. Bogota desde: http://www.agronet.gov.co/www/htm3b/public/ENA/ENA_2007.pdf.
- Epplen, C., Over, I., Lubjuhn, T., Epplen, J.T., & Sauer, K.P. (1998). Genetic distinction of scorpionflies (*Panorpa vulgaris*) by microsatellites. *Mol Ecol* 7:1256-1258.
- Espinoza, J., Furushio, E., & Rodriguez, A. 2008. Propuesta de un Plan de negocio para una empresa dedicada a la crianza tecnificada de cuyes ubicada en Ñaña y su comercialización al mercado local. tesis M. Sc. Perú. Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. 184pp.
- Esquivel, J. 1994. *Criemos cuyes*. Cuenca, Ecuador. 212pp.
- Excoffier, L., Smouse, P.E., & Quattro, J.M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131:479-491.
- Excoffier, L., & Lischer, H.E. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows, *Molecular Ecology Resources*, 10: 564-567.
- Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J.K. 2003. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data: Linked Loci and Correlated Allele Frequencies. *Genetics* 164:1567-1587.
- Frankham, R., Ballou, J.D., & Briscoe, D.A. 2002. *Introduction to Conservation*

- Genetics. Cambridge University Press, New York.
- Felsenstein, J. 1988. Phylogenies from Molecular Sequences: Inference and Reliability. *Annual Review of Genetics* 22:521-565
 - Frantz, AC., Cellina, S., Krier, A., Schley, L., & Burke, T. 2009. Using spatial Bayesian methods to determine the genetic structure of a continuously distributed population: clusters or isolation by distance? *Journal of Applied Ecology* 46:493-505.
 - Fries, R., Eggen, A., & Stranzinger, G. 1990. The bovine genome contains polymorphic microsatellites. *Genomics* 8:403-6.
 - Gad, SC. 2007. *Animal Models in Toxicology* (2nd ed.). Taylor & Francis. 334–402pp.
 - Gil, V. 2007. Importancia del cuy y su competitividad en el mercado. XX Reunión ALPA, XXX Reunión APPA Cusco- Perú. *Arch. Latioam. Prod. Anim.* 15 (1): 217pp.
 - Gillet, EM. 1999. In Which DNA marker for which purpose?. Final Compendium of the Research Project Development, optimisation and validation of molecular tools for assessment of biodiversity in forest trees in the European Union DGXII Biotechnology FWIV. Programme Molecular Tools for Biodiversity.
 - Gmelig-Nijboer, CA. 1977. Conrad Gessner's "Historia Animalum": An Inventory of Renaissance Zoology. *Krips Repro B.V.* 69–70pp.
 - Goldstein, DB., Ruiz Linares, A., Cavalli-Sforza, LL. & Feldman, MW. 1995. Genetic absolute dating based on microsatellites and the origin of modern humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA.* 92, 6723-7.
 - Goldstein, DB., & Pollock. DD. 1997. Launching Microsatellites: A Review of Mutation Processes and Methods of Phylogenetic Inference. *J Hered* 88:335- 342.
 - Goudet, J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices v. 2.9.3, <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm> (September 5, 2009).
 - Graber, RA., & Morris, JW. 1983. General equation for the average power of exclusion for genetic systems of n co-dominant alleles in one-parent and in no-parent cases of disputed parentage. In: *Inclusion Probabilities in Parentage Testing* (Ed. by R.H. Walker). American Association of Blood Banks, Arlington, WV. 277-280 pp.
 - Grundel, H., & Reets, I. 1981. Exclusion probabilities obtained by biochemical polymorphisms in dogs. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics* 12: 123–32.
 - Guerrini, Anita. 2003. *Experimenting with Humans and Animals*. Johns Hopkins. 42pp.
 - Guillot, G., Estoup, A., Mortier, F., & Cosson, JF. 2005. A spatial statistical model for landscape genetics. *Genetics* 170:1261–1280.
 - Guillot, G., Mortier, F., & Estoup, A. 2005. GENELAND: A program for landscape genetics. *Molecular Ecology Notes* 5:712-715.
 - Guillot, G. 2008. Inference of structure in subdivided populations at low levels of genetic differentiation. The correlated allele frequencies model revisited. *Bioinformatics* 24:2222-2228.
 - Guillot, G., Raphael, L., Aurelie, C., & Alain, C. 2009. Statistical methods in spatial genetics. *Molecular Ecology*.

- Guo, SW., & Thompson, EA. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. *Biometrics*. 48, 361-372.
- Hardy, GH. 1908. "Mendelian proportions in a mixed population". *Science* 28: 49–50.
- Harvey, W. 1653. Anatomical exercitations concerning the generation of living creatures to which are added particular discourses of births and of conception. 527pp.
- Helmer, S., N. T., & M, G. 2003. Estimating the output cardinality of partial preaggregation with a measure of clusteredness Proceedings of the 29th international conference on Very large data bases. VLDB Endowment, Berlin, Germany. Volume 29.
- Hocquenghem, AM. 2009. El *Spondylus princeps* y la edad de bronce de los Andes centrales. Congreso Internacional de Americanistas. ICA 53pp.
- Hodges, J. 1990. Animal genetic resources. *Impact Sci. Soc.* 158: 143-153.
- Hoffman, JI., & Amos, W. 2005. Microsatellite genotyping errors: detection approaches, common sources and consequences for paternal exclusión. *Molecular Ecology* 14: 599-612.
- Huson, DH., & Bryant, D. 2006. Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies. *Mol Biol Evol* 23:254-267.
- Instituto Nacional de Innovación Agraria. 2004. Tríptico Cuy Raza Perú. Unidad de Medios y Comunicación Técnica. Pleg N°11. Lima, Perú desde: <http://www.inia.gob.pe/images/AccDirectos/publicaciones/cuyes/doc/tripticorazaperu.pdf>
- Instituto Nacional de Innovación Agraria. 2005. Generación de Líneas Mejoradas de Cuyes de Alta Productividad. desde: <http://www.inia.gob.pe/images/AccDirectos/publicaciones/cuyes/doc/INIA-INCAGRO2005.pdf>
- Instituto Nacional de Innovación Agraria. 2007. Tríptico Cuy Raza Andina. Unidad de Medios y Comunicación Técnica. Pleg N°14. Lima, Perú desde: <http://www.inia.gob.pe/images/AccDirectos/publicaciones/cuyes/doc/tripticorazaandina.pdf>
- Jamieson, A. 1965. The genetics of transferrin in cattle. *Heredity* 20: 419–41.
- Jamieson, A. 1979. Electromorphs and erroneous pedigrees. Proceedings of International Conference on Animal Blood Groups and Biochemical Polymorphisms, Leningrad1978. Four volumes. The National Committee of the USSR (abstract). 27pp.
- Jamieson, A. 1994. The effectiveness of using co-dominant polymorphic allelic series for (1) checking pedigrees and (2) distinguishing full-sib pair members. In: Festschrift in Honour of Dr Clyde J. Stormont. *Animal Genetics* 25 (1): 37–44.
- Jamieson A., & Taylor S. 1997. Comparison of three probability formulae for parentage exclusion. *Animal Genetics* 28: 397–400.
- Jarne, P., & Lagoda, P. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Ecology and Evolution* 11:424-429.
- Jeanpierre, M. 1987. A rapid method for the purification of DNA from blood. *Nucleic Acid Research*.15 (22), 9611.

- Kanitz, R., Trillmich, F., & Bonatto, S.L. 2009. Characterization of new microsatellite loci for the South-American rodents *Cavia aperea* and *C. magna*. *Conservation Genet Resour* 1: 47–50.
- Kalinowski, S.T., Taper, M.L. & Marshall, T.C. 2007. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment, *Mol Ecol*. 16:1099-1106.
- Kawasaki, E. 1990. Sample preparation from blood, cells and other fluids. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press Inc. New York. 146-152pp.
- Kessel J., & Barros H. 1997. *Manos sabias para criar la Vida*. Quito, Ecuador. Congreso Internacional de Americanistas. 186pp.
- Kimpton, C.P., Gill, P., Walton, A., Urquhart, A., Millican, E.S. & Adams, M. 1993. Automated DNA profiling employing multiplex amplification of short tandem repeat loci. *PCR Methods and Applic* 3: 13-22.
- Kimura, M. & Crow, J. F. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*. 49, 725-38.
- Kleppe, K., Ohtsuka, E., Kleppe, R., Molineaux, I., & Khorana, G. 1971. Studies on polynucleotides XCVI. Repair replication of short synthetic DNA's as catalyzed by DNA polymerases. *Journal of Molecular Biology*. 56: 341-361.
- Klopper, T., & Huson, D. 2008. Drawing explicit phylogenetic networks and their integration into SplitsTree. *BMC Evolutionary Biology* 8:22.
- Koreth, J., OL. JJ, & McGee, JOD. 1996. Review Article. Microsatellites and PCR Genomic Analysis. *The Journal of Pathology* 178:239-248.
- Kouakou, P.K., Skilton, R., Apollinaire, D., Agathe, F., Beatrice, G., & Clément, A.S. 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.
- Lammers, P.J., Carlson, S.L., Zdorkowski, G.A., & Honeyman, M.S. 2009. Reducing food insecurity in developing countries through meat production: the potencial of the guinea pig (*Cavia porcellus*). *Renewable Agricultural and Food Systems* 24: 155-162.
- Langella, O. 1999. *Populations*. Boston. <http://bioinformatics.org/populations/>.
- Li, M.H., Sternbauer, K., Haahr, P.T., & Kantanen, J. 2005. Genetic components in contemporary faroe islands cattle as revealed by microsatellite analysis.
- Loftus, R., & Scherf, B. 1993. World Watch List for Domestic Animal Diversity. *Animal Genetics Resources Information FAO/UNEP* 13: 3-11.
- López, V.E. 1987. Situación actual de la crianza de cuyes en la sierra ecuatoriana a nivel de grande mediano y pequeño productor. *Ministerio Agricultura, Quito, Ecuador, Informe* 20 (4):87- 88.
- Lowe, T., Shareifkin, J., Yang, S.Q. & Dieffenbach, C.W. 1990. A computer program for selection of oligonucleotide primers for polymerase chain reaction. *Nucleic Acid Research*. 18, 1757-1761.
- Maniatis, T., Fritsch, E.F., & Sambrook, J. 1982. *Molecular cloning: A laboratory handbook*. Cold Spring Harbor, NY, New York.

- Manel, S., Schwartz, MK., Luikart, G., & Taberlet, P. 2003. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology & Evolution* 18:189.
- Marshall, TC., Slate, J., Kruuk, LE., & Pemberton, JM. 1998. La confianza estadístico de probabilidad basada en la paternidad inferencia en las poblaciones naturales *Ecología Molecular* 7: 639-655 <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-294x.1998.00374.x>
- Martínez, AM., Delgado, JV., Rodero, A. & Vega-Pla, JL. 2000. Genetic structure of the Iberian pig breed using microsatellites. *Animal Genetics*. 31, 295-301.
- Martínez, R. 2008. Caracterización genética y morfológica del bovino criollo argentino de origen Patagónico. Tesis M.Sc. España. Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Ciencia Animal. 244pp.
- Michalakis, Y., & Excoffier, L. 1996. A Generic Estimation of Population Subdivision Using Distances Between Alleles With Special Reference for Microsatellite Loci. *Genetics* 142:1061-1064.
- Mommens, G., Peelman, LJ., Van Zeveren, A., D'ieteren G & Wissocq, N. 1999. Microsatellite variation between an african and five european taurine breeds results in a geographical phylogenetic tree with a bison outgroup. *Journal of Animal Breeding and Genetics-Zeitschrift Fur Tierzuchtung Und Zuchtungsbiologie* 116: 325-330.
- Montoya, C., Arias, D., Rey, L., & Rocha, P. 2005. Caracterización molecular de materiales *Elaesis guineensis* Jacq. Procedentes de Angola. *Fitotecnia Colombiana* 5:1-10.
- Montpetit, ML., Cassol, S., Salas, T. & O'Shaugnessy, MV. 1992. OLIGOSCAN: A computer program to assist in the design of PCR primers homologous to multiple DNA sequences. *Journal of Virology Methods*. 36, 119-128.
- Morales, E. 1995. The guinea pig: Healing, food, and ritual in the Andes.
- Mullis, K., Falcoma, F., Scharf, S., Snikl, R., Horn, GT. & Erlich, H. 1986. Specific amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology*. 51: 260.
- Naciones Unidas. 1992. Convenio sobre la Diversidad biológica. 30pp.
- National Research Council. 1991. *Microlivestock: Little known small animals with a promising economic future*. NRC. National Academy press, Washington D.C. USA. 241-250pp.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*. 106, 283-282.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 70, 3321-3323.
- Nei, M. 1977. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Ann. Human Genetics*. 41, 225-233.
- Nei, M. 1983. Genetic polymorphism and the role of mutation in evolution. *Evolution of genes and proteins* (Nei, M. and Khoen., R. Ed.). 165-190, Sunderland.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York.

- Niba, AT., Meutchieye, F., Fon, D., Laisin, AD., Taboh, H., Njakoi, H., Bela Tomo, A., Maass, BL., Djikeng, A., & Manjeli. 2012. Current situation of cavy production en Cameroon: Challenges and opportunities. *Livestock Research for Rural Development* 24 (11): 194.
- Nuez, F., Ruiz, JJ., & Prohens. J. 1997. Mejora genética para mantener la diversidad en los cultivos agrícolas. FAO Roma Italia.
- Oliveira, EJ., Pádua, JG., Zucchi, MI., Vencovsky, R., & Vieira, MLC. 2006. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. *Genetics and Molecular Biology* 29:294-307.
- Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura. 1998. Primer y segundo documentos de las líneas directrices para la elaboración de planes nacionales de gestión de los recursos genéticos de animales de granja. Roma, Italia.
- Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura. 2000. Manual de capacitación para trabajadores de campo en América Latina y el Caribe. Mejorando la nutrición a través de huertos y granjas familiares. Roma desde: <http://www.fao.org/docrep/v5290s/v5290s00.htm#TopOfPage>.
- Paetkau, D. & Strobeck, C. 1995. Microsatellite analysis of genetic variation in black bear populations. *Molecular Ecology* 3, 489-495.
- Page, RDM. 1996. TreeView: an application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences* 12: 357–358.
- Panet, A., & Khorana, G. 1974. Studies on polynucleotides. The linkage of deoxyribopolynucleotide templates to cellulose and its use in their replication. *Journal of Biology and The Journal of Biological Chemistry*. 249: 5213-5221.
- Park, SDE., 2001. Trypanotolerance in west african cattle and the population genetics effects of selection. Ph.D. dissertation, University of Dublin.
- Pazmiño, D. 2005. Diferentes niveles de cascara de maracuyá como subproducto no tradicional en la alimentación de Cuyes. Cobuec.
- Pompanon, F., Bonin, A., Bellemain, E., & Taberlet, P. 2005, Genotyping errors: causes, consequences and solutions. *Nature Reviews Genetics* 6: 847-859.
- Pritchard, JK., Stephens, M., & Donnelly, P. 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics* 155:945-959.
- 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.
- Reynolds, J., Weir, BS., & Cockerham, CC. 1983. Estimation of the coancestry coefficient: Basis for a short-term genetic distance. *Genetics* 105: 767-769.
- Revidatti, MA. 2009. Caracterización de cerdos criollos del nordeste argentino. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba. España. 260pp
- Rodero, E. & Herrera, M. 2000. El concepto de raza, un enfoque epistemológico. 2do Cong. Nac. Soc. Rec. Genet. Anim. – SERGA – Mallorca 1998. *Arch Zootec.* 49 No 185 – 186: 5 – 16.
- Rodríguez, G. 1995. La faz oculta de la medicina andina (2da ed.). Quito, Ecuador. Abya Yala. 63pp.

- Rowe, G., & T. Beebee. 2007. Defining population boundaries: use of three Bayesian approaches with microsatellite data from British natterjack toads (*Bufo calamita*). *Molecular Ecology* 16:785-796.
- Rozen, S., & Skaletsky, H. 2000. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In: M.S. Krawetz S (ed), *Methods in Molecular Biology*, (Humana Press, Totowa, NJ) 365-386pp.
- Saiki, R., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, KB., Horn, GT., Erlich, HA. & Arnheim, N. 1985. Enzymatic amplification of α -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*. 230: 1350-1354.
- Schefert, BD. 2000. World Watch List for domestic animal diversity 3ra. Edition. FAO/UNEP Roma 732 pp.
- Schliemann, H. 1982. Nachweis wilder Meerschweinchen für Ecuador und Beschreibung von *Cavia aperea patzelti* subsp. nov. *Z Säugetierkd* 47:79-90.
- Shaffer, ML. 1981. Minimum Population Size for Species Conservation. *BioScience* 31: 131-134.
- Simón, D. 1984. Conservation of animal genetic resources . A review. *Lives. Prod. Sci.* 11: 23-36.
- Situación de los Recursos Zoogenéticos. 2004. Bolivia desde <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1250e/annexes/CountryReports/Bolivia.pdf>.
- She, JX., Autem, M., Kotoulas, G., Pasteur, N., & Bonhomme, F. 1987. Multivariate analysis of genetic exchanges between *Solea aegyptiaca* and *Solea senegalensis* (Teleosts, Soleidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 32:357-371.
- Shete, S., Tiwari, H. & Elston, RC. 2000. On Estimating the Heterozygosity and Polymorphism Information Content Value. *Theoretical Population Biology* 57:265
- Slatkin, M. 1981. Estimating levels of gene flow in natural populations. *Genetics* 99:323-335.
- Slatkin, M., and L. Voelm. 1991. FST in a hierarchical island model. *Genetics* 127:627-9.
- Slatkin, M. 1994. Gene flow and population structure. En *Ecological Genetics*, Editado por L. Real. Princeton. Traducción laboratorio de evolución facultad de ciencias, Universidad de la República de Uruguay [online] <http://evolucion.fcien.edu.uy/Lecturas/Slatkin1994.pdf> Fecha acceso: 30/10/2009.
- Slatkin, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*. 139, 457-462.
- Sobel, E., Papp, JC., & Lange, K. 2002. Detection and integration of genotyping errors in statistical genetics. *American Journal of Human Genetics* 70: 496-508.
- Sosa, P. 1991. Estudio de la variabilidad y la diferenciación genética *del Gelidium arbuscula*, *Gelidium canariensis* y *Gracilaria feroxpor* electroforesis enzimática, Universidad de Palmas de Gran Canaria, Palmas de Gran Canaria.
- Spotorno, AE., Valladares, JP., Marín, JC., & Zeballos, H. 2004. Molecular diversity among domestic guinea-pigs (*Cavia porcellus*) and their close phylogenetic relationship with the Andean wild species *Cavia tschudii*. *Rev Chil Hist Nat* 77: 243-250.

- Spotorno, AE., Marín, JC., Manríquez, G., Valladares, JP., Rico, E., & Rivas C. 2006. Ancient and modern steps during the domestication of guinea pigs (*Cavia porcellus* L.). *J Zool.* 270:57–62.
- Spotorno, AE., Manriquez, G., Fernandez, LA., Marín, JC., Gonzalez, F., & Wheeler, J. 2007. Domestication of guinea pigs from a southern Peru-northern Chile wild species and their middle Pre-Columbian mummies. In: Kelt DA, Lessa EP, Salazar-Bravo J, Patton JL (eds), *The Quintessential Naturalist: Honoring the Life and Legacy of Oliver P. P. Pearson*. Univ Cal Pubs Zool, Berkeley, Los Angeles, and London. 1-981pp.
- Stahl, P., & Norton, P. 1984. Animales domésticos y las implicaciones del intercambio precolombino desde Salamago, Ecuador. *Misilánea Antropológica Ecuatoriana* 4: 83-92.
- Tamura, T., Holbrook, S. R. & Kim, S. H. (1991). Macintosh computer program for designing DNA sequences that code for specific peptides and proteins. *Biotechniques.* 10, 782-784.
- Tivang, JG., Nienhuis, J., & Smith, OS. 1994. Estimation of sampling variance of molecular marker data using the bootstrap procedure. *TAG Theoretical and Applied Genetics* 89:259.
- Vinueza, A. 2003. El cuy, aplicaciones culinarias tradicionales y creativas en la región andina del centro del Ecuador. Tesis para obtener el tecnólogo en gastronomía. Universidad Tecnológica Equinocial. Quito. 38-39pp.
- Wahlund, S. 1928. Zusammensetzung von Population und Korrelationserscheinung vom Standpunkt der Vererbungslehre aus betrachtet, *Hereditas* 11: 65-106.
- Walsh, PS., Metzger, DA. & Higuchi, R. 1991. Chelex® 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *BioTechniques.* 10, 506-513.
- Weir, BS., & Cockerham, CC. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- Weir, BS. 1990. *Genetic Data Analysis*. Sinauer Ed. Sunderland.
- Wing, ES. 1977. Animal Domestication in the Andes. En *Origins of agricultur*, editado por C.A. Reed, Mouton, The Hague, 245-279pp.
- Wing, ES. 1986. Domestication of Andean mammals. In: Vuilleumier F, Monasterio M(eds), *High Altitude Tropical Biogeography*. Oxford University Press and the American Museum of Natural History, Oxford. 246-264pp.
- Wright, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics* 28:114-138.
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19:395-420.
- Wright, S. 1969. *Evolution and Genetics of Population: The theory of Gene Frequencies*, Chicago.
- Wright, S. 1978. *Evolution and Genetics of Population*, Chicago.
- Zaldívar, AM. 1976. Crianza de cuyes y generalidades. I Curso nacional de cuyes, Universidad Nacional del Centro, Huancayo, Perú. 23 pp.

- Zumárranga, S. 2011. Invovaciones Gastronómicas del cuy. Imbabura desde: <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/1139/2/06%20GAS%20014%20TE%20SIS.pdf>.
- Zimmerman, K., Moore, D., & Smith, S. 2015. Hematological Assessment in pet guine pigs (*Cavia porcellus*): Blood sample collection and blood cell identification. *Veterrinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*. 18(1): 33-40. doi:10.1016/j.cvex.2014.09.002.

ANEXOS

PAPER

Isolation and characterisation of a dinucleotide microsatellite set for a parentage and biodiversity study in domestic guinea pig (*Cavia porcellus*)

Diana Aviles,^{1,2} Vincenzo Landi,^{2,3} Juan Vicente Delgado,³ José Luis Vega-Pla,⁴ Amparo Martínez^{2,3}

¹Technical University of Ambato, Ecuador; ²Departamento de Genética, University of Córdoba, Spain; ³Animal Breeding Consulting, Córdoba, Spain; ⁴Laboratorio de Investigación Aplicada, Ministerio de Defensa, Córdoba, Spain

Abstract

The domestic guinea pig is a valuable genetic resource because it is part of local folklore and food tradition in many South American countries. The economic importance of the guinea pig is due to its high feed efficiency and the quality of animal protein produced. For these reasons, our study is aimed to design a complete dinucleotide microsatellite marker set following international recommendation to assess the genetic diversity and genealogy management of guinea pigs. We selected a total of 20 microsatellites, looking for laboratory efficiency and good statistical parameters. The set was tested in 100 unrelated individuals of guinea pigs from Ecuador, Peru, Colombia, Bolivia and Spain. Our results show a high degree of polymorphisms with a total of 216 alleles and a mean number of 10.80 ± 3.49 for markers with a combined exclusion probability of 0.99.

Introduction

The guinea pig (*Cavia porcellus*), also called *cavy*, is originally from the Andean regions of southern Colombia, Ecuador, Peru, and Bolivia, where the species was domesticated between 7000 and 5000 BC (Morales, 1995). Today, a stable population of 35 million animals is reared in this area (DAD-IS, 2014). The guinea pig has several uses and is a valuable economic resource for indigenous populations in the South American marginal areas where

they originate. The guinea pig is a unique source of food due to their ability to convert poor vegetable resources to protein. Additionally, the guinea pig has a strong presence in local folklore and in popular medicine and is an important resource in the cultural patrimony of local nations, especially the Quechuas and Aymaras. The guinea pig has been introduced to other countries since the Spanish colonisation of the American continent, and today, they are used as exotic pets or for scientific experimentation (Guerrini, 2003). Owing to its great capacity of growing and the poor feeding needs, many efforts have also been made to promote guinea pig husbandry in developing countries. The guinea pig was introduced in several West African countries. Even if no official statistics are available (Manjeli *et al.*, 1998), there are some stable reared populations in Cameroon, Democratic Republic of Congo and Tanzania (Maass *et al.*, 2005, 2010; Matthiessen *et al.*, 2011). To date, no complete genetic study has been carried out on the domestic guinea pig although great advances have been reached with the completion of the genomic sequence (http://www.ensembl.org/Cavia_porcellus/info/Index; Broad Institute, 2015). Only a few studies have been conducted looking for microsatellites in guinea pigs, and they have centred on wild subspecies of the *Cavia* genus such as *Cavia aperea* and *Cavia marina* (Kenitz *et al.*, 2009) or have been limited to a small marker panel (Burgos-Paz *et al.*, 2011). The large number of guinea pig animals and breeds reared in South America necessitated the development of molecular tools to perform genetic characterizations and population structure studies as well as a parentage testing strategy for modern breeding approaches. To respond to this demand, the aims of our study were to design a polymorphic set of dinucleotide microsatellites useful both for analysing the genetic diversity of the domestic *Cavia* and as for parentage control, following the Food and Agriculture Organization (FAO) and International Society for Animal Genetics (ISAG) recommendations on this type of research in domestic animals.

Materials and methods

Samples used and DNA extraction

Hair samples from a total of 100 unrelated animals belonging to several domestic guinea pig populations were used in our study. Some samples were collected from several breeding lines from Ecuador (40) divided in 10 sample for typeline (Andina, Peru, Inti and commer-

Corresponding author: Dr. Vincenzo Landi, Grupo de Investigación AGR-218, Departamento de Genética, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, 14014 Córdoba, Spain.
Tel: +34.957.218708.
E-mail: landi.vincenzo@yahoo.it

Key words: *Cavia porcellus*, STRs, Biodiversity, Power of exclusion.

Acknowledgements: the authors wish to express thanks to the different breeders and research groups who kindly provided biological samples: Angelika Stemmer (University of San Simon, Cochabamba, Bolivia), Nilton Gómez (Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú), Luz Angélica Franco (Universidad Nacional de Colombia, Palmira, Colombia) and D. Carlos San José Velasco (Biodonostia, Spain). The authors gratefully thank the members of the CONBIAND network for valuable cooperation over the years.

Funding: the authors wish to acknowledge the financial support received by FUNDACION CAROLINA and the Programme Centro De Investigaciones CENI (Universidad Técnica de Ambato) for financial support for this project.

Received for publication: 15 March 2015.

Accepted for publication: 22 August 2015.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution NonCommercial 3.0 License (CC BY-NC 3.0).

© Copyright D. Aviles *et al.*, 2015

License PAGEPress, Italy

Italian Journal of Animal Science 2015; 14:3960

doi:10.4081/ijas.2015.3960

cial local type) and others from Colombia (15), Bolivia (13) and Perú (15); also, some samples were collected in Spain from commercial lines (20) reared as pets. DNA was obtained by incubating 3 hair roots in the presence of 100 μ L of 5% Chelex[®] (Biorad, Göttingen, Germany) resin suspension at 95°C for 10 minutes and 99°C for 3 min.

In silico identification of microsatellites and primer design

The cavPor3 (high-coverage 6.79X assembly) genome release of the guinea pig (*Cavia porcellus*) was used to search for microsatellite sequences (http://www.ensembl.org/Cavia_porcellus/info/Index) using the NCBI finder tool (Appendix Table 1). Sequence repeat motifs of ≥ 18 bp including poly AG, AC, AT, TC, CA, and GT were searched. A total of 25 sequences were selected. The primer pairs used for polymerase chain reaction (PCR)

amplification were designed using Primer3 software version 0.4.0 (Rozen and Skaletsky, 2000). Our parameter sets included an optimum primer size of 20±5 bp, an optimum melting temperature of ~60±5°C and a GC content between 20 and 80%. The software was allowed to design primer pairs with expected PCR product sizes of 80 to 350 bp.

Microsatellite locus selection

Our primer pairs were synthesised by Stabvida, Costa de Caparica (Portugal) without further modifications. PCR was performed separately for each locus in a reaction volume of 25 µL containing ~10-30 ng of genomic DNA, 0.2 µM each primer pair, 1X NH₄SO₄ PCR buffer, 2.5 mM MgCl₂, 200 µM each dNTP, and 1U Taq polymerase (AIDLAB, Beijing, China). The annealing temperature was 56°C for 35 cycles. PCR products were visualised on a 3% agarose gel, stained with ethidium bromide, in TBE buffer at 150 V/cm, using a 100-bp ladder as a reference (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA).

Based on the amplification efficiency and the absence of a nonspecific PCR product, the samples were sequenced using the BigDye cycle sequencing kit 2.0 (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA), and the sequences were deposited in GenBank (Table 1) after sequencing a control sample from the original done (Appendix Table 1). Additionally, four microsatellite loci (Kanitz et al., 2009) were included in our study with some modifications

and discarding tetranucleotide repeat motifs loci (Table 1).

Microsatellite typing

A final set of 20 polymorphic microsatellites was selected from the microsatellites we tested. The forward primer for each locus was 5' end labelled with fluorescent dye (Figure 1). PCR was performed separately for each locus in a final reaction volume of 25 µL containing ~10-30 ng of genomic DNA, 0.2 µM each primer pair, 1X NH₄SO₄/KCl PCR buffer, 3 mM MgCl₂, 200 µM each dNTP, and 1U Taq polymerase (AIDLAB, Beijing, China). Multiplex reactions were performed following the size range and dye availability using ABI dye set D (Figure 1). The optimal annealing temperature was established by a gradient amplification of 8 samples (annealing temperature from 50 to 62°C) on a Biometra Tgradient Thermal cycler (Biorad).

The sizes of the microsatellite alleles were visualised using an ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Life Technologies), using a 6-FAM polymer and the internal size standard GeneScan500-Rox (Life Technologies). Genotypes were read with the ABI PRISM GeneScan 3.1.2 software (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA) and interpreted with the ABI PRISM Genotyper 2.7.1 software (Applied Biosystems).

Statistical analysis

The mean number of alleles, observed and

unbiased expected estimates of gene diversity, and their standard deviations, together with the polymorphic information content (PIC) were obtained using MICROSATELLITE TOOLKIT software (Park, 2001). We estimated non-exclusion probabilities considering the first (NE-1P), second (NE-2P) or parent pairs (NE-PP) and individual (NE-I) and sib identity (NE-SI) as well as the Hardy Weinberg Equilibrium (HWE), using Cervus software version 3.0.3 (Kalinowski et al., 2007). The combined posterior probability (PEC) was calculated with the algorithm of Jamieson (1994). Deviations from HWE and F_{is} based on locus by locus AMOVA calculations were assessed using ARLEQUIN 3.5.1.3 (Excoffier and Lischer, 2010).

Results

Fluorescent polymerase chain reaction design and microsatellite genotyping

Based on amplification efficiency, success rate, and the absence of non-specific amplification of our primer pairs, a total of 16 microsatellites were selected for the panel design. We named these microsatellites CUY1, CUY2, CUY3, CUY4, CUY5, CUY6, CUY7, CUY8, CUY9, CUY10, CUY12, CUY16, CUY17, CUY18, CUY20, and CUY22. Additionally, 4 di-

Table 1. Summary of the general characteristics of the twenty selected microsatellite loci.

| Locus | GB | RP | MX | Tm | SR | Forward primer (5-3) | Reverse primer (5-3) | Reference |
|-------|----------|----|----|----|---------|-----------------------|------------------------|----------------------|
| CUY1 | KP115879 | GT | 2 | 55 | 271-285 | ctttcaggaataggatcc | ggagttggactacagaga | This work |
| CUY2 | KP115880 | CA | 2 | 55 | 250-262 | caagatgcatcaactttcg | tgttgtgagatgtgttt | This work |
| CUY3 | KP115881 | GT | 1 | 55 | 212-252 | gaaagtcaactatcaactga | gagtcctgcaagaaatc | This work |
| CUY4 | KP115882 | GT | 2 | 55 | 210-230 | tcatctggttcagatttg | aatggtcaggggtaggat | This work |
| CUY5 | KP115883 | CA | 2 | 55 | 141-163 | ggccaagaggaatgcta | tagggaaagatgatgatg | This work |
| CUY6 | KP115884 | CA | 4 | 55 | 158-168 | tgggtgtttctdtttgg | ctgtcagatgcatatt | This work |
| CUY7 | KP115885 | CA | 2 | 55 | 183-197 | gatgagtgagagagca | tgdggttttggtggagg | This work |
| CUY8 | KP115886 | TC | 1 | 55 | 181-217 | tgatgcaactgagaggg | ccaagttcttgggttg | This work |
| CUY9 | KP115887 | GT | 2 | 55 | 116-130 | gctggatgaaagcaagc | tgggtttcagtgatgag | This work |
| CUY10 | KP115888 | GT | 1 | 55 | 105-128 | ttcaagatttcagaacaa | tgacttccaaccaaggaa | This work |
| CUY12 | KP115889 | AG | 4 | 55 | 232-250 | ggatggtggaaatccta | tctctctctctctctctc | This work |
| CUY16 | KP115890 | AT | 3 | 60 | 223-247 | tttgatgcaagcggcaaa | gactgtttgaaactgtttactg | This work |
| CUY17 | KP115891 | TC | 4 | 55 | 152-170 | tgatgcaaatatadgggaac | tagcatgatgagcaataa | This work |
| CUY18 | KP115892 | CA | 2 | 55 | 176-214 | tgcacttctcaatcaca | tccaacactdgttgtgt | This work |
| CUY20 | KP115893 | AT | 4 | 55 | 218-258 | tcttggaaatggpctacattt | tggctdtaggggtatcatt | This work |
| CUY22 | KP115894 | TC | 4 | 55 | 206-232 | cgcaatgcaagcagatta | acaccagtctctgcaaat | This work |
| Cay2 | AI486660 | AC | 2 | 55 | 124-154 | ggcattatgccccaac | agtgctctctgtgtgag | Kanitz et al. (2009) |
| Cay3 | AI486661 | CT | 1 | 55 | 195-225 | acagatgcaaatctgac | gagggtaaacagatgg | Kanitz et al. (2009) |
| Cay11 | AC192015 | CT | 1 | 55 | 140-180 | oogjgtttttctgctttg | tggaaacaaatctgcaatg | Kanitz et al. (2009) |
| Cay12 | AC182323 | AG | 1 | 55 | 143-187 | agpatgctttggatgg | agpatctgctctgcaatg | Kanitz et al. (2009) |

GB, GenBank accession number; RP, microsatellite repeat motif; MX, polymerase chain reaction multiplex reaction where the locus amplified; Tm, annealing temperature of polymerase chain reaction; SR, size range in base pairs.

ucleotide markers were selected from the Kanitz *et al.* (2009) based on sequence length and marker polymorphisms (Table 1) with no modification except for Cavy11 and Cavy 12, where the primer sequence was re-designed to improve the melting temperature parameter. A 4 colour system (ABI D Dye set) and a ~20 bp minimum predicted distance between loci was used to design the electrophoresis pattern. The unusually large distance between loci was designed because of a lack of references about this species, specifically information about expected allelic range. The panel of PCR amplification resulted in four PCR multiplexes divided into three electrophoresis sets (Figure 1). The gradient amplification resulted in an optimal hybridisation temperature, based on the broadness of the band, of 55±0.5°C for all of the multiplexes, with the exception of the CUY 16 maker (60±0.5°C).

Marker polymorphism and quality

The allelic range (a region of the electropherogram where a locus specific allele can be found) we obtained was generally high. The mean difference between two alleles in the same individual ranged from 1.5 in CUY7 to 10.91 Cavy2.

A total of 216 alleles were found with a mean value of 10.80±3.49. All microsatellites were highly polymorphic with a minimum of 6 alleles (CJY6) and a maximum of 19 (Cavy12). The allelic richness ranged from a minimum of

4.002 for CUY9 and a maximum of 9.969 for Cavy12. We found observed and expected heterozygosity to have an average mean value of 0.590±0.115 and 0.778±0.080, respectively, which is considered high (Table 2). To evaluate the polymorphisms of each marker, the PIC value was calculated and found to range from 0.503 for CUY9 and 0.902 for Cavy12. Deviations from HWE were found in 9 of the 20 loci (Appendix Table 2); Cavy12 and CUY7 were found in disequilibrium in 6 populations, CUY2, CUY10 and CUY17 (P<0.05). The sample from Bolivia showed the highest number markers in disequilibrium (8) while the Spanish population showed the lowest ones (2). F_{IS} values with a total mean value of 0.173.

Panel set power statistics

In Table 3, the non-exclusion probability values are shown. The first two values (NE-1P and NE-2P) give the non-exclusion probability when the parents were considered one by one (the first parent and then the second parent of the opposite sex, respectively). In both cases, the higher value was for CUY9 (0.81 and 0.68), and the lower value was for Cavy12 (0.31 and 0.18). When parent pairs were considered, the results were comparable to identity and sibling identity non-exclusion probability, with a maximum value obtained for CUY9 (0.50, 0.25, and 0.54, respectively) and a lower probability for Cavy12 (0.03, 0.02 and 0.30, respectively). Following the Jamieson (1994) algorithm

the combined posterior probability (PEC) was calculated (Table 3). The results show a high value for all types (0.99) but a smaller value for the sibling identity exclusion combined probability (0.84).

Discussion

The aim of our study was to construct a polymorphic marker panel of microsatellites that would be useful for both genetic diversity studies and kinship and parentage analysis in *Cavia porcellus* populations. Microsatellites are very powerful genetic markers that can be used to identify the genetic structure, perform analysis and genetic variation of closely related species. Until the present work, only a few studies had been carried out on wild guinea pigs using either a reduced microsatellite loci panel (Asher *et al.*, 2008; Kanitz *et al.*, 2009; Kouakou *et al.*, 2015) or AFLP loci (Burgos-Paz *et al.*, 2011). Some biodiversity studies have been carried out in Africa using the Kanitz *et al.* (2009) marker panel, such in Côte d'Ivoire (Kouakou *et al.*, 2015) although these authors did not find clear genetic differences among the three analysed populations. The most complete study on the genus *Cavia* was performed on mitochondrial DNA (Dunnum and Salazar-Bravo, 2010). Domestic

Table 2. Descriptive statistics of the twenty designed microsatellite marker loci.

| Locus | NA | AR | H _o | H _e | PI | HW | F _{is} |
|---------|----|-------------|----------------|----------------|-------------|----|-----------------|
| Cavy02 | 9 | 5.069 | 0.670 | 0.723 | 0.675 | ns | -0.038 |
| Cavy03 | 13 | 6.154 | 0.573 | 0.816 | 0.788 | ** | 0.228 |
| Cavy11 | 17 | 8.983 | 0.777 | 0.872 | 0.854 | ns | 0.068 |
| Cavy12 | 18 | 9.969 | 0.500 | 0.913 | 0.902 | nd | 0.427 |
| CJY01 | 8 | 5.196 | 0.588 | 0.755 | 0.718 | * | 0.076 |
| CJY02 | 7 | 5.131 | 0.447 | 0.728 | 0.682 | ** | 0.283 |
| CJY03 | 11 | 5.997 | 0.650 | 0.790 | 0.756 | ns | 0.034 |
| CJY04 | 9 | 5.832 | 0.500 | 0.708 | 0.680 | ** | 0.186 |
| CJY05 | 12 | 6.863 | 0.728 | 0.835 | 0.810 | ns | 0.097 |
| CJY06 | 6 | 4.266 | 0.461 | 0.723 | 0.668 | ** | 0.270 |
| CJY07 | 7 | 4.551 | 0.373 | 0.680 | 0.639 | ** | 0.457 |
| CJY08 | 17 | 8.166 | 0.621 | 0.860 | 0.841 | ** | 0.180 |
| CJY09 | 7 | 4.002 | 0.398 | 0.547 | 0.503 | ns | 0.242 |
| CJY10 | 11 | 6.299 | 0.573 | 0.790 | 0.760 | ns | 0.232 |
| CJY12 | 9 | 5.278 | 0.703 | 0.754 | 0.716 | ns | 0.039 |
| CJY16 | 11 | 7.229 | 0.767 | 0.829 | 0.808 | ns | 0.025 |
| CJY17 | 10 | 6.857 | 0.713 | 0.840 | 0.816 | ns | 0.097 |
| CJY18 | 10 | 6.287 | 0.578 | 0.800 | 0.770 | ** | 0.212 |
| CJY20 | 14 | 6.800 | 0.578 | 0.737 | 0.713 | ns | 0.178 |
| CJY22 | 10 | 7.068 | 0.590 | 0.847 | 0.825 | * | 0.193 |
| Mean±SD | | 6.270±1.430 | 0.590±0.115 | 0.778±0.080 | 0.750±0.100 | ** | 0.173 |

NA, total number of alleles; AR, allelic richness; H_o, observed heterozygosity; H_e, expected heterozygosity; PI, polymorphic information content; HW, deviation from Hardy-Weinberg equilibrium; F_{is}, fixation index within populations; SD, standard deviation. *P<0.05; **P<0.01; ns, not significant.

guinea pigs were included in these studies as an out-group. Our main objective was to compare the genetic diversity of the domestic guinea pig to the overall rearing area of the species. For this reason, we designed a panel of microsatellite markers to examine recent evolutionary events to infer the population structure and the genetic differentiation among different commercial lines and locally recognised guinea pig breeds. In addition, the importance of the guinea pig for the rural economy of several Latin American countries increases the need for molecular tools to further initiatives for their genealogical management and breeding design (Mommens et al., 1998; Tozaki et al., 2001; Bonnet et al., 2002). Despite the diffusion into local communities and the low technological level needed for guinea pig farming, there exists intense commercial activity for these animals. Dinucleotide microsatellites are being used as genetic markers for the identification of population structure, genome mapping, and pedigree analysis and to resolve taxonomic ambiguities in many other animals in addition to the guinea pig (Xu and Liu, 2011; Martinez et al., 2012; Gama et al., 2013; Abdul-Muneer, 2014).

We successfully isolated, by scaffold genome sequencing, 25 microsatellite sequences, of which 16 were selected for the final panel based on their technical quality. All markers proposed here can be easily amplified in multiplex PCR reactions using crude sample lysates. Generally, all of the loci had a very high number of alleles (10.8±3.40), which was higher than the values found by Kanitz et al. (2009) and Kouakou et al. (2015), as well as a high mean allelic range (25bp). Even if only 11 loci out of 20 were in HWE in overall sample, the F index values were very high (0.173). These findings, despite the high number of alleles, can be explained by the small sample number used in this preliminary study, possibly leading to the maximization of heterozygous excess values (Wahlund, 1928), as highlighted also by the HWd/sequilibrium calculated by separated populations that showed a significant value for the sixth population only in the markers Cavy12 and CUY7. These results can be due by the particular mating system based on using inbreeding animals added to the great interchange of males and females in the country markets. The total combined exclusion probability highlighted that the 20 loci are enough to obtain a good efficiency for parentage testing and traceability purposes in this species.

Conclusions

We have identified a set of 16 microsatellite loci for domestic *Cavia porcellus* genetic diver-

sity research, and we have also established their standardised genotype analysis parameters. These markers could potentially resolve parentage and individual assignment cases. The high degree of genetic diversity and poly-

Table 3. Summary statistics for the non-exclusion probability values

| Locus | NE-1P | NE-2P | NE-FP | NE-I | NE-S |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Cavy02 | 0.683 | 0.510 | 0.321 | 0.123 | 0.421 |
| Cavy03 | 0.538 | 0.363 | 0.181 | 0.069 | 0.369 |
| Cavy11 | 0.417 | 0.262 | 0.102 | 0.031 | 0.324 |
| Cavy12 | 0.309 | 0.183 | 0.053 | 0.015 | 0.289 |
| CUY01 | 0.640 | 0.460 | 0.269 | 0.066 | 0.388 |
| CUY02 | 0.677 | 0.502 | 0.313 | 0.119 | 0.417 |
| CUY03 | 0.566 | 0.409 | 0.222 | 0.076 | 0.376 |
| CUY04 | 0.678 | 0.489 | 0.279 | 0.112 | 0.426 |
| CUY05 | 0.502 | 0.332 | 0.155 | 0.049 | 0.347 |
| CUY06 | 0.702 | 0.532 | 0.285 | 0.130 | 0.423 |
| CUY07 | 0.723 | 0.552 | 0.305 | 0.146 | 0.443 |
| CUY08 | 0.440 | 0.281 | 0.113 | 0.035 | 0.331 |
| CUY09 | 0.836 | 0.676 | 0.499 | 0.249 | 0.540 |
| CUY10 | 0.578 | 0.399 | 0.208 | 0.072 | 0.375 |
| CUY12 | 0.643 | 0.462 | 0.271 | 0.097 | 0.389 |
| CUY16 | 0.502 | 0.333 | 0.147 | 0.048 | 0.350 |
| CUY17 | 0.483 | 0.323 | 0.149 | 0.047 | 0.344 |
| CUY18 | 0.565 | 0.399 | 0.202 | 0.068 | 0.369 |
| CUY20 | 0.632 | 0.446 | 0.234 | 0.092 | 0.406 |
| CUY22 | 0.478 | 0.311 | 0.139 | 0.043 | 0.339 |
| FEC | 0.99 | 0.99 | 0.99 | 0.84 | 0.99 |

NE-1P, non-exclusion of one candidate parent; NE-2P, candidate parent given the genotype of a known parent of the opposite sex; NE-FP, candidate parent pair; NE-I, identity of two unrelated individuals; NE-S, identity of two siblings; FEC, combined exclusion probability calculated using the Jamieson formula (Jamieson, 1994).

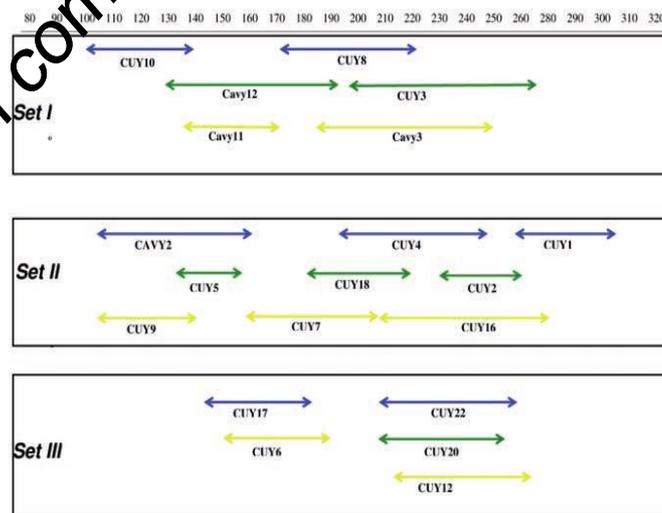


Figure 1. Electrophoresis set up of the twenty *Cavia porcellus* microsatellites based on allelic range and fluorescent dye for ABI D set. Blue=6FAM; Green=HEX; Yellow=ATTO550 (ROX as internal ladder).



morphisms indicate the potential of this microsatellite panel to be employed in future extended studies on the biodiversity of the cavy population. Therefore, genotype analyses with these standardised microsatellite panels will enhance cavy genetic selection by providing individual identification to increase the precision of measured phenotypes and for the construction of pedigrees to support the measurement of genetic estimates of phenotypic variation across generations.

References

- Abdul-Muneer, P.M., 2014. Application of microsatellite markers in conservation genetics and fisheries management: recent advances in population structure analysis and conservation strategies. *Genet. Res. Int.* 2014:691759.
- Asher, M., Lippmann, T., Eppel, J.T., 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.
- Bonnet, A., Thevenon, S., Maudet, F., Maillard, J.C., 2002. Efficiency of semi-automated fluorescent multiplex PCRs with 11 microsatellite markers for genetic studies of deer populations. *Anim. Genet.* 33:343-350.
- Broad Institute, 2015. Guinea pig genome project. Available from: <http://www.broadinstitute.org/science/projects/mammals-models/guinea-pig/guinea-pig>
- Burgos-Paz, W., Ceron-Munoz, M., Sante-Portilla, C., 2011. Genetic diversity and population structure of the Guinea pig (*Cavia porcellus*, Rodentia, Caviidae) in Colombia. *Genet. Mol. Biol.* 34:711-718.
- DAD-IS, 2014. DAD-IS domestic animal diversity information system. Available from: <http://dad.fao.org/cgi-bin/EfabisWeb.cgi?sid=d856f41036885944dea1b5f0c1525bab/reports>
- Dunnum, J.L., Salazar-Bravo, J., 2010. Molecular systematics, taxonomy and biogeography of the genus *Cavia* (Rodentia: Caviidae). *J. Zool. Syst. Evol. Res.* 48:376-388.
- Excoffier, L., Lischer, H.E., 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Res.* 10:564-567.
- Gama, L.T., Martinez, A.M., Cardino, I., Landi, V., Delgado, J.V., Vicente, A.A., Vega-Pla, J.L., Cortes, O., Sousa, C.O., 2013. Genetic structure, relationships and admixture with wild relatives in native pig breeds from Iberia and its islands. *Genet. Sel. Evol.* 45:18.
- Guerrini, A., 2003. Experimenting with humans and animals: from Galen to animal rights. Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD, USA.
- Jamieson, A., 1994. The effectiveness of using co-dominant polymorphic allelic series for (1) checking pedigrees and (2) distinguishing full-sib pair members. *Anim. Genet.* 25:37-44.
- Kalinowski, S.T., Taper, M.L., Marshall, C.L., 2007. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol. Ecol.* 16:1099-1106.
- Kanitz, R., Trillmich, F., Enjalbal, S., 2009. Characterization of new microsatellite loci for the South American rodents *Cavia aperea* and *C. magna*. *Conserv. Genet. Resour.* 10:303.
- Kouakou, P., Skilton, R., Apollinaire, D., Awahe, F., Beatrixe, G., Clément, A.S., 2013. Genetic diversity and population structure of cavy (*Cavia porcellus* L.) in three agro ecological zones of Côte d'Ivoire. *Int. J. Agron. Agr. Res.* 6:27-35.
- Maass, B.L., Jammadass, R.H., Hanson, J., Pengelly, B.C., 2005. Determining sources of diversity in cultivated and wild *Lablab purpureus* related to provenance of germplasm by using amplified fragment length polymorphism. *Genet. Resour. Crop. Ev.* 52:683.
- Maass, B.L., Katunga-Musale, D., Chiuri, W.L., Zozo, R., Peters, M., 2010. Livelihoods of smallholders in South Kivu depend on small livestock: the case of the 'ocobaye'. Available from: www.tropentag.de/2010/abstracts/full/491.pdf
- Manjeli, Y., Tchoumboue, J., Njwe, R.M., Tegui, A., 1998. Guinea-pig productivity under traditional management. *Trop. Anim. Health Pro.* 30:115-122.
- Martinez, A.M., Gama, L.T., Canon, J., Ginja, C., Delgado, J.V., Dunner, S., Landi, V., Martin-Burriel, I., Penedo, M.C., Rodellar, C., Vega-Pla, J.L., Acosta, A., Alvarez, L.A., Camacho, E., Cortes, O., Marques, J.R., Martinez, R., Martinez, R.D., Melucci, L., Martinez-Velazquez, G., Munoz, J.E., Postiglioni, A., Quiroz, J., Sponenberg, P., Uffo, O., Villalobos, A., Zambrano, D., Zaragoza, P., 2012. Genetic footprints of Iberian cattle in America 500 years after the arrival of Columbus. *PLoS One* 7:e49066.
- Matthiesen, T., Nyamete, F., Msuya, J.M., Maass, B.L., 2011. Importance of guinea pig husbandry for the livelihood of rural people in Tanzania: a case study in Iringa region. Available from: http://www.tropentag.de/2011/abstracts/links/Matthiesen_IIDof2DY.pdf
- Mommens, G., Van Zeveren, A., Peelman, L.J., 1998. Effectiveness of bovine microsatellites in resolving paternity cases in American bison, *Bison bison* L. *Anim. Genet.* 29:12-18.
- Morales, E., 1995. The guinea pig: healing, food, and ritual in the Andes. University of Arizona Press, Tucson, AZ, USA.
- Park, S.D.E., 2001. Trypanotolerance in west african cattle and the population genetics effects of selection. University of Dublin, Dublin, Ireland.
- Rozen, S., Skaletsky, H.J., 2000. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. *Methods Mol. Biol.* 2000:365-386.
- Tozaki, T., Kakoi, H., Mashima, S., Hirota, K., Hasegawa, T., Ishida, N., Miura, N., Choi-Miura, N.H., Tomita, M., 2001. Population study and validation of paternity testing for Thoroughbred horses by 15 microsatellite loci. *J. Vet. Med. Sci.* 63:1191-1197.
- Wahlund, S., 1928. Zusammensetzung von Population und Korrelationserscheinung vom Standpunkt der Vererbungslehre aus betrachtet. *Hereditas* 11:65-106.
- Xu, Q., Liu, R., 2011. Development and characterization of microsatellite markers for genetic analysis of the swimming crab, *Portunus trituberculatus*. *Biochem. Genet.* 49:202-212.

APPENDIX

Appendix Table 1. Total primers pair designed in available scaffold sequence of *Cavia porcellus*

| Origin sequence description | Accession number | Repeat motive ^a | Amplicon length | Forward oligo | Reverse oligo |
|---|------------------|----------------------------|-----------------|--------------------|---------------------|
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-497P15, complete sequence | AC1717393 | GT (18) | 273 | dttcaggaaataggatoc | gragttggatcacagga |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-9K24, complete sequence | AC1734603 | CA (22) | 238 | caagtgacacaaatttcg | tgttgtgagtggtgttt |
| <i>Cavia porcellus</i> done <i>Cavia porcellus</i> 2482255J7, complete sequence | AC165213 | GT (18) | 228 | gaaagcaattcaaccga | gagctgcaagcaaac |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-14J14, complete sequence | AC1752083 | GT (22) | 223 | tcatctcgttcagatttg | aatggcagggataggatt |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-497P15, complete sequence | AC1717393 | CA (20) | 156 | ggcaagagagagagctca | taggaaagattgctgtg |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-9K24, complete sequence | AC1734603 | CA (18) | 162 | tgggtgtttctdcttgg | dggctcagatgattt |
| <i>Cavia porcellus</i> done B64 microsatellite sequence | GLD54421 | CA (18) | 187 | gatgagtagaggggca | tgggttttggtgggg |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-402D11, complete sequence | AC1752813 | TG (21) | 190 | tgatgacatgagaggg | caaggtctctgtgttg |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-334C9, complete sequence | AC1819883 | GT (18) | 120 | gtggatgaaagcaagc | tggatttcagtgctggt |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-9K24, complete sequence | AC1734603 | GT (21) | 117 | ttcaagratccagaaaca | tgcattcccaagga |
| <i>Cavia porcellus</i> done C15 microsatellite sequence | GLD54401 | TG (20) | 156 | aaatgctcaatgggatg | gtagtgattatcggctg |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-3AN9, complete sequence | AC1746093 | AG (28) | 242 | gcaatgcaaacatcaca | tctctctctctctctctc |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-3AN9, complete sequence | AC1746093 | AG (24) | 273 | gcaatgcaaacatcaca | gggttaagaaatgctg |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-36E16, complete sequence | AC2166063 | CA (22) | 250 | ttcaagagacaaagca | gggttaagaaatgctg |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-14J14, complete sequence | AC1752083 | AG (25) | 153 | aaagtgttgatggagga | tctctctctctctctctc |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-14J14, complete sequence | AC1752083 | AT (25) | 248 | tttggcagagcagaca | gactgtttgaaatgattac |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-33F4, complete sequence | AC1746243 | TG (19) | 153 | tgtggcaatcatcgggac | tagatgtagagaaatca |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-33F4, complete sequence | AC1746243 | CA (21) | 210 | tgcattctcactcaca | tccaaactctgttgtt |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-261L8, complete sequence | AC1819873 | TG (22) | 196 | tccaaggtggatctc | tggcaattgctcactg |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-261L8, complete sequence | AC1819873 | AT (22) | 231 | tcttggaaatggatcttt | tggctcagggatcaat |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-176E17, complete sequence | AC1713683 | TG (22) | 262 | atdttctgcaatctctc | tgggcaacaatgaa |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-48713, complete sequence | AC1711423 | TG (21) | 248 | cgaaatgcaagagatta | acacagttctcagca |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-48713, complete sequence | AC1711423 | CA (21) | 195 | gaaatgcaatctctg | aagtgtttggggattt |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-176E17, complete sequence | AC1713683 | CA (27) | 222 | tgtgagatcttggaa | caacagggaaatgctgg |
| <i>Cavia porcellus</i> done G-1234-497P15, complete sequence | AC1717393 | CA (23) | 108 | aaatgctcaatgggatg | tttatggacagagggg |

^aRepeat sequence length in National Center for Biotechnology Information sequence.

Appendix Table 2. Hardy Weinberg disequilibrium χ^2 value significance for each population.

| | Andean line | Inti line | Peru line | Commercial line | Peru | Bolivia | Colombia | Spain |
|-------|-------------|-----------|-----------|-----------------|------|---------|----------|-------|
| CAV02 | | | | | | | | |
| CAV03 | | | | | | | * | |
| CAV11 | | | | | | ** | | |
| CAV12 | ** | | ** | ** | ** | ** | ** | |
| CJY01 | | | | | | | | |
| CJY02 | | | | * | | ** | * | ** |
| CJY03 | | | | | | ** | | |
| CJY04 | | | | * | | | | |
| CJY05 | | | | | | | | |
| CJY06 | | | | ** | | * | | |
| CJY07 | * | * | * | | ** | ** | | |
| CJY08 | | | | * | | | ** | ** |
| CJY09 | | * | | | | | | |
| CJY10 | | | | ** | | ** | ** | |
| CJY12 | | | | | | | | |
| CJY16 | | | | | | | | |
| CJY17 | * | | | | | * | ** | |
| CJY18 | | | | | | | | |
| CJY20 | | | | | | | | |
| CJY22 | | | | | | | | |

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

El cuy (*Cavia porcellus*): un recurso andino de interés agroalimentario

The guinea pig (*Cavia porcellus*): An Andean resource of interest as an agricultural food source

D.F. Avilés¹, A.M. Martínez², V. Landi² y J.V. Delgado²

¹Universidad Técnica de Ambato, Ecuador; ²Departamento de Genética, Universidad de Córdoba, Campus Universitario de Rabanales, 14071 Córdoba, España.

Resumen

El cuy es un mamífero roedor originario de la Cordillera de los Andes de Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia, donde ha mantenido una estrecha relación con el pueblo preincaico, ya sea como fuente de alimento alto en proteína y bajo en grasa o como animal asociado a tradiciones que se mantienen hasta la actualidad. La crianza del cuy se ha realizado de forma tradicional en pequeños espacios en las cocinas cerca de los fogones de la población rural de escasos recursos desde épocas ancestrales. Debido a la necesidad de buscar ingresos económicos para las familias campesinas, se ha introducido el sistema de producción comercial y con él, líneas/razas mejoradas que se han propagado en toda la Región Andina, absorbiendo casi por completo al cuy autóctono. Por otra parte, desde el siglo XVI de América el cuy ha tomado popularidad alrededor del mundo como animal de compañía, exhibición y experimentación. En el presente trabajo se realiza una revisión bibliográfica para recopilar y divulgar los principales aspectos que rodean al cuy y la población andina y de esta manera crear conciencia en la importancia de conservar los recursos zoogenéticos locales y como punto de partida para futuras investigaciones.

Palabras clave: recursos zoogenéticos, conservación, carne, sistemas de producción, Latinoamérica

Summary

The guinea pig is a rodent mammal native to Colombia, Ecuador, Peru and Bolivia in the Andes, where it has always had a close relationship with the pre-Inca people, either as a food source, high in protein and low in fat or as an animal associated with traditions maintained to the present day. Since ancient times, guinea pig breeding has traditionally been carried out in small spaces inside the kitchens of rural farming families, near the stove. To meet rural households' need for income, a commercial production system has been established and has introduced improved strains/breeds which have spread throughout the Andean region, almost completely absorbing the native guinea pig. On the other hand, since the sixteenth century the guinea pig has gained in popularity around the world as a pet, for exhibition purposes, or as a laboratory animal. In this paper, a literature review has been undertaken to compile and disclose the main issues concerning the guinea pig and the Andean population, with the aim of creating awareness of the importance of conserving local genetic resources and providing a starting point for future research.

Keywords: zoogenetic resources, conservation, guinea pig meat, production systems, Latin America

Résumé

Le cochon d'Inde est un mammifère rongeur originaire des Andes de la Colombie, l'Équateur, le Pérou et la Bolivie, où il a maintenu un lien étroit avec le peuple pré-incaïque, soit comme source d'une alimentation riche en protéines et pauvre en graisse ou comme animal lié à des traditions qui se conservent jusqu'à nos jours. Depuis les temps anciens, l'élevage du cochon d'Inde a été pratiqué dans des petits espaces de la cuisine, près des fourneaux, par une population rurale à ressources limitées. Dans le but d'accroître les revenus des familles paysannes, un système de production commerciale a été introduit et avec celui-ci des lignées/raças améliorées qui se sont répandues dans toute la Région Andine jusqu'à presque absorber entièrement le cochon d'Inde autochtone. Par ailleurs, le cochon d'Inde est devenu populaire partout dans le Monde comme animal de compagnie, d'exhibition et d'expérimentation. Ce travail consiste en une revue de la littérature ayant pour but de compiler et de vulgariser les principaux aspects relatifs au cochon d'Inde et à la population andine pour ainsi sensibiliser à l'importance de conserver les ressources zoogénétiques locales et pour servir de point de départ à des recherches futures.

Mots-clés: ressources zoogénétiques, conservation, viande, systèmes de production, Amérique Latine

Presentado: 6 Enero 2014; aceptado: 8 Septiembre 2014

Introducción

La primera evidencia arqueológica de la existencia del cuy (*Cavia porcellus*) fue encontrada en Perú y Colombia hace 9000 años, y el animal ha sido domesticado aproximadamente hace 4500–7000 años (Wing, 1986). Esta especie de roedor doméstico de la familia *Caviidae*, fue descrita por primera vez por Konrad von Gesner en 1554. El cuy se encuentra disperso en Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y una minoría en Guatemala y Cuba (Figura 1), donde son utilizados en la alimentación de la especie humana y proporcionan importantes ingresos económicos a las familias rurales por la venta de sus excedentes en el mercado local. En el Perú durante el año 2001 y el primer semestre del 2007 las exportaciones de carne congelada de cuy alcanzaron un valor acumulado de 306.864 dólares estadounidenses, monto muy importante entendiendo que provienen de un nuevo rubro de exportaciones de productos no tradicionales, lo cual motiva a los productores a ser más competitivos (Gil, 2007). En los países andinos la mujer campesina es responsable de las tareas domésticas pero, al mismo tiempo, realiza un sinnúmero de actividades productivas en el campo. La crianza y el manejo del cuy es su dominio exclusivo (Archetti et al., 1984).

La carne de cuy es un alimento de alto valor nutricional, que contribuye a la seguridad alimentaria rural y urbana, y que hoy en día es uno de los platos más exquisitos y apetecidos en diversos lugares del mundo (Figura 2) (Sánchez, 2004).

En los países Andinos existe una población más o menos estable de 35 millones de cuyes (Chauca, 1997). La



Figura 1. Ubicación geográfica del consumo de carne de cuy.



Figura 2. Canales de cuy deshuesado. (Fuente: Chauca, 2007: 227.)

mayor producción de esta especie se encuentra en el Perú, con 12.695.030 cuyes (INEI, 2012); en segundo lugar, el Ecuador, con 5.067.049 cuyes (INEC, 2002); Colombia en el tercer lugar, con 1.292.244 cuyes (ENA, 2007); y finalmente Bolivia, con 650.000 cuyes (MACA, 2004). El cuy gracias a su capacidad de roer es usado en el área agrícola para limpiar la cáscara blanda el fruto del Nogal de los Andes o ‘tocte’; también en esta área se usa su estiércol incorporándolo al suelo como abono orgánico. En los países andinos el cuy está integrado profundamente en las tradiciones y los rituales, ya que se le atribuye poderes curativos para todo tipo de enfermedades.

Desde el siglo XVI, el cuy ha tomado popularidad alrededor de mundo como animal de exhibición, como una afectuosa mascota y como animal de experimentación. El propósito de esta revisión es recopilar y difundir información relevante sobre los estrechos lazos de esta especie con el pueblo andino en diferentes aspectos como: sistemas de producción, calidad de la carne, y usos en distintas áreas; y de esta manera valorar la importancia de conservar los recursos zoogenéticos locales e incorporar programas de conservación de los recursos zoogenéticos tan apreciados en la actualidad (FAO, 2009) (Figura 3).

Sistemas de producción

La producción de cuyes en general es una actividad ancestral rural de los Andes, aunque también se puede encontrar algunas explotaciones en la región costa y la amazonia, en donde predomina el sistema familiar-tradicional de producción de carne con bajas producciones destinadas al autoconsumo del cuy en ocasiones festivas como bautizos, grados, bodas, etc. (Usca, 1998). Las explotaciones tradicionales tienen índices productivos inferiores a 0,2; el promedio de crias por hembra al año es de 5,5. Los sistemas comerciales permiten lograr un índice productivo de 1 y un promedio de crias por hembra al año de 10,8 (FAO, s.f.). Estos índices se calculan relacionando la producción con los recursos empleados para obtener dicha producción, por ejemplo gazapos destetados por cuya y año.



Figura 3. Cuyes autóctonos del Ecuador.

Sistema familiar-tradicional

Es la más difundida en la región andina. Se caracteriza por desarrollarse sobre la base de insumos y mano de obra disponibles en el hogar. El cuidado de los animales lo realizan los hijos en edad escolar (10%), las amas de casa (73%) y los esposos (9%) (Zaldívar, 1990). La crianza tradicional se hace en las cocinas de las casas con un número promedio de 25 animales, compartiendo un mismo espacio, ya que el fuego y el humo ayudan a mantener una temperatura cálida y libre de insectos (Figura 4). En algunas comunidades indígenas aún se conserva la tradición de criar sus cuyes y conejos bajo las camas de los dueños. Debido a este particular sistema de producción, el proceso reproductivo no está controlado, y existen baja fertilidad y consanguinidad elevada; por otro lado, la alimentación de los animales es poco sistemática, y el control de enfermedades es esporádico y tardío, lo que provoca el 38% de mortalidad (Archetti *et al.*, 1984).

Dentro de la población campesina, es tradición en Ecuador regalar una pareja de cuyes a los recién casados. En la mayoría de los casos la mujer es la que asume la crianza de los cuyes, inclusive mucho antes de la invasión española; por ello, culturalmente la mujer tiene un conocimiento complejo que cubre casi todas las variables que entran en el proceso productivo. Otro aspecto que rodea



Figura 4. Cría de cuyes dentro de la cocina.



Figura 5. Sobada del cuy a un enfermo. Oleo de Pedro Anhuaman.

a este sistema es la ‘sobada del cuy’, practicada por los sobadores ‘chamanes’; es simple pero está saturada de significados sociales y simbólicos (Figura 5). El sobador pide, por lo general, un cuy que viva con la familia del paciente. El tamaño y el color del animal varían de acuerdo con el tipo de paciente y con la práctica del sobador. El animal muere durante la ceremonia al ser frotado intensamente en el cuerpo del paciente. Luego de su muerte, el sobador observa los órganos del animal con el objetivo de encontrar la enfermedad que aqueja al cliente. La hipótesis que guía esta búsqueda es que el cuy ‘absorbe’ la enfermedad y permite de esta manera su identificación. Para muchos campesinos y sobadores esta ‘absorción’ es posible sólo si el cuy ha tenido una relación muy próxima con el enfermo (Barahona, 1982).

Sistema comercial

En la década de los 80, se inicia la crianza comercial a pequeña escala, donde se mejora y controla el manejo caviícola, ya que no se cría dentro de las casa, sino que se han construido galpones con pozas o jaulas y se clasifican los cuyes por tamaño y sexo; la alimentación ya no se realiza con sobras de la comida de las familias y pastos fibrosos, han pasado a recibir forraje y pienso de buena calidad (Archetti *et al.*, 1984). En cuanto a la genética de los cuyes andinos, ha ido cambiando por la introducción de la línea comercial Perú, y posteriormente otras dos líneas (Inti y Andina), que se venían desarrollando en el Instituto Nacional de Investigaciones Agraria

Tabla 1. Valor nutricional de la carne de cuy comparada con otras especies cárnicas.

| Especie animal | Humedad % | Proteína % | Grasa % | Minerales % | Carbohidratos % |
|----------------|-----------|------------|---------|-------------|-----------------|
| Cuy | 76.3 | 21.4 | 3.0 | 0.8 | 0.5 |
| Ave | 70.2 | 18.3 | 9.3 | 1.0 | 1.2 |
| Vacuno | 58.0 | 17.5 | 21.8 | 1.0 | 0.7 |
| Ovino | 50.6 | 16.4 | 31.1 | 1.0 | 0.9 |
| Porcino | 46.8 | 14.5 | 37.3 | 0.7 | 0.8 |

Fuente: Zumárraga, 2011.

(INIA) del Perú (Chauca, 2007: 227). Esto ha ocasionado que los cuyes comerciales absorbieran la genética autóctona de muchas comunidades que criaban cuyes mal denominados ‘criollos’, ya que ofrecían un animal para consumo 500 g más grande que el que se acostumbraba a criar tradicionalmente. Sin embargo, todavía se pueden encontrar animales nativos que se conservan en zonas rurales gracias a las tradiciones.

Propiedades nutritivas de la carne de cuy

Como alimento, la carne de cuy es saludable, altamente digestible y una valiosa fuente de proteínas, superior a otros productos cárnicos (Tabla 1). Es baja en contenidos de colesterol (65 mg/100 g) y sodio, y contiene vitaminas especialmente del complejo B (15 mg/100 g) (Crespo, 2012). Además hay la presencia de ácidos grasos linoleico y linolénico, esenciales para el ser humano; cabe resaltar que el nivel de dichos ácidos grasos es bajísimo o casi inexistente en otras carnes, y son precursores de la conformación del ácido graso araquidónico (AA) y ácido graso docosahexaenoico (DHA). Estas sustancias AA y DHA son vitales para el desarrollo de las neuronas (especialmente cerebrales) y membranas celulares (protección contra agentes externos), y forman el cuerpo de los espermatozoides; además están especialmente recomendados para mujeres embarazadas y niños (Zoetecnocampo, s.f.). El rendimiento promedio en carne de cuyes enteros es de 65%. El 35% restante involucra las vísceras (26,5%), pelos (5,5%) y sangre (3,0%) (FAO, 2000).

Otros usos

Desde el siglo XVI el cuy se ha convertido en una popular mascota alrededor del mundo, hasta formar asociaciones para realizar exhibiciones muy competitivas como: la American Cavy Breeders Association en los Estados Unidos y Canadá; el British Cavy Council en el Reino Unido; asociaciones en Australia (Australian National Cavy Council) y Nueva Zelanda (New Zealand Cavy Club). Cada club publica su propia norma de juzgamiento (Figura 6).

En España, específicamente en las Islas Canarias, se obtuvo información de forma oral que los cuyes,



Figura 6. Cuyes de exhibición.

denominados en este lugar ‘cobayas’, eran usados como animales de protección para gallinas, en contra de las ratas en los establos.

El cuy como animal de experimentación, es utilizado en la empresa farmacéutica en pruebas de valoración de tintes para el cabello, ya que su pelo posee características estructurales similares a las del ser humano. En la investigación, en varios países se está utilizando la sangre de cuy para el tratamiento de algunas clases de tumores o neoplasias, ya que ésta presenta una enzima que han denominado como alfa asparaginasa.



Figura 7. Nopal de los Andes. (Fuente: <http://dioskonv.bionuss.eu/04-06/1.htm>)

Tabla 2. Cantidad, calidad y valor del estiércol de cuy comparado con otras especies.

| Especie | Tonelads/año | N Kg/t | N Kg. por año | Valor del estiércol en función del N Producido USD (2007) |
|---------|--------------|--------|---------------|---|
| Cerdo | 35.55 | 04.50 | 159.55 | 92.53 |
| Cuy | 29.02 | 15.08 | 437.62 | 253.81 |
| Vaca | 26.66 | 05.04 | 134.36 | 77.92 |
| Caballo | 17.77 | 06.20 | 110.17 | 63.89 |
| Oveja | 13.33 | 12.60 | 167.96 | 97.41 |
| Gallino | 10.00 | 14.20 | 142.00 | 82.36 |

Nota: N (Nitrogeno)

Fuente: Aliaga *et al.*, 2009.

En el área agrícola, los campesinos de la Sierra ecuatoriana durante los meses de julio, agosto y septiembre cosechan el fruto del Nogal de los Andes (*Juglans neotropica*), conocido como 'tocte' (Figura 7), cuyos frutos son colocados en el cuyero para que los cuyes roan su cáscara blanda, dejando el fruto con su cáscara dura y limpia para comercializarlo (Pazmiño, 2005). Además la producción de estiércol del cuy es la más alta en cantidad y calidad en comparación a otras especies (Tabla 2), cuya incorporación al suelo mejora la textura y la proliferación de microorganismos, lo cual permite un cultivo limpio, libre de agroquímicos y residuos nocivos para la salud humana (Aliaga *et al.*, 2009: 484).

Conclusión

El cuy gira en torno a las tradiciones ancestrales de los pueblos andinos. Debemos consolidar la importancia de conservar las características autóctonas de estos animales para sus distintos usos como hemos visto en este artículo, mediante la identificación y caracterización de los cuyes autóctonos de los Andes, para así mejorar los diferentes sistemas de producción existentes con cuyes de mejor calidad cárnica, aprovechando su rusticidad y resistencia a enfermedades, características invaluable de los animales autóctonos.

Referencias

- Aliaga, L., Moncayo, R., Rico, E. & Caycedo, A. 2009. Producción de cuyes. Fondo Editorial de la Universidad Católica Sedes Sapientiae, Lima, Perú.
- Archetti, E.P. *et al.*, 1984. Análisis de la producción, formas de consumo, comercialización y simbología del cuy en ocho comunidades de la Sierra ecuatoriana. CEPLAES, Quito, Ecuador.
- Barahona, C. 1982. 'La soba del cuy'. En: José Sánchez Parga *et al.*, *Política de salud en la Comunidad Andina*, CAAP Editores, Quito.

Chauca, L.J. 1997. Producción de cuyes (*Cavia porcellus*). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO], Roma.

Chauca, L.J. 2007. Realidad y perspectiva de la crianza de cuyes en los países andinos. XX Reunión ALPA, XXX Reunión APPA-Cusco-Perú. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 15, supl. 1: 223–228.

Crespo, N.J. 2012. La carne de cuy: nuevas propuestas para su uso. Cuenca. Disponible en: <http://dspace.uuenca.edu.ec/bitstream/123456789/1563/1/tgas26.pdf>.

ENA. 2007. Oferta agropecuaria, ENA – cifras 2007. Encuesta Nacional Agropecuaria, Bogotá, Colombia. Disponible en: http://www.agronet.gov.co/www/htm3b/public/ENA/ENA_2007.pdf.

FAO. 2000. Mejorando la nutrición a través de huertos y granjas familiares: Manual de capacitación para trabajadores de campo en América Latina y el Caribe. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/v5290s/v5290s00.htm#TopOfPage>.

FAO. 2009. Preparación de las estrategias nacionales y los planes de acción sobre los recursos zoogenéticos. Directrices FAO: Producción y sanidad animal. No. 2. Roma. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/012/i0770s/i0770s.pdf>.

FAO. s.f. Revista mundial de zootecnia. Producción de cuyes (*Cavia porcellus*) en los países andinos. En: Cría de especies no tradicionales: una actividad en pleno auge. Roma. Disponible en: [http://www.fao.org/docrep/v6200t/v6200T05.htm#producci%F3n%20de%20cuyes%20\(cavia%20porcellus\)%20en%20los%20pa%EDses%20andinos](http://www.fao.org/docrep/v6200t/v6200T05.htm#producci%F3n%20de%20cuyes%20(cavia%20porcellus)%20en%20los%20pa%EDses%20andinos).

Gil, V. 2007. Importancia del cuy y su competitividad en el mercado. XX Reunión ALPA, XXX Reunión APPA-Cusco-Perú. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 15, supl. 1: 216–217.

INEC, 2002. III Censo Agropecuario. Ecuador. Disponible en: <http://www.nec.gov.ec>.

INEI, 2012. Censo Agropecuario–CENAGRO. Lima, Perú. Disponible en: <http://www.inei.gob.pe>.

MACA, 2004. Situación de los recursos zoogenéticos en Bolivia. La Paz, Bolivia. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1250c/annexes/CountryReports/Bolivia.pdf>.

Pazmiño, D. 2005. Diferentes niveles de cáscara de maracuyá como sub-producto no tradicional en la alimentación de cuyes. Consorcio de Bibliotecas Universitarias del Ecuador.

Sánchez, C. 2004. Hidroponía paso a paso – Cultivo sin tierra. Edit. Ediciones Ripalme, Lima, Perú.

Usca, J. 1998. Producción de cuyes. Riobamba, Ecuador.

Wing, E.S. 1986. Domestication of Andean mammals. En: F. Vuilleumier & M. Monasterio, eds., *High altitude tropical biogeography*, pp. 246–264. Oxford University Press y American Museum of Natural History, Oxford.

Zaldívar, M.A. 1991. Informe final Proyecto Sistemas de producción de cuyes en el Perú. Fase 1. INIA-CiiD, Lima, Perú.

Zoetecnocampo, s.f. Propone ley que declara al cuy (*Cavia porcellus*) especie nativa del Perú, y patrimonio natural de la nación, promoviendo su producción y consumo. Disponible en http://www.zoetecnocampo.com/Documentos/cuyes/ley_cuy.htm.

Zumárraga, S. 2011. Innovaciones gastronómicas del cuy en la provincia de Imbabura. Tesis. Universidad Técnica del Norte, Ibarra, Ecuador. Disponible en: <http://repositorio.utm.edu.ec/bitstream/123456789/1139/2/06%20GAS%20014%20TESIS.pdf>.