

**Universidad Mayor de San Andrés**  
**Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas**  
**Maestría en Ciencias Biológicas y Biomédicas**



**Diversidad genética y estructura poblacional de  
vicuñas (*Vicugna vicugna*) en Bolivia**

**Elaborado por: Ana María Callisaya Ramos**

**Tutor: Volga Iñiguez Rojas Ph. D.**

**Co-tutor: Julia Barreta Pinto Ph. D.**

Tesis de grado para optar al grado de Magister Scientiarum en  
Ciencias Biológicas y Biomédicas

**La Paz, 2015**



## RESUMEN

En este trabajo se analiza la diversidad genética y estructura poblacional de vicuñas (*Vicugna vicugna*) procedentes de 24 puntos de muestreo, agrupados en 6 regiones de los departamentos de La Paz, Oruro y Potosí. Las muestras que incluyen 219 individuos de *Vicugna vicugna mensalis* y 52 de *Vicugna vicugna vicugna* (N=271) fueron extraídas y amplificadas para 25 loci microsatélites. Los loci más polimórficos encontrados fueron los siguientes: LCA56, YWLL44, LCA66, VOLP1, LCA5, YWLL36, LCA65 y YWLL8. En el total de la población se encontraron 208 alelos (A), entre 3 a 26 alelos por locus (NMA=10.4), 43 alelos privados (PA). La heterocigosidad observada ( $H_o$ ) fue de 0.580. La población de *V.v.vicugna* ( $H_o=0.598$ ) fue más diversa que *V.v.mensalis* ( $H_o=0.575$ ). Las poblaciones de Potosí-Villazón (*V.v.vicugna*) y Potosí-Tomave (*V.v.mensalis*) fueron las que aportaron en mayor grado a la diversidad genética de la especie. Por otro lado las vicuñas del ANMIN-Apolobamba resultaron ser las menos diversas. La población Potosí-Tomave se ubica en una posición intermedia entre las poblaciones del norte y del sur, cercana al punto de contacto entre ambas subespecies, y presenta alelos compartidos tanto con *V.v.mensalis*, pero también en menor grado con *V.v.vicugna*. El análisis de varianza molecular (AMOVA) comprobó la diferenciación genética a nivel nuclear entre poblaciones de las subespecies *V.v.mensalis* y *V.v.vicugna* ( $F_{ST}=0.24$ ). Asimismo los resultados indicaron una diferenciación genética importante ( $F_{ST}=0.15$ ) entre las seis poblaciones evaluadas, observándose sin embargo mayor conectividad por un lado entre las poblaciones de La Paz-ANMIN-Apolobamba y Oruro-Sajama ( $F_{ST}=0.003$ ), y por el otro entre Oruro-Toledo y Potosí-Tomave ( $F_{ST}=0.04$ ). Por el contrario se observó mayor diferenciación entre las poblaciones de La Paz-ANMIN-Apolobamba y Potosí-Villazón ( $F_{ST}=0.24$ ). El análisis sub-poblacional del ANMIN-Apolobamba mostró bajos niveles de subestructuración démica ( $F_{ST}=0.01$ ) y flujo genético elevado ( $Nm=6.93-110.35$ ), suficientes para considerarlas como una sola población. Los datos reportados en este trabajo deberán confirmarse empleando un mayor tamaño poblacional, principalmente de poblaciones de *V.v.vicugna*, y cubriendo más puntos dentro del rango de distribución de la especie para ser usados en un futuro como referencia para el monitoreo genético poblacional, para la estructuración de unidades de manejo y para la valoración del impacto de su aprovechamiento actual.

# ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	12
1.1. Taxonomía	13
1.2. Distribución poblacional, hábitat y estructura social	15
1.3. Manejo, conservación, aprovechamiento y uso sostenible	20
1.4. Estudios genéticos en vicuñas	26
1.4.1. Análisis genético de vicuñas a nivel de subespecies	27
1.4.2. Análisis genético de poblaciones de vicuñas	29
2. OBJETIVOS	33
2.1. Objetivo general	33
2.2. Objetivos específicos	33
3. MATERIALES Y MÉTODOS	34
3.1. Área de estudio	34
3.1.1. Descripción general de datos censales de las poblaciones de estudio	35
3.1.2. Descripción general del área de estudio	37
3.2. Toma de muestras	37
3.3. Extracción de material genético	39
3.4. Amplificación de ADN por PCR-múltiple y simple para 25 loci microsatélites	39
3.5. Electroforesis en geles de poliacrilamida (PAGE)	41
3.6. Lectura de alelos y asignación de genotipos	41
3.7. Análisis de datos	41
4. RESULTADOS	45
4.1. Análisis poblacional de vicuñas del Altiplano boliviano	45
4.1.1. Diversidad genética	45
4.1.1.1. Análisis por locus microsatélite	45
4.1.1.2. Análisis a nivel de poblaciones	46
4.1.1.2.1. Alelos privados por población	46
4.1.1.2.2. Heterocigosidad e Índice de consanguinidad	46
4.1.1.2.3. Distribución de la diversidad genética	47
4.1.1.2.4. Cuello de botella	51
4.1.1.3. Análisis a nivel de subespecies	51
4.1.1.3.1. Heterocigosidad e Índice de consanguinidad	52
4.1.1.3.2. Distribución de la diversidad genética	52
4.1.2. Estructura genética y diferenciación poblacional	52
4.1.2.1. Análisis a nivel de poblaciones	52
4.1.2.1.1. $F_{ST}$	52
4.1.2.1.2. Número de migrantes por generación	53
4.1.2.1.3. Análisis de varianza molecular	53
4.1.2.1.4. Análisis factorial de correspondencia	54

4.1.2.1.5. Distancia genética y dendrograma	55
4.1.2.1.6. Análisis de agrupamiento bayesiano	56
4.1.2.2. Análisis a nivel de subespecies	56
4.1.2.2.1. $F_{ST}$ y Número de migrantes por generación	56
4.1.2.2.2. Análisis de varianza molecular	57
4.1.2.2.3. Análisis factorial de correspondencia	57
4.1.2.2.4. Distancia genética y dendrograma	57
4.1.2.2.5. Análisis de agrupamiento bayesiano	57
4.2. Análisis poblacional de <i>V.v.mensalis</i>	59
4.2.1. Diversidad genética	59
4.2.2. Estructura genética y diferenciación poblacional	61
4.3. Análisis sub-poblacional de vicuñas del norte de La Paz (Región ANMIN-Apolobamba)	63
4.3.1. Diversidad genética	63
4.3.2. Estructura genética y diferenciación sub-poblacional	66
5. DISCUSIÓN	69
5.1. Diversidad genética	69
5.2. Estructura poblacional	73
5.3. Implicaciones taxonómicas, de conservación y de gestión	75
6. CONCLUSIONES	78
7. RECOMENDACIONES	79
8. BIBLIOGRAFIA	80

# ÍNDICE DE TABLAS

<b>TABLA 1.1.</b>	Diferencias morfológicas entre <i>Vicugna vicugna mensalis</i> (subespecie norteña) y <i>Vicugna vicugna vicugna</i> (subespecie sureña).	14
<b>TABLA 1.2.</b>	Número de vicuñas por departamento, Área Protegida y superficie de distribución total, indicando subcoregión habitada y subespecie.	18
<b>TABLA 1.3.</b>	Características del manejo de vicuñas en diferentes países.	23
<b>TABLA 1.4.</b>	Análisis comparativo del manejo en cautiverio y en silvestría para vicuñas.	25
<b>TABLA 3.1.</b>	Ubicación geográfica de los 24 puntos de muestreo considerados en el análisis.	35
<b>TABLA 3.2.</b>	Características generales de las poblaciones de vicuñas del Altiplano boliviano consideradas en el análisis.	36
<b>TABLA 3.3.</b>	Número de muestras obtenidas para cada población separando hembras de machos.	38
<b>TABLA 3.4.</b>	Características de los primers utilizados para la amplificación de loci microsatélites.	40
<b>TABLA 4.1.</b>	Parámetros de diversidad genética estimada para 20 loci microsatélites analizados en 6 poblaciones de vicuñas.	45
<b>TABLA 4.2.</b>	Indicadores de diversidad genética de 6 poblaciones de vicuñas mediante el análisis de 20 loci microsatélites.	47
<b>TABLA 4.3.</b>	Alelos compartidos entre 6 poblaciones de vicuñas para el locus microsatélite YWLL8.	49
<b>TABLA 4.4.</b>	Probabilidad de exceso de heterocigotos para 6 poblaciones de vicuñas mediante el análisis de 20 loci microsatélites bajo dos pruebas: 1) Test estandarizado y 2) Test Wilcoxon.	51
<b>TABLA 4.5.</b>	Diferenciación poblacional y flujo génico entre 6 poblaciones de vicuñas, sobre frecuencias alélicas de 20 loci microsatélites.	53
<b>TABLA 4.6.</b>	Análisis de varianza molecular (AMOVA) para 6 poblaciones de vicuñas, mediante el análisis de 20 loci microsatélites.	54
<b>TABLA 4.7.</b>	Distancias genéticas de Nei (1972) entre pares de 6 poblaciones de vicuñas mediante el análisis de 20 loci microsatélites.	55
<b>TABLA 4.8.</b>	Parámetros de diversidad genética estimada para 20 loci microsatélites analizados en 5 poblaciones de <i>V.v.mensalis</i> del Altiplano boliviano.	60

<b>TABLA 4.9.</b> Parámetros de diversidad genética estimada para 23 loci microsatélites analizados en 5 sub-poblaciones de vicuñas del norte de La Paz dentro del ANMIN-Apolobamba.	64
<b>TABLA 4.10.</b> Indicadores de diversidad genética de 5 sub-poblaciones de vicuñas del norte de La Paz, dentro del ANMIN-Apolobamba, mediante el análisis de 23 loci microsatélites.	65
<b>TABLA 4.11.</b> Diferenciación sub-poblacional y flujo génico entre 5 sub-poblaciones de vicuñas del norte de La Paz, dentro del ANMIN-Apolobamba.	66
<b>TABLA 4.12.</b> Distancias genéticas de Nei (1972) entre pares de 5 sub-poblaciones de vicuñas del norte de La Paz, dentro del ANMIN-Apolobamba, mediante el análisis de 23 loci microsatélites.	67

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.1.</b>	Subespecies de Vicuña: a) <i>Vicugna vicugna mensalis</i> (norteña) y b) <i>Vicugna vicugna</i> (sureña).	14
<b>FIGURA 1.2.</b>	Mapa de la distribución geográfica de <i>Vicugna vicugna</i> .	16
<b>FIGURA 1.3.</b>	Representaciones de vicuñas del alero Ayquina (Alto Rio Loa, norte de Chile) fechadas entre 1500-500 A.C.	20
<b>FIGURA 3.1.</b>	Mapa de ubicación de las poblaciones de vicuñas consideradas en el análisis.	34
<b>FIGURA 3.2.</b>	Crecimiento poblacional de vicuñas entre los años 1996 y 2009 en ocho de las nueve provincias consideradas en el análisis.	36
<b>FIGURA 3.3.</b>	Flujograma del análisis de datos.	44
<b>FIGURA 4.1.</b>	Distribución alélica por población y subespecie mediante el análisis de frecuencias alélicas del locus microsatélite YWLL8.	48
<b>FIGURA 4.2.</b>	Distribución alélica de la población P1 (Tomave) respecto al resto de poblaciones (L1, L2, O1, O2 y P2).	50
<b>FIGURA 4.3.</b>	Distribución de las muestras según el análisis factorial de correspondencia bidimensional por población de vicuñas mediante el análisis de 20 loci microsatélites.	54
<b>FIGURA 4.4.</b>	Árbol “neighbour-joining” construido a partir de las distancias genéticas de Nei (1972) entre 6 poblaciones de vicuñas mediante del análisis de 20 loci microsatélites.	55
<b>FIGURA 4.5.</b>	Representación gráfica del agrupamiento sugerido por el análisis bayesiano realizado para evaluar la estructura de las poblaciones de vicuñas estudiadas considerando 20 loci microsatélites.	56
<b>FIGURA 4.6.</b>	Representación gráfica del agrupamiento sugerido por el análisis bayesiano realizado para evaluar la estructura de poblaciones de vicuñas evaluadas por subespecie mediante el análisis de 20 loci microsatélites.	58
<b>FIGURA 4.7.</b>	Representación gráfica de asignación individual a los grupos genéticos (K=2) identificados por el análisis bayesiano mediante el análisis de 20 loci microsatélites en 218 individuos.	59
<b>FIGURA 4.8.</b>	Distribución de las muestras según el análisis factorial de correspondencia bidimensional por población de <i>V.v.mensalis</i> del Altiplano boliviano mediante el análisis de 20 loci microsatélites.	62



<b>FIGURA 4.9.</b> Árbol “neighbour-joining” construido a partir de las distancias genéticas de Nei (1972) entre 5 poblaciones de <i>V.v.mensalis</i> del Altiplano boliviano mediante el análisis de 20 loci microsatélites.	62
<b>FIGURA 4.10.</b> Distribución de las muestras según el análisis factorial de correspondencia por sub-población de vicuñas del norte de La Paz, dentro del ANMIN-Apolobamba, mediante el análisis de 23 loci microsatélites.	67
<b>FIGURA 4.11.</b> Árbol “neighbour-joining” construido a partir de las distancias genéticas de Nei (1972) entre 5 sub-poblaciones de vicuñas del norte de La Paz, dentro del ANMIN-Apolobamba, mediante el análisis de 23 loci microsatélites.	68
<b>FIGURA 4.12.</b> Representación gráfica del agrupamiento sugerido por el análisis bayesiano realizado para evaluar la estructura de las sub-poblaciones de vicuñas del norte de La Paz (Región ANMIN-Apolobamba) estudiadas mediante el análisis de 23 loci microsatélites.	68

# ÍNDICE DE ANEXOS

## TABLAS SUPLEMENTARIAS

<b>TABLA S1.</b>	Ubicación geográfica de las 6 poblaciones de vicuñas del Altiplano boliviano ingresadas al análisis global y ordenadas de norte a sur.	87
<b>TABLA S2.</b>	Matriz de distancias geográficas promedio entre las 6 poblaciones de vicuñas del Altiplano boliviano ingresadas al análisis global.	91
<b>TABLA S3.</b>	Validación del número de grupos genéticos definidos en base al análisis bayesiano de 20 loci microsatélites en 6 poblaciones de vicuñas, bajo las consideraciones de Evanno <i>et al.</i> (2005), para hallar el K más probable.	91
<b>TABLA S4.</b>	Validación del número de grupos genéticos definidos en base al análisis bayesiano de 20 loci microsatélites en poblaciones de vicuñas por subespecie, bajo las consideraciones de Evanno <i>et al.</i> (2005), para hallar el K más probable.	92
<b>TABLA S5.</b>	Validación del número de grupos genéticos definidos en base al análisis bayesiano de 20 loci microsatélites en 5 poblaciones de <i>V.v.mensalis</i> del Altiplano boliviano, bajo las consideraciones de Evanno <i>et al.</i> (2005) para hallar el K más probable.	92
<b>TABLA S6.</b>	Validación del número de grupos genéticos definidos en base al análisis bayesiano de 23 loci microsatélites en 5 sub-poblaciones de vicuñas del norte de La Paz, bajo las consideraciones de Evanno <i>et al.</i> (2005), para hallar el K más probable.	94

## FIGURAS SUPLEMENTARIAS

<b>FIGURA S1.</b>	Mapa de ubicación de las 5 sub-poblaciones ingresadas en el análisis de vicuñas ( <i>Vicugna vicugna mensalis</i> ) del norte de La Paz. a) Referenciados dentro del ANMIN-Apolobamba y b) Señalando sitios geográficos de importancia.	87
<b>FIGURA S2.</b>	Configuración genética por población y subespecie mediante el análisis de frecuencias alélicas del locus microsatélite YWLL36.	88
<b>FIGURA S3.</b>	Configuración genética por población y subespecie mediante el análisis de frecuencias alélicas del locus microsatélite LCA5.	89
<b>FIGURA S4.</b>	Configuración genética por población y subespecie mediante el análisis de	

	frecuencias alélicas del locus microsatélite LCA65.	90
<b>FIGURA S5.</b>	Validación del número de grupos genéticos definidos en base al análisis bayesiano de 20 loci microsatélites en 6 poblaciones de vicuñas, bajo las consideraciones de Evanno <i>et al.</i> (2005), para hallar el K más probable.	91
<b>FIGURA S6.</b>	Validación del número de grupos genéticos definidos en base al análisis bayesiano de 20 loci microsatélites en poblaciones de vicuñas por subespecie, bajo las consideraciones de Evanno <i>et al.</i> (2005), para hallar el K más probable.	92
<b>FIGURA S7.</b>	Validación del número de grupos genéticos definidos en base al análisis bayesiano de 20 loci microsatélites en 5 poblaciones de <i>V.v.mensalis</i> del Altiplano boliviano, bajo las consideraciones de Evanno <i>et al.</i> (2005), para hallar el K más probable.	93
<b>FIGURA S8.</b>	Representación gráfica del agrupamiento sugerido por el análisis bayesiano realizado para evaluar la estructura de las poblaciones de <i>V.v.mensalis</i> del Altiplano boliviano estudiadas mediante el análisis de 20 loci microsatélites.	93
<b>FIGURA S9.</b>	Representación gráfica de asignación individual a los grupos genéticos (K=2) identificados por el análisis bayesiano mediante el análisis de 20 loci microsatélites en 166 individuos considerados como <i>V.v.mensalis</i> .	94
<b>FIGURA S10.</b>	Validación del número de grupos genéticos definidos en base al análisis bayesiano de 23 loci microsatélites en 5 sub-poblaciones de vicuñas del norte de La Paz, bajo las consideraciones de Evanno <i>et al.</i> (2005), para hallar el K más probable.	95

# DIVERSIDAD GENÉTICA Y ESTRUCTURA POBLACIONAL DE VICUÑAS EN BOLIVIA

## 1. INTRODUCCIÓN

La vicuña (*Vicugna vicugna*) es una especie nativa emblemática para los pueblos originarios altoandinos y representa un reservorio único de recurso genético de alto valor económico. Los esfuerzos para su conservación, posterior a su casi extinción, y consecuente recuperación, han permitido en Bolivia el comercio de fibra procedente de la esquila de animales vivos mantenidos en silvestría como único sistema de manejo (MMAyA, 2012). Sin embargo, la sostenibilidad del manejo de la especie demanda la generación de información en distintos niveles para un mejor conocimiento de las poblaciones naturales y para encarar su conservación bajo un enfoque integral. Al respecto los estudios de diversidad genética son importantes porque ayudan a elucidar la historia evolutiva de las poblaciones, identificar unidades de manejo y conservación y evaluar posibles efectos genéticos de las estrategias de manejo implementadas.

La variabilidad genética, distribución de la diversidad genética y estructuración poblacional de la especie en varios puntos de Sudamérica ha sido evaluada utilizando isoenzimas, microsatélites y secuencias de ADN mitocondrial (Norabuena & Paredes, 2003; Wheeler *et al.*, 2001; Sarno *et al.*, 2004; Andrade, 2009; Marín *et al.*, 2007 y Barreta *et al.*, 2010, 2012). Sin embargo, poco se sabe sobre la variabilidad genética de vicuñas en Bolivia, información circunscrita a los trabajos de Sarno *et al.* (2004), donde un limitado número de animales del norte, centro y sur de Bolivia fueron analizados, además de los estudios de Andrade (2009) y Barreta *et al.* (2010, 2012), quienes evaluaron poblaciones del norte de La Paz encontrando baja variabilidad genética a nivel nuclear y mitocondrial, respectivamente.

En consecuencia, aún no se cuenta con estudios genético poblacionales de vicuñas que abarquen un rango de distribución amplio en el Altiplano boliviano, que además evalúen el grado de diferenciación genética entre las dos subespecies reconocidas en la actualidad no solo a nivel mitocondrial (Marín *et al.*, 2007; Barreta *et al.*, 2010, 2012) sino también a nivel nuclear. Por ello, el presente estudio pretende evaluar la variabilidad y diferenciación

genética entre poblaciones de vicuñas en un rango de distribución geográfica que abarca los departamentos de La Paz, Oruro y Potosí en Bolivia. Este análisis comprende en gran parte poblaciones de *Vicugna vicugna mensalis* (5) y una población de *Vicugna vicugna vicugna*. La información obtenida podrá ser utilizada como un aporte preliminar a la definición del estatus taxonómico de ambas subespecies y para el desarrollo de futuras investigaciones, estrategias de monitoreo, conservación y aprovechamiento.

### 1.1. Taxonomía

La vicuña (*Vicugna vicugna*) (Molina 1782) pertenece a la Clase Mammalia, Orden Artiodactyla, Suborden Tylopoda y Familia Camelidae. Se cree que hace 2 millones de años, el ancestro común de vicuñas y guanacos, *Hemiaucheria* (Tribu: Lamini, Familia: Camelidae), habría migrado por el puente de Panamá hacia América del sur dando origen a las especies actuales de camélidos sudamericanos silvestres (Vilá, 2012; MMAyA, 2012).

Lesson (1842) fue el primero en reconocer a la vicuña en un género distinto, sin embargo esta propuesta no fue aceptada hasta que Miller (1924) lo reafirmó con antecedentes osteológicos, separando así a la vicuña del género *Lama* (Técnicas para el manejo productivo de la Vicuña en Chile 2005; Vilá, 2012)

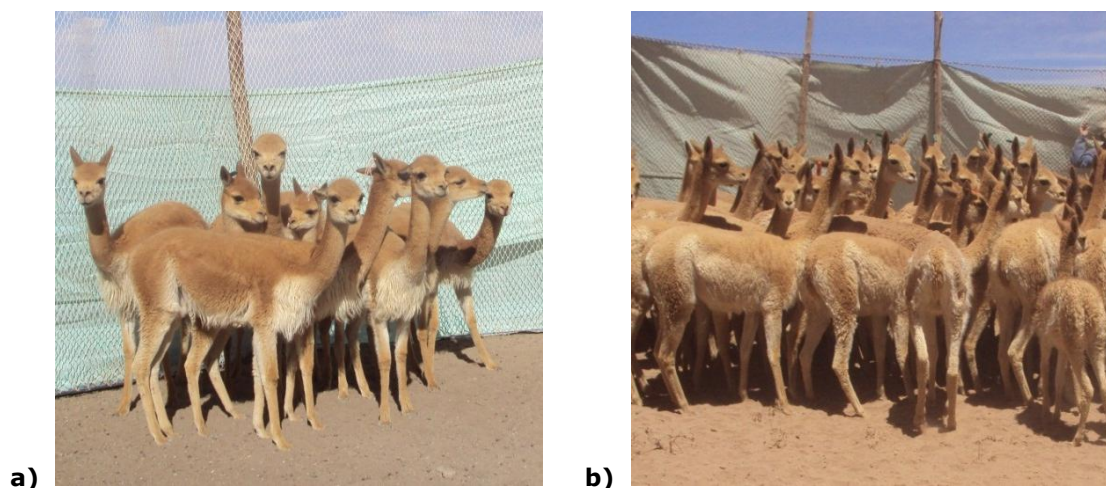
La vicuña es la especie de camélido sudamericano más pequeña, tiene una apariencia grácil y estilizada, de cabeza chica, ojos grandes, cuello largo, cuerpo esbelto, patas largas y delgadas (Lichtenstein, 2006). No hay diferencia morfológica visible entre el macho y la hembra, aunque el primero puede ser un poco más grande, siendo posible además diferenciarlos por su comportamiento (Wheeler *et al.*, 2006). Su fibra es catalogada como una de las más finas de origen natural cuyo diámetro varía entre 11-14  $\mu\text{m}$  (Vilá & Lichtenstein, 2006; Vilá, 2012).

Por diferencias morfológicas aparentes se reconocen dos subespecies geográficas (Torres 1992) (TABLA 1.1.). La subespecie del norte (*V.v.mensalis*) que se caracteriza por su color marrón canela (denominado a nivel comercial como "vicuña") en la parte superior del cuerpo (cabeza –cara y frente-, cuello y dorso) y los flancos; y color blanco en la parte inferior del cuerpo (cabeza –carrillos y maxilar-, pecho y vientre), interior de los miembros, al igual que la punta y la parte ventral de la cola; y los pelos del pecho, grandes y gruesos formando un mechón pectoral, pechera o babero como se observa en la

FIGURA 1.1.a. Por otro lado, la subespecie del sur o austral (*V.v.vicugna*) muestra un color beige (comercial "light fawn"), un ventral blanco que asciende hasta casi la parte media de los flancos y no posee mechón pectoral como se puede observar en la FIGURA 1.1.b. Dichas subespecies representan el 73% (*V.v.mensalis*) y el 27% (*V.v.vicugna*) de la población total existente de la especie (Franklin, 1982; Wheeler, 1991; Vilá, 2012).

**TABLA 1.1. Diferencias morfológicas entre *Vicugna vicugna mensalis* (subespecie norteña) y *Vicugna vicugna vicugna* (subespecie sureña). Fuente: Cardozo, 1954; Koford, 1957; Paucar *et al.*, 1984 y Yacobaccio, 2006.**

	Subespecie norteña	Subespecie sureña
<b>Nombre científico</b>	<i>Vicugna vicugna mensalis</i>	<i>Vicugna vicugna vicugna</i>
<b>Longitud de molares</b>	45 mm	57 mm
<b>Altura al hombro</b>	86-90 cm	90 cm
<b>Peso</b>	34-38 Kg	42-45 Kg
<b>Longitud del cuerpo</b>	98-112 cm (menor tamaño)	150 cm (mayor tamaño)
<b>Relación con otros camélidos sudamericanos</b>	Ancestro de la alpaca	-



**FIGURA 1.1. Subespecies de Vicuña: a) *Vicugna vicugna mensalis* (norteña), grupo capturado en Sipe Sipe, Municipio Santiago de Andamarca, Provincia Sur Carangas del departamento de Oruro y b) *Vicugna vicugna vicugna* (sureña), grupo capturado en Salitre, Municipio Villazón, Provincia Modesto Omiste del departamento de Potosí.**

Eventos paleoclimáticos y ambientales, altamente dinámicos durante el cuaternario en Los Andes Centrales, pudieron tener un rol importante en la diferenciación de las subespecies del norte y sur. Aunque durante el Pleistoceno la fauna del norte y centro de Chile, Perú y Bolivia estuvo fuertemente relacionada (Casamiquela, 1970) los climas cuaternarios, principalmente los establecidos durante el Holoceno, afectaron los patrones y procesos responsables de la distribución geográfica y diversidad faunística (M. de Vivo & A. Carmignotto, 2004). Es así que la apertura y cierre de corredores a lo largo de Los Andes y cambios sobre la fisionomía de la vegetación jugaron un rol importante en la formación de patrones faunísticos desde finales del Pleistoceno hasta la actualidad (M. de Vivo & A. Carmignotto, 2004). Así por ejemplo la extinción de *Lama gracilis*, considerada actualmente dentro de la especie vicuña, se debió al establecimiento de los patrones climáticos actuales en la Patagonia a comienzos del Holoceno, posiblemente junto con la contribución de la caza humana (Weinstock *et al.*, 2009)

## **1.2. Distribución poblacional, hábitat y estructura social**

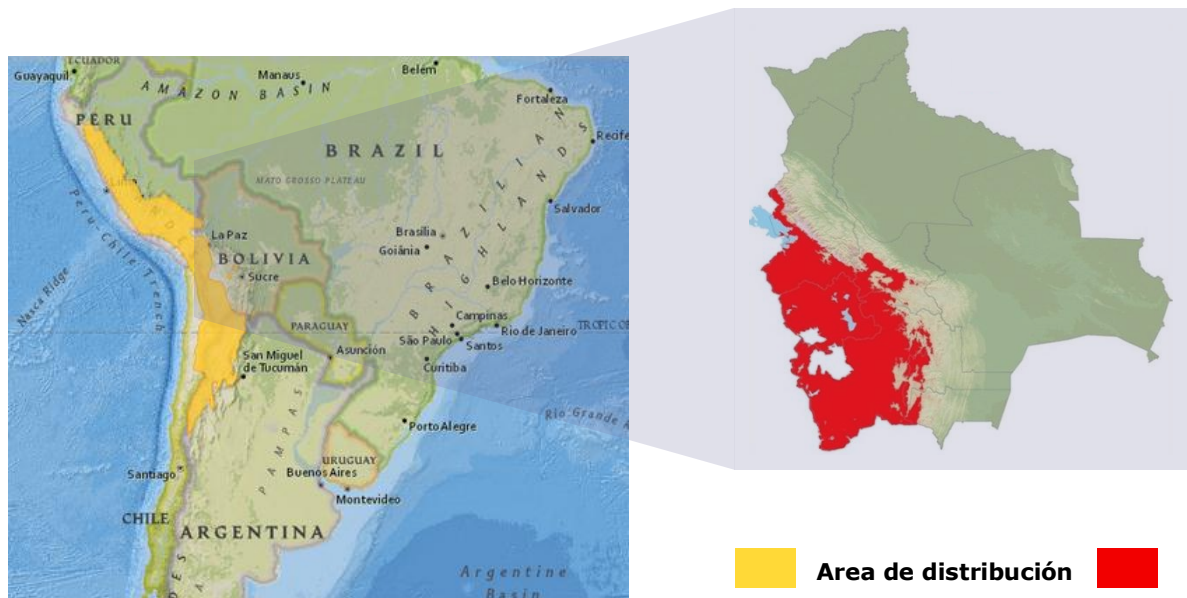
Se conoce que la vicuña se trasladó a su actual hábitat de puna elevada durante el último avance glacial del Pleistoceno en el norte de Los Andes (18-22°S), hace 14000 a 12000 años, y el posterior establecimiento del régimen climático del Holoceno, hace 12000 a 9000 años (Wheeler *et al.*, 1976; Hoffstetter, 1986; Ammann *et al.*, 2001; Kull *et al.*, 2002).

Hasta el siglo XV, previo a la colonización española, la especie estaba distribuida en las regiones que abarcaron el imperio incaico. Se estima que la población de vicuñas alcanzó los 2 millones de individuos celosamente protegidos por la administración incaica. Sin embargo, su explotación intensiva durante y posterior a la colonización, así como la caza indiscriminada que sufrió en la década de los 60, redujo drásticamente su tamaño poblacional y rango de distribución. Posteriormente, gracias a la aplicación de políticas de protección y conservación, principalmente en áreas protegidas, se logró la recuperación de la especie (Vilá, 2012).

Actualmente la vicuña habita el centro y sur de Perú, norte, centro y sur de Bolivia, norte de Chile y noroeste de Argentina, a lo largo de la cordillera de Los Andes centrales (250000 Km<sup>2</sup>), entre los 9°30' (Ancash-Perú) y los 29°30' (San Juan-Argentina, III Región-Chile) de latitud sud (FIGURA 1.2.), y está restringida a ecoregiones de puna semiárida a árida o seca (3300-4200 msnm) y alto andina-semi húmeda (4200-5000

msnm). Ocupa sitios cuya disponibilidad de humedad es fuertemente variable, con clima templado a frío (8-17°C) con gran amplitud térmica (Koford, 1957; Franklin, 1982; Wheeler 1995, *et al.*, 2006; MMAyA, 2012). Se cuenta además con una población de vicuñas reintroducida, que habita en el área protegida de Chimborazo-Ecuador, fundada en 1986 a partir de la donación de ejemplares (Bolivia, Chile y Perú), sin embargo no existe evidencia de registros paleontológicos de la especie en este país (Villalba, 1992; Laker *et al.*, 2006; Wheeler *et al.*, 2006; Vilá, 2012).

La subespecie *V.v.mensalis* se distribuye en el centro y sudeste de Perú, oeste de Bolivia y noreste de Chile, entre los 9° a 19° de latitud sud. A su vez la subespecie *V.v.vicugna* se distribuye en el oeste de Bolivia, noroeste de Argentina y noreste de Chile, entre los 18° a 29° de latitud sud. Así en Perú se encuentra presente únicamente la subespecie *V.v.mensalis*, en Argentina *V.v.vicugna* y en Bolivia y Chile ambas subespecies (Vilá, 2012).



**FIGURA 1.2.** Mapa de la distribución geográfica de *Vicugna vicugna*. Fuente: Elaborado sobre imágenes sacadas de Mamíferos de Chile sitio web: [http://mamiferosdechile.wikispaces.com/Vicu%C3%B1a+\(Vicugna+vicugna\);](http://mamiferosdechile.wikispaces.com/Vicu%C3%B1a+(Vicugna+vicugna);) y Vicuña: Conservación Internacional Bolivia sitio web: [http://www.conservation.org.bo/index.php?mc=95&nc=&next\\_p=1&cod=17&nprint=1](http://www.conservation.org.bo/index.php?mc=95&nc=&next_p=1&cod=17&nprint=1), consultado el 29 de agosto de 2014.



En Bolivia, el área de distribución se encuentra entre los 14°42' a 22°54' de latitud sur y 64°50' a 69°38' de longitud oeste (3600-5000 msnm), principalmente en la región altiplánica y alto andina de los departamentos de La Paz, Oruro, Potosí y, en menor medida en Cochabamba y Tarija (FIGURA 1.2.) (Villalba, 1992; Vilá, 2012), dentro y fuera de áreas protegidas, en áreas de manejo y sin manejo (MMAyA, 2012). La vicuña se distribuye a lo largo del Altiplano boliviano sobre un gradiente norte a sur de precipitaciones y grado de humedad que divide esta región en dos áreas diferentes en vegetación, una puna norteña, húmeda o subhúmeda, y puna sureña o árida (Montes de Oca, 1995; UMSA-Instituto de Ecología). Además en esta región se diferencian tres subregiones conocidas como Altiplano norte, centro y sur, que dentro del marco geográfico-climático constituyen unidades ecológicas con particularidades físico-ambientales propias (Montes de Oca, 1995; Andressen, 2006).

La vicuña norteña (*V.v.mensalis*) se encuentra distribuida en gran parte del Altiplano boliviano, mientras que la subespecie austral (*V.v.vicugna*) se restringe a la parte más al sur del Altiplano, desde el Salar de Uyuni hacia regiones altoandinas al sur de Potosí y oeste de Tarija. El área de distribución común se encuentra en el sector este del Salar de Uyuni, aproximadamente en el límite departamental entre Oruro y Potosí, entre los Cantones Tomave, Chacala, Uyuni y Tolapampa de la Provincia Antonio Quijarro del departamento de Potosí (MMAyA, 2012).

Al presente la vicuña no está categorizada como una especie amenazada, dado que sus poblaciones se han recuperado notablemente en todo el rango de su distribución. De hecho Bolivia mostró el mayor incremento porcentual, cuya población pasó de tasas de crecimiento anual de 5% al 21%, implicando un aumento absoluto de 4493 a 62869 vicuñas, entre 1981 y 2006, respectivamente.

Registros censales reportan mayor distribución de vicuñas en Perú (56,6%), seguida de Bolivia (21,4%), Argentina (15,8%), Chile (5,5%) y Ecuador (0,7%). En el último censo (2009) Bolivia registró 112249 (TABLA 1.2.), mostrando que el 65% corresponde a la subespecie norteña y el 35% a la subespecie sureña (MMAyA, 2012).

**TABLA 1.2. Número de vicuñas por departamento, Área Protegida y superficie de distribución total, indicando subcoregión habitada y subespecie. Fuente: MMAyA, 2012.**

Departamento	N° Total	% Total General	N° Área Protegida	% Área Protegida	Superficie total (Km <sup>2</sup> )	Sub-ecoregión	Subespecie
<b>La Paz</b>	36969	32.9	11878 <sup>1</sup>	66.6	21869	Puna seca, vegetación alto andina, puna desértica, puna húmeda y puna semi-húmeda	<i>V. v. mensalis</i>
<b>Oruro</b>	28830	25.7	3302 <sup>2</sup>	18.5	39316	Puna desértica, puna seca y puna semi-húmeda	<i>V. v. mensalis</i>
<b>Potosí</b>	44202	39.4	1998 <sup>3</sup>	11.1	60343	Puna semi-húmeda y prepuna	<i>V. v. mensalis</i> <i>V. v. vicugna</i>
<b>Cochabamba</b>	867	0.8	0	0	528	Puna semi-húmeda	<i>V. v. mensalis</i>
<b>Tarija</b>	1381	1.2	660 <sup>4</sup>	3.7	1884	Puna semi-húmeda	<i>V. v. vicugna</i>
<b>TOTAL</b>	<b>112249</b>	<b>100</b>	<b>17838</b>	<b>100</b>	<b>123940</b>		

<sup>1</sup>Área Natural de Manejo Integrado (ANMIN) Apolobamba; <sup>2</sup>Parque Nacional (PN) Sajama; <sup>3</sup>Reserva Nacional de Fauna Andina (RNFA) Eduardo Avaroa; <sup>4</sup>Reserva Biológica de la Cordillera (RBC) Sama

La vicuña puede llegar a vivir hasta veinte años y alcanza su madurez reproductiva entre los 2 y 5 años (Vilá, 1999; Benítez *et al.*, 2006; Bonacic, 2007). Su estructura social está conformada por grupos familiares, tropillas de machos y animales solitarios. Los grupos familiares varían en tamaño y composición, observándose familias pequeñas y grandes. En Bolivia el número promedio de individuos por grupo familiar oscila entre 6 a 7, con un macho dominante, 3 a 5 hembras y de 1 a 2 crías (MMAyA, 2012), tamaño comparable al encontrado en Cieneguillas, Argentina (Vilá, 2012).

El macho es el que defiende el territorio y controla la salida o ingreso de las hembras y crías. Las crías hembras y machos se mantienen dentro del grupo familiar hasta el destete, antes de la época de parición, y luego son expulsados (entre 10 a 11 meses y 6 a 9 meses, respectivamente), se cree esta práctica regularía el flujo génico y evitaría la consanguinidad (Vilá, 1999; Bonacic, 2007). Las crías machos expulsados de los grupos familiares se juntan en tropillas (grupos abiertos) de alrededor de 15 a 25 animales, los cuales migran al encuentro de hembras con quienes aparearse. Los animales solitarios que migran son generalmente machos viejos y enfermos desplazados de su grupo familiar (Koford, 1957; Wheeler *et al.*, 2006). Registros del MMAyA (2012) reportan que el 53.92% de la población total de vicuñas en Bolivia conforma grupos familiares, 36.88% tropillas de machos y 1.05% deambulan como animales solitarios.

La vicuña es una especie diurna, con adaptaciones biológicas para vivir en la altura. Son animales herbívoros y pastoreadores y, a diferencia del resto de los camélidos, son "bebedores obligados". Por su forma de alimentarse se los ha denominado "pastoreadores de bajo impacto" al no poner en riesgo la posibilidad de recuperación de las pasturas debido a que la forma de su labio superior le permite escoger lo que come y cortar las hojas sin desprender las plantas de raíz lo que no ocurre con el ganado introducido (ovinos) (Koford, 1957; Franklin, 1982; Wheeler *et al.*, 2006). Además, las patas presentan cojines en los dedos que no dañan el suelo, como ocurre con las pezuñas de los demás ungulados (Informe sobre desarrollo humano en Bolivia, 2011).

Suelen utilizar un área de acción o territorio que incluye dormideros (cerros), zonas de alimentación o pastoreo con provisión de agua (valles o pie de montes), bosteaderos o defecaderos y revolcaderos. Los hábitats de preferencia son planicies o laderas con pastizales y/o vegetación arbustiva baja, así como bofedales o vegas (Wheeler *et al.*, 2006). La dieta puede variar de acuerdo al hábitat en la que se encuentran (bofedales, praderas secas y húmedas) y a la época del año (primavera e invierno-otoño) (Borgnia *et al.*, 2010). Se alimentan de pastos cortos, hierbas en roseta y plantas rastreras, en especial de gramíneas perennes. Pueden utilizar gran variedad de especies de plantas (39 a 75), que se distribuyen en casi todas las partes de su área de distribución, comportándose como un ungulado generalista. Gran proporción de gramíneas (59-72 %) y arbustos de los géneros *Deyeuxia*, *Oxychloe*, *Festuca*, *Poa*, *Nassella*, *Stipa*, *Adesmia* y *Verbena* representan el 16-19 % de su dieta general (Koford 1957, Benítez *et al.*, 2006). En periodos de extrema escasez se pueden alimentar de thola (*Lepidophyllum sp.*) (Koford, 1957).

La especie suele desplazarse a hábitats sub-óptimos en zonas en las que la especie convive con domésticos locales (MMAyA, 2012). En el Altiplano norte, las vicuñas comparten el hábitat con alpacas y ovinos; en el Altiplano central, con llamas, ovinos, bovinos y alpacas; y, en el Altiplano sur, con llamas, ovinos y caprinos, o hacen un uso exclusivo del mismo (Informe sobre desarrollo humano en Bolivia, 2011). La preferencia por el mismo tipo de hábitat entre vicuñas y alpacas puede provocar segregación espacial de especie (Villalba, 2000; Vilá, 2012). A nivel nacional se calcula que la relación promedio de llama o alpaca por vicuña es de 197 a 1 (MMAyA, 2012).

### 1.3. Manejo, conservación, aprovechamiento y uso sostenible

Según datos disponibles, la vicuña como recurso para los pobladores andinos viene desde hace unos 11 000 a 12 000 años (Vilá, 2012). Fue cazada en toda la región con intensidad variada por su carne como fuente de alimento, huesos para fabricar instrumentos, y pieles para vestimenta (Wheeler *et al.*, 2006; Bonacic 2007; Yacobacio 2007, 2008).

Al parecer la especie cumplió un rol importante dentro de la cosmovisión andina al ser considerada un animal sagrado ("rebaño de los Dioses"), representación que puede apreciarse en las pinturas rupestres encontradas en Alero, Ayquina, Chile (FIGURA 1.3.). En contraste, en otras pinturas se representa el comportamiento agresivo de la especie hacia los humanos, típico de animales silvestres (Vilá, 2012). El uso religioso utiliza el "suyo" o feto de vicuña, elemento sumamente valioso para las ceremonias aymaras y quechuas, ofrecida a la Pachamama en agradecimiento por el trabajo y el bienestar de la familia (Informe sobre desarrollo humano en Bolivia, 2011).



**FIGURA 1.3. Representaciones de vicuñas del alero Ayquina (Alto Rio Loa, norte de Chile) fechadas entre 1500-500 A.C. Foto: F. Gallardo.**

En el imperio incaico, que fue el imperio prehispánico más extenso, el manejo de las vicuñas estaba centralizado a través de cacerías reales o "*chakus*", que consistían en capturas de vicuñas programadas para la obtención de fibra mediante la esquila. La gente involucrada variaba entre 4 000 hasta 100 000 que hacían un círculo en un amplio territorio de 40 a 100 Km. La fibra obtenida era utilizada para la confección de prendas finas, llamadas "*kumpi*", usadas por la elite inca y cuya confección y cuidado estaba a

cargo de las "vírgenes del sol". Los "chakus" tenían carácter ceremonial, existían creencias religiosas que valoraban mucho la presencia de las vicuñas y, antes de iniciar la faena, se imponía rigurosamente una ofrenda a la Pachamama y a Coquena o Wastay, deidades protectoras de la fauna silvestre. Además un segundo tipo de captura denominado "qayqus" se realizaba por las autoridades aborígenes (curacas) de diferentes localidades. Estas capturas pueden considerarse un modo sostenible de explotación ya que estaban reguladas por aspectos políticos, religiosos, culturales y sociales y se las realizaba en promedio cada cuatro años para dar tiempo a la especie de recuperar su fibra y multiplicarse (Vilá, 2012; Yacobaccio & Vilá, 2003).

Con la conquista, la calidad de la fibra de vicuña fue rápidamente identificada y la demanda del mercado europeo desató la matanza indiscriminada de la especie. Durante la época de la colonia la reducción en el número de estos animales preocupó a las autoridades, al punto de sacar mandatos reales autorizando solamente la esquila de los animales y prohibiendo la matanza de los mismos (Vilá, 2012). Algunos autores señalan justamente al siglo XVI donde se produjo el mayor número de matanzas incontroladas, con estimaciones de hasta 80 000 animales muertos por año en Perú y norte de Chile. Durante el mismo período, se desarrolló un importante comercio de exportación de pieles a nuevas fábricas textiles en España (Yacobaccio & Vilá, 2003).

Desde el establecimiento del Virreinato del Río de la Plata en 1776, se registró la salida por el puerto de Buenos Aires de una media en fibras y pieles equivalentes a 20 410 animales con picos de hasta 50 000 vicuñas. Este comercio continuó hasta las guerras por la independencia en 1810 y durante casi todo el siglo XIX aunque en menores proporciones. En un período de 190 años (1663-1853) el equivalente a 1 571 098 vicuñas fueron exportadas del puerto de Buenos Aires con dirección a los mercados europeos (Yacobaccio & Vilá, 2003).

En 1825 Simón Bolívar introdujo medidas para evitar la caza de vicuñas, que fracasaron frente a la presión del comercio ejercida por empresas inglesas instaladas en Arequipa dedicadas a la exportación de fibra. En base a descripciones de autores de la época se sabe que el "chaku" se siguió practicando hasta la segunda década del siglo XX, con la diferencia que los animales capturados eran matados en vez de ser esquilados y liberados. Alrededor de 1920, con la difusión de armas de fuego el método de caza cambió formándose pequeños grupos de cazadores o cazadores solitarios, a veces acompañados de perros de caza, denominados "vicuñeros". Esta situación condujo a que a mediados del

siglo XX la población total de vicuñas excrementará hasta 6 000 a 10 000 individuos y que el riesgo de extinción se hiciera real (Vilá, 2012). La recuperación de la población de vicuñas se debe principalmente a medidas de conservación de carácter internacional, nacional y regional.

Si bien en la actualidad la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN)-en términos de vulnerabilidad a la extinción- ha reclasificado a la vicuña, en el grado de "preocupación menor" (2011), en 1968 se declaró a la especie en vías de extinción, y en 1975 el Convenio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestre (CITES) la introdujo dentro del Apéndice I, prohibiendo la comercialización de su fibra hasta que las poblaciones sean susceptibles de aprovechamiento (Torres, 1992; Llobet *et al.*, 2003).

Esta situación derivó en el Convenio para la Conservación de Vicuña entre Perú y Bolivia (1969), al que posteriormente se adjuntaron Argentina (1971) y Chile (1972). Años más tarde el convenio se reformuló y ratificó para permitir el manejo sustentable (1979) e incorporar a Ecuador dentro del mismo (Vilá, 2012). La recuperación de las poblaciones de vicuñas llevó a que en 1987 CITES aprobara la transferencia de algunas poblaciones de Perú y Chile al Apéndice II, permitiendo el comercio internacional de la fibra obtenida a partir de animales vivos; en los años posteriores, esta regulación fue extendida a otras poblaciones de Argentina y Bolivia (Kadwell *et al.*, 2001)

Bolivia instituyó el convenio mediante la Ley N°1255 en 1991, y en 1997 promulgó el Reglamento para la Conservación y Manejo de la Vicuña, solicitando a CITES la transferencia de las poblaciones de los Centros Piloto para la Conservación y Manejo de Vicuña (Ulla Ulla, Mauri-Desaguadero y Sud Lípez), del Apéndice I al Apéndice II. Sin embargo, no fue hasta 1998 que Bolivia emprendió la etapa experimental y en estas poblaciones se consolidaron las actividades de control, protección, manejo y aprovechamiento de la especie (Villegas, 2012).

No es hasta el 2003 que Bolivia logra que todas las poblaciones de vicuñas sean susceptibles de aprovechamiento a través de la esquila de animales vivos por parte de comunidades campesinas. El país cuenta con una normativa específica y su conservación se realiza bajo el Programa Nacional para el Aprovechamiento Sustentable de la Vicuña, legalmente sustentado por los Decretos Supremos 24529 y 29359 (Villegas, 2012; MMAyA, 2010).

Las condiciones biológicas de distribución y densidad de la especie, la política ambiental del país y sus regiones, los intereses de las comunidades, los intereses económicos creados y el acceso a apoyo externo han sido hasta ahora las principales condicionantes que han influido en las opciones de manejo de la vicuña que actualmente se implementan en cada país (Lichtenstein & Vilá, 2003) (TABLA 1.3).

**TABLA 1.3. Características del manejo de vicuñas en diferentes países. Fuente: Lichtenstein & Vilá, 2003; Vilá, 2012; XXVII Reunión ordinaria del Convenio Vicuña (Arica, Chile, noviembre 2008), Dirección argentina de Fauna (2007) y Dirección general de Biodiversidad (DGB) de Bolivia.**

	Argentina	Bolivia	Chile	Perú
<b>Propiedad de las vicuñas</b>	<i>Res nullius</i> (de nadie). Estatal. Federal. Provincias ejercen el dominio sobre su fauna.	Del Estado Plurinacional. El usufructo exclusivo de su uso es para las comunidades donde habitan las vicuñas y sobre todo para aquellos que participan de la captura.	<i>Res nullius</i> (de nadie). Estatal. Nacional.	Privado, comunidades campesinas (empresas asociativas) con propiedad y usufructo de las vicuñas en sus territorios.*
<b>Responsable de la custodia y conservación</b>	Organismos ambientales de las provincias (Sistema Federal).	Dirección general de Biodiversidad (DGB). Las comunidades campesinas tienen la custodia de las vicuñas existentes en áreas de jurisdicción comunal. Las comunidades manejadoras de vicuñas (CMV) están reunidas en sociedad nacional como Asociaciones Regionales de Manejadores de vicuñas.	Ministerio de Agricultura. Servicio Agrícola Ganadero (SAG), autoridades a cargo de la captura, y familias aymaras.	Ministerio del Ambiente (MINAM). Servicio Nacional de Áreas Protegidas por el Estado (SERNANP), Sociedad Nacional de la Vicuña (SNV), y comunidades campesinas.
<b>Tipo de manejo</b>	Silvestría, semicautiverio y cautiverio- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).	Silvestría exclusivamente	Silvestría y cautiverio (asistido por el Estado).	Silvestría y cautiverio, asistido por el Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI), a través del Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre (SERFOR), organismos no gubernamentales, universidades y empresas privadas.
<b>Tipo de producto</b>	Fibra, artesanías y ponchos.	Fibra, artesanías y mantas paceñas (mercado ilegal).	Fibra	Fibra, telas industriales y prendas de diseño.

\* El estado Peruano estableció el régimen de propiedad y comercialización de las vicuñas en los predios de las comunidades campesinas, y en caso del uso inadecuado del recurso, puede imponer sanciones y restringir su uso y darlo en concesión a otra.

Así, actualmente el manejo de vicuñas se realiza bajo distintas modalidades: en cautiverio y semicautiverio y silvestría. Sin embargo, debido al carácter silvestre de la especie, su comportamiento, estructura social, salud genética debido a su explotación y al costo económico de su mantenimiento, el sistema más recomendado para su manejo es en

silvestría (TABLA 1.4.) (Lichtenstein, 2002; Renaudeau & Lichtenstein, 2003; Vilá 2002, 2012).

En los sistemas de cautiverio los movimientos de los animales están restringidos por barreras físicas donde el grado de confinamiento difiere según el modelo empleado, pudiendo ser extensivo cuando se utiliza corrales grandes como los "cercos" peruanos de 1000 has e intensivo cuando se mantienen a los animales en pequeños corrales de aproximadamente 10 a 12 has (Argentina) aptos para contener entre 12-36 animales (Baldi *et al.*, 2006; Lichtenstein, 2006; Vilá & Lichtenstein, 2006).

En el manejo en silvestría los animales mantienen sus patrones naturales de dispersión y movimiento, siendo capturados para la esquila y liberados posteriormente al medio natural. La realización de la captura y esquila planificada de animales vivos se realiza bajo la técnica del "chaku", que consiste en generar barreras de numerosas personas que van cercando a las vicuñas hacia una manga de captura, que son embudos de longitud variable (500-1000 m) que se van estrechando y finalizan en un corral. Los lados de estas mangas están constituidos por postes de 2 metros de altura cada 10 metros, que sujetan una red (Vilá *et al.*, 2004).

Si bien no hay prueba del incremento en la tasa de mortalidad entre áreas bajo manejo y sin manejo, hay evidencia de variaciones en la composición de los grupos familiares sometidos a captura (Sahley *et al.*, 2007).



**TABLA 1.4. Análisis comparativo del manejo en cautiverio y en silvestría para vicuñas.**  
**Fuente: Vilá & Lichtenstein, 2006; Vilá, 2012.**

Dimensión	Variable	CAUTIVERIO	SILVESTRÍA
<b>Biológica</b>	<b>Desplazamientos y uso del hábitat</b>	Alteración, permanente confinamiento.	Dispersión natural de la población. Alteración temporaria durante la captura.
	<b>Selección natural y sexual</b>	Se modifican ambas. Alteración de las presiones selectivas, restricción de las parejas de apareamiento.	No se modifican los mecanismos naturales de selección.
	<b>Selección artificial</b>	Sí, por problemas de agresividad se separan y castran machos. En algunos casos se direcciona la selección.	No, solo opera la selección natural.
	<b>Riesgos de alteraciones genéticas</b>	Muy alto, por aislamiento de poblaciones y por la selección de machos.	Ninguno o bajo al no afectar la selección natural y sexual.
	<b>Impacto genético</b>	Alto por aislamiento de poblaciones, consecuente adaptación genética al cautiverio.	Neutro
	<b>Estrés y salud</b>	Sostenido en relación con la cautividad. Están más expuestos a las enfermedades y deficiencias nutricionales.	Agudo y breve, reducido a la captura. Neutro.
	<b>Comportamiento</b>	Perdida de la respuesta antipredatoria, amansamiento y agresión entre machos.	Respuesta antipredatoria en la captura, reordenamientos de grupos poscaptura.
<b>Socioeconómica</b>	<b>Capturabilidad</b>	Facilitada por el confinamiento.	Se necesita densidad mínima de vicuñas y animales habituados.
	<b>Inversión por vicuña a esquila</b>	Alta, es un manejo intensivo con límites de alto costo.	Media a baja, puede disminuir dependiendo el número de vicuñas capturadas en sucesivos eventos.
	<b>Números de beneficiarios</b>	Bajo, propietarios del criadero y empleados transitorios.	Alto, comunidades andinas rurales.
<b>Conservación</b>	<b>Valoración para la conservación de la especie</b>	Negativo (si se extrae plantel inicial de la naturaleza). Neutro.	Alto, la única manera de realizar manejo en silvestría es con altas densidades poblacionales.
	<b>Contribución para la conservación del hábitat</b>	Nula	Se basa en mantener áreas de hábitat natural.

La percepción de los pobladores locales respecto a la vicuña es diferente de lugar a lugar, en comunidades donde se realiza el manejo pueden llegar a considerarla un animal sagrado (Vilá & García-Gómez, 2003; Wolf *et al.*, 2005). En Bolivia, dentro y fuera de áreas protegidas, en las que se realiza manejo, los pobladores locales tienen una mejor

actitud en el cuidado de la especie, donde a través de la participación de guardaparques, vigilantes comunales y por iniciativa propia, reducen el efecto de la caza furtiva (Revista Dominical LA PATRIA, 2009). En comunidades que no se realizan manejo, las vicuñas son comúnmente consideradas plagas que consumen sus cultivos, pastos nativos y agua, compitiendo con el ganado local; además de fuente de contagio de enfermedades parasitarias a los camélidos domésticos y donde los pobladores muestran una actitud indiferente hacia los cazadores furtivos (Informe sobre desarrollo humano en Bolivia, 2011).

Los pobladores locales se benefician de la venta y comercialización de la fibra y actúan de fiscalizadores de sus recursos. Una vicuña adulta produce alrededor de 200 gramos de vellón que puede ser esquilado. Dependiendo cuan procesado este el vellón, el kilogramo de fibra se cotiza entre 400 a 700 dólares americanos (MMAyA). En 2007, Bolivia realizó su primera exportación de fibra, acopiada durante el periodo 1998 a 2006 (Informe sobre desarrollo humano en Bolivia 2011).

#### **1.4. Estudios genéticos en vicuñas**

Al presente, nuestro conocimiento acerca de la genética de la vicuña está limitado a pocos estudios. Ellos han documentado las relaciones filogenéticas con las demás especies de camélidos sudamericanos y su domesticación usando marcadores de ADN mitocondrial y microsatélites (Stanley *et al.*, 2004; Kadwell *et al.*, 2001; Barreta *et al.*, 2012).

Por otro lado, la variabilidad genética, distribución de la diversidad genética y estructuración poblacional de la especie, en varios puntos de su distribución, fue evaluada utilizando isoenzimas, microsatélites y secuencias de ADN mitocondrial (Norabuena & Paredes, 2003; Wheeler *et al.*, 2001; Sarno *et al.*, 2004; Andrade, 2009; Marín *et al.*, 2007 y Barreta *et al.*, 2010, 2012). Los pocos estudios que describen la variabilidad genética de vicuñas en Bolivia, están limitados a los trabajos de Sarno *et al.* (2004), Andrade (2009) y Barreta *et al.* (2010).

### 1.4.1. Análisis genético de vicuñas a nivel de subespecies

Norabuena & Paredes (2003) estudiaron a nivel isoenzimático (28 loci) dos poblaciones chilenas pertenecientes a la Primera y Segunda Región, correspondientes respectivamente a las subespecies *V.v.mensalis* (20) y *V.v.vicugna* (14). Determinaron valores de polimorfismo y de heterocigosidad promedio bastante similares entre las vicuñas representantes de *V.v.mensalis* (17.8% y 0.078, respectivamente) y *V.v.vicugna* (14.3% y 0.045, respectivamente), revelando un alto grado de variabilidad genética poblacional, pese a las diferencias de tamaño en las poblaciones estudiadas.

Adicionalmente, los valores de subestructuración poblacional ( $F_{ST}=0.324$ ) indican un grado importante de subdivisión. De acuerdo a este valor, las poblaciones evaluadas muestran una sustancial varianza intrapoblacional (70%) e interpoblacional (30%). Además, la heterogeneidad espacial de las frecuencias génicas y el valor  $F_{ST}$  obtenido evidencian restricción en el flujo génico entre poblaciones. Por otra parte hallaron que la distancia genética (0.097) entre las subespecies se encontró en el rango de lo observado entre poblaciones geográficas pertenecientes al mismo taxón y el análisis no verificó el estatus subespecífico atribuido en base a sus diferencias morfológicas, no obstante es muy probable que la divergencia entre ambas subespecies no sea perceptible a través de la técnica empleada (Norabuena & Paredes, 2003).

Por otra parte el estudio de Sarno *et al.* (2004), describe la variación genética entre tres poblaciones de Bolivia (22=*V.v.mensalis* y 7=*V.v.vicugna*) y una de Chile (10=*V.v.mensalis*), evaluando 794 pb de 3 segmentos de ADN mitocondrial combinados (286 pb del 16s, 316 pb del citocromo b y 192 pb de la región control o D-loop) y 12 marcadores microsatélites. A nivel mitocondrial, las subespecies mostraron apreciable variabilidad genética, siendo los parámetros de diversidad haplotípica (h) y nucleotídica (n) mayores para *V.v.vicugna* (h=0.524; n=0.008) que los encontrados para *V.v.mensalis* (h=0.395; n =0.002). Por otro lado a nivel nuclear la subespecie *V.v.mensalis* fue la que presentó mayor heterocigosidad (0.73), número de alelos (61), número medio de alelos por locus (8.2) y alelos privados (59) que *V.v.vicugna* (H=0.62, A=40, MNA=4.1 y PA=10).

Sarno *et al.* (2004) además encontraron que, tanto a nivel mitocondrial como nuclear, individuos de la misma subespecie se agrupan juntos sin mostrar reciprocidad monofilética- muy baja resolución-, y cuya diferenciación genética no fue significativa

( $R_{ST}=0.01$ ;  $F_{ST}=0.13$ ). Así, el análisis a nivel mitocondrial en este estudio no respalda la clasificación de la vicuña en dos subespecies distintas. Sin embargo, éstos pudieron estar fuertemente influenciados por un muestreo geográfico insuficiente y disparidad en el tamaño muestral de ambas subespecies (32=*V.v.mensalis* y 7=*V.v.vicugna*).

Con el objeto de revelar aspectos de la estructura filogeográfica, diversidad molecular de la vicuña en su rango de distribución, y considerar los efectos potenciales de la diagonal árida como barrera geográfica en el pasado, Marín *et al.* (2007) realizaron estudios más extensivos a nivel de la región control (328 pb) para 261 individuos provenientes de 29 poblaciones de Perú (18 poblaciones=*V.v.mensalis*), Chile (4 poblaciones=*V.v.mensalis*; 2 poblaciones=*V.v.vicugna*) y Argentina (5 poblaciones=*V.v.vicugna*). Dada la alta diversidad haplotípica ( $h=0.7663$ ), relativamente baja diversidad nucleotídica ( $\pi=0.0119$ ), parámetros de neutralidad negativo (Fu test:  $F_S=-11.125$ ) y crecimiento poblacional positivo ( $g=262.586$ ), sugieren que la vicuña parece haber experimentado una rápida expansión demográfica.

Asimismo Marín *et al.* (2007) proponen que las vicuñas del norte y del sur tuvieron diferentes historias demográficas, ya que el grupo del norte (*V.v.mensalis*:  $h=0.7350$ ;  $\pi=0.0082$ ) y las poblaciones fuera de la diagonal ( $h=0.7540$ ,  $\pi=0.0099$ ) mostraron alta diversidad haplotípica y baja diversidad nucleotídica. En contraste el grupo del sur (*V.v.vicugna*:  $h=0.9031$ ;  $\pi=0.0253$ ) y las poblaciones dentro de la diagonal árida ( $h=0.8758$ ,  $\pi=0.0265$ ) mostraron alta diversidad haplotípica y nucleotídica.

En general las poblaciones de *V.v.vicugna* (y aquellos dentro de la diagonal árida) resultaron ser más diversas que las poblaciones de *V.v.mensalis*, respaldando así en parte los resultados obtenidos por Sarno *et al.* (2004). Asimismo la baja diversidad de las poblaciones del norte y la presencia de haplotipos comunes indican que estuvieron sujetan a un escenario de rápida expansión demográfica en el pasado consistente con un evento de recolonización en el pleistoceno tardío. En tanto las poblaciones del sur muestran un patrón indicativo de pequeños grupos sobrevivientes en poblaciones aisladas (Marín *et al.*, 2007).

Contrario a lo encontrado por Sarno *et al.* (2004) y Norabuena & Paredes (2003) hay un soporte molecular muy fuerte para validar que *V.v.mensalis* y *V.v.vicugna* forman linajes mitocondriales separados (Marín *et al.*, 2007). Así como se puede describir haplotipos específicos y alelos privados característicos tanto de *V.v.mensalis* como *V.v.vicugna*, que

permiten discriminarlos a partir de análisis genéticos (Sarno *et al.*, 2004; Marín *et al.*, 2007).

Por otro lado, Barreta *et al.* (2012) realizaron estudios sobre 1140 pb del citocromo b (29 individuos) y 513 pb de la región control en vicuñas que incluyen individuos del norte de La Paz (*V.v.mensalis*, ANMIN-Apolobamba) y hallaron que la diversidad haplotípica y nucleotídica fueron de 0.6720 y 0.0010 para el citocromo b y de 0.1420 y 0.0006 para la región control, respectivamente. La alta variabilidad reportada por Marín *et al.* (2007) en la región D-loop para las vicuñas del norte (*V.v.mensalis*) comparada con la variabilidad descrita en este estudio para la misma región mitocondrial podría ser explicada por el gran tamaño y el diferente origen (Chile y Perú en Marín *et al.*, 2007) de las poblaciones analizadas por estos autores.

Las redes de haplotipos que Barreta *et al.* (2012) mostraron, tanto para el citocromo b como para la región control, un patrón similar revelando claramente dos distintos haplogrupos en el clado V (Vicuña), con 15 (Citb) y 11 (RC) pasos mutacionales detectados entre los subclados V1 (*V.v.mensalis*) y V2 (*V.v.vicugna*). Todas las vicuñas de Bolivia (ANMIN-Apolobamba) incluidas en este análisis fueron agrupadas en el clado V1 (*V.v.mensalis*). Es así que estos resultados apoyan la subdivisión de la especie entre el norte (*V.v.mensalis*) y el sur (*V.v.vicugna*) tal como lo hicieron Sarno *et al.* (2004) y Marín *et al.* (2007) en sus estudios. La prevalencia de ciertos haplotipos puede sugerir una rápida expansión demográfica para la especie, y aunque los estadísticos de Tajima y Fu no son significativos, este estudio apoya este supuesto al igual que Marín *et al.* (2007).

#### **1.4.2. Análisis genético de poblaciones de vicuñas**

Estudios genéticos realizados en poblaciones de vicuñas de Perú incluyen a los de Wheeler *et al.* (2001), que describen las características genéticas, sobre 11 marcadores microsatélites, de 12 poblaciones silvestres (488 individuos), de diversas localidades donde se realiza manejo de la especie, desde Junín hasta la frontera con Bolivia. Los resultados demostraron que la variabilidad genética en valores de heterocigosidad varía entre 0.377 a 0.586 y la subestructuración poblacional ( $F_{ST}$ ) entre 0 y 0.313, diferenciándose 4 grupos demográficos o unidades de manejo independientes. En general este trabajo encuentra que las poblaciones se caracterizan por bajos niveles de diversidad genética interna y altos niveles de diferenciación genética entre ellas; situación típica en

especies que originalmente habitaban una gran extensión geográfica y posteriormente se aislaron unas de otras por severos cuellos de botella demográficos y consecuente riesgo de extinción en el pasado (Vila, 2002).

Con el mismo set de marcadores utilizado por Wheeler *et al.* (2001), Aguilar (2011) evaluó la diversidad genética de 3 poblaciones de *V.v.mensalis* en cautiverio (72 muestras), cuya comparación mostró valores de estructuración de 0.106 ( $F_{ST}$ ) e indicó una diferenciación genética considerable entre ellas, estimando que un 90% de la varianza se expresa dentro de cada población y el 10% restante se atribuye a diferencias entre estas. Además sugiere que el sistema de manejo en cautiverio estaría afectando la diversidad genética de las vicuñas.

Sarno *et al.* (2004) revelaron una diversidad genética variable, de baja a moderada, con un flujo génico restrictivo consecuencia de aislamiento por distancia, tanto a nivel mitocondrial como nuclear, para las poblaciones de Bolivia y Chile. Encontraron que la población del norte de Chile (Reserva Nacional Surire) fue la más diversa a nivel mitocondrial ( $h=0.778$ ,  $\pi=0.006$ ) y nuclear ( $H=0.69$ ), en contraste con la población del norte de Bolivia (Área Natural de Manejo Integrado Nacional-Apolobamba) que fue la menos variable ( $h=0.00$  y  $\pi=0.00$ ;  $H=0.58$ ), mientras que las poblaciones del centro (Curva-Patacamaya:  $h=0.345$  y  $\pi=0.001$  ;  $H=0.62$ ) y sur de Bolivia (Sud Lipez:  $h=0.524$  y  $\pi=0.008$ ;  $H=0.62$ ) mostraron niveles intermedios de variación. Los autores sugieren que la variabilidad de la población chilena podría explicarse por su aproximación y consecuente introgresión con la población del Perú.

Además, los resultados del AMOVA mitocondrial y nuclear indicaron una diferenciación genética significativa ( $F_{ST}=0.08$ ;  $R_{ST}=0.15$ ) donde respectivamente el 92% y 85% de la variación genética observada ocurre dentro de las poblaciones. En todas las comparaciones se observaron de bajos a moderados niveles de diferenciación genética ( $F_{ST}=0.00-0.15$ ;  $R_{ST}=0.00-0.23$ ) cuyo valor más alto se observó entre el norte de Chile y norte de Bolivia. El número de migrantes por generación sugirió niveles de flujo génico moderados a altos entre las poblaciones ( $Nm=2.8-\infty$  a nivel mitocondrial y  $Nm=1.7-\infty$  a nivel nuclear) (Sarno *et al.*, 2004).

Aunque se esperaría que la población del norte de Bolivia fuera tan diversa como la del norte de Chile, la baja variabilidad encontrada en ella (Sarno *et al.*, 2004; Andrade, 2009; Barreta *et al.*, 2010, 2012) podría ser consecuencia de varios cuellos de botella que

podrían haberse dado en el pasado como en el presente, tal es el caso del bajo número de vicuñas reportados en 1965 (97 animales) para este sitio, esto más su aparente aislamiento podría haber influenciado fuertemente en la actual estructura genética.

Andrade (2009) por su parte analizó la variabilidad genética sobre 79 muestras de cuatro poblaciones del ANMIN-Apolobamba (Hichucollo=20, Huacochani=20, Ucha Ucha=19, Cañuhuma=20) mediante el análisis de 8 loci microsatélites polimórficos. Hichucollo resultó la población con menor diversidad genética en relación al número total de alelos (39), promedio de alelos por locus polimórfico (4.88) y heterocigosidad (0.54), mostrando también el valor más alto para el estadístico  $F_{IS}$  (0.189), indicando que podría ser más vulnerable a presentar apareamientos consanguíneos, en tanto Ucha Ucha fue la población con mayor diversidad genética en relación al número total de alelos (42) y mayor promedio de alelos por locus polimórfico (5.25) y finalmente Cañuhuma presentó el mayor valor de heterocigosidad (0.66) y un valor negativo para el estadístico  $F_{IS}$  (-0.046).

El número total de alelos (50), el promedio de alelos por locus polimórfico (6.25) y la heterocigosidad (0.60) para en ANMIN-Apolobamba encontrados por Andrade (2009) fueron inferiores a los encontrados por Wheeler *et al.* (2001) en poblaciones de vicuñas de Perú. En todos los loci analizados se observó menor número de alelos en relación a vicuñas del Perú (Wheeler, 2001) observándose la pérdida entre el 38 al 79% de alelos en loci similares, además de 2 loci monomórficos encontrados en el ANMIN-Apolobamba (LCA22 y YWLL38) que no ingresaron al análisis (Andrade, 2009).

Sin embargo, la diversidad alélica encontrada por Andrade (2009) fue mayor a la reportada por Sarno *et al.* (2004) para la misma zona de estudio; no obstante, las diferencias encontradas entre ambos estudios debe considerar las distintas poblaciones analizadas y número de loci evaluados. En el análisis de alelos compartidos, las poblaciones más heterogéneas fueron las de Hichucollo-Cañuhuma (74%) y las más homogéneas las de Ucha Ucha-Cañuhuma y Huacochani-Ucha Ucha (85%). Los valores de  $F_{ST}$  reflejan un bajo nivel de subestructuración poblacional, el mayor valor fue observado entre Hichucollo-Ucha Ucha ( $F_{ST}=0.012$ ) y el menor entre Hichucollo-Cañuhuma y Huacochani-Ucha Ucha ( $F_{ST}=0.001$ ). En todos los cálculos pareados del número de migrantes por generación se observaron valores superiores a 20 individuos. Andrade (2009) concluye que las vicuñas del ANMIN-Apolobamba se estructuran en una sola población que muestra flujo genético suficiente para contrarrestar los efectos de la deriva génica y consanguinidad.

Barreta *et al.* (2010) estudiaron la diversidad genética a nivel mitocondrial de la región completa del citocromo b (1140 pb) y la región parcial de la región control (511 pb) en una muestra de 35 animales (citocromo b=29, D-loop=35) de 4 diferentes localidades del norte de Bolivia (ANMIN-Apolobamba). El análisis de ambas secuencias mostró haplotipos dominantes que posiblemente representan un linaje ancestral. Contrario a lo hallado en estudios a nivel mitocondrial (Pedrosa *et al.*, 2006; Alter & Palumbi, 2009; Galtier *et al.*, 2009) en este estudio la diversidad haplotípica y nucleotídica fueron más altas para el citocromo b ( $h=0.877$ ,  $\pi=0.2572$ ) que los hallados para la región control ( $h=0.211$ ,  $\pi=0.0025$ ).

En general los análisis de Barreta *et al.* (2010) mostraron una variabilidad genética apreciable segregada entre las poblaciones analizadas, mayor a la reportada por Sarno *et al.* (2004) para la misma región geográfica, pero menor a lo encontrado a nivel de subespecie (*V.v.mensalis*) en otras regiones de Sudamérica. Sin embargo estos resultados no pueden ser comparados directamente debido a la diferencia en los tamaños muestrales y segmentos de ADN mitocondrial analizados (Citb y RC para Barreta *et al.*, 2010; 16s, Citb y RC para Sarno *et al.*, 2004). Las observaciones indican que probablemente las poblaciones de vicuña del ANMIN-Apolobamba estuvieron sujetas a una rápida expansión demográfica tal como lo refieren Marín *et al.* (2007) y Barreta *et al.* (2012).



## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo general**

Evaluar la diversidad y estructura genética de poblaciones de vicuñas (*Vicugna vicugna*) distribuidas en 6 regiones del Altiplano boliviano mediante el análisis de 25 marcadores microsatélites.

### **2.2. Objetivos específicos**

Caracterizar la diversidad genética de poblaciones de vicuñas a través de indicadores de heterocigosidad, número de alelos, alelos privados y riqueza alélica.

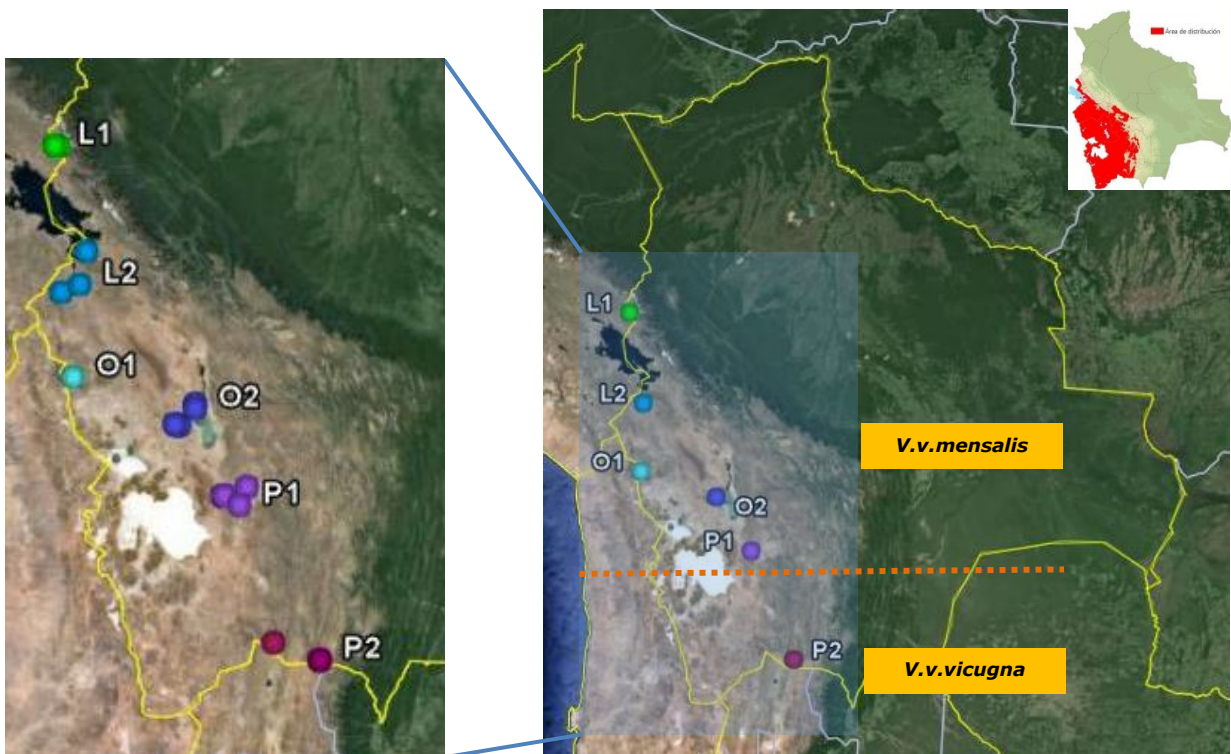
Revelar el grado de estructuración de las poblaciones de vicuñas.

Comparar, de manera preliminar, la distribución de la diversidad genética entre las subespecies *Vicugna vicugna mensalis* y *Vicugna vicugna vicugna*.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Área de estudio

Las vicuñas estudiadas fueron muestras de poblaciones ubicadas en 24 puntos diferentes del Altiplano norte, centro y sur, de los departamentos de La Paz (Provincias: Franz Tamayo, Bautista Saavedra, Ingavi y José Manuel Pando), Oruro (Provincias: Sajama, Saucari y Sur Carangas) y Potosí (Provincias: Antonio Quijarro y Modesto Omiste) (FIGURA 3.1. y TABLA S1.). El ámbito de distribución de las poblaciones evaluadas abarca de 14°57'38.50" a 22°02'03.1" de latitud sur, de 69°18'0.0" a 65°15'17.3" de longitud oeste y de 3627 a 4852 msnm de altitud, compuestas por las subespecies *V.v.mensalis* (Altiplano norte, centro y sur) y *V.v.vicugna* (Altiplano sur) (TABLA 3.1.). Las mismas que fueron muestreadas en función a la disponibilidad de acceso a la zona y captura.



**FIGURA 3.1.** Mapa de ubicación de las poblaciones de vicuñas consideradas en el análisis. Fuente: Elaborado sobre imágenes satelitales tomadas de Google Earth ©; Villalba, L. (2009). Vicuña: Conservación Internacional Bolivia sitio web: [http://www.conservation.org.bo/index.php?mc=95&nc=&next\\_p=1&cod=17&nprint=1](http://www.conservation.org.bo/index.php?mc=95&nc=&next_p=1&cod=17&nprint=1), consultado el 29 de agosto de 2014.

**TABLA 3.1. Ubicación geográfica de los 24 puntos de muestreo considerados en el análisis.**

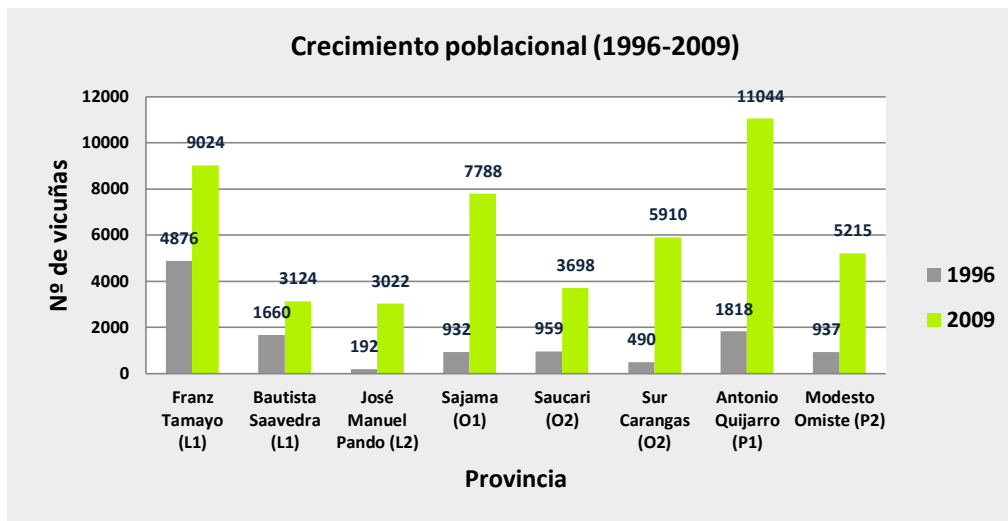
Sub especie	Nº	Departamento	Código Población	Provincia	Municipio	Localidad	Latitud Sur	Longitud Oeste	Altitud (msnm)			
<i>Vicugna vicugna mensalis</i>	1	La Paz	L1	Franz Tamayo	Pelechuco <sup>1</sup>	Hichocollo	14°58'1.20"S	69°18'0.0"O	4532			
	2					Huacochani	15°0'0.00"S	69°18'0.0"O	4409			
	3					Ucha Ucha	15°4'58.80"S	69°13'58.8"O	4354			
	4					Puyo Puyo	14°57'38.50"S	69°9'18.16"O	4852			
	5	La Paz	L1	Bautista Saavedra	Curva <sup>1</sup>	Cañuhuma	15°1'1.20"S	69°6'0.0"O	4627			
	6						15°2'47.70"S	69°12'31.10"O	4513			
	7	Oruro	L2	Ingavi	Tihuanacu	Yanarico	16°29'52.69"S	68°46'33.46"O	3642			
	8				Viacha	San Andrés de Machaca	16°57'1.50"S	68°51'35.80"O	3873			
	9				José Manuel Pando	Santiago de Machaca	Jarumata	17°3'42.10"S	69°7'35.10"O	3869		
	10	Oruro	O1	Sajama	Curahuara de Carangas <sup>2</sup>	Lagunas	18°13'25.80"S	68°56'15.50"O	4162			
	11					Saucari	Toledo	Untavi	18°37'17.50"S	67°10'19.80"O	3710	
	12								18°33'25.50"S	67°10'8.00"O	3716	
	13					Sur Carangas	O2	Santiago de Andamarca	Sipe Sipe	18°51'48.40"S	67°23'37.30"O	3727
	14								18°51'18.80"S	67°24'59.70"O	3718	
	15	Orinoca	18°50'42.00"S	67°27'40.20"O	3709							
	16	Potosí	P1	Antonio Quijarro	Tomave	Uracayu Saruyo	19°55'47.50"S	66°29'49.50"O	4649			
	17					Takora	19°40'30.70"S	66°23'38.70"O	4456			
	18					19°48'16.70"S	66°42'40.90"O	3900				
	19					San Pedro de Opoco	19°48'56.20"S	66°44'49.20"O	3858			
	20					19°48'04.7"S	66°43'29.1"O	3858				
21	<i>Vicugna vicugna vicugna</i>	P2	Modesto Omiste	Villazón		22°1'3.40"S	65°15'19.60"O	3734				
22					Salitre	22°02'03.1"S	65°15'17.3"O	3730				
23						22°01'18.2"S	65°15'21.6"O	3732				
24					Sarcari	21°48'18.56"S	65°56'47.57"O	3627				

<sup>1</sup>Dentro del Área Natural de Manejo Integrado Nacional (ANMIN) Apolobamba; <sup>2</sup>Dentro del Parque Nacional (PN) Sajama; <sup>1,2</sup>PERMISOS: Apolobamba/Sajama, Dirección General de Biodiversidad, Viceministerio de Recursos Naturales y Medio Ambiente, Ministerio de desarrollo sostenible; La Paz Septiembre 26 de 2003 DGB/UVS N°1043/03 Aprobación proyecto conservación y uso económico de la vicuña en Bolivia; La Paz Febrero 2 de 2005 DGB/UVS N°0156/05 Variabilidad genética de vicuña dentro de las áreas protegidas AMNI-Apolobamba y PN-Sajama; La Paz 06 Septiembre 2010 MMAY-VMA-DGBAP N°1156

### 3.1.1. Descripción general de datos censales de las poblaciones del estudio

Las vicuñas de las provincias Bautista Saavedra, Franz Tamayo y José Manuel Pando mostraron respectivamente el menor crecimiento poblacional (1996-2009, FIGURA 3.2.), la menor densidad poblacional y el menor número de vicuñas observadas (TABLA 3.2.), y conjuntamente con las vicuñas de la provincia Ingavi se encuentran dentro de la región

conocida como Altiplano norte. Por otro lado las provincias Antonio Quijarro y Modesto Omiste, ubicadas en el Altiplano sur, mostraron respectivamente el mayor tamaño (TABLA 3.2.) y crecimiento poblacional entre los años 1996 y 2009 (FIGURA 3.2.)(MMAyA, 2012).



**FIGURA 3.2.** Crecimiento poblacional de vicuñas entre los años 1996 y 2009 en ocho de las nueve provincias consideradas en el análisis. Fuente: Elaborado de datos publicados en MMAyA, 2012 (Censo 2009).

**TABLA 3.2.** Características generales de las poblaciones de vicuñas del Altiplano boliviano consideradas en el análisis. Fuente: MMAyA, 2012 (Censo 2009).

Nº	Provincia	Grupos familiares <sup>1</sup>			Tropilla machos	Solitarios	ND <sup>2</sup>	TOTAL	Densidad (Nº/100Km <sup>2</sup> )	Sub-ecoregiones
		M	H	C						
1	Franz Tamayo	858	3662	1178	3259	67	0	9024	4.6	Vegetación altoandina
2	Bautista Saavedra	274	990	431	1408	21	0	3124	12.4	
3	Ingavi	-	-	-	-	-	-	-	-	Puna seca
4	José Manuel Pando	280	1483	422	782	21	34	3022	241.8	
5	Sajama	476	2247	889	2973	46	1157	7788	147.8	Puna desértica
6	Saucari	252	1220	374	1295	45	512	3698	221.3	
7	Sur Carangas	316	1815	637	2306	60	776	5910	122.9	Puna seca
8	Antonio Quijarro	722	2843	1104	5468	104	803	11044	74.2	
9	Modesto Omiste	462	1605	767	1761	142	478	5215	230.8	

<sup>1</sup>Grupos familiares M=macho, H=hembra y C=cría; <sup>2</sup>ND=no diferenciados.

### **3.1.2. Descripción general del área de estudio**

La vicuña habita en el Altiplano boliviano, ámbito que se la caracteriza por presentar variables condiciones climáticas, geológicas y topográficas. Por ejemplo, la humedad disminuye en dirección norte-sur y está inversamente relacionada al grado de salinidad de la región, consistente con la asociación existente entre la presencia de suelos salinos y condiciones climáticas áridas y semiáridas (Montes de Oca, 1995; Villegas, 2012; Jiménez, 2013).

De esta manera, las vicuñas del Altiplano norte habitan una zona más húmeda que las del Altiplano centro dado que, dos tercios de esta región hacia el norte y un tercio hacia el sur, es semiárida y árida, respectivamente (Montes de Oca, 1995; Hervé *et al.*, 2002). Al sur las vicuñas habitan la región más seca del país (Montes de Oca, 1995). A este hecho se añade el uso de la cobertura vegetal, suelo y agua, que favorece los procesos de salinización y alcalinización de las tierras de cultivo y pastoreo y merma la calidad del territorio ocupado por la vicuña (Hervé *et al.*, 2002).

El régimen de lluvias, asociado al deshielo de los nevados en parte del Altiplano norte y centro, hace posible la presencia de un gran número de lagunas y bofedales, con cobertura vegetal del 100%, que favorece el desarrollo poblacional de la vicuña (Villegas, 2012). Aunque las comunidades vegetales son relativamente similares en las tres regiones, la oferta de biomasa forrajera depende en gran parte de la humedad; de esta manera, el Altiplano norte y centro también favorecen la cría de alpacas, llamas y ovinos, mientras en el Altiplano sur prevalecen sistemas pastoriles mixtos llama-ovino y llama-ovino-caprino los cuales interfieren el acceso a las pasturas por parte de las vicuñas (Villegas, 2012).

### **3.2. Toma de muestras**

Un total de 271 muestras (en mayor proporción fibra, hisopado bucal y vaginal) de vicuñas machos y hembras en edad adulta fueron colectadas durante las actividades de captura y esquila realizadas, entre septiembre a diciembre de los años 2004 a 2006 y 2010 a 2012, en los 24 puntos de captura considerados en el estudio. La toma de muestras contó con la autorización de la Dirección General de Biodiversidad (DGB) del Ministerio de Medio Ambiente y Aguas (MMAyA), respaldada con los permisos DGB/UVS

N°1043/03 (La Paz, septiembre 26 de 2003), DGB/UVS N°0156/05 (La Paz, febrero 02 de 2005) y MMAyA-VMA-DGBAP N°1156 (La Paz, septiembre 06 de 2010).

Los diferentes puntos de captura fueron agrupados en función a su cercanía en 6 regiones (FIGURA 3.1., TABLA 3.1. y TABLA 3.3.):

- 1) **L1= La Paz, ANMIN-Apolobamba (Provincias: Franz Tamayo y Bautista Saavedra) (FIGURA S1.)**
- 2) **L2= La Paz, Yanarico-San Andrés de Machaca-Santiago de Machaca (Provincias: Ingavi y José Manuel Pando)**
- 3) **O1= Oruro, Curahuara de Carangas (Provincia: Sajama)**
- 4) **O2= Oruro, Toledo-Santiago de Andamarca (Provincias: Saucari y Sur Carangas)**
- 5) **P1= Potosí, Tomave (Provincia: Antonio Quijarro)**
- 6) **P2= Potosí, Villazón (Provincia: Modesto Omiste)**

Un total de 219 muestras (80.8%), que pertenecen a las poblaciones L1, L2, O1, O2 y P1, que se asumen de la subespecie del norte *V.v.mensalis* y 52 muestras (19.2%), que pertenecen a la población P2, que se presumen de la subespecie del sur o austral *V.v.vicugna* (TABLA 3.3.).

**TABLA 3.3. Número de muestras obtenidas para cada población separando hembras de machos.**

Sub-especie	Nº	Código Población	Provincia	Machos	Hembras	No diferenciados	TOTAL
<i>V.v.mensalis</i>	1	<b>L1</b>	Fran Tamayo-Bautista Saavedra	37	48	8	<b>93</b>
	2	<b>L2</b>	Ingavi- José Manuel Pando	9	17	2	<b>28</b>
	3	<b>O1</b>	Sajama	14	15	0	<b>29</b>
	4	<b>O2</b>	Saucari- Sur Carangas	8	10	8	<b>26</b>
	5	<b>P1</b>	Antonio Quijarro	30	12	1	<b>43</b>
<i>V.v.vicugna</i>	6	<b>P2</b>	Modesto Omiste	21	31	0	<b>52</b>
<b>TOTAL</b>				<b>119</b>	<b>133</b>	<b>19</b>	<b>271</b>

Las muestras de fibra fueron colectadas tomando de 2 a 3 mechones de la porción pectoral de cada vicuña, las mismas que fueron colocadas individualmente, con su correspondiente identificación, en bolsas ziploc a temperatura ambiente hasta su ingreso

al laboratorio. Por otra parte, las muestras tomadas mediante hisopado vaginal y bucal fueron colocadas en tubos eppendorf (2mL) conteniendo el buffer PBS 1X (PBS 10x: 3.17 g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 10.9 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  y 8.5 g NaCl pH a 7.2-7.4) y refrigeradas hasta su traslado al laboratorio. Una vez que las muestras ingresaron a la *Unidad de Biología Evolutiva* (UBE), del *Instituto de Biología Molecular y Biotecnología* (IBMB) de la Universidad Mayor de San Andrés, fueron conservadas a  $-20^\circ\text{C}$  hasta su procesamiento respectivo.

### **3.3. Extracción de material genético**

La extracción de material genético de las muestras colectadas se realizó mediante protocolos adaptados y modificados en la UBE. En el protocolo usado para la extracción de ADN a partir de muestras de fibra (1 mechón), se empleó Chelex al 10% (Woodward *et al.*, 1994). Por otro lado la extracción de ADN a partir de muestras de hisopado bucal y vaginal, fue realizada empleando Tiocianato de Guanidinio 6M (Boom *et al.*, 1990).

### **3.4. Amplificación de ADN por PCR-múltiple y simple para 25 loci microsatélites**

Se escogieron 25 marcadores microsatélites dinucleótidos y tetranucleotidos diseñados para camélidos sudamericanos (Lang *et al.*, 1996; Obreque *et al.*, 1998, 1999; Penedo *et al.*, 1998, 1999; Bustamante *et al.*, 2003; Munyard *et al.*, 2009) (TABLA 3.4.).

**TABLA 3.4. Características de los primers utilizados para la amplificación de loci microsatélites (Bustamante *et al.*, 2003, Penedo *et al.*, 1998, Penedo *et al.*, 1999, Munyard *et al.*, 2009, Obreque *et al.*, 1999, Obreque *et al.*, 1998; Lang *et al.*, 1996).**

Primer	Fuente	Tamaño de alelos
GLM4	Bustamante <i>et al.</i> , 2003 <sup>1</sup>	181-204
LAB1	Bustamante <i>et al.</i> , 2003 <sup>2</sup>	161-189
LCA5	Penedo <i>et al.</i> , 1998 <sup>2</sup>	180-204
LCA24	Penedo <i>et al.</i> , 1998	108-132
LCA56	Penedo <i>et al.</i> , 1999 <sup>2</sup>	133-169
LCA65	Penedo <i>et al.</i> , 1999	165-191
LCA66	Penedo <i>et al.</i> , 1999	220-262
LCA68	Penedo <i>et al.</i> , 1999	191-209
LCA70	Penedo <i>et al.</i> , 1999	211-223
LCA71	Penedo <i>et al.</i> , 1999	136-150
LCA77	Penedo <i>et al.</i> , 1999	233-263
P86	Munyard <i>et al.</i> , 2009 <sup>3</sup>	185-335
P132	Munyard <i>et al.</i> , 2009	70-111
P135	Munyard <i>et al.</i> , 2009	212-236
PCTD17	Munyard <i>et al.</i> , 2009	89-217
VOLP1	Obreque <i>et al.</i> , 1999 <sup>3</sup>	240-256
VOLP4	Obreque <i>et al.</i> , 1999	226-258
VOLP5	Obreque <i>et al.</i> , 1998 <sup>3</sup>	132-166
VOLP55	Obreque <i>et al.</i> , 1999	159-189
YWLL8	Lang <i>et al.</i> , 1996 <sup>2</sup>	127-195
YWLL29	Lang <i>et al.</i> , 1996	216-226
YWLL36	Lang <i>et al.</i> , 1996	106-180
YWLL40	Lang <i>et al.</i> , 1996	180-192
YWLL43	Lang <i>et al.</i> , 1996	137-157
YWLL44	Lang <i>et al.</i> , 1996	105-141

<sup>1</sup> Utilizados en guanacos; <sup>2</sup> Utilizados en llamas; <sup>3</sup> Utilizados en alpacas.

Las reacciones de PCR-múltiple (8) y PCR-simple (2) se realizaron para un volumen final de 30 uL, conteniendo: agua tridestilada, buffer de amplificación 1X, cloruro de magnesio (1.5 mM), primers (0.34 a 1mM), desoxirribonucleótidos (0.3 mM de dATP, dCTP, dGTP, dTTP), Taq Polimerasa PROMEGA (0.05 U/uL) y ADN extraído (50 a 100 ng).

La amplificación se realizó en un termociclador HIBAID, cuyo programa se resume en una pre-desnaturalización de 5 minutos a 94°C, seguido por 25 ciclos de 35 segundos de desnaturalización a 94°C, 30 segundos de hibridización a 54°C o 56°C (según T<sub>m</sub> estandarizado para cada reacción) y 25 segundos de elongación a 72°C, y por ultimo una elongación final de 10 minutos a 72°C. Los productos de amplificación fueron conservados a 4°C.



### 3.5. Electroforesis en geles de poliacrilamida (PAGE)

Los productos de la amplificación fueron separados mediante electroforesis de ADN en gel de poliacrilamida al 10% (acrilamida: bis-acrilamida en proporción de 19:1) con buffer TBE al 1X (Trizma base 162 g, EDTA 9.3 g, Ácido bórico 27.5 g para 1 L de solución), con 350 V, 35 mA y 18 W, por 7 a 11 horas, dependiendo del tamaño del producto de amplificación. Los fragmentos separados fueron detectados mediante tinción con nitrato de plata embebiendo los geles en una solución fijadora de etanol al 30%, ácido nítrico al 1%, nitrato de plata 11 mM y solución reductora (NaOH 0.3M y Formaldehído 0.3%).

### 3.6. Lectura de alelos y asignación de genotipos

El tamaño de los alelos fue estimado inicialmente por la corrida en paralelo con un marcador de peso molecular definido (Step Lader 25pb PROMEGA), considerando que la distancia de corrida del producto de amplificación mantiene una relación inversa al logaritmo de su peso molecular (Regresión logarítmica:  $\hat{y} = a + b \text{Log}x$ ). Estas estimaciones fueron validadas por comparación con productos de amplificación previamente genotipados, mismos que fueron usados como controles de corrida.

### 3.7. Análisis de datos

Se consideraron 3 niveles de análisis:

- 1) **Análisis poblacional de vicuñas (*V.vicugna*) a nivel de poblaciones y de subespecies** considerándose 218 muestras (6 poblaciones) con 20 marcadores.
- 2) **Análisis poblacional de *V.v.mensalis*** considerándose 166 muestras (5 poblaciones) con 20 marcadores.
- 3) **Análisis sub-poblacional de vicuñas (*V.v.mensalis*) del norte de La Paz (Región ANMIN-Apolobamba)** considerándose 93 muestras (5 sub-poblaciones) con 23 marcadores.

En cada uno de ellos los marcadores en desequilibrio Hardy-Weinberg ( $<0.05$ ) y alta

frecuencia de alelos nulos ( $>0.10$ ) fueron descartados (2-5 marcadores).

Los parámetros de diversidad genética fueron cuantificados a partir de las frecuencias alélicas obtenidas para los loci microsatélites analizados. Las frecuencias alélicas, el número de alelos (A), el número medio de alelos por locus (MNA), la heterocigosidad observada ( $H_o$ ), la heterocigosidad esperada ( $H_e$ ), de acuerdo al equilibrio de Hardy-Weinberg e índice de consanguinidad ( $F_{IS}$ ) de Wright (1969) según Weir & Cockerham (1984), fueron calculados utilizando el programa GENETIX v4.05 con 1000 permutaciones (Belkhir *et al.*, 1996). El test de desequilibrio de Hardy-Weinberg para cada locus y para cada población se realizó utilizando el programa GENEPOP v3.3 (Raymond & Rousset 1995) (Dememorización=10000, Lotes =20, Iteraciones por Lote=5000) y la significancia corregida de Bonferroni con el programa CERVUS 3.0.3 (Marshall *et al.*, 1998).

El contenido de información polimórfica (PIC) y la proporción de alelos nulos ( $F_{(nulos)}$ ), calculados para cada uno de los marcadores, fueron estimados usando el programa CERVUS 3.0.3 (Marshall *et al.*, 1998). La riqueza alélica (AR), riqueza alélica por rarefacción ( $K_{(i)}$ ), y la pérdida y ganancia de diversidad genética, fueron determinadas mediante el programa MolKin v3.0 (Gutiérrez *et al.*, 2005). Asimismo, para observar si las poblaciones estudiadas sufrieron un reciente cuello de botella se utilizó el programa Bottleneck que considera un Modelo de Dos Fases - T.P.M., por sus siglas en inglés- (Cornuet & Luikard, 1996) (Variancia =12.00, Probabilidad=90.00%; Replicaciones=1000; Prueba de Wilcoxon).

A partir del análisis de diversidad genética se calcularon índices pareados de diferenciación poblacional. El estadístico  $F_{ST}$  de Wright (1969) calculado a partir de las fórmulas de Weir & Cockerham (1984), la distancia genética Nei 1972 y tasas de migración entre poblaciones calculado como número de migrantes por generación ( $Nm$ ), fueron estimados utilizando el programa GENETIX v4.05 con 1000 permutaciones (Belkhir *et al.*, 1996). Para estimar la estructura genética poblacional, a diferentes niveles jerárquicos, se realizó el Análisis de Varianza Molecular (AMOVA), utilizando el programa ARLEQUIN 3.11 con 1000 permutaciones (Excoffier *et al.*, 2005), sobre una plantilla para microsatélites (número de datos de repeticiones usando un modelo de mutación escalonado).

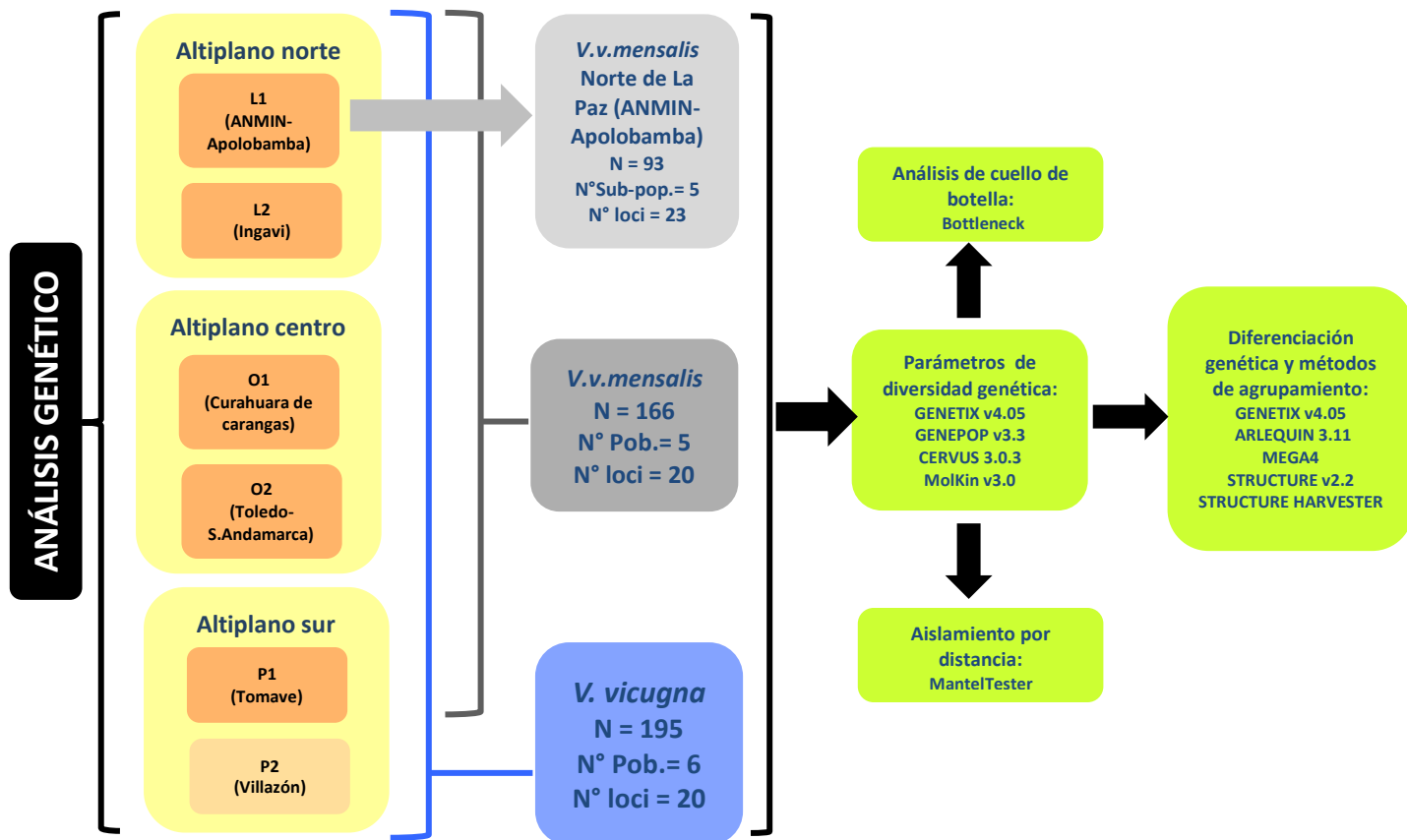
Los parámetros de diferenciación genética fueron combinados con métodos de agrupamiento para mostrar gráficamente los grupos demográficos. Un método poderoso para recuperar la máxima información sobre relaciones genéticas de individuos dentro y

entre poblaciones es el Análisis Factorial de Correspondencia bidimensional (AFC-2D) utilizando el programa GENETIX v4.05 (Belkhir *et al.*, 1996).

Las distancias genéticas de Nei (1972) estimadas usando el programa GENETIX v4.05 con 1000 permutaciones (Belkhir *et al.*, 1996), fueron analizadas mediante el método de agrupamiento algorítmico "neighbour-joining" (Saitou *et al.*, 1987). Asimismo, para construir el dendrograma resultante se utilizó el programa MEGA4 (Kumar *et al.*, 1993).

Para evaluar la estructuración poblacional se realizó un análisis bayesiano utilizando el programa STRUCTURE v2.2 (Pritchard *et al.*, 2000) (Iteraciones: periodo burn=20000, periodo de colección de datos=10000). Sobre los datos obtenidos del análisis bayesiano se aplicó el método de Evanno *et al.* (2005), empleando el programa en línea STRUCTURE HARVESTER (Earl *et al.*, 2011), para calcular el K (grupo génico) más probable sobre la formula  $\Delta K$  (Delta K)=promedio (|L'' (K) |)/SD (L (K)), además de los valores de asignación individual y poblacional a los grupos genéticos. El aislamiento por distancia entre las poblaciones analizadas se correlacionó de las distancias genéticas ( $F_{ST}$ ) y geográficas (Km) utilizando el Mantel Tester zt 1.0 de Bonnet & Van de Peer (2002).

Para el análisis estadístico se siguieron las consideraciones generales trazadas en la FIGURA 3.3.



**FIGURA 3.3.** Flujograma del análisis de datos. Donde N=tamaño muestral, N°Pob.=número de poblaciones analizadas, N°Sub-pob.=número de sub-poblaciones analizadas y N°loci=número de loci utilizados en el análisis estadístico.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Análisis poblacional de vicuñas (*V.vicugna*)

#### 4.1.1. Diversidad genética

##### 4.1.1.1. Análisis por locus microsatélite

En la población conjunta, el número de alelos (A) por locus mostró un promedio de 10.4, que va desde 3 alelos para el marcador LCA71 hasta 26 para el marcador YWLL8 (TABLA 4.1.). Asimismo la TABLA 4.1. muestra la diversidad alélica encontrada para cada uno de los marcadores.

**TABLA 4.1. Parámetros de diversidad genética estimada para 20 loci microsatélites analizados en 6 poblaciones de vicuñas.**

	Locus	Rango	A <sup>1</sup>	He <sup>2</sup>	Ho <sup>3</sup>	HWE <sup>4</sup>	F <sub>IS</sub> <sup>5</sup>	F <sub>(nullos)</sub> <sup>6</sup>	PIC <sup>7</sup>
1	LCA70	213-223	5	0.738	0.639	***	0.135***	0.060	0.690
2	LCA65	161-193	16	0.895	0.831	NS	0.072**	0.037	0.884
3	LCA56	137-169	15	0.702	0.550	**	0.218***	0.128	0.684
4	LCA66	218-248	14	0.803	0.679	**	0.154***	0.088	0.777
5	YWLL36	140-182	16	0.881	0.811	NS	0.080**	0.040	0.867
6	YWLL29	216-236	7	0.586	0.491	**	0.163***	0.078	0.541
7	YWLL40	180-190	6	0.556	0.431	***	0.227***	0.114	0.518
8	YWLL44	102-146	15	0.752	0.649	NS	0.137***	0.062	0.723
9	LCA5	177-213	13	0.835	0.716	***	0.143***	0.077	0.814
10	VOLP5	132-152	8	0.650	0.528	NS	0.187***	0.104	0.624
11	VOLP1	216-232	9	0.814	0.656	***	0.194***	0.111	0.788
12	LCA24	108-130	10	0.772	0.638	**	0.174***	0.099	0.745
13	P86	217-237	4	0.459	0.370	NS	0.194***	0.107	0.404
14	LAB1	157-179	8	0.567	0.495	NS	0.127**	0.059	0.537
15	P135	212-228	6	0.409	0.217	***	0.470***	0.301	0.375
16	P132	85-109	6	0.482	0.300	***	0.379***	0.253	0.407
17	GLM4	191-215	11	0.784	0.652	***	0.168***	0.093	0.752
18	LCA71	140-144	3	0.526	0.378	***	0.281***	0.173	0.458
19	YWLL8	124-196	26	0.943	0.889	-	0.057**	0.028	0.937
20	PCTD17	191-239	10	0.803	0.688	***	0.143***	0.074	0.774
	<b>Promedio</b>	-	10.4	0.698	0.580	-	-	-	0.665

<sup>1</sup>A: Número de alelos por locus; <sup>2</sup>He: Heterocigosidad esperada según el equilibrio de Hardy-Weinberg; <sup>3</sup>Ho: Heterocigosidad observada; <sup>4</sup>HWE: Desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg (corrección Bonferroni); <sup>5</sup>F<sub>IS</sub>: Coeficiente de endogamia; <sup>6</sup>F<sub>(nullos)</sub>: Frecuencia de alelos nullos; <sup>7</sup>PIC: Contenido de información polimórfica; \*\*\*p<0.001; \*\*p<0.01; \*p<0.05; NS p>0.05.

La heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) más baja fue de 0.409 (P135) y la más alta de 0.943 (YWLL8), mientras que la heterocigosidad observada ( $H_o$ ) varió de 0.217 a 0.889 para los mismos marcadores, respectivamente. En el total de loci microsatélites se observó menor número de heterocigotos a lo esperado bajo el equilibrio Hardy-Weinberg, con 13 marcadores en desequilibrio (TABLA 4.1.).

El coeficiente de endogamia ( $F_{IS}$ ) calculado fue positivo para todos los loci (0.057-0.470;\*\*\* $p < 0.001$ ). De los marcadores analizados 17 presentaron valores superiores a 0.1. El contenido de información polimórfica (PIC) promedio fue de 0.665 y varió de 0.375 para el locus P135 a 0.937 para el locus YWLL8. Los marcadores más polimórficos fueron el YWLL44, LCA24, GLM4, PCTD17, LCA66, VOLP1, LCA5, YWLL36, LCA65 y YWLL8, siendo este último considerablemente informativo (TABLA 4.1.).

#### **4.1.1.2. Análisis a nivel de poblaciones**

Se encontró un total de 208 alelos en las poblaciones de vicuñas del Altiplano boliviano. La población que presentó los valores más bajos en número de alelos ( $A=103$ ), riqueza alélica ( $AR=9.80$ ), riqueza alélica corregida por rarefacción ( $K_{(34)}=7.72$ ) y número medio de alelos por locus ( $MNA=5.15$ ) fue la L1 ubicada al norte de La Paz (Altiplano norte). Por otra parte, la población P2 fue la que mostró los valores más altos en  $A$  (151),  $AR$  (14.30),  $K_{(34)}$ (10.05) y  $MNA$  (7.55) (TABLA 4.2.).

##### **4.1.1.2.1. Alelos privados por población**

Se observó un total de 43 alelos privados (PA). En la población P2 se encontraron 27 variantes alélicas únicas, mientras que en las poblaciones L1 y O1 no se observaron alelos privados (TABLA 4.2.).

##### **4.1.1.2.2. Heterocigosidad e Índice de consanguinidad**

Las 6 poblaciones estudiadas mostraron valores de heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) entre 0.562 para L1 y 0.671 para P2. Los valores de heterocigosidad observada ( $H_o$ ) variaron

entre 0.539 para L1 a 0.611 para P1. En todas las poblaciones se observó un menor número de heterocigotos a lo esperado bajo equilibrio Hardy-Weinberg, con un exceso de homocigotos. De las cuatro poblaciones que mostraron un valor  $F_{IS}$  significativamente diferente de cero, el más alto se observó para P2 (0.111) (TABLA 4.2.).

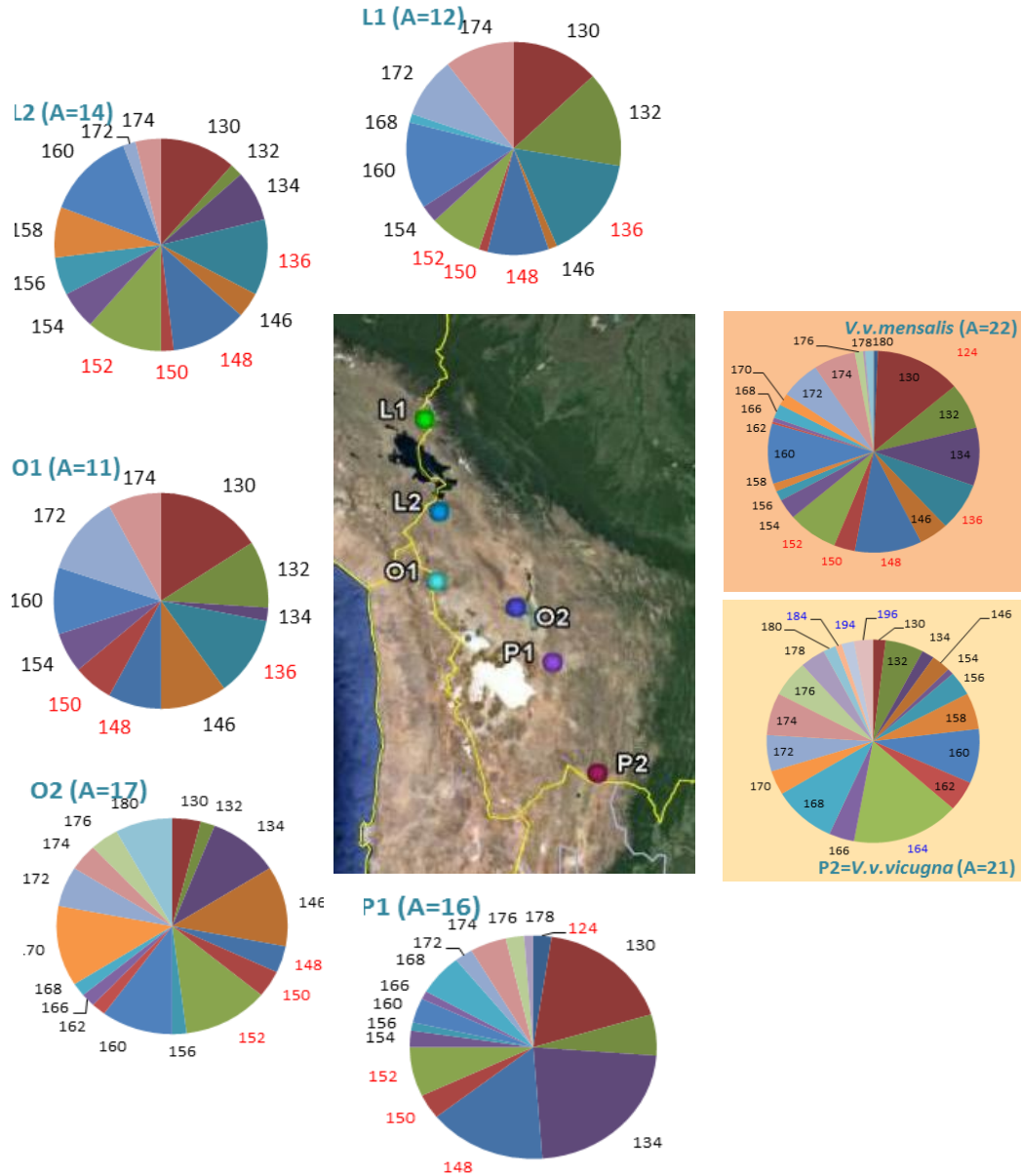
**TABLA 4.2. Indicadores de diversidad genética de 6 poblaciones de vicuñas mediante el análisis de 20 loci microsatélites.**

	Población	N <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	AR <sup>3</sup>	K <sub>(34)</sub> <sup>4</sup>	MNA <sup>5</sup>	PA <sup>6</sup>		He <sup>7</sup>	Ho <sup>8</sup>	F <sub>IS</sub> <sup>9</sup>	Diversidad interna	Perdida Ganancia
							Especie <i>V.vicugna</i>	Subespecie <i>V.v.mensalis</i>					
<b><i>V.v.mensalis</i></b>													
1	L1	40	103	9.80	7.72	5.15	0	0	0.562	0.539	0.042*	0.768	0.684
2	L2	28	116	10.50	9.07	5.80	4	6	0.608	0.591	0.029	0.128	0.233
3	O1	29	117	10.30	8.91	5.85	0	3	0.600	0.577	0.040	0.387	0.583
4	O2	26	123	11.05	9.58	6.15	3	8	0.601	0.550	0.087***	0.115	0.105
5	P1	43	141	13.35	9.76	7.05	9	19	0.642	0.611	0.049***	-0.464	0.032
<b><i>V.v.vicugna</i></b>													
6	P2	52	151	14.30	10.05	7.55	27	-	0.671	0.598	0.111***	-1.055	-3.749
	<i>V. vicugna</i>	218	208	22.05	11.24	10.40	43	-	0.698	0.580	0.169***	-	-
	<b>Subespecie</b>				<b>K<sub>(98)</sub><sup>4</sup></b>								
1	<i>V.v.mensalis</i>	166	181	18.50	14.17	9.05	57	36	0.637	0.575	0.098***	0.800	-2.698
2	<i>V.v.vicugna</i>	52	151	14.30	14.11	7.55	27	0	0.671	0.598	0.111***	-0.251	-3.749

<sup>1</sup>N: Tamaño muestral; <sup>2</sup>A: Número de alelos por población; <sup>3</sup>AR: Riqueza alélica; <sup>4</sup>K<sub>(j)</sub>: Riqueza alélica por rarefacción; <sup>5</sup>MNA: Número medio de alelos por locus; <sup>6</sup>PA: Alelos privados; <sup>7</sup>He: Heterocigosidad esperada según el equilibrio de Hardy-Weinberg; <sup>8</sup>Ho: Heterocigosidad observada; <sup>9</sup>F<sub>IS</sub>: Coeficiente de endogamia; \*\*\*p<0.001; \*\*p<0.01; \*p<0.05.

#### 4.1.1.2.3. Distribución de la diversidad genética

Se utilizó al marcador microsatélite más informativo (YWLL8) para contrastar su diversidad alélica y la ubicación geográfica de las poblaciones evaluadas (FIGURA 4.1.; FIGURA S2.; FIGURA S3. y FIGURA S4.).



**FIGURA 4.1.** Distribución alélica por población mediante el análisis de frecuencias alélicas del locus microsatélite YWLL8. Donde: L1=La Paz-ANMIN-Apolobamba, L2=La Paz-Yanarico-San Andrés y Santiago de Machaca, O1=Oruro-Curahua de Carangas, O2=Oruro-Toledo y Santiago de Andamarca, P1=Potosí-Tomave y P2=Potosí-Villazón. Alelos privados de *V.v.mensalis* indicados en rojo, alelos privados de *V.v.vicugna* indicados en azul.



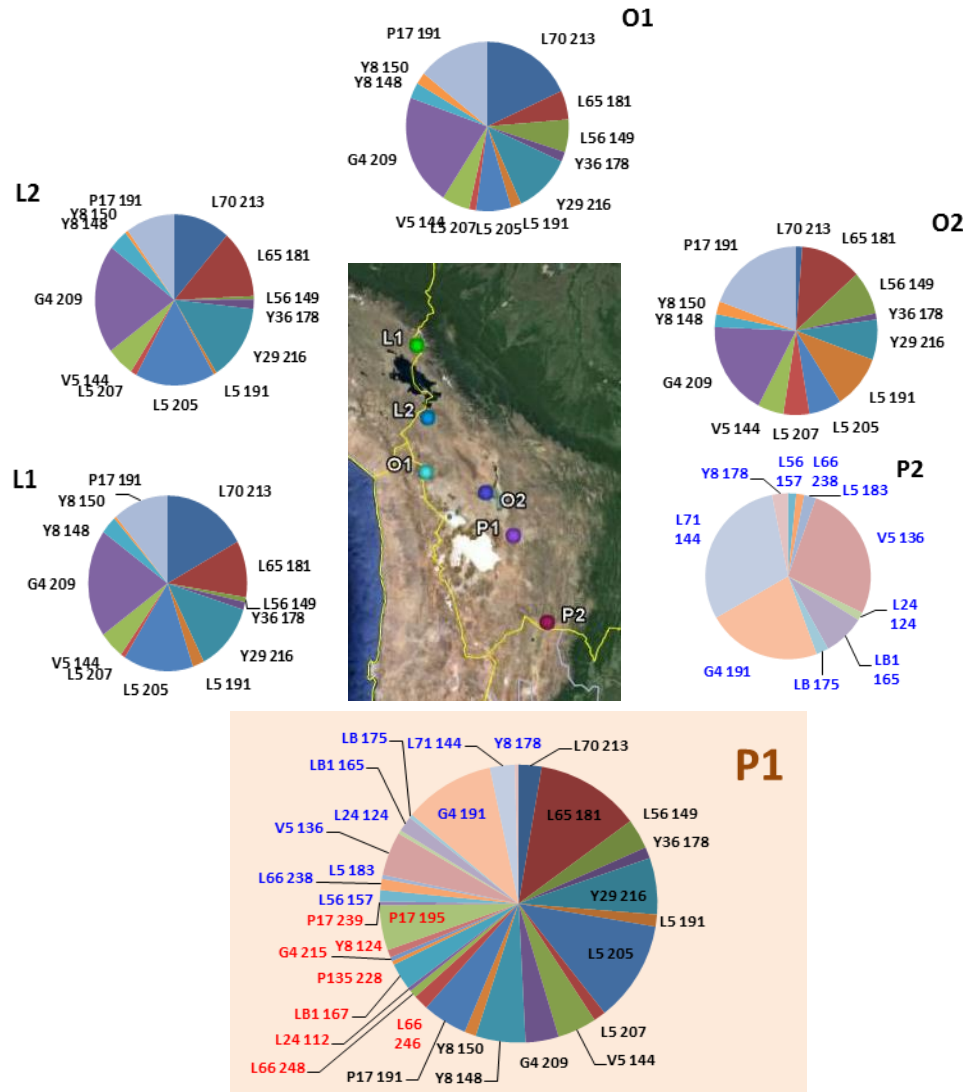
La diversidad alélica del locus YWLL8 (A=26) revela que O2, P1 y P2 mostraron mayor diferencia que el resto de las poblaciones en el número de alelos para este marcador (A=17, 16 y 21, respectivamente) (FIGURA 4.1.). Por otra parte, poblaciones de vicuñas del norte y centro de Bolivia (L1, L2 y O1) comparten entre el 39 y 42% de sus alelos, y las del centro y sur (O2, P1 y P2) comparten entre 46 al 54% de los alelos observados para este marcador (TABLA 4.3.).

**TABLA 4.3. Alelos compartidos entre 6 poblaciones de vicuñas para el locus microsatélite YWLL8.**

	Poblaciones		Alelos compartidos	
			Nº	%
1	L1	L2	11	42
2	L1	O1	10	39
3	L1	O2	10	39
4	L1	P1	10	39
5	L1	P2	8	31
6	L2	O1	11	42
7	L2	O2	11	42
8	L2	P1	11	42
9	L2	P2	10	39
10	O1	O2	9	35
11	O1	P1	9	35
12	O1	P2	8	31
13	O2	P1	13	50
14	O2	P2	14	54
15	P1	P2	12	46

Cotejando la FIGURA 4.1. y TABLA 4.3. se observó que el porcentaje de alelos compartidos por par poblacional para el locus microsatélite YWLL8, tiende a disminuir de norte a sur (L1→P2). Asimismo es importante subrayar la configuración genética intermedia de P1 (FIGURA 4.1.) al mismo tiempo que presenta un número total de alelos alto (A=141) después de P2 (A=151).

Considerando la comparación de la diversidad alélica para YWLL8 y la configuración intermedia de P1, la FIGURA 4.2. muestra la distribución de alelos de esta población en relación a las poblaciones localizadas al norte y sur de la misma.



**FIGURA 4.2.** Distribución alélica de la población P1 (Tomave) respecto al resto de poblaciones (L1, L2, O1, O2 y P2). Donde: L1=La Paz-ANMIN-Apolobamba, L2=La Paz-Yanarico-San Andrés y Santiago de Machaca, O1=Oruro-Curahua de Carangas, O2=Oruro-Toledo y Santiago de Andamarca, P1=Potosí-Tomave y P2=Potosí-Villazón. Alelos compartidos con el grupo L1-L2-O1-O2 indicados en negro, alelos compartidos con la población P2 indicados en azul y alelos privados de la población P1 indicados en rojo.

Para 32 alelos comparados para P1 en el total de loci, se observó que con las poblaciones L1, L2, O1 y O2 comparte 13 alelos: LCA70 (213), LCA65 (181), LCA56 (149), YWLL36 (178), YWLL29 (216), LCA5 (191), LCA5 (205), LCA5 (207), VOLP5 (144), GLM4 (209),

YWLL8 (148), YWLL8 (150) y PCTD17 (191), cuyas frecuencias variaron entre 0.0132 a 0.5690. Por otro lado P1 comparte 10 alelos con P2: LCA56 (157), LCA66 (238), LCA5 (183), VOLP5 (136), LCA24 (124), LAB1 (165), LAB (175), GLM4 (191), LCA71 (144) y YWLL8 (178), cuyas frecuencias variaron entre 0.0125 a 0.3725. Los alelos privados para la población P1 fueron: LCA66 (246), LCA66 (248), LCA24 (112), LAB1 (167), P135 (228), GLM4 (2150, YWLL8 (124), PCTD17 (195) y PCTD17 (239) con frecuencias que oscilaron entre 0.0116 a 0.1395 (FIGURA 4.2.).

#### 4.1.1.2.4. Cuello de botella

En el Test estandarizado todas las poblaciones, excepto P2, mostraron diferencias significativas, entre la heterocigosidad calculada a partir de los alelos y la calculada considerando las frecuencias alélicas, bajo los modelos mutacional escalonado ("step-wise") y mutacional de dos fases ("two-phase"). Las poblaciones L2, O1, O2 y P1 mostraron diferencias significativas entre ambos parámetros; sin embargo, para el test de Wilcoxon ninguna de las diferencias fue significativa (TABLA 4.4.).

**TABLA 4.4. Probabilidad de exceso de heterocigotos para 6 poblaciones de vicuñas mediante el análisis de 20 loci microsatélites bajo dos pruebas: 1) Test estandarizado y 2) Test Wilcoxon. Donde: T.P.M.= Modelo mutacional "two-phase", S.M.M.= Modelo mutacional "step-wise".**

	Población	Test estandarizado		Test Wilcoxon	
		T.P.M.	S.M.M.	T.P.M.	S.M.M.
1	L1	0.089	0.001*	0.608	0.869
2	L2	0.034*	0.000*	0.835	0.947
3	O1	0.002*	0.000*	0.968	0.985
4	O2	0.000*	0.000*	0.892	0.992
5	P1	0.001*	0.000*	0.994	1.000
6	P2	0.370	0.053	0.237	0.594

\*p<0.05

#### 4.1.1.3. Análisis a nivel de subespecies

A nivel de subespecie, *V.v.mensalis* presentó valores de número de alelos (A=181),

riqueza alélica ( $AR=18.50$ ), riqueza alélica corregida por rarefacción ( $K_{(98)}=14.17$ ) y número medio de alelos por locus ( $MNA=9.05$ ) más altos que *V.v.vicugna* ( $A=151$ ,  $AR=14.30$ ,  $K_{(98)}=14.11$  y  $MNA=7.55$ ). De igual manera, *V.v.mensalis* mostró mayor número de alelos privados ( $PA=57$ ) que *V.v.vicugna* ( $PA=27$ ) (TABLA 4.2.).

#### **4.1.1.3.1. Heterocigosidad e Índice de consanguinidad**

Tanto la heterocigosidad esperada ( $He=0.671$ ) como la observada ( $Ho=0.598$ ) son más altas en *V.v.vicugna* frente a *V.v.mensalis*, en la cual alcanzan valores de 0.637 y 0.575, respectivamente. La  $Ho$  fue menor que la  $He$  en ambas subespecies, con exceso de homocigosis en ambos casos. El índice de consanguinidad ( $F_{IS}$ ) calculado para *V.v.mensalis* (0.098) fue menor que el observado en *V.v.vicugna* (0.111) y ambas significativas (TABLA 4.2.).

#### **4.1.1.3.2. Distribución de la diversidad genética**

Cuando se comparó la distribución alélica a nivel de subespecies, para los 26 alelos del marcador YWLL8, se observó que *V.v.mensalis* presenta 5 alelos privados (124, 136, 148, 150 y 152) para este locus, siendo el alelo 148 común en todas las poblaciones de esta subespecie. El alelo 124 se observa únicamente en la población P1 y el 136 se encuentra distribuido en las poblaciones L1, L2 y O1; y, por último, los alelos 150 y 152 se presentan en todas las poblaciones excepto en O1, donde solo se encuentra al alelo 150 (FIGURA 4.1.). En tanto la subespecie *V.v.vicugna* (P2) mostró 4 alelos privados (164, 184, 194 y 196) (FIGURA 4.1.).

### **4.1.2. Estructura genética y diferenciación poblacional**

#### **4.1.2.1. Análisis a nivel de poblaciones**

##### **4.1.2.1.1. $F_{ST}$**

La TABLA 4.5. muestra los valores por pares de diferenciación genética entre todas las poblaciones, medidos por el índice  $F_{ST}$ , que refleja niveles de estructuración poblacional desde valores bajos ( $F_{ST}<0.05$ ) a elevados ( $F_{ST}>0.25$ ). Estos datos demuestran un leve

aislamiento por distancia, el menor índice de diferenciación fue observado entre las poblaciones L1-O1 ( $F_{ST}=0.003$ ), mientras que la diferenciación más alta se encontró entre L1-P2 ( $F_{ST}=0.240$ ). La población que mostró la mayor diferenciación genética en comparación con el resto fue P2 ( $F_{ST}=0.135-0.240$ ). Todos los valores de  $F_{ST}$  fueron significativos excepto para el par L1-O1.

**TABLA 4.5. Diferenciación poblacional y flujo génico entre 6 poblaciones de vicuñas, sobre frecuencias alélicas de 20 loci microsateélites. Valores pareados de diferenciación genética, por arriba de la diagonal valores de  $F_{ST}$ , por debajo valores del número de migrantes estimados por generación.**

Población	L1	L2	O1	O2	P1	P2
L1	-	0.024***	0.003	0.109***	0.103***	0.240***
L2	10.01	-	0.023***	0.081***	0.072***	0.216***
O1	86.14	10.67	-	0.079***	0.081***	0.210***
O2	2.05	2.83	2.92	-	0.040***	0.184***
P1	2.18	3.24	2.83	6.07	-	0.135***
P2	0.79	0.91	0.94	1.11	1.60	-

*V.v.mensalis* (L1, L2, O1, O2 y P1); *V.v.vicugna* (P2)

\*\*\* $p < 0.001$

#### 4.1.2.1.2. Número de migrantes por generación

La estimación del flujo génico ( $Nm$ ) entre las poblaciones variaron entre 0.79 para el par L1-P2 y 86.14 para el par L1-O1, sugiriendo niveles de flujo génico altamente diferentes (TABLA 4.5.).

#### 4.1.2.1.3. Análisis de varianza molecular

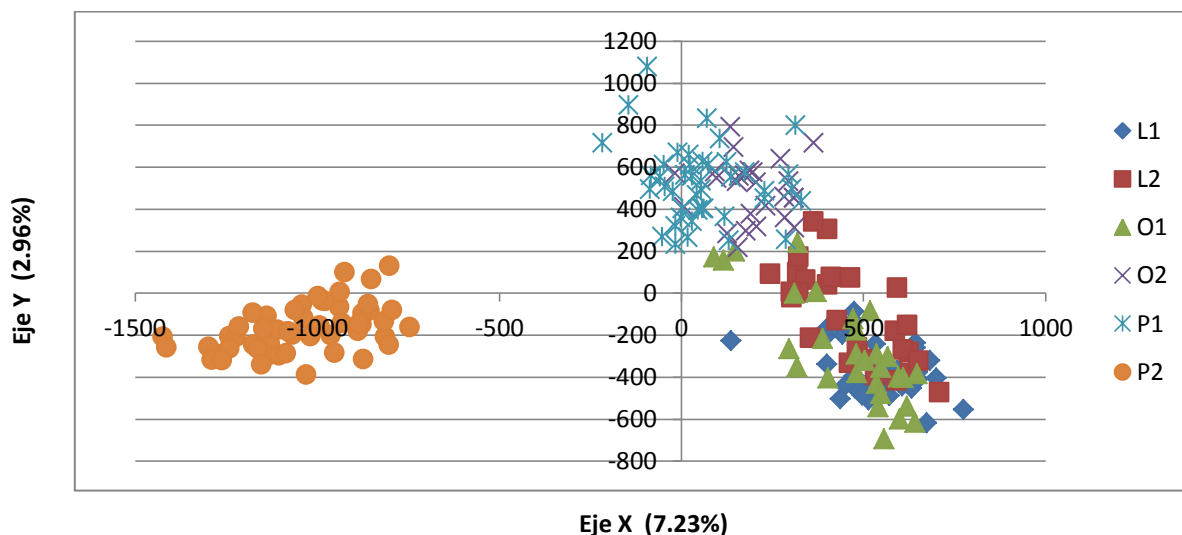
El análisis de varianza molecular (AMOVA) mostró que la variación genética promedio observada entre poblaciones fue de 14.89% y el 85.11% ocurre dentro de las poblaciones, con una proporción considerable a nivel individual (83.67%). El valor de  $F_{ST}$  (0.15) calculado sugiere una diferenciación genética importante entre las poblaciones de vicuñas de Bolivia (TABLA 4.6.).

**TABLA 4.6. Análisis de varianza molecular (AMOVA) para 6 poblaciones de vicuñas, mediante el análisis de 20 loci microsatélites. Estructuradas como un grupo, 2 grupos (por subespecies) y como subespecies.**

Fuente de variación	Especie	Subespecies
Entre poblaciones/subespecies	14.89	-
Entre grupos	-	19.14
Entre poblaciones dentro de grupos	-	4.85
Dentro de poblaciones/subespecies	85.11	76.01
Entre individuos dentro de poblaciones/subespecies	1.46	1.30
Individual	83.67	74.73
$F_{ST}$	0.15	0.24

#### 4.1.2.1.4. Análisis factorial de correspondencia

El análisis factorial de correspondencia bidimensional (AFC-2D) muestra una estructuración poblacional en 2 grupos con 10.19% de inercia total. El eje X separa el grupo poblacional L1-L2-O1-O2-P1 de la población P2, ubicadas respectivamente a la derecha e izquierda de la coordenada 0. En el grupo más numeroso, las poblaciones se distribuyen en un gradiente sobre el eje Y; ubicándose, de abajo hacia arriba y en un mismo espacio las poblaciones L1 y O1, seguidas más arriba por las poblaciones L2, O2 y P1, compartiendo asimismo la población O2, en gran parte, un mismo espacio con la P1; mostrando L2 y P1 una mayor dispersión que las demás (FIGURA 4.3.).



**FIGURA 4.3. Distribución de las muestras según el análisis factorial de correspondencia bidimensional por población de vicuñas mediante el análisis de 20 loci microsatélites.**

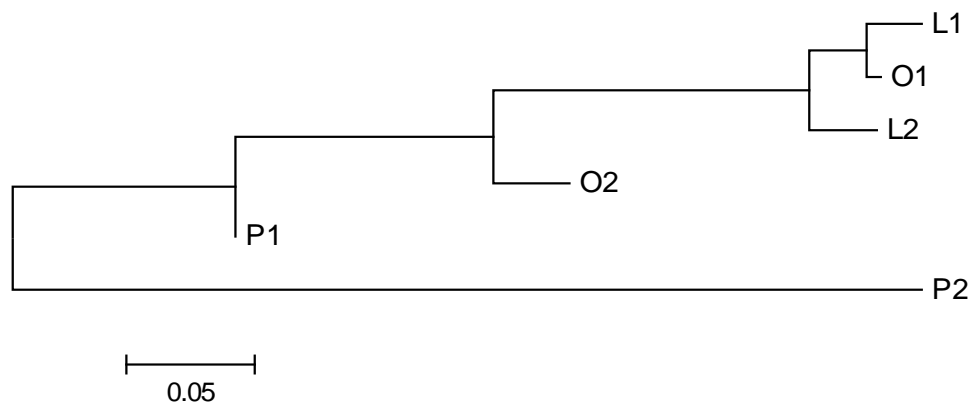
#### 4.1.2.1.5. Distancia genética y dendrograma

A partir de las distancias genéticas de Nei (1972) (TABLA 4.7.) se construyó el árbol "neighbour-joining", que refleja la relación entre las 6 poblaciones analizadas; que conllevó a la formación de dos grandes grupos, el primero conteniendo las poblaciones L1, L2, O1, O2 y P1 y el segundo solamente a P2. En el primer grupo, a su vez, se observa la estrecha relación entre L1 y O1, además del carácter intermedio de L2 (FIGURA 4.4.).

**TABLA 4.7. Distancias genéticas de Nei (1972) entre pares de 6 poblaciones de vicuñas mediante el análisis de 20 loci microsatélites.**

Población	L1	L2	O1	O2	P1	P2
L1	-					
L2	0.057***	-				
O1	0.027	0.067***	-			
O2	0.208***	0.177***	0.170***	-		
P1	0.206***	0.165***	0.184***	0.097***	-	
P2	0.735***	0.716***	0.665***	0.542***	0.379***	-

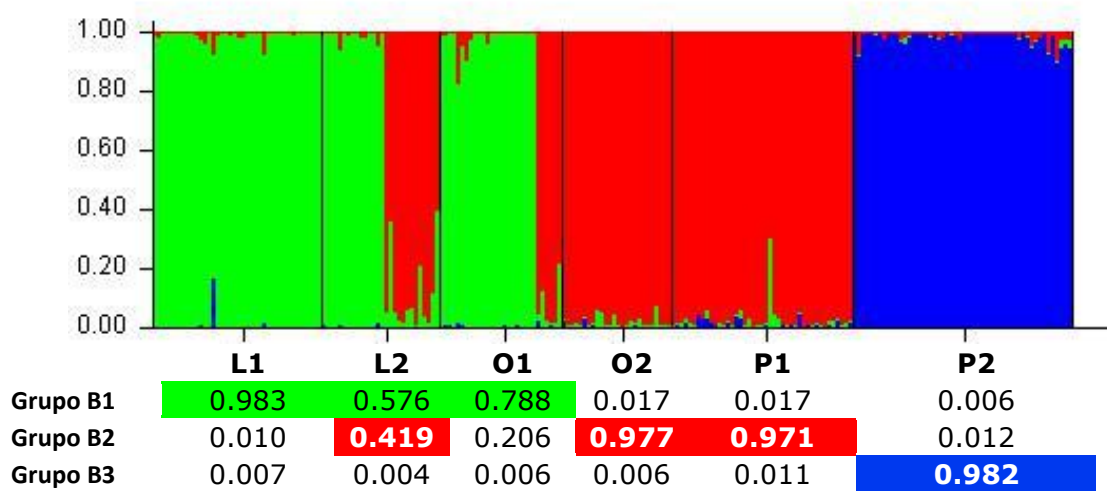
*V.v.mensalis* (L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub> y P<sub>1</sub>); *V.v.vicugna* (P<sub>2</sub>)  
 \*\*\*p<0.001



**FIGURA 4.4. Árbol "neighbour-joining" construido a partir de las distancias genéticas de Nei (1972) entre 6 poblaciones de vicuñas mediante el análisis de 20 loci microsatélites.**

#### 4.1.2.1.6. Análisis de agrupamiento bayesiano

El análisis bayesiano mediante el programa STRUCTURE reveló la estructuración de las poblaciones, analizadas con un K igual a 3, en un valor Delta K igual a 206.40 (TABLA S3. y FIGURA S5.). Todas las repeticiones en K=3 resuelven agrupamientos idénticos, donde las poblaciones L1 y O1 mostraron un porcentaje de asignación al grupo B1 de 98.3 y 78.8% respectivamente; a su vez O2 (97.7%) y P1 (97.1%), fueron asignadas dentro del grupo B2 y la población P2 (98.2%) dentro del grupo B3. Por otro lado, la población L2 muestra una estructura mixta con un porcentaje de asignación del 57.6% al grupo B1 y 41.9% al grupo B2 (FIGURA 4.5.).



**FIGURA 4.5.** Representación gráfica del agrupamiento sugerido por el análisis bayesiano realizado para evaluar la estructura de las poblaciones de vicuñas estudiadas considerando 20 loci microsatélites. Cada color representa un grupo genético diferente (K=3). Cada población está dividida por líneas negras. Por debajo de la gráfica se muestra la proporción de asignación de cada población a los grupos genéticos identificados.

#### 4.1.2.2. Análisis a nivel de subespecies

##### 4.1.2.2.1. $F_{ST}$ y Número de migrantes por generación

Las subespecies de vicuñas se diferenciaron con un  $F_{ST}$  igual a 0.18 (\*\* $p < 0.01$ ). El flujo génico entre las subespecies fue de 1.14 migrantes por generación (Nm).



#### 4.1.2.2.2. Análisis de varianza molecular

Cuando las poblaciones fueron agrupadas por subespecie como: 1) *V.v.mensalis*=L1, L2, O1, O2 y P1 y 2) *V.v.vicugna*=P2, el análisis de varianza molecular (AMOVA) mostró una diferenciación entre subespecies del 19.14% y entre poblaciones dentro de subespecies del 4.85%. Sin embargo, la mayor diferenciación genética se encuentra dentro de las subespecies (76.01%) a nivel individual (74.73%). El  $F_{ST}$  global estimado para este análisis fue de 0.24 (TABLA 4.6.).

#### 4.1.2.2.3. Análisis factorial de correspondencia

El eje X (AFC-2D, 10.19% de inercia total) separa claramente las poblaciones de las subespecies *V.v.mensalis* (L1, L2, O1, O2 y P1) de la *V.v.vicugna* (P2), confirmando los resultados obtenidos anteriormente. Las poblaciones de *V.v.mensalis* se distribuyen en una gradiente continua, en tanto las de *V.v.vicugna* ocupan un espacio de coordenadas único en el eje X (FIGURA 4.3.).

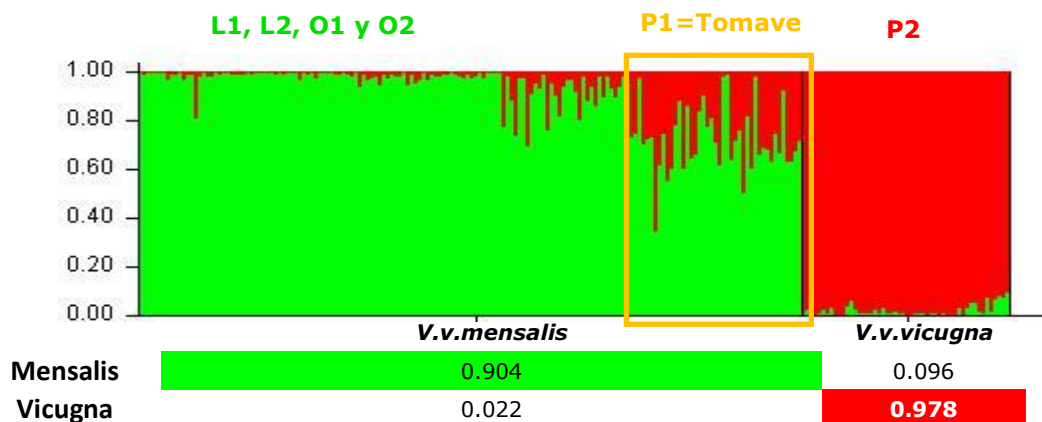
#### 4.1.2.2.4. Distancia genética y dendrograma

La distancia genética de Nei (1972) estimada entre las subespecies fue de 0.54. El árbol "neighbour-joining" forma dos grupos principales, que separa claramente las poblaciones de *V.v.mensalis* (L1, L2, O1, O2 y P1) de la población de *V.v.vicugna* (P2) (FIGURA 4.4.).

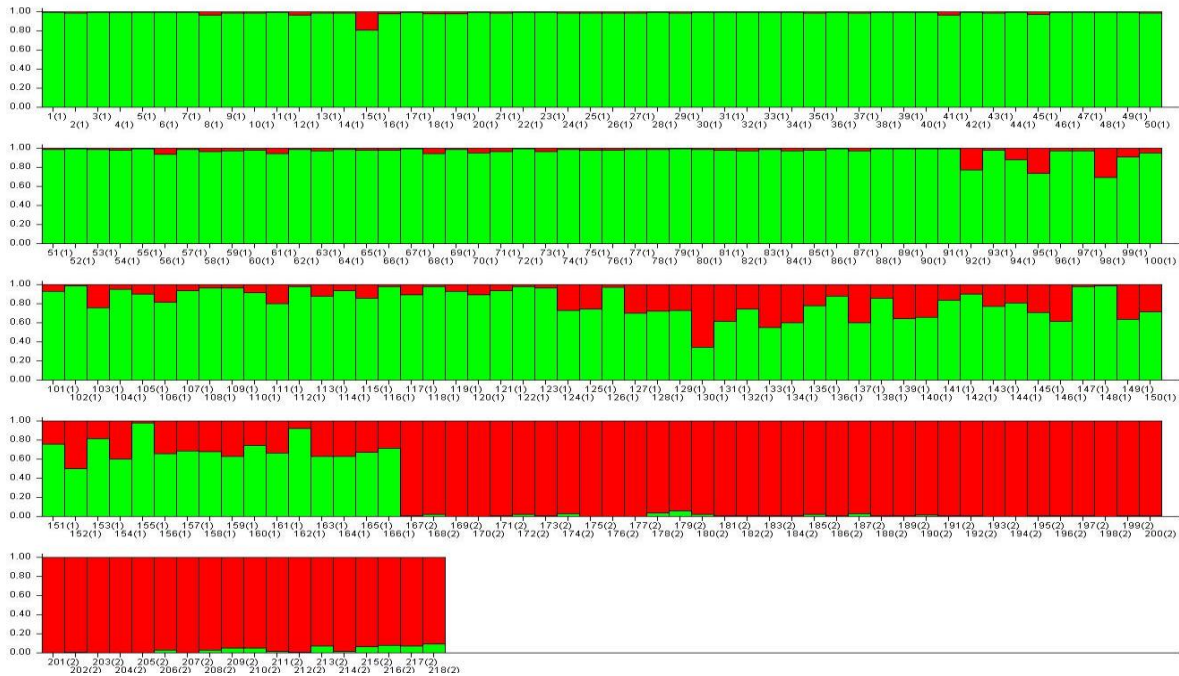
#### 4.1.2.2.5. Análisis de agrupamiento bayesiano

El análisis por subespecies mediante el programa STRUCTURE proporciona evidencia de estructura genética ( $K=2$ ) entre *Mensalis* y *Vicugna* validadas con un Delta K igual a 108.40 (TABLA S4. y FIGURA S6.). La FIGURA 4.6. muestra respectivamente la asignación poblacional e individual de las vicuñas analizadas por subespecie. Todas las vicuñas de la subespecie *V.v.mensalis* (166=L1, L2, O1, O2 y P1) fueron asignadas con un 90.4% dentro del grupo *Mensalis*, mientras que el grupo *Vicugna* incluye todas las vicuñas de la subespecie *V.v.vicugna* (52=P2) con un porcentaje de asignación de 97.8%. A pesar de que los valores de asignación fueron importantes, se observaron individuos asignados al

grupo Mensalis que muestran una reducida similitud genética con el grupo Vicugna (hasta el 49.1%, FIGURA 4.7.), siendo la totalidad de estos individuos correspondientes a la población P1.



**FIGURA 4.6.** Representación gráfica del agrupamiento sugerido por el análisis bayesiano realizado para evaluar la estructura de poblaciones de vicuñas evaluadas por subespecie mediante el análisis de 20 loci microsatélites. Cada color representa un grupo genético diferente (K=2). Las poblaciones de vicuñas consideradas como subespecies diferentes están divididas por líneas negras. Por debajo de la gráfica se muestra la proporción de asignación de las poblaciones de vicuñas consideradas como subespecies diferentes a los grupos genéticos identificados.



**FIGURA 4.7. Representación gráfica de asignación individual a los grupos genéticos (K=2) identificados por el análisis bayesiano mediante el análisis de 20 loci microsatélites en 218 individuos. Donde: Verde= Mensalis (*V.v.mensalis*) y Rojo= Vicugna (*V.v.vicugna*). Además L1=1-40, L2=41-68, O1=69-97, O2=98-123, P1=124-166 y P2=167-218.**

## 4.2. Análisis poblacional de *V.v.mensalis*

### 4.2.1. Diversidad genética

El análisis realizado sobre 20 loci microsatélites mostró que el promedio de alelos por locus (A) fue de 9.1, variando desde 3 alelos para los marcadores P132 y LCA71 hasta 22 alelos para el marcador YWLL8. La heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) más baja se observó para el locus P132 (0.318), y la más alta se encontró para el marcador YWLL8 (0.926). El locus con la menor heterocigosidad encontrada ( $H_o$ ) fue P135 (0.153) y con mayor heterocigosidad YWLL8 presentando un valor de 0.897 (TABLA 4.8.).

**TABLA 4.8. Parámetros de diversidad genética estimada para 20 loci microsatélites analizados en 5 poblaciones de *V.v.mensalis* del Altiplano boliviano.**

	<b>Locus</b>	<b>Rango</b>	<b>A<sup>1</sup></b>	<b>He<sup>2</sup></b>	<b>Ho<sup>3</sup></b>	<b>HWE<sup>4</sup></b>	<b>F<sub>IS</sub><sup>5</sup></b>	<b>F<sub>(nulos)</sub><sup>6</sup></b>	<b>PIC<sup>7</sup></b>
1	LCA70	213-219	4	0.687	0.671	NS	0.023	+0.0046	0.619
2	LCA65	165-191	13	0.859	0.853	NS	0.007	+0.0035	0.843
3	LCA56	137-169	11	0.582	0.494	NS	0.152***	+0.0787	0.562
4	LCA66	218-248	12	0.787	0.690	NS	0.124**	+0.0678	0.762
5	YWLL36	140-182	15	0.861	0.813	NS	0.056	+0.0268	0.843
6	YWLL29	216-236	6	0.575	0.563	NS	0.021	+0.0044	0.511
7	YWLL40	180-190	6	0.618	0.500	***	0.192**	+0.0916	0.568
8	YWLL44	102-134	12	0.705	0.634	NS	0.102*	+0.0334	0.678
9	LCA5	183-213	11	0.767	0.692	NS	0.097**	+0.0476	0.732
10	VOLP5	132-152	7	0.490	0.503	NS	-0.027	-0.0260	0.463
11	VOLP1	216-232	9	0.764	0.628	**	0.179***	+0.1040	0.728
12	LCA24	108-126	9	0.703	0.598	NS	0.150**	+0.0837	0.672
13	P86	217-237	4	0.460	0.400	NS	0.131*	+0.0729	0.401
14	LAB1	157-179	8	0.484	0.456	NS	0.058	+0.0252	0.444
15	P135	212-228	5	0.327	0.153	***	0.532***	+0.3510	0.309
16	P132	85-97	3	0.318	0.236	*	0.257***	+0.1518	0.280
17	GLM4	191-215	11	0.721	0.658	***	0.087*	+0.0446	0.678
18	LCA71	140-144	3	0.361	0.348	NS	0.036	+0.0156	0.307
19	YWLL8	124-180	22	0.926	0.897	-	0.031	+0.0149	0.918
20	PCTD17	191-239	10	0.742	0.712	NS	0.041	+0.0188	0.699
	<b>Promedio</b>	-	<b>9.1</b>	<b>0.637</b>	<b>0.575</b>	-	-	-	<b>0.601</b>

<sup>1</sup>A: Número de alelos por locus; <sup>2</sup>He: Heterocigosidad esperada según el equilibrio de Hardy-Weinberg; <sup>3</sup>Ho: Heterocigosidad observada; <sup>4</sup>HWE: Desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg (corrección Bonferroni); <sup>5</sup>F<sub>IS</sub>: Coeficiente de endogamia; <sup>6</sup>F<sub>(nulos)</sub>: Frecuencia de alelos nulos estimada para cada locus; <sup>7</sup>PIC: Contenido de información polimórfica; \*\*\*p<0.001; \*\*p<0.01; \*p<0.05; NS p>0.05.

Se observó un menor número de heterocigotos de lo esperado bajo el equilibrio Hardy-Weinberg en todos los marcadores excepto VOLP5, cuyo coeficiente de endogamia (F<sub>IS</sub>= -0.027) fue negativo, mostrando exceso de heterocigotos. El promedio del contenido de información polimórfica (PIC) fue de 0.601, oscilando entre 0.280 (P132) y 0.918 (YWLL8) (TABLA 4.8.).

El análisis de poblaciones de *V.v.mensalis* detectó 181 alelos diferentes en 166 individuos analizados con 20 marcadores microsatélites. Se detectaron en total 36 variantes alélicas únicas (PA) distribuidas en 4 de las poblaciones de *V.v.mensalis* (L2, O1, O2 y P1) cuyas frecuencias varían entre 0.0116 y 0.2821. La población P1 mostró el mayor número de alelos privados (PA=19), mientras que la O1 mostró 3 y la población L1 ninguno (TABLA 4.2.).

La población que presentó los valores más bajos para los parámetros de diversidad fue L1

que representa también la de menor diversidad genética en el análisis global, en contraste con la población P1 que presentó la mayor diversidad entre las poblaciones de *V.v.mensalis*. La heterocigosidad observada ( $H_o$ ) es menor de lo esperado ( $H_e$ ) con un exceso de homocigosis en todas las poblaciones, observando el valor más bajo del coeficiente de endogamia para L2 ( $F_{IS}=0.029$ ) y el más alto para O2 ( $F_{IS}=0.087$ ) (TABLA 4.2.).

#### 4.2.2. Estructura genética y diferenciación poblacional

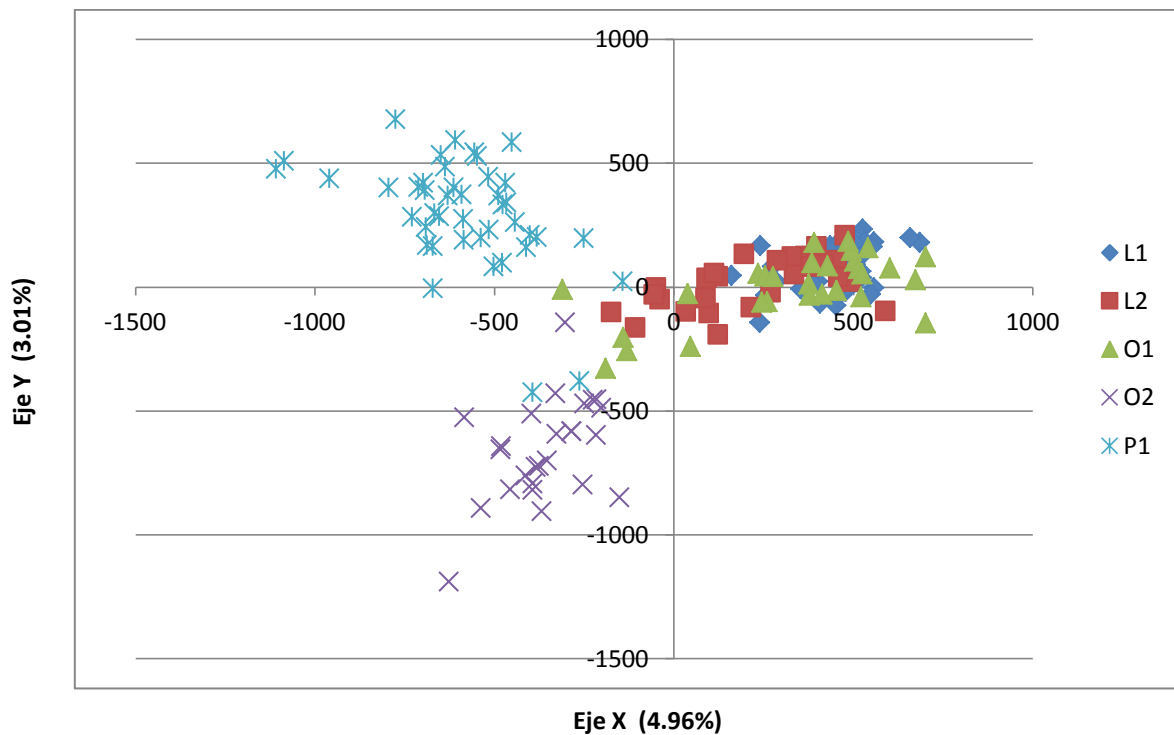
La comparación entre poblaciones de *V.v.mensalis* mostró la menor diferenciación genética entre L1-O1 ( $F_{ST}=0.003$ ); por el contrario, se registró la diferenciación más alta entre las poblaciones L1-O2 ( $F_{ST}=0.109$ , \*\*\* $p<0.01$ ) (TABLA 4.5.).

El índice de correlación entre las distancias genéticas y geográficas, dado por el Test de Mantel, de las poblaciones de *V.v.mensalis* estudiadas no fue significativo ( $r=0.51$ ,  $p=0.067$ ) de manera que no existe relación entre las distancias genéticas y geográficas (TABLA S2.).

El número de migrantes por generación ( $N_m$ ) promedio fue de 12.90 individuos. Todos los valores sugieren niveles de flujo génico diferentes ( $N_m=2.05-10.67$ ), excepto para el estimado entre las poblaciones L1 y O1 que mostró el valor más alto para este parámetro ( $N_m=86.14$ ) (TABLA 4.5.).

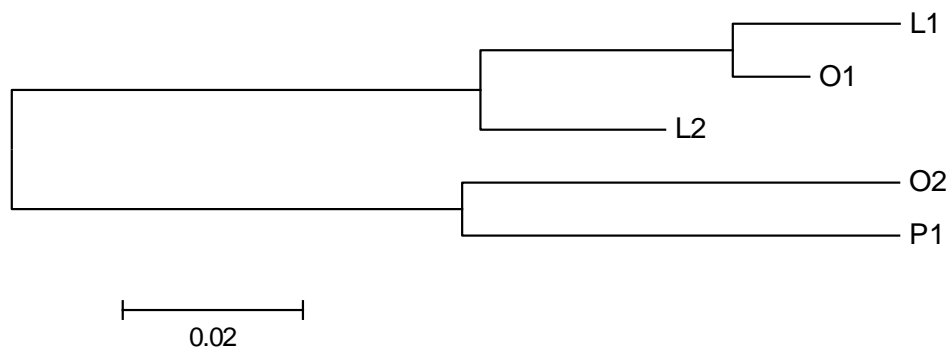
El análisis de varianza molecular (AMOVA) mostró un nivel de diferenciación genética ( $F_{ST}$ ) global igual a 0.07, con el 92.79% de ésta generada dentro de las poblaciones y 92.04% dentro de individuos, mientras que las poblaciones variaron en un 7.21%.

La FIGURA 4.8. muestra los resultados del análisis factorial de correspondencia bidimensional (AFC-2D) para las poblaciones de la subespecie *V.v.mensalis*, con un valor total de inercia de 7.97%. Se observa la estructuración poblacional en 2 grupos, el primero se distribuye en un gradiente, de derecha a izquierda y de arriba hacia abajo, de las poblaciones L1, O1, L2 y O2, mientras que el segundo grupo corresponde a las vicuñas de la población P1 que quedan aisladas del resto ocupando un espacio único.



**FIGURA 4.8.** Distribución de las muestras según el análisis factorial de correspondencia bidimensional por población de *V.v.mensalis* del Altiplano boliviano mediante el análisis de 20 loci microsatélites.

El dendrograma mostrado en la FIGURA 4.9., constata la relación entre poblaciones mostrada en el "neighbour-joining" de la FIGURA 4.4.



**FIGURA 4.9.** Árbol "neighbour-joining" construido a partir de las distancias genéticas de Nei (1972) entre 5 poblaciones de *V.v.mensalis* del Altiplano boliviano mediante el análisis de 20 loci microsatélites.

El análisis bayesiano mostró que las poblaciones de *V.v.mensalis* se estructuran en dos grupos genéticos (Delta K= 257.56) (TABLA S5. y FIGURA S7.). Así el grupo Mensalis 1 incluye las poblaciones L1 (97.8%) y O1 (78.7), mientras que el grupo Mensalis 2 incluye las poblaciones O2 (98,2%) y P1 (98.3%). En tanto la población L2 muestra una estructura mixta pero con una proporción de asignación ligeramente superior para el grupo Mensalis 1 (57.1%), esta asignación dividida corresponde a las zonas de muestreo Yanarico, asignada al grupo Mensalis 1, y San Andrés de Machaca-Santiago de Machaca asignada al grupo Mensalis 2 (FIGURA S8. y FIGURA S9.).

### **4.3. Análisis sub-poblacional de vicuñas (*V.v.mensalis*) del norte de La Paz (Región ANMIN-Apolobamba)**

#### **4.3.1. Diversidad genética**

El promedio de alelos por locus polimórfico fue de 5.7, con valores que oscilan entre 2 (P135, P132 y LCA71) a 13 (YWLL8) (TABLA 4.9.).

**TABLA 4.9. Parámetros de diversidad genética estimada para 23 loci microsatélites analizados en 5 sub-poblaciones de vicuñas del norte de La Paz dentro del ANMIN-Apolobamba.**

	<b>Locus</b>	<b>Rango</b>	<b>A<sup>1</sup></b>	<b>He<sup>2</sup></b>	<b>Ho<sup>3</sup></b>	<b>HWE<sup>4</sup></b>	<b>F<sub>IS</sub><sup>5</sup></b>	<b>F<sub>(nulos)</sub><sup>6</sup></b>	<b>PIC<sup>7</sup></b>
1	LCA77	239-255	9	0.602	0.533	NS	0.116*	+0.0517	0.540
2	LCA70	213-219	4	0.659	0.667	NS	-0.012	-0.0089	0.587
3	LCA65	171-191	10	0.832	0.787	NS	0.054	+0.0255	0.808
4	LCA56	137-167	7	0.555	0.591	NS	-0.065	-0.0443	0.510
5	LCA66	218-244	10	0.762	0.645	NS	0.154**	+0.0840	0.739
6	YWLL36	142-182	9	0.752	0.747	NS	0.006	-0.0057	0.711
7	YWLL29	216-226	3	0.613	0.609	NS	0.007	-0.0029	0.535
8	YWLL40	180-188	4	0.590	0.478	NS	0.190*	+0.0910	0.513
9	YWLL44	102-126	6	0.656	0.576	NS	0.122*	+0.0537	0.591
10	LCA5	189-209	7	0.716	0.637	NS	0.110	+0.0573	0.662
11	VOLP5	132-152	6	0.290	0.304	-	-0.050	-0.0481	0.273
12	VOLP1	216-232	8	0.623	0.562	NS	0.099	+0.0540	0.592
13	VOLP55	167-173	3	0.548	0.435	NS	0.207*	+0.1130	0.441
14	LCA24	116-126	5	0.743	0.620	NS	0.167**	+0.0954	0.698
15	P86	217-237	4	0.489	0.452	NS	0.077	+0.0280	0.419
16	LAB1	157-163	3	0.502	0.516	NS	-0.029	-0.0207	0.423
17	P135	212-220	2	0.093	0.075	-	0.188	+0.1001	0.088
18	YWLL43	143-151	4	0.424	0.301	NS	0.290***	+0.1589	0.382
19	P132	85-97	2	0.094	0.098	-	-0.046	-0.0159	0.089
20	GLM4	201-211	4	0.516	0.511	NS	0.011	-0.0029	0.398
21	LCA71	140-142	2	0.252	0.207	-	0.181	+0.0961	0.219
22	YWLL8	130-174	13	0.891	0.886	-	0.005	-0.0007	0.874
23	PCTD17	191-211	5	0.680	0.620	NS	0.089	+0.0415	0.610
	<b>Promedio</b>	-	<b>5.7</b>	<b>0.560</b>	<b>0.515</b>	-	-	-	<b>0.509</b>

<sup>1</sup>A: Número de alelos por locus; <sup>2</sup>He: Heterocigosidad esperada según el equilibrio de Hardy-Weinberg; <sup>3</sup>Ho: Heterocigosidad observada; HWE: Desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg (corrección Bonferroni); <sup>5</sup>F<sub>IS</sub>: Coeficiente de endogamia; <sup>6</sup>F<sub>(nulos)</sub>: Frecuencia de alelos nulos estimada para cada locus; <sup>7</sup>PIC: Contenido de información polimórfica; NS p>0.05.

Las heterocigosidades esperada (He) y observada (Ho) más altas se observaron para el locus YWLL8 (0.891 y 0.886), mientras que los valores más bajos para estos parámetros fueron para el locus P135 (0.093 y 0.075), respectivamente. En 18 marcadores se observó un menor número de heterocigotos de lo esperado bajo el equilibrio Hardy-Weinberg, excepto en los loci LCA70, LCA56, VOLP5, LAB1 y P132 que mostraron un exceso de heterocigotos (TABLA 4.9.).

El coeficiente de endogamia (F<sub>IS</sub>), estimado para cada locus en la población total, osciló entre -0.06515 a 0.29046 (LCA56 y YWLL43, respectivamente); 10 marcadores presentaron valores superiores a 0.1 para este parámetro. Los valores de contenido de información polimórfica (PIC) variaron de 0.088 (P135) a 0.874 para YWLL8 (TABLA 4.9.).



Se detectaron 130 alelos en 93 individuos analizados con 23 loci microsatélites. La TABLA 4.10. muestra que el número de alelos (A) en las sub-poblaciones varió de 81 en Hichucollo a 113 en Puyo Puyo. Asimismo los valores de riqueza alélica media (AR) variaron de 6.09 a 9.39, para Hichucollo y Puyo Puyo, respectivamente. La corrección de AR estimada por rarefacción (K) para todos los loci y sub-poblaciones estudiadas oscilan entre 5.92 para Hichucollo y 6.56 para Ucha Ucha. El número medio de alelos por locus (MNA) más alto se encontró en la población de Puyo Puyo (4.91) y el más bajo en la población Hichucollo (3.52).

Se observó en total 18 alelos privados (PA) (13.85%), distribuidos en las 5 sub-poblaciones. Ucha Ucha y Puyo Puyo fueron las sub-poblaciones que mostraron el mayor número de alelos privados (6), en contraste con Hichucollo que mostró solamente uno (TABLA 4.10.).

**TABLA 4.10. Indicadores de diversidad genética de 5 sub-poblaciones de vicuñas del norte de La Paz, dentro del ANMIN-Apolobamba, mediante el análisis de 23 loci microsatélites.**

	<b>Sub-población</b>	<b>N<sup>1</sup></b>	<b>A<sup>2</sup></b>	<b>AR<sup>3</sup></b>	<b>K<sub>(34)</sub><sup>4</sup></b>	<b>MNA<sup>5</sup></b>	<b>PA<sup>6</sup></b>	<b>He<sup>7</sup></b>	<b>Ho<sup>8</sup></b>	<b>F<sub>IS</sub><sup>9</sup></b>
1	Hichucollo	11	81	6.09	5.92	3.52	1	0.539	0.469	0.135***
2	Huacochani	16	99	7.52	6.34	4.30	3	0.546	0.495	0.097***
3	Ucha Ucha	18	110	8.13	6.56	4.78	6	0.557	0.546	0.020
4	Puyo Puyo	27	113	9.39	6.54	4.91	6	0.569	0.515	0.097***
5	Cañuhuma	21	96	7.52	5.97	4.17	2	0.540	0.530	0.017
	<b>ANMIN-A</b>	<b>93</b>	<b>130</b>	<b>12.57</b>	<b>6.40</b>	<b>5.65</b>	<b>18</b>	<b>0.560</b>	<b>0.516</b>	<b>0.080</b>

<sup>1</sup>N: Tamaño muestral; <sup>2</sup>A: Número de alelos por sub-población; <sup>3</sup>AR: Riqueza alélica; <sup>4</sup>K<sub>0</sub>: Riqueza alélica por rarefacción; <sup>5</sup>MNA: Número medio de alelos por locus; <sup>6</sup>PA: Alelos privados; <sup>7</sup>He: Heterocigosidad esperada según el equilibrio de Hardy-Weinberg; <sup>8</sup>Ho: Heterocigosidad observada; <sup>9</sup>F<sub>IS</sub>: Coeficiente de endogamia; \*\*\*p<0.001.

El promedio de heterocigosidad esperada (He) varió entre 0.539 (Hichucollo) y 0.569 (Puyo Puyo), mientras que el promedio de heterocigosidad observada (Ho) varió de 0.469 (Hichucollo) a 0.546 (Ucha Ucha). Los valores de He fueron superiores a los de Ho en todas las sub-poblaciones (TABLA 4.10.).

El coeficiente de endogamia (F<sub>IS</sub>), estimado para las 5 sub-poblaciones, mostró exceso de homocigotos, siendo Hichucollo la sub-población la de valor más alto (0.135) y Cañuhuma la de valor más bajo (0.017) (TABLA 4.10.).

### 4.3.2. Estructura genética y diferenciación sub-poblacional

La TABLA 4.11. muestra los valores de  $F_{ST}$  que reflejan niveles bajos de estructuración sub-poblacional ( $F_{ST} < 0.05$ ). La mayor diferenciación genética fue observada entre las sub-poblaciones Hichucollo–Puyo Puyo ( $F_{ST} = 0.035$ ,  $***p < 0.01$ ) y la menor entre Ucha Ucha–Cañuhuma ( $F_{ST} = 0.002$ ). La sub-población más diferenciada del resto fue Hichucollo.

**TABLA 4.11. Diferenciación sub-poblacional y flujo génico entre 5 sub-poblaciones de vicuñas del norte de La Paz, dentro del ANMIN-Apolobamba. Valores pareados de diferenciación genética, por arriba de la diagonal valores de  $F_{ST}$ , por debajo valores del número de migrantes por generación (Nm).**

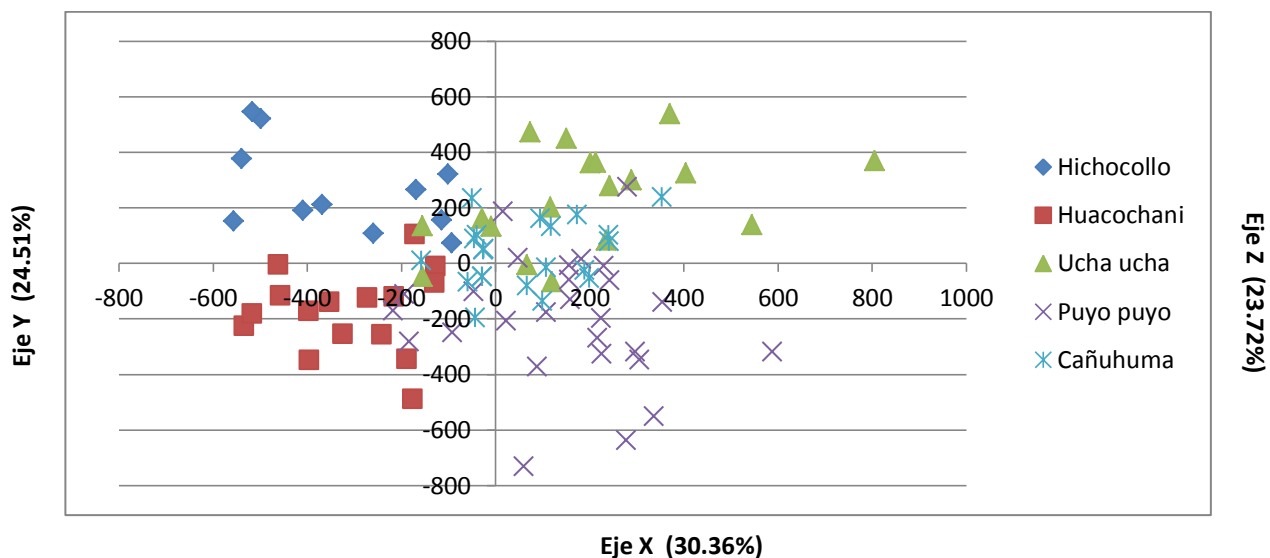
Sub-población	Hichucollo	Huacochani	Ucha Ucha	Puyo Puyo	Cañuhuma
Hichucollo	-	0.019	0.026**	0.035***	0.026***
Huacochani	12.91	-	0.020***	0.017***	0.015**
Ucha Ucha	9.43	12.26	-	0.006	0.002
Puyo Puyo	6.93	14.35	42.11	-	0.007
Cañuhuma	9.41	16.36	110.35	36	-

\*\*\* $p < 0.001$ ; \*\* $p < 0.01$

El cálculo pareado del número de migrantes por generación (Nm) dio un promedio de 27.01 individuos y sugiere niveles de flujo génico diferentes entre las 5 sub-poblaciones, desde 6.93 (Hichucollo-Puyo Puyo) hasta 110.35 (Ucha Ucha-Cañuhuma) (TABLA 4.11.).

El análisis de varianza molecular (AMOVA) mostró niveles de diferenciación genética reducida a nivel de las 5 regiones estudiadas ( $F_{ST} = 0.01$ ). El 1.09% de la variación genética observada ocurre entre sub-poblaciones, mientras que la variación dentro de ellas fue de 98.72%, con una importante variación dentro de individuos (92.17%).

Del análisis factorial de correspondencia tridimensional (AFC-3D, 78.59% de inercia total), los ejes más representativos de la variación genética total son el X (30.36%) y el Y (24.51%). El conjunto de datos mostró una sola estructura sub-poblacional, sin embargo el eje X separó las sub-poblaciones Hichucollo y Huacochani del resto, mientras el eje Y separó Hichucollo, Ucha Ucha y Cañuhuma de Huacochani y Puyo Puyo (FIGURA 4.10.).

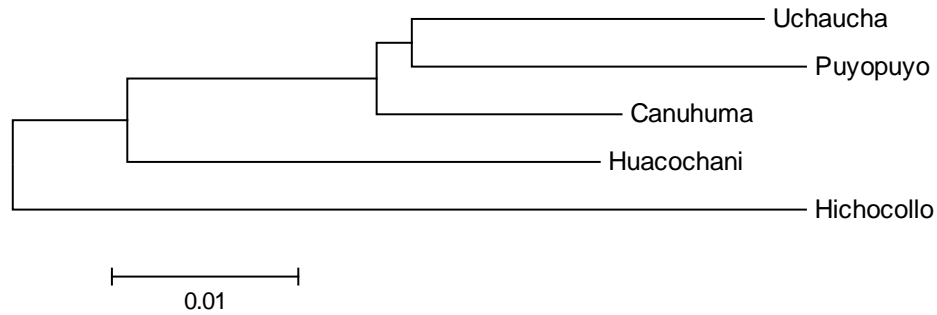


**FIGURA 4.10.** Distribución de las muestras según el análisis factorial de correspondencia por sub-población de vicuñas del norte de La Paz, dentro del ANMIN-Apolobamba, mediante el análisis de 23 loci microsatélites.

El árbol "neighbour-joining" (FIGURA 4.11.) construido a partir de las distancias genéticas de Nei (1972), detalladas en la TABLA 4.12., refleja la relación entre las 5 sub-poblaciones analizadas; observándose la mayor distancia entre las sub-poblaciones Hichucollo y Puyo Puyo (0.090) y la menor entre Ucha Ucha y Cañuhuma (0.034) (FIGURA 4.11.).

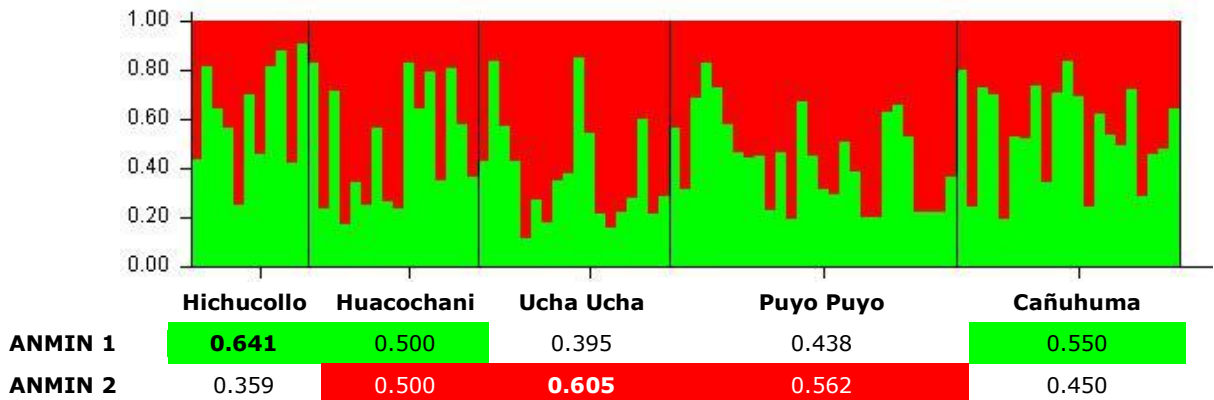
**TABLA 4.12.** Distancias genéticas de Nei (1972) entre pares de 5 sub-poblaciones de vicuñas del norte de La Paz, dentro del ANMIN-Apolobamba, mediante el análisis de 23 loci microsatélites.

Sub-población	Hichucollo	Huacochani	Ucha Ucha	Puyo Puyo	Cañuhuma
<b>Hichucollo</b>	-				
<b>Huacochani</b>	0.074	-			
<b>Ucha Ucha</b>	0.079	0.063	-		
<b>Puyo Puyo</b>	0.090	0.057	0.040	-	
<b>Cañuhuma</b>	0.074	0.053	0.034	0.036	-



**FIGURA 4.11.** Árbol “neighbour-joining” construido a partir de las distancias genéticas de Nei (1972) entre 5 sub-poblaciones de vicuñas del norte de La Paz, dentro del ANMIN-Apolobamba, mediante el análisis de 23 loci microsatélites.

Las sub-poblaciones se estructuran en dos grupos mediante el análisis bayesiano (Delta K=9.23) (TABLA S6. y FIGURA S10.). Donde se distingue el grupo ANMIN 1 que incluye las sub-poblaciones de Hichocollo (64.1%) y Cañuhuma (55%) y el grupo ANMIN 2 que incluye las sub-poblaciones de Ucha Ucha (60.5%) y Puyo Puyo (56.2%); mostrando Huacochani una asignación intermedia (50%) a ambos grupos genéticos (FIGURA 4.12.).



**FIGURA 4.12.** Representación gráfica del agrupamiento sugerido por el análisis bayesiano realizado para evaluar la estructura de las sub-poblaciones de vicuñas del norte de La Paz (Región ANMIN-Apolobamba) estudiadas mediante el análisis de 23 loci microsatélites. Cada color representa un grupo genético diferente (K=2). Cada sub-población está dividido por líneas negras. Por debajo de la gráfica se muestra la proporción de asignación de cada sub-población a los grupos genéticos identificados.

## 5. DISCUSIÓN

Luego de los estudios de Sarno *et al.* (2004), Andrade (2009) y Barreta *et al.* (2010, 2012), este es el primer trabajo que describe la variabilidad genética de la vicuña nivel nuclear en un rango de distribución más extenso (Altiplano norte, centro y sur) en Bolivia; para este propósito se estimó y evaluó parámetros de diversidad genética a partir del análisis de 25 marcadores microsatélites sobre una muestra de 271 individuos.

La comparación de los datos reportados en este trabajo con estudios previos deben interpretarse con cuidado por la diferencia en el tamaño y origen de las muestras evaluadas en las poblaciones, así como el número de marcadores y métodos utilizados. Asimismo, se debe considerar que pese a que la mayoría de las muestras se colectaron en el periodo 2010-2012, las de las poblaciones de Apolobamba, Curahuara de Carangas y Yanarico comprendieron un periodo anterior (2004-2006).

### 5.1. Diversidad genética

Para la población total 5 de los 25 marcadores utilizados para su análisis mostraron desviación significativa del equilibrio Hardy-Weinberg, con déficit de heterocigotos que puede ser explicado por factores tales como la subdivisión de la población (efecto Wahlund), presencia de alelos nulos, selección contra heterocigotos o endogamia y efectos del muestreo; siendo el efecto Wahlund y de muestreo los más determinantes en este estudio.

Dentro de los marcadores más informativos para esta especie se encontraron a los loci YWLL44, LCA24, GLM4, PCTD17, LCA66, VOLP1, LCA5 y LCA65, que podrían ser útiles para futuros estudios de variabilidad y diversidad genética; así como los marcadores YWLL36 y YWLL8, que también fueron encontrados por Wheeler *et al.* (2001), Andrade (2009) y Aguilar (2011) (TABLA 4.1.). En contraste los marcadores LCA77, LCA68, VOLP4, VOLP55 y YWLL43 deberían ser descartados para futuros estudios a nivel nuclear, para poblaciones

Bolivianas, por ser poco informativos.

La heterocigosidad a nivel de subespecie identificó a *V.v.vicugna* como más diversa que aquellas reconocida como *V.v.mensalis* (TABLA 4.2.) en la población total; resultado parecido al encontrado a nivel mitocondrial por Sarno *et al.* (2004), Marín *et al.* (2007) y Barreta *et al.* (2012). Sin embargo, por sesgos de muestreo y el tamaño de la poblaciones, este resultado debe ser verificado en futuros estudios.

En general, todos los parámetros de diversidad genética evaluados (heterocigosidad, número de alelos, riqueza alélica, riqueza alélica corregida por rarefacción, número medio de alelos por locus y alelos privados), entre las poblaciones del norte, centro y sur del Altiplano, fueron diferentes. A nivel global, se sugiere un aumento latitudinal de la variabilidad genética entre el ANMIN-Apolobamba (14°57'38.50"S) y Villazón (22°02'03.1"S). Asimismo, por el elevado número de alelos privados encontrados en las poblaciones que componen la población total evaluada, se evidenciaría cierto nivel de aislamiento local (TABLA 4.2.).

El gradiente de diversidad entre el norte y el sur se evidencia contrastando la diversidad alélica de los marcadores más informativos (YWLL8, YLLL36, LCA5 y LCA65) con la ubicación geográfica de las poblaciones evaluadas (FIGURA 4.1., FIGURA S2., FIGURA S3. y FIGURA S4.). La mayor proporción de alelos se comparte; por un lado, entre las poblaciones de vicuñas del norte y centro de Bolivia (ANMIN-Apolobamba, Yanarico-San Andrés-Santiago de Machaca y Curahuara de Carangas); y, por el otro lado, entre las poblaciones del centro y sur (Toledo-Santiago de Andamarca, Tomave y Villazón) (TABLA 4.3.), como parte del efecto que tiene la distribución geográfica de las dos subespecies y las poblaciones muestreadas. Al mismo tiempo, se pudo observar que los alelos privados de *V.v.mensalis* son comunes para todas las poblaciones en la mayoría de los casos; sin embargo, para el marcador YWLL8, se encontró un único alelo privado en la población de Tomave, cuya distribución alélica fue intermedia, dado que el 41% de sus alelos los compartió con el resto de poblaciones de *V.v.mensalis* (ANMIN-Apolobamba, Yanarico-San Andrés-Santiago de Machaca, Curahuara de Carangas y Toledo-Santiago de Andamarca) y el 31% con la población de *V.v.vicugna* (Villazón).

Por su parte, las poblaciones de vicuñas de Villazón (*V.v.vicugna*) y Tomave (*V.v.mensalis*), ubicadas en el Altiplano sur, presentaron los más altos niveles de diversidad genética y mostraron un importante porcentaje de alelos privados (57% y 21%, respectivamente). Asimismo, al análisis de su aporte a la diversidad, evaluado mediante el programa Molkin, contribuyeron de forma importante a la diversidad genética de la especie (TABLA 4.2.).

Por otro lado, vicuñas del Altiplano centro (Toledo-Santiago de Andamarca) y norte (ANMIN-Apolobamba) mostraron, respectivamente, niveles intermedios y bajos de variación genética (TABLA 4.2.). La baja variabilidad genética encontrada para el ANMIN-Apolobamba es consistente con lo hallado en los estudios moleculares llevados a cabo por Sarno *et al.* (2004), Andrade (2009) y Barreta *et al.* (2010, 2012), sobre vicuñas de la misma región. Sin embargo, la heterocigosidad y el número medio de alelos por locus encontrados por Andrade (2009) fueron mayores, debido probablemente a que consideró en su estudio mayores tamaños sub-poblacionales. Por otro lado, la sub-población de Hichocollo fue la menos diversa en cuanto a la heterocigosidad, número de alelos, riqueza alélica, riqueza alélica corregida por rarefacción, número medio de alelos por locus y alelos privados. A diferencia de lo reportado por Andrade (2009), se encontró que Ucha Ucha fue la sub-población más heterocigota, seguida de Cañuhuma; y, Puyo Puyo, una sub-población no evaluada por dicho investigador, se mostró más diversa para el resto de parámetros evaluados.

La gradiente de diversidad, entre el norte (ANMIN-Apolobamba) y el sur (Villazón), podría ser el resultado de las características climáticas, geológicas y topográficas variables del área de distribución geográfica de la especie en nuestro país (Montes de Oca, 1995; Hervé *et al.*, 2002; Villegas, 2012; Jiménez, 2013). En consecuencia, como parte de la distribución natural de las poblaciones en las regiones norte, centro y sur, podrían presentar adaptaciones locales a las variaciones de temperatura, precipitación fluvial, vegetación y salinidad que se presentan entre el norte, centro y sur del Altiplano boliviano.

Sobre la base de evidencia significativa de cuello de botella reciente en todas las poblaciones de *V.v.mensalis* (Test estandarizado, TABLA 4.4.), y debido a que la heterocigosidad observada es menor a la esperada en todos los loci y poblaciones, parece que los valores significativos de  $F_{IS}$  identificados para las poblaciones del ANMIN-

Apolobamba, Toledo-Santiago de Andamarca y Tomave (TABLA 4.2.) probablemente son el resultado del efecto de la deriva y los cuellos de botella que sufrieron estas poblaciones a lo largo de su historia demográfica (Yacobaccio & Vilá, 2003; Sarno *et al.*, 2004; Pauquet, 2005; Vilá, 2012). Sin embargo futuros estudios deberán evaluar el efecto de la deriva y cuellos de botella ancestrales.

Al parecer la variabilidad genética de las poblaciones del Altiplano norte, principalmente la población del ANMIN-Apolobamba, fue la más afectada por episodios de reducción demográfica sufridos por la especie, dado que a los reportes poblacionales para el 2009 publicados por el Ministerio de Medio Ambiente y Agua (MMAyA, 2012) la región mostró la menor densidad, menor crecimiento poblacional y menor número de vicuñas observadas (TABLA 3.2 y FIGURA 3.2.).

A pesar que las vicuñas han sufrido una reducción poblacional severa, las poblaciones evaluadas exhiben niveles de variabilidad genética mayores a los detectados en poblaciones de otros ungulados como *Procapra przewalskii* (AR=1.97-5.84; PA=0-13; MNA=2.31-5.85; He=0.462-0.626; Ho=0.459-0.579) (Yang *et al.*, 2011) pero menores heterocigosidades en comparación con *Cervus elaphus* (AR=4.4-7.5; PA=1-9; He=0.6-0.727; Ho=0.546-0.731) (Queiros *et al.*, 2013).

Por otro lado, los niveles de variabilidad genética encontrados para el total de poblaciones evaluadas (número de alelos, número medio de alelos por locus, alelos privados y heterocigosidad) son mayores a los reportados para poblaciones de vicuñas del Perú (Wheeler *et al.*, 2001; Aguilar, 2011). Así mismo, si consideramos que todas las poblaciones de Perú son de la subespecie *V.v.mensalis*, encontramos que para los mismos parámetros *V.v.mensalis* en Bolivia es más diversa.

De igual manera, a nivel global y bajo los mismos parámetros, los resultados reportados en este trabajo son mayores a los referidos por Sarno *et al.* (2004) para poblaciones de vicuñas en Bolivia y Chile, excepto los valores de heterocigosidad que son similares. Sin embargo, si comparamos a nivel de la subespecie *V.v.mensalis*, el valor encontrado por Sarno *et al.* (2004) es mayor debido al aporte de las poblaciones chilenas a la diversidad de la subespecie. Asimismo, el valor de heterocigosidad reportado por este autor para la subespecie *V.v.vicugna* (Sud Lípez, Bolivia) es mayor al encontrado en el presente estudio,



debido probablemente a la diferencia de tamaños muestrales entre los análisis.

## 5.2. Estructura poblacional

Las poblaciones evaluadas mostraron niveles de diferenciación importantes y se estructuran en dos grandes grupos los que corresponden a las subespecies de vicuñas (FIGURA 4.6.) respaldando de esta manera la subdivisión a nivel mitocondrial aceptada para vicuñas del norte (*V.v.mensalis*) y sur (*V.v.vicugna*), como lo sugieren Sarno *et al.* (2004), Marín *et al.* (2007) y Barreta *et al.* (2012).

Las vicuñas de Villazón (*V.v.vicugna*) resultaron ser las más diferenciadas, y mostraron los números de migrantes más bajos en comparación con el resto de poblaciones (TABLA 4.6.), hecho confirmado con el análisis factorial de correspondencia (FIGURA 4.3.) y bayesiano (FIGURA 4.5.), lo que sugiere que esta población tiene un aislamiento genético importante del resto de las poblaciones analizadas. Por su parte, la subespecie del norte (*V.v.mensalis*) se estructura en dos sub-grupos genéticos el primero compuesto por el ANMIN-Apolobamba y Curahuara de Carangas y el segundo entre Toledo-Santiago de Andamarca y Tomave (FIGURA 4.5.). Por otro lado, las sub-poblaciones analizadas al interior del ANMIN- Apolobamba se estructuran en una sola población a pesar de la influencia de dos acervos genéticos diferentes (FIGURA 4.12.).

Las mayores diferencias poblacionales se reflejan entre las poblaciones del ANMIN-Apolobamba (*V.v.mensalis*) y Villazón (*V.v.vicugna*). Así como entre el ANMIN-Apolobamba y Tomave a nivel de la subespecie *V.v.mensalis* (TABLA 4.6.).

El flujo génico variable que muestran las poblaciones de vicuñas sugiere que algunas de ellas pudieran estar conectadas, ya sea por cercanía geográfica (Toledo-Santiago de Andamarca y Tomave) o historia poblacional común (ANMIN-Apolobamba y Curahuara de Carangas). El contacto e intercambio genético entre poblaciones vecinas como Toledo-Santiago de Andamarca y Tomave depende principalmente de las distancias que puedan recorrer en busca de nuevos territorios. Considerando que entre los factores

determinantes para su distribución y desplazamiento es importante la disponibilidad de pasturas, calidad de la estepa, provisión de agua, desertificación, presencia de animales domésticos locales y sobrepastoreo (Villalba, 2000; Benítez *et al.*, 2006; Vila 2012).

En contraste, la ausencia de correlación entre las distancias genética y geográfica de las poblaciones del ANMIN-Apolobamba y Curahuara de Carangas (Test de Mantel), y los resultados del análisis factorial de correspondencia y bayesiano, sugiere que ambas poblaciones están demográficamente vinculadas y comparten una historia genética común. Al parecer este no es un proceso actual debido a la distancia geográfica (852.3 Km) y la presencia de barreras geográficas (Lago Titicaca) que las separan. A pesar que la población de Tomave se estructura conjuntamente a las poblaciones de la subespecie *V.v.mensalis* muestra un 49% de influencia de las poblaciones de *V.v.vicugna* (FIGURA 4.6. y FIGURA 4.7.), debido probablemente a su posición central entre las vicuñas del norte y del sur y su cercanía al punto de contacto, sugiriendo que el flujo génico entre estas es aun evidente.

En general, una base para explicar la estructura genética y los niveles de divergencia de las poblaciones de vicuñas considera los cambios climáticos y de paisaje ocurridos especialmente durante el cuaternario, así como el manejo y gestión de la especie desde la época de los Incas.

La reconstrucción de escenarios paleoclimáticos en Los Andes Centrales (Bolivia, Argentina y Chile), situados en la zona de la transición entre los sistemas de circulación, indica que durante los últimos 30000 años la región ha mostrado evidencia de una historia paleoclimática y ambiental altamente dinámica, con marcados cambios en la humedad y la temperatura, consistentes con el Último Máximo Glacial durante el Pleistoceno tardío, hace cerca de 25,000 años (Sarno *et al.*, 2004; May *et al.*, 2011). Existe evidencia de periodos de expansión y retracción glacial, en al menos tres veces (Thompson *et al.*, 1985; Romero *et al.*, 1997), así como aumento de algunos de los paleolagos hasta cuatro veces su tamaño debido a un incremento del 30 al 50% en la precipitación (Sarno *et al.*, 2004; Marín *et al.*, 2007; Laker *et al.*, 2006). Estos cambios probablemente forzaron a segmentos de la población de vicuñas a aislarse el uno del otro por períodos considerables, restringiendo así el flujo genético entre ellas. Así, también es probable que durante los periodos glaciales del Pleistoceno las laderas occidentales de los Andes al noroeste

(Argentina) sirvieran como refugio para vicuñas y como reservorio de variación genética explicando así la alta variabilidad genética encontrada para la subespecie *V.v.vicugna* (Marín *et al.*, 2013).

Asimismo, evidencias paleontológicas indican que las vicuñas ocuparon amplias regiones del Altiplano, siendo su distribución continua o casi continua, siendo de esperar que en diferentes segmentos, dentro de su rango de distribución, las poblaciones hayan estado naturalmente aisladas, reconectadas y aisladas nuevamente a través de su historia, ocasionando en parte el gradiente de diversidad genética observado entre el norte y el sur de Bolivia (Hoffstetter, 1986; MacQuarrie *et al.*, 2005; Rabassa *et al.*, 2011).

Un evento importante para la pérdida de diversidad genética de la especie sucede con la llegada de los españoles (1535–1810), periodo en el que la especie fue cazada indiscriminadamente para el comercio de subproductos derivados de ella, mermando así sus números considerablemente. El evento más reciente de reducción poblacional, debido a la caza, ocurrió en la década de los 60's, cuando aproximadamente 2000 vicuñas habitaban Argentina, Bolivia y Chile conjuntamente (Yacobaccio & Vilá, 2003; Pauquet, 2005; Sarno *et al.*, 2004).

En resumen, la historia de riesgo de extinción de las vicuñas en el pasado muestra que hubo cientos de extinciones locales y que su distribución podría asemejarse al modelo de "islas" y de pérdida de variabilidad genética. Además que pudieron afectar a la especie a nivel evolutivo, ecológico y etológico, e incrementar la susceptibilidad a cambios climáticos, enfermedades y la probabilidad de ocurrir apareamientos consanguíneos y la subsecuente reducción de la calidad de fibra producida (Frankham *et al.*, 2002; Wheeler *et al.*, 2001).

### **5.3. Implicaciones taxonómicas, de conservación y de gestión**

Actualmente, la vicuña es clasificada por la UICN como una especie de "preocupación menor"; sin embargo, el reconocimiento de las dos diferentes subespecies facilitaría la

evaluación precisa de las amenazas y necesidades de la gestión de su protección, conservación y aprovechamiento, en ambas.

Aunque las dos subespecies reconocidas de vicuñas fueron consideradas diferentes "unidades evolutivamente significativas" (ESUs) bajo las consideraciones de Moritz (1994), quien afirma que una ESU "debe ser mutuamente monofilética para los alelos de DNAm<sub>t</sub> y mostrar divergencia significativa de frecuencias alélicas en loci nucleares". La designación de "unidades de manejo" (UM) probablemente aseguraría una gestión adecuada de la especie a corto plazo, no obstante que precisa del seguimiento y estudio de procesos demográficos implicados en su evolución.

Algunas de las poblaciones aquí evaluadas podrían ser consideradas unidades de manejo discretas, debido a que en muchas comparaciones poblacionales presentan una diferenciación importante en las frecuencias alélicas de los loci microsatélites evaluados. Por un lado, se tiene al grupo poblacional ANMIN-Apolobamba y Curahuara de Carangas; y por el otro, al grupo Toledo-Santiago de Andamarca y Tomave. Aunque el ANMIN-Apolobamba y Sajama son poblaciones funcionalmente independientes, por los parámetros de diferenciación y estructuración que los agrupa, podrían ser considerados parte de una misma unidad de manejo.

Debe centrarse especial atención en la población de Tomave, que corresponde a un área cercana al punto de contacto entre individuos de diferentes acervos genéticos y cuya singularidad sugiere una posición intermedia entre las subespecies *V.v.mensalis* y *V.v.vicugna*. Así mismo, los bajos niveles de variación genética observados en la población del norte de La Paz (ANMIN-Apolobamba) deben ser atendidos y monitoreados a la brevedad ya que es una región importante del programa de manejo sostenible de la especie, al contener casi el 71 % del total de vicuñas en áreas protegidas y alrededor del 18% (8 300 animales) de todas las vicuñas en Bolivia.

En resumen, este estudio aporta a la caracterización de la variación genética de las poblaciones de vicuñas del altiplano boliviano, y reporta nuevos datos que son importantes para el conocimiento de la diversidad genética de la especie, las subespecies y las poblaciones evaluadas. Estos datos podrán ser utilizados como referente y punto de comparación con otras poblaciones de vicuñas. Así mismo y considerando el manejo activo

de la especie, la información reportada aquí es primordial para el manejo futuro de la especie ya que podrían sentar las bases para la determinación de poblaciones de interés, unidades de conservación y manejo.

## 6. CONCLUSIONES

El análisis de la diversidad genética y estructura de las poblaciones de *Vicugna vicugna* evaluadas en este estudio muestra características particulares, derivándose del mismo las siguientes conclusiones:

1. Entre las poblaciones evaluadas, existe un aumento de la diversidad genética de norte a sur. La población de Villazón (*V.v.vicugna*) es la más diversa y la que aportó de manera importante a la diversidad total de la especie en el ámbito de estudio.
2. Dentro de las poblaciones evaluadas de *V.v.mensalis*, Tomave es la más diversa, asumiéndose que por su ubicación geográfica intermedia muestra características particulares con respecto a ambas subespecies en su dinámica y estructura genética.
3. Tanto a nivel de especie como de subespecie, el ANMIN-Apolobamba fue la población con menor variabilidad genética. Entre las sub-poblaciones analizadas Hichucollo fue la menos diversa, en contraste con Ucha Ucha y Puyo Puyo.
4. Las poblaciones menos diferenciadas son Apolobamba-Curahuara de Carangas y las más diferenciadas son Apolobamba-Toledo Andamarca y Apolobamba-Villazón.
5. Los datos reflejan que existe una historia poblacional común entre las vicuñas del ANMIN-Apolobamba y Curahuara de Carangas dado que se agrupan en una sola estructura genética.
6. Las poblaciones de Toledo-Santiago de Andamarca-Tomave forman parte de un mismo grupo demográfico.
7. Existe diferenciación genética importante entre las subespecies *V.v.mensalis* y *V.v.vicugna* a nivel nuclear.
8. Los resultados muestran que poblaciones de vicuñas evaluadas son reservorio genético importante para las dos subespecies de vicuña.

## 7. RECOMENDACIONES

Es vital que futuras estrategias de manejo de la vicuña consideren los actuales patrones de diversidad genética, a los que ha contribuido el presente estudio, con el fin de evitar realizar actividades que puedan conllevar a la pérdida de diversidad genética y la estructura poblacional de esta especie; asegurando la conservación de los niveles actuales de flujo génico entre poblaciones colindantes, al igual que el flujo génico restringido entre poblaciones separadas por grandes distancias. Además, es importante proponer e implementar estrategias orientadas a incrementar la variabilidad genética de las poblaciones más afectadas (Apolobamba), con aquellas que poseen una estructura genética similar, mayor diversidad genética y con características ecológicas semejantes.

Para la conservación efectiva de la especie es probable que las subespecies reconocidas deban gestionarse por separado, con el fin de preservar sus características genéticas y adaptaciones locales. Sin embargo, antes de establecer cualquier programa de manejo es importante obtener mayor información de la genética basal de las poblaciones de vicuñas.

Se sugiere que futuros proyectos de investigación utilicen los marcadores más informativos encontrados en este estudio e incrementen el número y tamaño de las poblaciones a analizar, principalmente las que correspondan a la subespecie *V.v.vicugna*, cubriendo aún más del rango de distribución de la especie en nuestro país.

Es preciso comparar los resultados a nivel nuclear con aquellos que se obtengan del análisis a nivel mitocondrial, para comprender mejor los procesos que influyen en la dinámica de las poblaciones de vicuñas. Asimismo, se debería evaluar procesos que podrían estar involucrados en los patrones de diversificación y estructuración de la especie, considerando la historia humana, geología y clima en la reconstrucción de la historia evolutiva de la vicuña.

Se podría además valorar la calidad de fibra en relación a las zonas que presenten menor variabilidad genética en contraste con las que presentan mayor diversidad. Así como evaluar el impacto de la estructura social filopátrica y el aporte al flujo genético de las tropillas de machos.

## 8. BIBLIOGRAFIA

- Aguilar, J. M. 2011. Determinación de la variabilidad genética en tres poblaciones de vicuñas (*Vicugna vicugna mensalis*) en cautiverio a partir de muestras de heces. Tesis para optar al título profesional de Biólogo con mención en Biología Celular y Genética. Facultad de Ciencias Biológicas E.A.P de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. 72 p.
- Ammann, C., B. Jenny, K. Kammer, B. Messerli. 2001. Late Quaternary Glacier response to humidity changes in the arid Andes of Chile (18–29°S). *PalaeogeogrPalaeoclimatolPalaeoecol* 172: 313–326.
- Andrade, S.N. 2009. Variabilidad genética de vicuñas dentro del ANMIN – Apolobamba (Bolivia). Tesis de grado como requisito parcial para optar al título de licenciada en ciencias biológicas. Facultad de Ciencias Puras y Naturales, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia. 110 p.
- Andressen, R., M. Monasterio & L. Terceros. 2006. Regímenes climáticos del altiplano sur de Bolivia: una región afectada por la desertificación. *Revista Geográfica Venezolana*, Vol. 48(1) 2007, 11-32.
- Baldi, R., D. De Lamo, M. Failla, M. Funes, P. Nuget, S. Puig, S. Rivera & J. Von Thüngen. 2006. Plan nacional de manejo del guanaco (*Lama guanicoe*) – República Argentina. Apéndice I. 40 p.
- Barreta J., B. B. Gutiérrez-Gil, V. Iñiguez, V. Saavedra, R. Chiri, E. Latorre & J.J. Arranz. 2012. Analysis of mitochondrial DNA in Bolivian llama, alpaca and vicuña populations: a contribution to the phylogeny of the South American Camelids. *Animal Genetics*. doi: 10.1111/j.1365-2052.2012.02376.x.
- Barreta J., V. Iñiguez, B. Gutiérrez-Gil, R. Sarno & J.J. Arranz. 2010. Mitochondrial DNA (DNAMt) Genetics diversity of *Vicugna vicugna mensalis* in Bolivia. *Breeding and genetics. Fibre production in South American camelids and other fibre animals*. pp. 123-130.
- Belkhir K., P. Borsa, L. Chikhi, N. Raufaste & F. Bonhomme. 1996. GENETIX 4.04, Logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France). <http://www.univ-montp2.fr/~genetix/genetix/constr.htm#download>.
- Benitez, V., M. Borgnia & M.H. Cassini. 2006. Ecología nutricional de la vicuña (*Vicugna vicugna*) un caso de estudio en la Reserva Laguna Blanca. Catamarca. pp. 51-68. En: *Investigación conservación y manejo de vicuñas*. B. Vilá (Ed.) Proyecto MACS. Buenos Aires. Argentina.
- Bonacic, C. 2007. Ecología de la vicuña y su ordenación. *Ecología Info*. 27: 1-10.
- Bonnet E. & Y. Van de Peer. 2002. ZT: a software tool for simple and partial Mantel tests. *J. Stat. Softw.* 7, 1-12.



- Boom R., C. Sol, M. Salimans, C. Jansen, P. Wertheim-Van Dillen & J. Van der noordaa. 1990. Rapid and Simple Method for Purification of Nucleic Acids. *Journal of Clinical Microbiology*. 495-503.
- Borgnia, M., B.L. Vil á& M. H. Cassini. 2010. Foraging ecology of vicuñas (*Vicugna vicugna*) in dry argentinean puna. *Small Ruminant Research*. 88 (1), 44-53. ISSN 0921-4488. Elsevier. Amsterdam Holanda. IF (ISI) 1.198.
- Bustamante, A., M.L. Mate, A. Zambelli, L. Vidal-Rioja. 2003. Isolation and characterization of 10 polymorphic dinucleotide microsatellite markers for llama and guanaco. *Mol. Ecol. Notes* 3, 68–69.
- Cardozo, A. 1954. Auquénidos. Editorial Centenario, La Paz, Bolivia. 284 p.
- Casamiquela, R.M. 1970. Primeros documentos de la Paleontología de vertebrados para un esquema estratigráfico y zoogeográfico del Pleistoceno de Chile. *Boletín de Prehistoria de Chile* 2: 65-73.
- Cornuet J. & G. Luikart. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics*, 144, 2001–2014.
- De Vivo, M. & A. Carmignotto. 2004. Holocene vegetation change and the mammal faunas of South America and África. *Journal of Biogeography (J. Biogeogr.)* (2004) 31, 943–957.
- Earl, D.A. & B. Von Holdt. 2011. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv.Genet.Resour.*, doi:10.1007/s12686-011- 9548-7.
- Evanno, G., S. Regnaut & J. Goudent. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14, 2611–2620.
- Excoffier, L., G. Laval & S. Schneider. 2005. Arlequin ver.3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform. Online* 1, 47–50.
- Frankham, R., J.D. Ballou & D.A. Briscoe. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press. UK. 617 p.
- Franklin, W. 1982. Biology, ecology, and relationship to man of the South American camelids. En: Mares MA & H Genoways (eds) *Mammalian biology in South America*: pp. 457-489. Special Publication, Volume 6, Pymatuning Laboratory of Ecology and University of Pittsburg, Linesville, Pennsylvania.
- Gutiérrez, J.P., L. Royo, I. Álvarez, F. Goyache. 2005. MolKin v2.0: a computer program for genetic analysis of populations using molecular coancestry information. *J. Hered.* 96, 718–721.
- Hervé D., R. Ledezma & V. Orsag. 2002. Limitantes y manejo de los suelos salinos y/o sódicos en el altiplano boliviano. 275 p.

- Hoffstetter, R. 1986. High Andean mammalian faunas during the Plio-Pleistocene. In: Vuilleumier F, Monasterio M (eds). High Altitude Tropical Biogeography. Oxford University Press: Oxford. pp. 218–245.
- Kadwell, M., M. Fernandez, H. Stanley, R. Baldi, J. C. Wheller, R. Rosario & N. W. Bruford. 2001. Genetic analyses reveals the wild ancestors of the llama and the alpaca. Proc. R. Soc. Lond. 268: 2575-2684.
- Koford, C.B. 1957. The vicuña and the Puna. Ecological Monographs 27: 153-219.7/3/2014 [www.conservation.org.bo/index.php?mc=95&nc=&next\\_p=1&cod=17&nprint=1](http://www.conservation.org.bo/index.php?mc=95&nc=&next_p=1&cod=17&nprint=1).
- Kull, C., M. Grosjean, H. Veit. 2002. Modeling modern and late Pleistocene glacio-climatological conditions in the North Chilean Andes (29–30°S). Climatic Change 52: 359–381.
- Kumar, S., K. Tamura & M. Nei. 1993. MEGA: Molecular evolution genetic analysis, version 1.02. Pennsylvania State Univ.
- Laker, J. & I. Gordon. 2006. Desafíos para el uso sostenible de la vicuña y el rol del proyecto Manejo de Camélidos Sudamericanos Silvestres (MACS). pp. 9-16. En: Investigación conservación y manejo de vicuñas. B. Vilá (Ed.) Proyecto MACS. Buenos Aires. Argentina.
- Laker, J., J. Baldo, Y. Arzamendia & H. D. Yacobaccio. 2006. La vicuña en los Andes. pp. 37-51. En: Investigación conservación y manejo de vicuñas. B. Vilá (Ed.) Proyecto MACS. Buenos Aires. Argentina.
- Lang, K.D.M., Y. Wang & Y. Plante. 1996. Fifteen polymorphic dinucleotide microsatellites in llamas and alpacas. Animal Genetics 27: 293.
- Lichtenstein, G. & B.L. Vilá. 2003. Vicuna use by Andean communities: an overview. Mountain Research & Development, 23 (2): 198-202.
- Lichtenstein, G. 2002. Manejo de Vicuñas en comunidades en Perú. Medio Ambiente y Urbanización. Año 18, No 57: 93-104.
- Lichtenstein, G. 2006. Manejo de vicuñas en cautiverio: El modelo de criaderos del CEA INTA (Argentina). Investigación, Conservación y Manejo de Vicuñas - B. Vilá Ed. - Proyecto MACS. Buenos Aires, Argentina. 1-14 p.
- Llobet, A., A. Orozco & A. Velasco. 2003. Conservación y manejo de la vicuña en Bolivia. pp. 157-164. En: Uso pastoril en humedales altoandinos. Taller es de capacitación para el manejo integrado de humedales altoandinos de Argentina, Bolivia, Chile y Perú. O. Rocha (eds.). Convenio RAMSAR, WCS-Bolivia, La Paz. Bolivia.
- Marín J.C., B. Gonzalez, E. Poulin & C. CASEY & W. Johnson The influence of the arid Andean high plateau on the phylogeography and population genetics of guanaco (*Lama guanicoe*) in South América.

Molecular Ecology (2012) doi: 10.1111/mec.12111.

Marín, J.C., C. S. Casey, M. Kadwell, K. Yaya, D. Hoces, J. Olazabal, R. Rosario, J. Rodriguez, A. Spotorno, M. W. Bruford & J. C. Wheeler. 2007. Mitochondrial phylogeography and demographic history of the vicuña: implications for conservation. *Heredity* 99: 70-80.

Marshall T., J. Slate, L. Kruuk & M. Pemberton. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology* (1998) 7, 639-655.

MMAyA. 2010. Estado Poblacional de la Vicuña en Bolivia-2009. Ministerio de Medio Ambiente y Agua. La Paz. Bolivia. 80 p.

MMAyA. 2012. Estado poblacional de la vicuña en Bolivia – 2009. Segunda Edición. Ministerio de Medio Ambiente y Agua. Viceministerio de Medio Ambiente, Biodiversidad, Cambios Climáticos y de Gestión y Desarrollo Forestal. La Paz, Bolivia. 88 p.

Montes de Oca I. 1995. Geografía y Clima de Bolivia. Academia de Ciencias. 357-368.

Moritz, C. 1994. Defining Evolutionary Significant Units for conservation. *Trends Ecol. Evol.*, 9, 373–375.

Munyard, K.A., J.M. Ledger, C.Y. Lee, C.D. Babra, M. Groth. 2009. Characterization and multiplex genotyping of alpaca tetranucleotide microsatellite markers. *Small Rumin. Res.*, doi:10.1016/j.smallrumres.2009.07.012.

Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Am. Nat.* 106:283-292.

Norabuena, M. C. & M. Paredes. 2003. Variabilidad genética en dos poblaciones de *Vicugna vicugna* (Camelidae) del norte de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 76: 99-104.

Obreque V, L. Coogle, P. Henney, E. Bailey, R. Mancilla, J. García-Huidobro, P. Hinrichsen & E. Cothran. 1998. Characterization of 10 polymorphic alpaca dinucleotide 175 microsatellites. *Animal Genetics*, 29, 461-462.

Obreque, V., R. Mancilla, J. Garcia-Huidobro, E.G. Cothran, P. Hinrichsen. 1999. Thirteen new dinucleotide microsatellites in Alpaca. *Anim. Genet.* 30, 397–398.

Paucar, A., J. Tellez, L. Neyra & J. Rodriguez. 1984. “Estudio tecnológico del beneficio de vicuñas”. En: F. Villiger, compilador. *La Vicuña*. Editorial Los Pinos, pp. 33-48.

Pauquet, S. 2005. Diagnosis of Apolobamba Integrated Management Natural Area. Parks Watch Park Profile Series. [http://www.parkswatch.org/parkprofiles/pdf/apna\\_eng.pdf](http://www.parkswatch.org/parkprofiles/pdf/apna_eng.pdf).

Penedo, M.C.T., A.R. Caetano & K.I. Cordova. 1998. Microsatellite markers for South American

camelids. *Animal Genetics* 29: 411-412.

Penedo, M.C.T., A.R. Caetano & K.I. Cordova. 1999. Eight microsatellite markers for South American camelids. *Animal Genetics* 30: 166-167.

Pritchard, J.K., M. Stephens & P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945–959.

Queiros J., J. Vicente, M. Boadella, C. Gortázar & P. Alves. 2013. The impact of management practices and past demographic history on the genetic diversity of reddeer (*Cervus elaphus*): an assessment of population and individual fitness. The Linnean Society of London, *Biological Journal of the Linnean Society*. 1-15.

Raymond, M. & F. Rousset. 1995. Genepop (version 1.2), population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.* 86, 248–249.

Renaudeau d’Arc, N. & G. Lichtenstein. 2003. Impacto del manejo de la vicuña en Bolivia y Argentina sobre la conservación de la vicuña y el desarrollo local. Memoria III, Congreso Mundial sobre camélidos, Potosí, Bolivia. Tomo II : pp. 903 – 908.

Revista Dominical LA PATRIA. 2009. <http://lapatriaenlinea.com/index.php?nota=9255>.

Romero, H., A. Rivera, P. Fernández. 1997. Climatología de la puna de Atacama y su relación con los recursos hídricos. In: *El Altiplano, Ciencia y Conciencia de los Andes* (ed. Charrier R), pp. 87–93. Universidad de Chile, Santiago.

Sahley, C. T., J. Torres & J. Sánchez. 2007. Biological sustainability of live shearing of vicuña in Perú. *Conservation Biology* 21(1): 98-105.

Saitou N & M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 4:406–425

Sarno, R. J., L. Villalba, C. Bonacic, B. Gonzalez, B. Zapata, D.W. Mac Donald, S.J. O'brien & W.E. Jonson. 2004. Phylogeography and subspecies assessment of vicuñas in Chile and Bolivia utilizing mtDNA and microsatellite markers: implications for vicuña conservation and management. *Conservation Genetics* 5: 89-102.

Stanley, H. M. Kadwell, J. Wheeler. 2004. Evolución molecular de la familia Camelidae: estudio del DNA mitocondrial. *Revista de Ciencias Veterinarias* 10(4): 1-7.

Thompson, L.G., E. Mosley-Thompson, J.F. Bolzan, B.R. Koci. 1985. A 1500-Year Record of Tropical Precipitation in Ice Cores from the Quelccaya Ice Cap, Perú. *Science*, 229, 971–973.

- Torres, H. 1992. South American Wild Camelids: An Action Plan for their Conservation. IUCN, Glandz.
- Vilá B., Y. Arzamendia, A. Wawrzyk & C. Bonacic. 2004. Utilización de las Vicuñas en la actualidad: Manejo en Cieneguillas, Jujuy. 33 p.
- Vilá, B. & G. Lichtenstein. 2006. Manejo de vicuñas en la Argentina: Experiencias en las provincias de Salta y Jujuy. pp.121-135 en: Bolkovic, M. L. y D. Ramadori (eds.). Manejo de Fauna Silvestre en la Argentina. Programas de uso sustentable. Dirección de Fauna Silvestre, Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable, Buenos Aires.
- Vilá, B. 1999. La importancia de la ecología en la conservación y manejo de las vicuñas. Teología, 7: 63-68.
- Vilá, B. 2002. Silvestría de las vicuñas, una característica esencial para su conservación y manejo. Ecología Austral 12: 79-82.
- Vilá, B. 2012. "Camélidos Sudamericanos". 1ra ed. Buenos Aires: Eudeba, 2012. 176 p.; 20x14cm. (Ciencia Joven). ISBN 978-950-23-1968-1.
- Villalba, M.L. 2000. Uso de hábitat e interacciones entre la vicuña y la alpaca en la Reserva Nacional de Fauna Ulla Ulla, La Paz, Bolivia. Pages 67-81 in Actas del Seminario Internacional Manejo Sustentable de la Vicuña y Guanaco.
- Villalba, M.L. 1992. Bolivia (Vicuña y Guanaco). Pages 42-45 in H. Torres, editor. Camélidos Silvestres Sudamericanos. Un Plan de Acción para su Conservación. UICN, Gland, Switzerland.
- Villalba, L. 2009. Vicuña: Conservación Internacional Bolivia sitio web: [http://www.conservation.org.bo/index.php?mc=95&nc=&next\\_p=1&cod=17&nprint=1](http://www.conservation.org.bo/index.php?mc=95&nc=&next_p=1&cod=17&nprint=1).
- Villegas, P. 2012. "Los Recursos Naturales en Bolivia". 2da ed. Centro de Documentación e Información Bolivia – CEDIB. 320 p.
- Weinstock J., B. Shapiro, A. Prieto, J. Marin, B. Gonzalez, M. Thomas, P. Gilbert & E. Willerslev. 2009. The Late Pleistocene distribution of vicunas (*Vicugna vicugna*) and the "extinction" of the gracile llama ("Lama gracilis"): New molecular data. Quaternary Science Reviews 28 (2009) 1369–1373
- Wheeler, J. 1991. Origen, evolución y estatus actual. In: Avances y Perspectivas del Conocimiento de los Camélidos Sudamericanos (Ed. by S. Fernandez-Baca), pp. 11–48. FAO, Santiago de Chile.
- Wheeler, J. 1995. Evolution and present situation of the South American Camelidae. Biological Journal of the Linnean Society 54, 271–95.
- Wheeler, J., L. Chikhi & M.W. Bruford. 2006. Genetic analysis of the origins of domestic South American camelids. The domestication of South American camelids: a view from the South- Central

- Andes. In: Documenting Domestication: New Genetic and Archaeological Paradigms (Ed. by M.A. Zeder), pp. 229–341. University of California Press: Berkeley.
- Wheeler, J., M. Fernández, R. Rosadio, D. Hoces, M. Kadwell, M.W. Bruford. 2001. Diversidad genética y manejo de poblaciones de vicuñas en el Perú. *RevInvVet, Perú Supl 1*: 170-183.
- Wolf, D., G. Schares, O. Cárdenas, W. Huanca, A. Cordero, A. Bärwald, F. J. Conraths, M. Gaulty, H. Zahner & C. Bauer. 2005. Detection of specific antibodies to Neosporacanthium and Toxoplasma gondii in naturally infected alpacas (*Lama pacos*), llamas (*Lama glama*) and vicuñas (*Lama vicugna*) from Peru and Germany. *Veterinary Parasitology* 130: 81-87.
- Woodward, S.R., M.J. King, N.M. Chiu, M.J. Kuchar & C.W. Griggs. 1994. Amplification of ancient nuclear DNA from teeth and soft tissues. *PCR Methods and Applications*.03/1994; 3(4):244-7.
- Yacobaccio, H. 2006. Variables morfométricas de vicuñas (*Vicugna vicugna vicugna*) en Cieneguillas. Jujuy. pp. 101-112. En: Investigación conservación y manejo de vicuñas. B. Vilá (Ed.) Proyecto MACS. Buenos Aires. Argentina.
- Yacobaccio, H., L. Killian & B. Vilá. 2003. Explotación de la vicuña durante el período colonial (1535-1810). III Taller Internacional de Zooarqueología de Camélidos Sudamericanos. (GZC – ICAZ): Manejo de los Camélidos Sudamericanos.
- Yang J., & Z. Jiang. 2011. Genetic diversity, population genetic structure and demographic history of Przewalski's gazelle (*Procapra przewalskii*): implications for conservation. *Conserv Genet* (2011) 12:1457–1468. DOI 10.1007/s10592-011-0244-7.

## TABLAS Y FIGURAS SUPLEMENTARIAS

TABLA S1. Ubicación geográfica de las 6 poblaciones de vicuñas del Altiplano boliviano ingresadas al análisis global y ordenadas de norte a sur.

Departamento	Población	Latitud Sur	Longitud Oeste	Altitud (msnm)
La Paz	ANMIN-Apolobamba	15°2'23.48"S	69°14'18.97"O	4506
La Paz	Yanarico-San Andrés-Santiago de Machaca	16°51'32.53"S	68°54'18.91"O	3795
Oruro	Curahuara de Carangas	18°13'25.80"S	68°56'15.50"O	4162
Oruro	Toledo-Santiago de Andamarca	18°42'41.47"S	67°19'12.30"O	3716
Potosí	Tomave	19°45'48.79"S	66°33'35.36"O	4144
Potosí	Villazón	21°54'53.24"S	65°36'6.51"O	3020

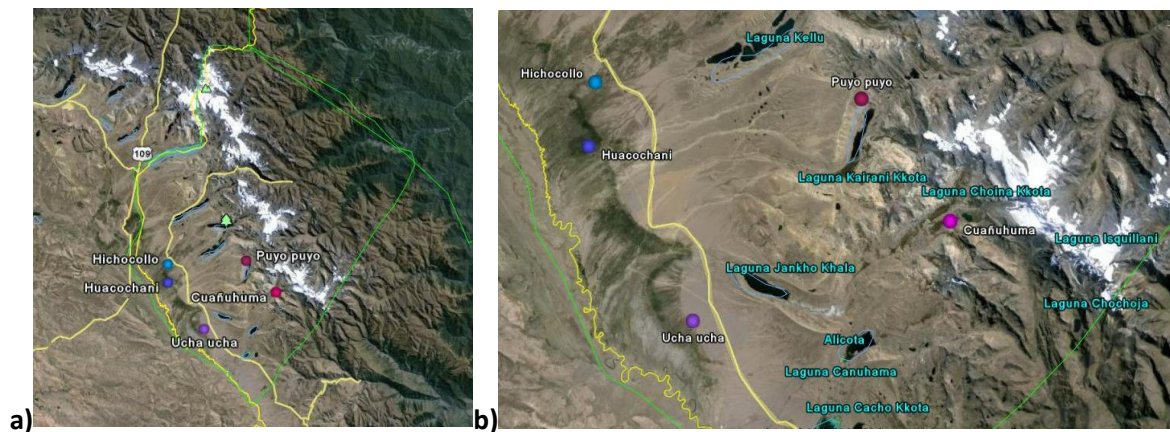


FIGURA S1. Mapa de ubicación de las 5 sub-poblaciones ingresadas en el análisis de vicuñas (*Vicugna vicugna mensalis*) del norte de La Paz. a) Referenciados dentro del ANMIN-Apolobamba (Línea verde) y b) Señalando sitios geográficos de importancia.

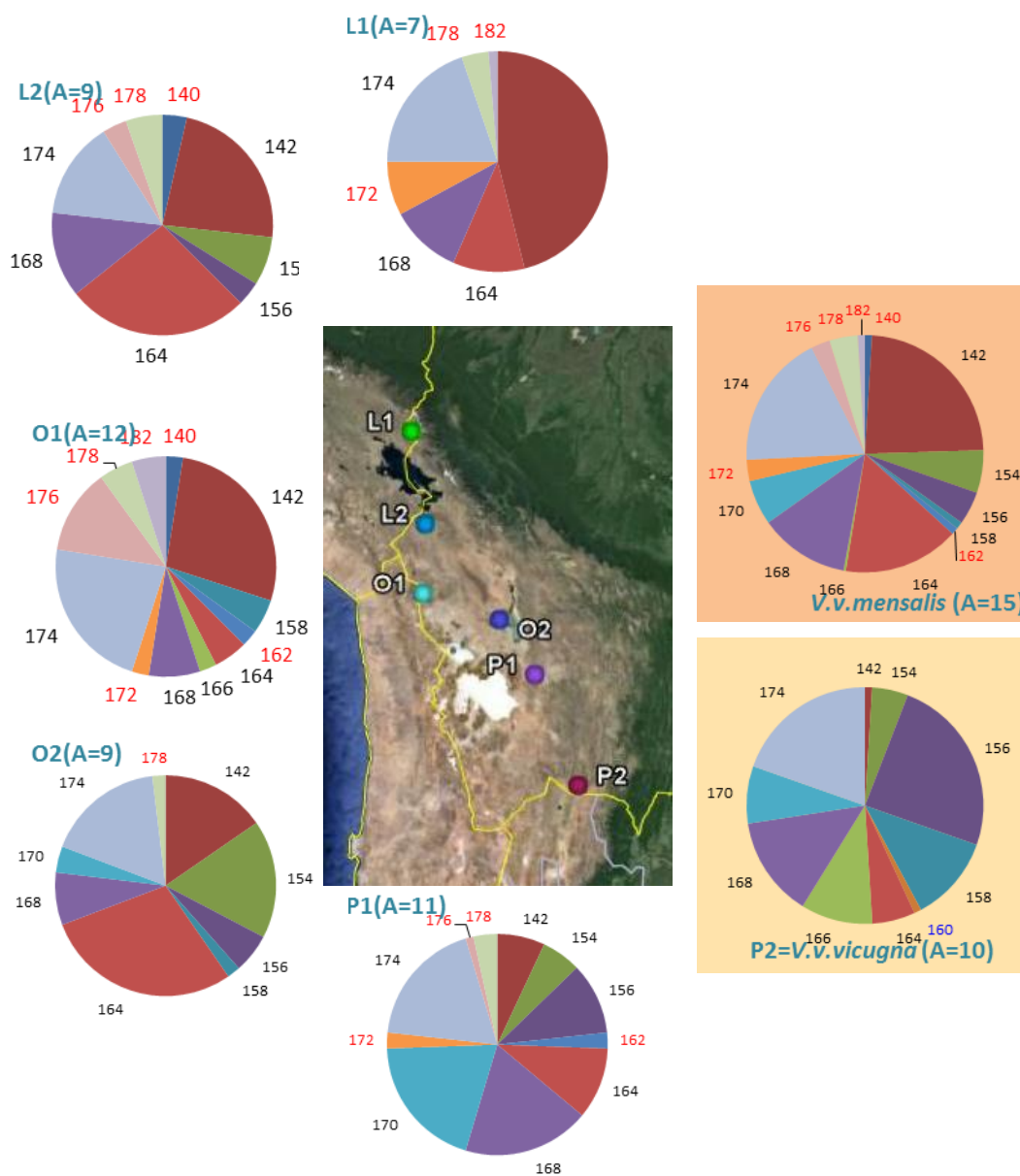
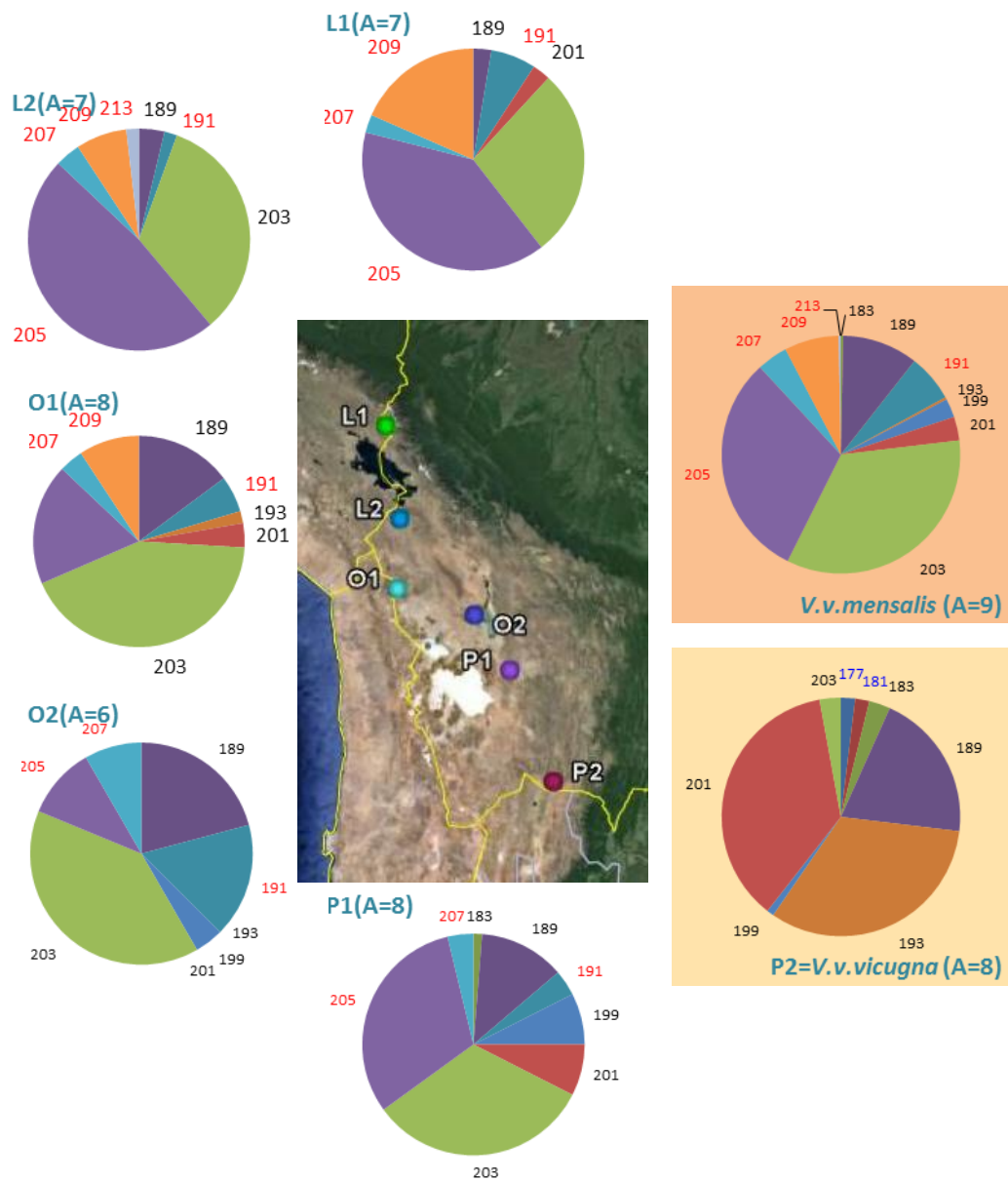
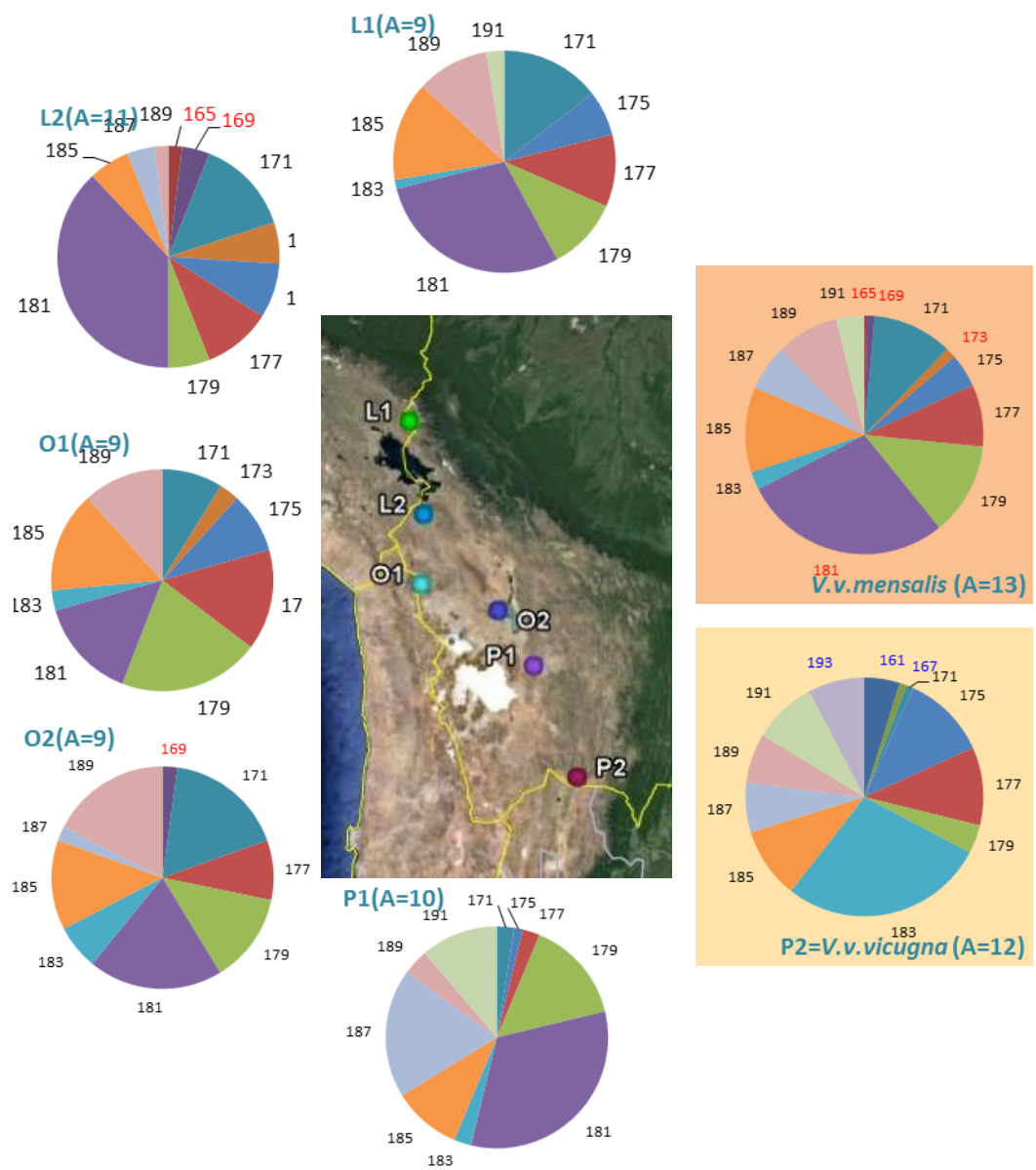


FIGURA S2. Configuración genética por población y subespecie mediante el análisis de frecuencias alélicas del locus microsatélite YWLL36. Dónde: L1=La Paz-ANMIN-Apolobamba, L2=La Paz-Yanarico-San Andrés y Santiago de Machaca, O1=Oruro-Curahuara de Carangas, O2=Oruro-Toledo y Santiago de Andamarca, P1=Potosí-Tomave y P2=Potosí-Villazón. Alelos privados de *V.v.mensalis* indicados en rojo y alelos privados de *V.v.vicugna* indicados en azul.





**FIGURA S3.** Configuración genética por población y subspecie mediante el análisis de frecuencias alélicas del locus microsatélite LCA5. Dónde: L1=La Paz-ANMIN-Apolobamba, L2=La Paz-Yanarico-San Andrés y Santiago de Machaca, O1=Oruro-Curahuara de Carangas, O2=Oruro-Toledo y Santiago de Andamarca, P1=Potosí-Tomave y P2=Potosí-Villazón. Alelos privados de *V.v.mensalis* indicados en rojo y alelos privados de *V.v.vicugna* indicados en azul.



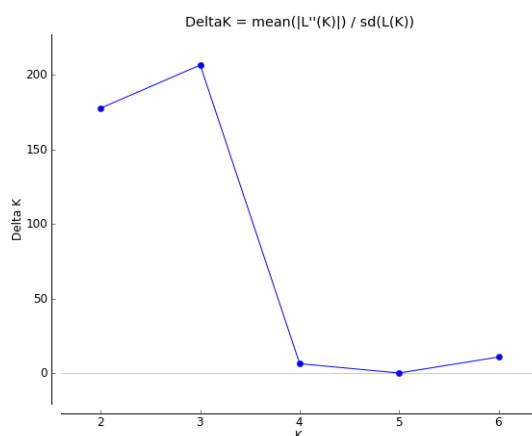
**FIGURA S4.** Configuración genética por población y subespecie mediante el análisis de frecuencias alélicas del locus microsatélite LCA65. Dónde: L1=La Paz-ANMIN-Apolobamba, L2=La Paz-Yanarico-San Andrés y Santiago de Machaca, O1=Oruro-Curahua de Carangas, O2=Oruro-Toledo y Santiago de Andamarca, P1=Potosí-Tomave y P2=Potosí-Villazón. Alelos privados de *V.v.mensalis* indicados en rojo y alelos privados de *V.v.vicugna* indicados en azul.

**TABLA S2.** Matriz de distancias geográficas promedio entre las 6 poblaciones de vicuñas del Altiplano boliviano ingresadas al análisis global.

Población	L1	L2	O1	O2	P1	P2
L1	-	204.5	353.8	454.8	595.2	852.3
L2		-	151.1	165.1	406	658.3
O1			-	179.2	302.9	537.2
O2				-	141.2	397.4
P1					-	258.2
P2						-

**TABLA S3.** Validación del número de grupos genéticos definidos en base al análisis bayesiano de 20 loci microsatélites en 6 poblaciones de vicuñas, bajo las consideraciones de Evanno *et al.* (2005), para hallar el K más probable.

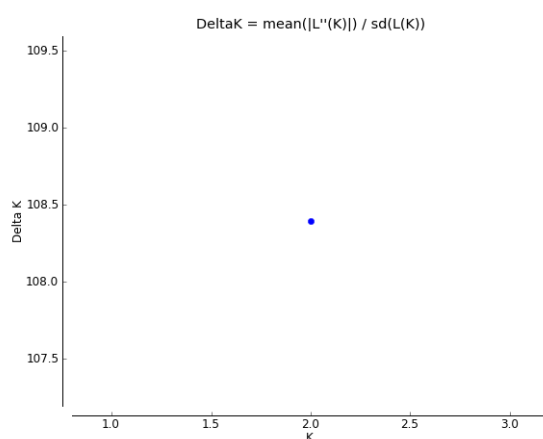
K	Repeticiones	Promedio LnP(K)	SD LnP(K)	Ln'(K)	Ln''(K)	Delta K
1	10	-13475.77	1.13240	—	—	—
2	10	-12012.47	4.77099	1463.30	848.02	177.74513
3	10	-11397.19	2.10526	615.28	435.03	206.63976
4	10	-11216.94	5.71571	180.25	37.10	6.490883
5	10	-11073.79	43.23629	143.15	11.17	0.258348
6	10	-10941.81	58.17710	131.98	638.98	10.98336
7	10	-11448.81	1646.82178	-507.00	—	—



**FIGURA S5.** Validación del número de grupos genéticos definidos en base al análisis bayesiano de 20 loci microsatélites en 6 poblaciones de vicuñas, bajo las consideraciones de Evanno *et al.* (2005), para hallar el K más probable.

**TABLA S4.** Validación del número de grupos genéticos definidos en base al análisis bayesiano de 20 loci microsatélites en poblaciones de vicuñas por subespecie, bajo las consideraciones de Evanno *et al.* (2005), para hallar el K más probable.

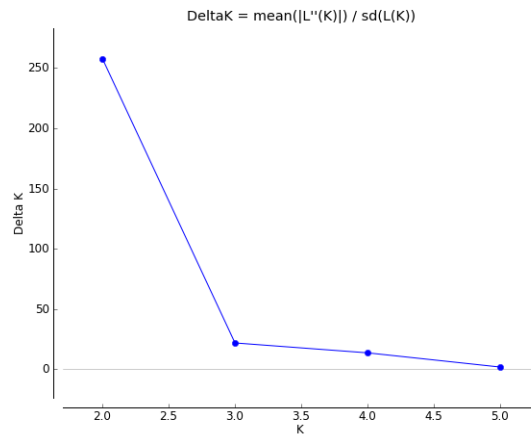
K	Repeticiones	Promedio LnP(K)	SD LnP(K)	Ln'(K)	Ln''(K)	Delta K
1	10	-13475.12	0.772873	—	—	—
2	10	-12015.26	7.758178	1459.86	840.96	108.39658
3	10	-11396.36	2.059234	618.90	—	—



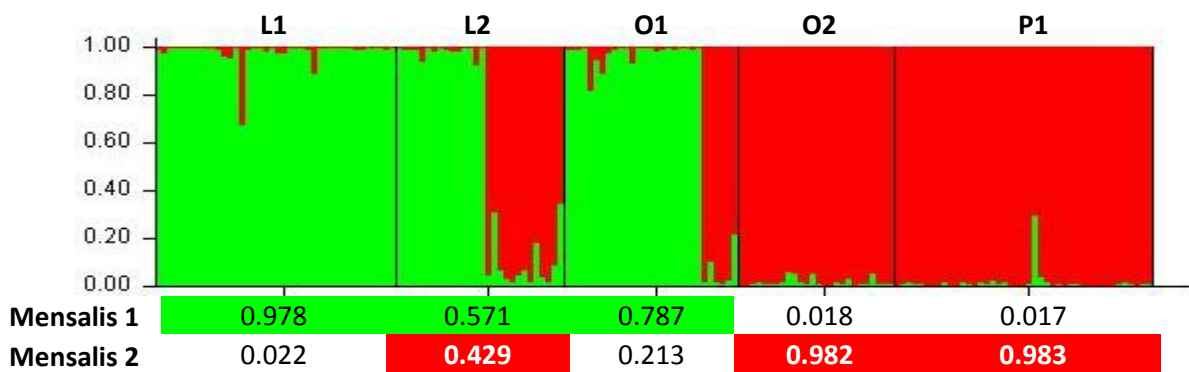
**FIGURA S6.** Validación del número de grupos genéticos definidos en base al análisis bayesiano de 20 loci microsatélites en poblaciones de vicuñas por subespecie, bajo las consideraciones de Evanno *et al.* (2005), para hallar el K más probable.

**TABLA S5.** Validación del número de grupos genéticos definidos en base al análisis bayesiano de 20 loci microsatélites en 5 poblaciones de *V.v.mensalis* del Altiplano boliviano, bajo las consideraciones de Evanno *et al.* (2005) para hallar el K más probable.

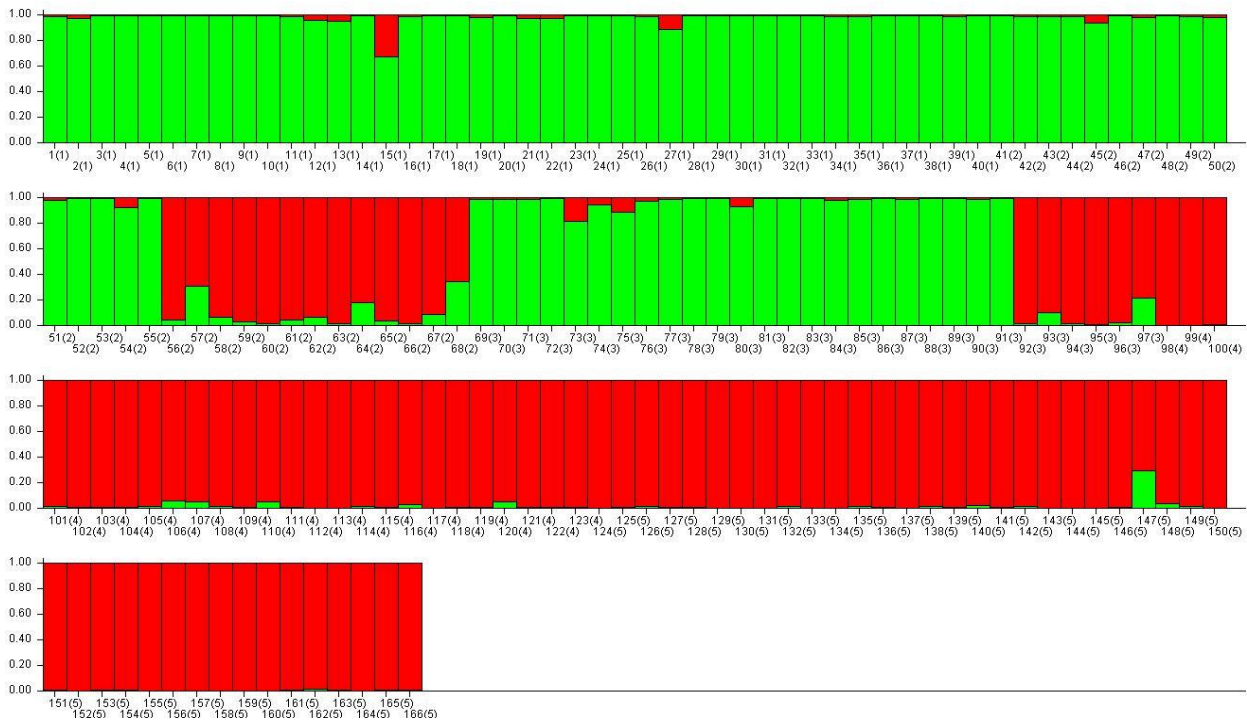
K	Repeticiones	Promedio LnP(K)	SD LnP(K)	Ln'(K)	Ln''(K)	Delta K
1	10	-8989.92	0.890443	—	—	—
2	10	-8337.11	1.840562	652.81	474.05	257.55727
3	10	-8158.35	3.58833	178.76	78.6	21.904341
4	10	-8058.19	15.056519	100.16	206.35	13.705027
5	10	-8164.38	93.029121	-106.2	180.42	1.939393
6	10	-8090.15	21.667295	74.23	—	—



**FIGURA S7.** Validación del número de grupos genéticos definidos en base al análisis bayesiano de 20 loci microsatélites en 5 poblaciones de *V.v.mensis* del Altiplano boliviano, bajo las consideraciones de Evanno *et al.* (2005), para hallar el K más probable.



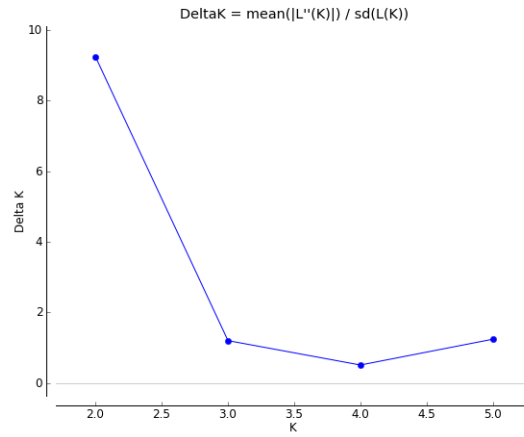
**FIGURA S8.** Representación gráfica del agrupamiento sugerido por el análisis bayesiano realizado para evaluar la estructura de las poblaciones de *V.v.mensis* del Altiplano boliviano estudiadas mediante el análisis de 20 loci microsatélites. Cada color representa un grupo genético diferente (K=2). Cada población está dividida por líneas negras. Por debajo de la gráfica se muestra la proporción de asignación de cada población de *V.v.mensis* a los grupos genéticos identificados.



**FIGURA S9.** Representación gráfica de asignación individual a los grupos genéticos (K=2) identificados por el análisis bayesiano mediante el análisis de 20 loci microsatélites en 166 individuos considerados como *V.v.mensalis*. Dónde: Verde= Mensalis 1 y Rojo= Mensalis 2. Además L1=1-40, L2=41-68 (Yanarico: 41-55, San Andrés de Machaca-Santiago de Machaca: 56-68), O1=69-97, O2=98-123 y P1=124-166.

**TABLA S6.** Validación del número de grupos genéticos definidos en base al análisis bayesiano de 23 loci microsatélites en 5 sub-poblaciones de vicuñas del norte de La Paz, bajo las consideraciones de Evanno *et al.* (2005), para hallar el K más probable.

K	Repeticiones	Promedio LnP(K)	SD LnP(K)	Ln'(K)	Ln''(K)	Delta K
1	10	-4731.10	0.817856	—	—	—
2	10	-4758.46	11.679726	-27.36	107.82	9.23138
3	10	-4893.64	68.696615	-135.20	82.24	1.19715
4	10	-4946.58	78.685998	-52.94	39.90	0.50708
5	10	-4959.62	118.476541	-13.04	146.60	1.23738
6	10	-5119.26	108.997882	-159.6	—	—



**FIGURA S10.** Validación del número de grupos genéticos definidos en base al análisis bayesiano de 23 loci microsatélites en 5 sub-poblaciones de vicuñas del norte de La Paz, bajo las consideraciones de Evanno *et al.* (2005), para hallar el K más probable.