

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS FACULTAD DE AGRONOMÍA

POSTGRADO



TESIS DE MAESTRÍA

“Caracterización de Camélidos Domésticos Bolivianos Mediante Análisis Cariotípico”

Nombre: Lic. Fernando Romero Peña

Asesor: Gloria Rodrigo Lira Ph.D.

La Paz - Bolivia
2016

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

POSTGRADO



TESIS DE MAESTRÍA

**“Caracterización de Camélidos Domésticos Bolivianos
Mediante Análisis Cariotípico”**

Nombre: Lic. Fernando Romero Peña

Asesor: Gloria Rodrigo Lira Ph.D.

**La Paz - Bolivia
2016**

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
POSTGRADO**

**“Caracterización de Camélidos Domésticos Bolivianos
Mediante Análisis Cariotípico”**

Tesis de Maestría presentado como requisito parcial para optar
el Título de Maestro en Ciencia Animal

Lic. Fernando Romero Peña

Asesor:

Gloria Rodrigo Lira Ph.D.

Tribunal Examinador:

M.V.Z. Ph.D. Celso Ayala Vargas.

Ing. M.Sc. Víctor Antonio Castañón Rivera.

M.V.Z. M.Sc. Martha Gutiérrez Vásquez.

Aprobado

Presidente Tribunal Examinador:

Ing. M.Sc. Celia María Fernández Chávez

**La Paz - Bolivia
2016**

INDICE GENERAL

	Página
1. Introducción.....	1
2. Marco teórico.....	2
2.1 Importancia y distribución de los camélidos domésticos.....	2
2.2 Definición de especie y raza en camélidos domésticos.....	2
2.3 Reproducción de los camélidos domésticos.....	4
2.4 Citogenética animal	5
2.5 Diferenciación de camélidos domésticos mediante citogenética	5
3. Problema.....	9
4. Hipótesis.....	9
5. Objetivos.....	9
5.1 General.....	9
5.2 Específicos.....	9
6. Materiales y Métodos.....	9
6.1 Área de estudio.....	9
6.2 Colecta de muestras.....	10
6.3 Cultivo celular	10
6.4 Cariotipificación mediante bandeo G.....	11
6.5 Lectura de placas.....	11
7. Resultados	12
7.1 Cariotipificación de cromosomas de camelidos	12
7.2. Caracterización entre especies de camélidos mediante bandeo GTG.....	16
7.3 Caracterización entre individuos mediante bandeo GTG.....	19
8. Discusiones.....	21
9. Conclusiones.....	23
10. Bibliografía.....	24
ANEXO	27

Caracterización de camélidos domésticos bolivianos mediante análisis cariotípico.

1. Introducción.-

Bolivia es uno de los países de mayor producción de camélidos en el mundo donde la llama y la alpaca ocupan el primero y segundo lugar en tamaño poblacional. En los últimos años la producción de camélidos se ha incrementado siendo un importante fuente de ingreso para muchas familias criadoras de camélidos (Vargas, 2005a).

Es importante el estudio y la caracterización a nivel fenotípico y genotipo. Actualmente diversos estudios han descrito similitud cariotípica y una completa homología del patrón de bandas G entre los miembros de la familia Camelidae, por lo que se ha postulado que este es un caso extremo de conservantismo cromosómico en mamíferos.

Técnicas citogenéticas actuales han mejorado la resolución de patrones de bandas cromosómicas, permitiendo una mayor exactitud en los análisis. Estos métodos no han sido aplicados en estudios cariotípicos de camélidos de Bolivia, por lo que el objetivo de este estudio fue diferenciar a los camélidos domésticos de Bolivia mediante el análisis de su cariotipos utilizando técnicas de bandeo G, elaborando idiogramas parcial y completo a partir de muestras de sangre periférica de 10 llamas (*Lama glama*), 5 vicuñas (*Vicugna vicugna*) y 10 alpacas (*Lama pacos*), procedentes de diferentes regiones de Bolivia.

Palabras Clave: cariotipo, bandas G, citogenetica, ideograma.

2. Marco Teórico.

2.1.- Importancia y distribución de los camélidos domésticos.-

La cría de camélidos domésticos es una de las actividades de mayor importancia económica y cultural en las regiones andinas siendo la principal fuente de ingresos y un recurso estratégico para la economía. Por ello en los últimos años muchas instituciones y organizaciones han desarrollado iniciativas para el desarrollo de la ganadería camélida y seguridad alimenticia, acciones también que deberían ser orientadas al mejoramiento genético y a la conservación de la biodiversidad (Rondines 2006).

La población rural de Bolivia está representada por 745 000 familias de las cuales el 51% de ellas se ubican en el Altiplano entre los departamentos de La Paz, Oruro y Potosí. El 80% de sus habitantes viven en situación de pobreza, siendo la agricultura la principal actividad económica. Los ingresos de los pequeños productores son un 30% más bajo que los ingresos de un hogar marginal urbano. Cerca de 53 mil familias son productoras de camélidos en todo el altiplano Boliviano (Potosí 22 mil familias, Oruro 17 mil familias y La Paz 11 mil familias), donde un 30% de las cuales obtienen casi la totalidad de sus ingresos de la producción de camélidos y sus derivados (Vargas, 2005a).

Bolivia es el mayor productor de llamas en el mundo y el segundo productor de alpacas. La crianza de los camélidos domésticos es una actividad económica importante para las región andina, donde se destaca la producción de fibra de alpaca por su alto valor económico en el mercado internacional por su fina textura y la producción de carne de llama (Vargas, 2005a). El efecto del cruce entre llama y alpaca cuya descendencia se denomina “huarizo” se observa en la calidad de la fibra, que presenta una mayor diámetro al de la alpaca (Quispe *et al.*, 2009).

2.2 Definición de especie y raza en camélidos domésticos.-

Los camélidos domésticos se dividen en dos grandes grupos definidos como especies *Lama glama* y *Lama pacos* descrito por Linnaeus, 1758. Diversos estudios sobre el origen de los camélidos domésticos consideran que la llama es la forma domestica del guanaco y la alpaca

de la forma doméstica de la vicuña, pero pudieron existir influencias cruzadas de las dos especies silvestres sobre las dos formas domesticas (Renieri *et al.*, 2009).

Ambas especies domesticas presentan razas definidas principalmente por características fenotípicas. El concepto de raza en zootecnia comprende poblaciones diferenciadas dentro de una misma especie y se utiliza para definir cualquier subdivisión dentro de una especie doméstica (Renieri *et al.*, 2009, FAO 2010).

En el proceso de domesticación, la interacción hombre animal jugaron un papel importante en el proceso evolutivo de los camélidos, donde los efectos selectivos sobre caracteres directamente favorecidos pudieron ser contrarios a la selección natural, también el efecto fundador jugo un papel importante en la separación de los animales domésticos de sus progenitores silvestres. Un aspecto importante en la domesticación fue la selección de caracteres visibles como color de la capa o la estructura del vellón (Renieri *et al.*, 2009).

Renieri y colaboradores (2009), sugieren que tanto llamas como alpacas presentan razas primarias o razas que derivan de la primera diferenciación intraespecifica post domesticación, donde la característica esencial es una gran variabilidad de los rasgos morfológicos, cualitativos y biométricos visibles. Existen dos principales fenotipos de llamas: Karas y Tampullis, la mayoría de llamas andinas son de apariencia pelada o K`ara, como animal de carga y para producción de carne. La alpaca se ha seleccionado para la producción de fibra durante 3 mil años y durante este proceso hubo un incremento en la longitud de la fibra y modificación de su forma, dando origen a los fenotipos Huacaya y Suri (foto 1), (Cardozo, 1980).



	<p>Taxonomía:</p> <p>Clase: Mamíferos</p> <p>Orden: Artiodáctila</p> <p>Sub orden: Tilópoda</p> <p>Familia: Camelidae</p> <p>Tribu: Lamini</p> <p>Género: Lama</p>	
<p>Especie: <i>Lama glama</i></p>		<p>Especie: <i>Lama pacos</i></p>

Foto 1. La llama y la Alpaca. Su taxonomía (Anderson, 1997)

2.3 Reproducción de los camélidos domésticos.

Los camélidos domésticos llamas y alpacas, presentan similar comportamiento reproductivo donde la pubertad se da al año de vida en las hembras y en los machos se alcanza alrededor de los dos años. Ambas especies muestran un patrón de apareamiento similar, en el que se distinguen dos fases, una inicial de cortejo, seguida por la cópula (Urquieta, 1993), siendo considerados como reproductores estacionales, su temporada normal de apareamiento ocurre en los meses más cálidos y húmedos, cuando el forraje es más abundante entre agosto y septiembre (Álvarez y Medellín, 2005). La gestación es de 11 meses que es mayor a la de otros mamíferos y de una sola cría permitiendo el nacimiento de un neonato desarrollado (Raggi, 1993).

Ambas especies domesticas presentan fenotipos definidos aunque se observan algunos intermedios de difícil categorización (Vargas, 2005). Su cariotipo es conservado con 74 cromosomas, los cruces entre llamas y alpacas producen descendencia fértil (Bustamante *et al.*, 2006; Marin *et al.*, 2007). Históricamente la introgresion se pudo incrementar durante la conquista española la cual pudo haber destruido la estructura de manejo tradicional entre las dos especies (FAO 2010). Se reportan híbridos entre llamas y alpacas en tamas del altiplano, denominándose como huarizo a los individuos mestizos con padre llama y misti al los mestizos con padre alpaca. La hibridación ha sido documentada a nivel molecular en alpacas (Kadwell *et al.*, 2001, Barreta *et al.*, 2012). Estudios recientes en camélidos del altiplano boliviano reportan que un 63% de las alpacas analizadas presentan haplotipos de DNA mitocondrial similar a la llama y dentro del clado guanaco (Barreta *et al.*, 2012). Los huarizos se caracterizan por ser fértiles, tener un peso vivo mayor que las alpacas y producir abundante cantidad de fibra, en el sistema ganadero no son rechazados por los productores, aunque su fibra es de menor calidad que la alpaca (FAO 2005b, Briones y Valdivia 1985).

La presencia de híbridos entre ambas especies indica que el proceso de diferenciación inter específica no ha completado, dado que el proceso de hibridación no solo se da entre las dos especies, si no que también puede darse entre híbridos y especie pura.

A nivel mundial se reporta que la introgresión genética a partir de la hibridación entre especies, es una amenaza importante para su conservación (Halbert *et al.*, 2007), (Zerabruk *et al.* 2011) Así es posible que la integridad de ambas especies pudiera estar afectada por la hibridación, afectando a las características de razas primarias dentro de las mismas.

Siendo que la mezcla entre alpacas y llamas afecta a las características fenotípicas de la cría y dada la importancia económica que tiene la alpaca como recurso genético para la región andina de Bolivia, además de ser el segundo productor de alpacas en el mundo. Es importante conocer la situación actual de la alpaca, en relación al grado de introgresión para poder utilizar esta información en futuros planes de conservación o de manejo.

2.4 Citogenética animal.-

En la década de los 60 se inicio el interés en el estudio de la citogenética de animales de interés zootécnico, por que se demostró que existían anomalías cromosómicas en bovinos de interés productivo (Muñoz *et al.* 1993). En 1977 se realizo en Francia en coloquio Internacional, que reunió a citogenetistas de Estados Unidos, sobre la citogenética de animales domésticos. La Innovación de cultivos celulares y técnicas de citogenéticas han sido un paso importante en el análisis de metafases y calidad de cromosomas obtenidos para su análisis, así la introducción del tratamiento hipotónico para obtener la ruptura de la membrana nuclear, cuando los cromosomas están en metafase provocando su dispersión y el uso de la colchicina, que sirve para detener la división celular mediante la inhibición de la formación de los husos acromáticos (Muñoz *et al.* 1993) ha facilitado este tipo de análisis.

2.4.1 Diferenciación de camélidos domésticos mediante citogenética.-

En los últimos años se han realizado diversos trabajos para la caracterización entre razas y especies de animales domésticos mediante el análisis citogenético y bandeo cromosómico. La variabilidad intra e interespecífica, que corresponde a los polimorfismos cromosómicos, es una parte muy importante de la biodiversidad y fundamental para entender la evolución de las poblaciones (Alaou *et al.* 2000).

El complemento cromosómico de cada célula organizado sistemáticamente se denomina cariotipo. Este término se utiliza para describir la constitución cromosómica de una especie. La identificación morfológica de los cromosomas está basada en los tamaños relativos de los mismos y de sus brazos. Un ideograma es la representación esquemática de la morfología cromosómica en base a su tamaño y forma, sirve también para la comparación de los cariotipos de diferentes especies y variedades (Paz-y-Miño y López-Cortés 2014), en la figura 2 se detalla el ideograma para bandeo GTG descrito para camelidos (Avila et al. 2012)

Con la técnica convencional de tinción con Giemsa los cromosomas se tiñen intensamente y en forma homogénea y se los puede agrupar por su aspecto general. Cuando los cromosomas metafásicos son sometidos a determinadas técnicas de tinción exhiben bandas claras y oscuras intercaladas dispuestas a lo largo de sus ejes. La distribución de estas bandas es constante en cada tipo de cromosoma, lo cual, al analizar un cariotipo, facilita la identificación de los cromosomas (De Robertis 2001).

El bandeo GTG se logra con un tratamiento controlado con tripsina antes de la coloración con Giemsa y produce bandas claras y oscuras en los cromosomas. Las bandas oscuras contienen ADN rico en bases A-T que replica tardíamente y son pobres en genes constitutivos y las bandas claras contienen ADN rico en G-C que replica tempranamente y tienen muchos genes constitutivos cuando un cromosoma está más elongado puede mostrar un mayor número de bandas, en la mitad de la metafase muestran un nivel de resolución de 400 bandas mientras que los de alta resolución alcanzan niveles de resolución de 550 y hasta de 850 bandas (Paz-y-Miño y López-Cortés 2014), (De Robertis 2001).

Todos los cromosomas alcanzan en la metafase su máximo grado de organización, ordenamiento y compactación. Los cromosomas metafásicos presentan una morfología característica, se hallan integrados en dos componentes filamentosos (las cromátidas) los cuales se encuentran unidos por los centromeros o constricción primaria que divide al cromosoma en dos brazos que se designan “p” para el brazo corto y “q” para el brazo largo (De Robertis 2001).

La posición del centrómero permite clasificar a los cromosomas en tres tipos principales. Metacéntricos cuando el centrómero es más o menos central y los brazos son de aproximadamente igual longitud. Submetacéntricos cuando el centrómero está alejado del centro y los brazos son desiguales. Acrocéntricos cuando el centrómero está cerca de uno de los extremos y uno de los brazos es muy corto (Popescu 2000) y telocéntrico aquellos en los que el centrómero se sitúa justo en un extremo de la estructura de los cromosoma.

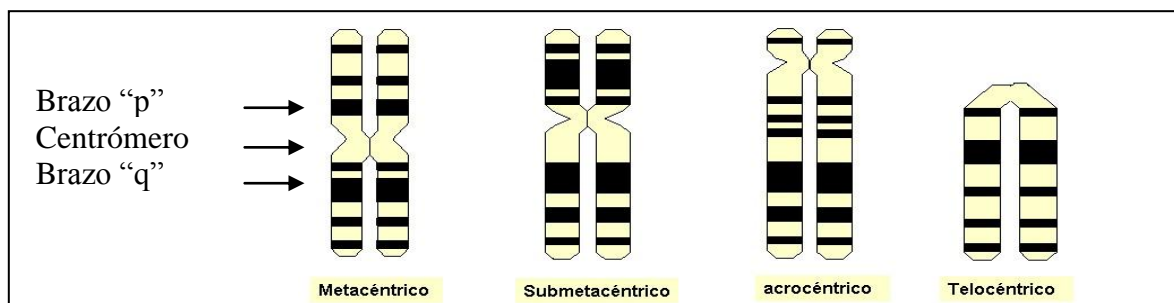


Fig. 1: Clasificación de los cromosomas según posición del centrómero.

El interés en la conservación del ganado nativo se ha incrementado en los últimos años por la alta productividad y detrimento de las poblaciones locales. La diversidad genética de las especies de ganado domestico es de gran interés científico para la comprensión de la variación fenotípica y para la reconstrucción de su historia evolutiva (Lenstra *et al.* 2012).

El origen de llamas y alpacas ha sido históricamente material de controversia (Wheeler *et al.* 2004) debido principalmente a la alta tasa de hibridización entre estas formas y a dificultades en la interpretación de los restos zooarqueológicos (Kadwell *et al.* 2001).

A nivel cromosómico, estudios dirigidos a la determinación del origen de la alpaca han producido resultados contradictorios. Los camélidos del Viejo y Nuevo Mundo presentan un cariotipo muy conservado, $2n = 74$, con patrones de bandas G y C aparentemente muy similares, siendo capaces de cruzarse y producir descendencia fértil bajo influencia humana (Marin *et al.* 2007).

La descripción de la estructura cromosómica de los camélidos sudamericano realizada por Espinoza y colaboradores (2008) en camélidos de Perú mediante análisis citogenético convencional en 15 alpacas, 6 llamas, 6 vicuñas y 12 guanacos, evidencio la gran similitud

morfológica de los cromosomas de los camélidos sudamericanos. El análisis de los cariotipos reveló semejanza estructural entre las cuatro especies de camélidos sudamericanos. Estudios realizados por (Marín et al. 2007) realizado en 22 alpacas, 9 llamas, 10 vicuñas y 10 guanacos de Chile, reveló diferencias entre especies de camélidos ya que fue posible observar finas y consistentes diferencias en el patrón de bandas G de los brazos cortos del par 1 de guanaco y vicuña. Con el objeto de dilucidar las diferencias entre 2 especies de camélidos domésticos de Bolivia y contrastar con una especie de camélido silvestre (*Vicugna vicugna*) con aproximación a su relación filogenética. Se realizó el análisis de 20 metafases por animal de cada especie y la comparación entre ellas mediante el patrón de bandeado GTG.

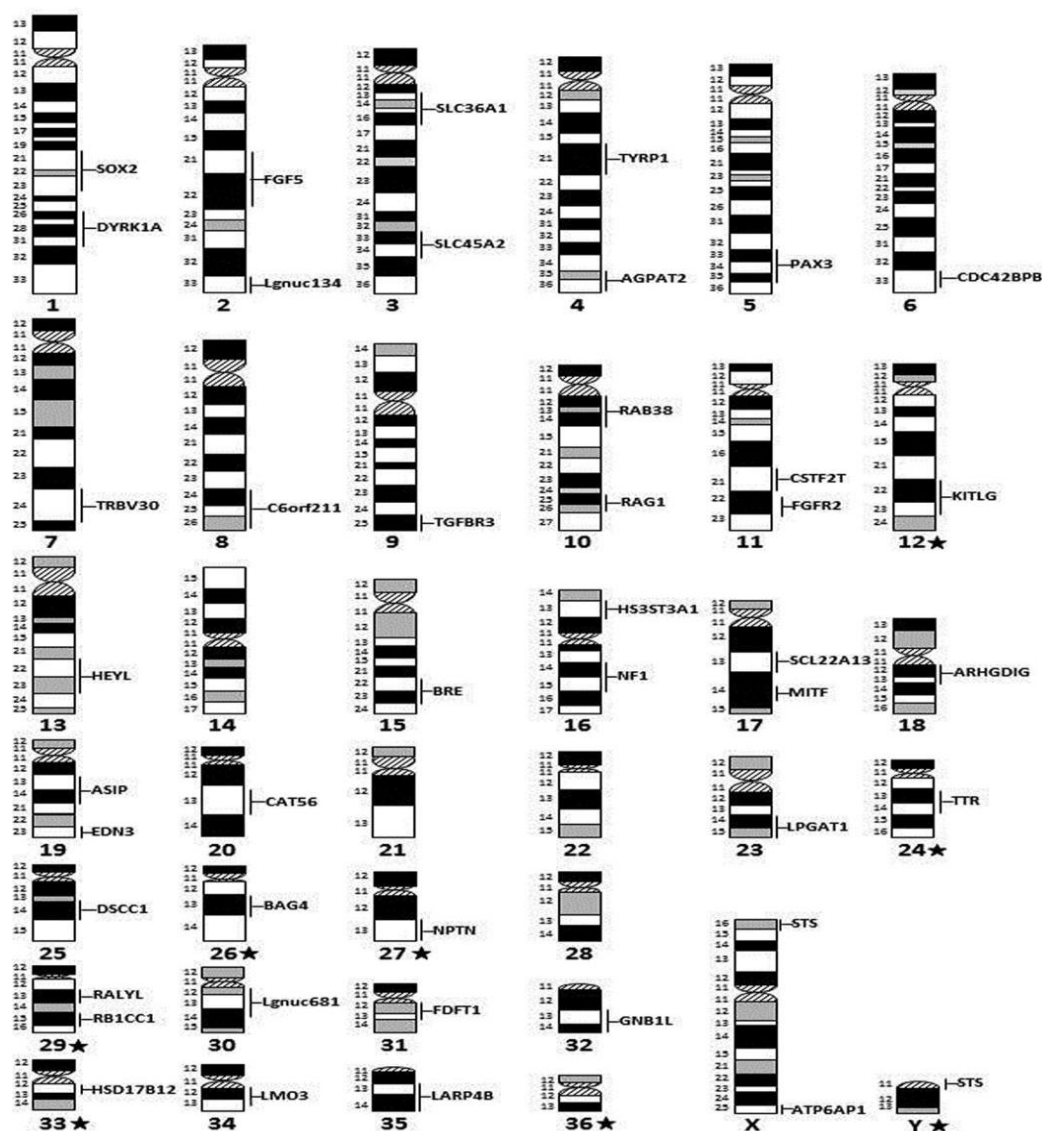


Figura 2. - Ideograma de cromosomas de camélidos, nomenclatura de bandas G según ISCN (1995). (Avila et al. 2012)

3. Problema.-

Las diferencias a nivel cromosómico entre las dos especies de camélidos domésticos pueden ser usadas para caracterizar y poder distinguir ambas especies, teniendo en el futuro un uso en la selección de animales por los ganaderos.

4. Hipótesis.-

Existen diferencias a nivel cromosómico, visibles mediante bandeo G entre las 2 especies de camélidos domésticos.

5. Objetivos.-

5.1 General.

- Caracterizar a los camélidos domésticos bolivianos mediante cariotipos.

5.2 Específicos.

- Evaluar las diferencias entre especies de camélidos domésticos mediante bandeo GTG.

- Comparar las dos especies domesticas *Lama glama*, *Lama pacos* con una especie silvestre *Vicugna vicugna*.

6. Materiales y Métodos.-

6.1 Área de estudio.-

El estudio se realizó en muestras de camélidos del altiplano Boliviano. 6 llamas, 5 alpacas y 4 vicuñas pertenecientes al Zoológico de la ciudad de La Paz y 5 llamas, 3 alpacas, 2 huarizos del cantón Okoruro situado en la provincia Pacajes.

6.2 Colecta de muestras.-

Se realizó la colecta de muestras de sangre periférica de 25 animales (tabla 1), en tubos vacutainer heparinizado a temperatura ambiente, los tubos fueron trasladados a temperatura ambiente al laboratorio para el cultivo de sangre el mismo día.

Tabla 1.- Detalle del número de muestras pro especie.

Especie	No muestras
<i>Lama glama</i>	11
<i>Lama pacos</i>	8
<i>Vicugna Vicugna</i>	4
Huarizo	2

6.3 Cultivo celular .-

La muestra de sangre periférica se procesaron siguiendo el protocolo descrito en (Freshney I. 2005) con algunas modificaciones.

Se sembró el mismo día 20 gotas de sangre total en 5 mL de medio de cultivo RPMI 1640, con L-glutamina, 0,5 ml de suero bovino fetal y 100 ul de fitohemaglutinina, cultivós por 72 h. en estufa a 37 oC.

Pasadas las 72 h. se siguió el siguiente protocolo: añadir 100 µl de Colchicina, Incubar 20 min. a 37 C. Verter el contenido en un tubo Falcon, centrifugar a 1700 rpm por 10 min, descartar el sobrenadante, resuspender el pellet en solución hipotónica de KCL 0,075 M. aforar a 5 ml, incubar 37 C por 20 min, centrifugar 1700 rpm 10 min, desechar el sobrenadante, añadir solución fijadora Carnoy (Metanol: Acido Acetico 3:1), incubar a temperatura ambiente 5 min, centrifugar 1700 rpm 10 min, desechar el sobrenadante, añadir solución fijadora Carnoy (Metanol: Acido Acetico 3:1), centrifugar 1700 rpm 10 min. Dejar en 200 ul de solución Carnoy.

Gotear sobre porta objetos húmedos frios desde una altura de 40 cm 3 gotas. Secar los portaobjetos en estufa a 90 C por 1 hora.

6.4 Cariotipificación mediante bandeo GTG.-

Se utilizó el Protocolo de Bando GTG del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas “INEN” ubicado en Lima Perú. Colocar el porta objeto en solución “ 0,05 g Tripsina+50 ml de Buffer Fosfato Monobásico, colocar en 50 ml solución salina NaCL 0,9% por 30 seg. Teñir con solución “1 ml solución de Giemsa + 9ml agua destilada.

6.5 Lectura de placas.-

Se preparó un total de 2 placas por animal, bandeadas mediante técnica de GTG de las cuales se realizó la lectura de 10 metafases por placa, con un total de 20 metafases por animal.

Cada placa se analizó en un microscopio a 1000X, observando juegos de cromosomas completos, posteriormente se tomaron fotografías digitales de alta resolución de cada metafase.

En la fotografía de cada metafase, cada cromosoma fue recortado, identificando según su tamaño, posición del centrómero y patrón de bandas.

Cada metafase fue ordenada en un cariograma completo, según el ideograma publicado por Avila y colaboradores (2012). Posteriormente se realizó la comparación visual entre especies y entre individuos.

7. Resultados.-

7.1. Cariotipificación de cromosomas de camelidos.-

Se analizó un total de 11 llamas, 9 alpacas, 2 huarizos y 4 vicuñas. Las tres especies de camélidos analizadas presentan un cariotipo de $2n = 74$.

La nomenclatura de las bandas fueron ordenadas según ISCN (1995) tomado de Avila y colaboradores (2014). Los cariotipos se informan presentando todos los pares cromosómicos ordenados de acuerdo al tamaño de cada cromosoma y posición del centrómero, identificándose un total de 37 pares de cromosomas en las 3 especies, tanto machos como hembras.

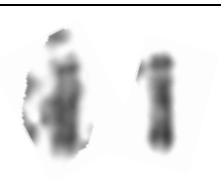
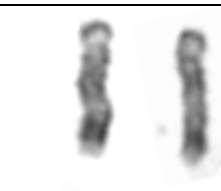
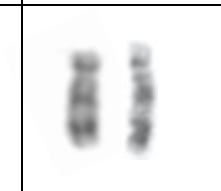

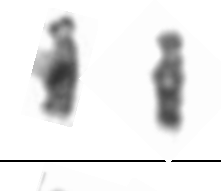


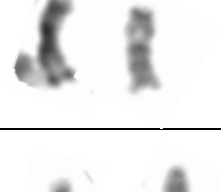



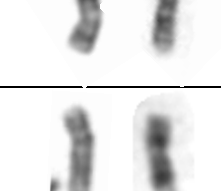

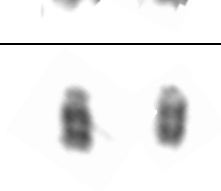
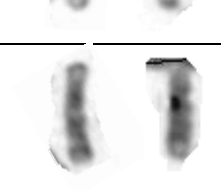

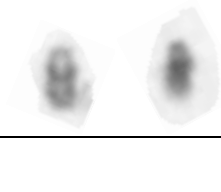
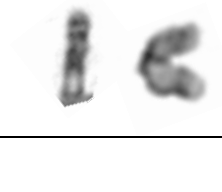




Con respecto al Bando GTG, mediante el protocolo utilizado, se obtuvieron metafases con buena morfología, cromosomas definidos y óptimos para la lectura de bandeos GTG. En la foto 2 se observa metafases de las tres especies descritas en este trabajo.



Foto 2: Bando GTG de camélidos. a) llama, b) alpaca, c) vicuña.

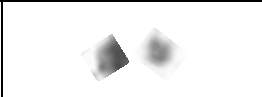


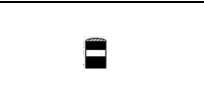

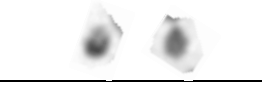

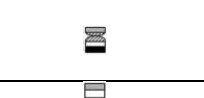



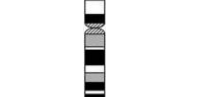



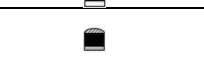
Para la clasificación de los cromosomas por su morfología y tamaño se evidencio una diferencia amplia con respecto al tamaño entre los distintos cromosomas que componen el cariotipo de los camélidos. Los cromosomas 1 al 8, 10 al 13, 15, 17, 19 al 31,33, 34 y 36 son acrocentricos. El cromosoma 9 es submetacentrico por el centromero ligeramente desplazado del centro. El cromosoma 14 es metacéntrico. Los cromosomas 16, 18 son submetacentricos por el centromero ligeramente desplazado del centro. Los cromosomas 32, 35 y Y son telocentricos, El Cromosoma X es submetacentrico Tabla 2.

Tabla 2 .- Cariotipos de alpaca, llama y vicuña comparados con ideograma ISCN 1995 (Avila et al 2012).

Cromosoma	Alpaca	Llama	Vicuña	Ideograma
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				

8				
19				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				

20				
21				
22				
23				
24				
25				
26				
27				
28				
29				
30				
31				
32				
33				
34				

35				
36				
X				
Y				

7.2. Caracterización entre especies de camélidos mediante bandeo GTG.

Para la visualización de bandas GTG se utilizó la técnica citogenética utilizada actualmente en el diagnóstico de enfermedades neoplásicas humanas, con una alta resolución de patrones de bandas G, permitiendo una mayor exactitud en los análisis, este métodos no han sido aplicado antes en estudios cariotípicos de camélidos sudamericanos. Se visualizó y ordeno los cromosomas bajo los siguientes parámetros: tamaño del cromosoma, clasificación del cromosoma, posición del centromero, patrón de bandas GTG y se ordenó según el ideograma publicado por Avila y colaboradores (2012).

Las tres especies de camélidos presentan un cariotipo con patrones de bandas GTG aparentemente muy similares, observándose diferencias en patrón de bandas G entre especies.

En el análisis de bandeo GTG del cromosoma 1 se observa que el centrómero se encuentra más cercano a uno de los telómeros, un brazo muy corto (p) y el otro largo (q) siendo por lo tanto acrocéntrico. El brazo (p) presenta una zona con 3 bandas al comparar entre especies se observan diferencias consistentes entre llama y alpacas, en llamas la banda 1p12 es clara y la banda 1p13 es oscura y este patrón se encuentra invertido en alpacas. Por lo tanto llamas presentaron una banda G oscura terminal (1p13), mientras que vicuñas y alpacas presentaron

una banda G clara terminal (1p13) y una oscura (1p12). El patrón de bandas entre alpacas y vicuñas es similar (fig. 3).

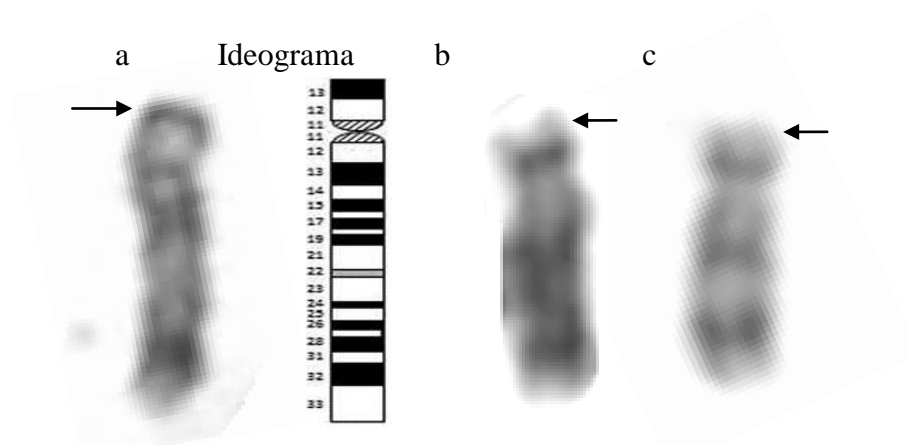


Figura 3: Patrón de bandeado GTG del cromosoma 1, a) llama, b) alpaca y c) vicuña

En el cromosoma 2 acrocentrico, el brazo (p) en las tres especies es muy similar, se observa diferencias entre llamas y vicuñas, la banda (2q13) en llamas se observa delgada y bien definida, en alpacas esta banda se observa un poco más gruesa (fig.4).

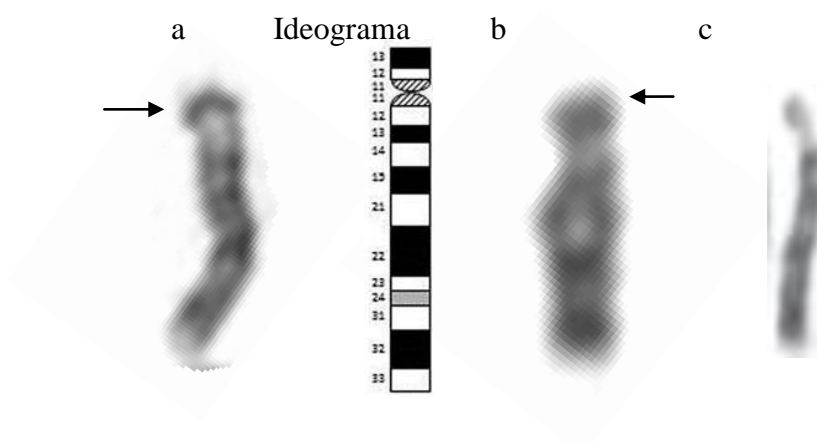


Figura 4: Patrón de bandeado GTG del cromosoma 2, a) llama, b) alpaca y c) vicuña

En el cromosoma 11 se observa una diferencia de tamaño entre llamas, alpacas y Vicuñas. Las vicuñas presentan un cromosoma mas corto y ausencia de la región 2 (q23) V1 74,XY [20], observado en 20 metafases (fig.5).

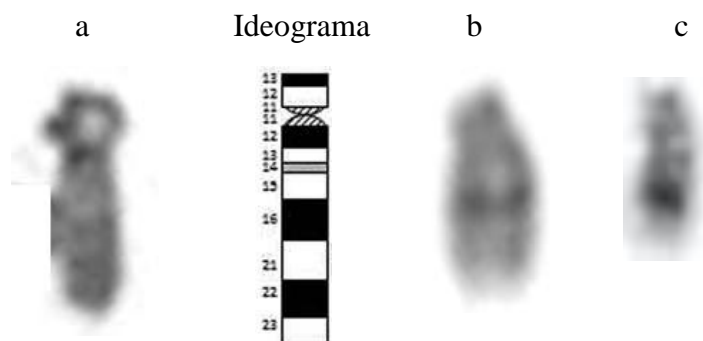


Fig 5. Patrón de bandeo GTG del cromosoma 11, a) llama, b) alpaca y c) vicuña

En el cromosoma 27 se puede observar en llamas la presencia de una banda (27q12) oscura y una banda (27q13) clara, en alpacas y vicuñas se observa un patrón invertido (27q12) clara y una banda (27q13) oscura ver fig. 6.

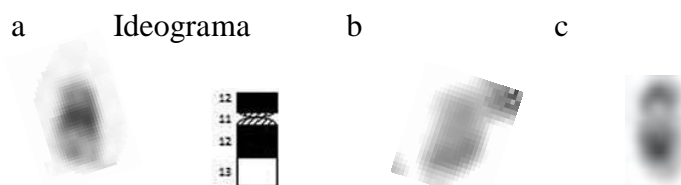


Figura 6. Patrón de bandeo GTG del cromosoma 27, a) llama, b) alpaca y c) vicuña

7.3. Caracterización entre individuos mediante bandeado GTG.

El análisis de bandeado GTG del cromosoma 1 comparando los individuos LL1 y LL4 nos muestra un polimorfismo en la región (1q 12). Los individuos LL1, LL2, LL3 presentan una banda clara mientras que el Individuo LL4 presenta una banda oscura (fig. 7).

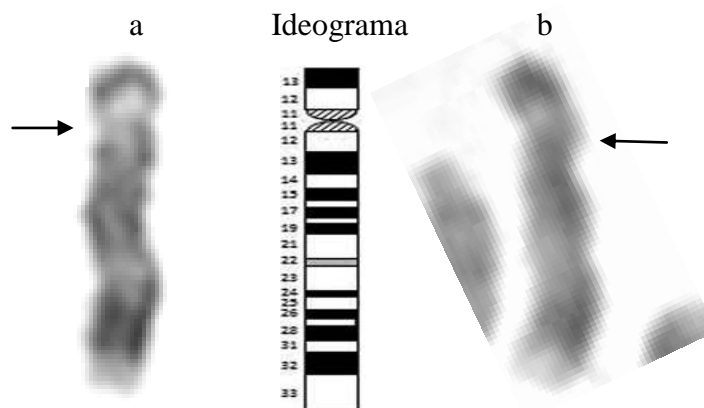


Figura 7: Patrón de bandeado GTG del cromosoma 1, a) llama LL1 74,XX [20], b) llama LL2 74,XY [20].

En el análisis de bandeado GTG del cromosoma 3 comparando LL2 y LL4 se observa polimorfismo en la región (1q 36). LL4 presenta una banda clara de mayor tamaño en las 20 metafases analizadas (fig. 8).

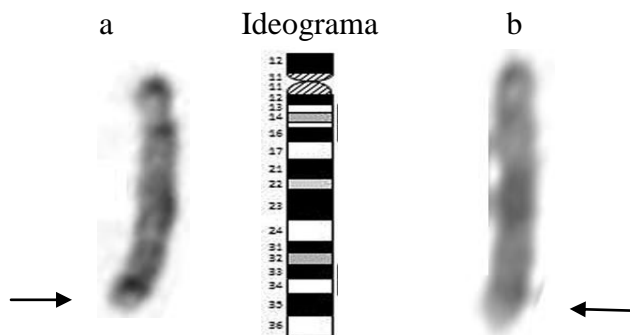


Figura 8. Patrón de bandeado GTG del cromosoma 3, a) llama LL2 74,XX [20], b) llama LL4 74,XY [20].

Con respecto al cromosoma 1 del individuo A1 se observa polimorfismo en la banda (1p 13), en la que un cromosoma presenta una banda clara y el otro una banda oscura en todas las metafases analizadas (fig.9).

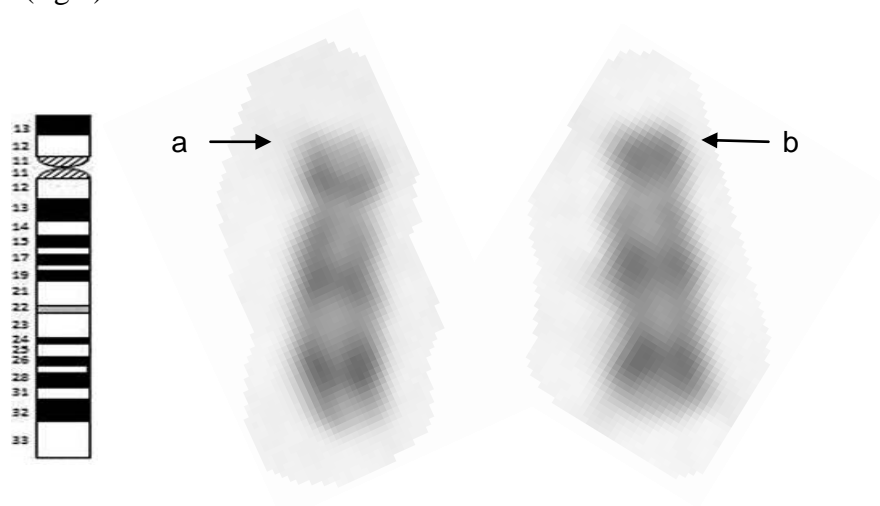


Figura 9: Patrón de bandeo GTG del cromosoma 1, Alpaca A1 74,XX [20]. a) banda (1p 13), b) banda (1p 13)

En la comparación del cromosoma 6 entre A1 y A3, se observa que A1 presenta una banda (6q 33) oscura en comparación a A3, este polimorfismo fue observado en 20 metafases del individuo A1 (fig. 10).



Figura 10.- Patrón de bandeo GTG del cromosoma 6, Alpaca A1 74,XX [20] y Alpaca A3 74,XX [20]. a) banda (1p 13), b) banda (1p 13)

8. Discusiones.

Dentro de las cuatro especies de camélidos, la alpaca es la especie más pequeña, pero a la vez comparte muchas características morfológicas con las vicuñas (Wheeler et al. 1995, Wheeler et al. 2006). Estas características evidencian el proceso de domesticación, observándose restos en periodos que datan desde hace 6.000 a 5.500 de las primeras llamas y alpacas (Wheeler 1984, 1995, 2000). Donde Restos de camélidos comienzan a aumentar, hasta llegar a constituir el 70 % de todos los restos de camélidos depositados (Wheeler 1995, 2000).

Basado en registros dentales y óseo desde uno de los sitios del Perú central, Wheeler (1991, 1995) ha colectado evidencia que concuerda con la hipótesis de que la alpaca fue domesticada a partir de poblaciones de vicuñas locales (*V. v. mensalis*).

El hallazgo de momias en El Yaral en Perú, confirmó que la crianza de llamas y alpacas se extendía desde los valles costeros y que existía una alta selección de alpacas y llamas como productores de fibra (Wheeler et al. 1995).

La llama es el camélidos más grande en Sudamérica, se ha adaptado a un gran rango de condiciones ambientales, evidencias arqueozoológicas y de ADN muestran múltiples eventos de domesticación a partir de *L.g. cacsilensis*, posiblemente hace 6.000 años (Wheeler et al. 1976, Wing 1977, 1986, Wheeler 1984),

Los datos cromosómicos mediante Bando GTG del presente trabajo evidencia la gran similitud morfológica entre los cromosomas de las tres especies de camélidos *Lama glama*, *Lama pacos* y *Vicugna vicugna*, observándose un cariotipo muy conservado de $2n = 74$. Donde el análisis mostro una gran semejanza estructural y de patrones de bandas GTG. Aunque actualmente son descritos como especies diferentes. Existen diferencias observables mediante el método de bandedo cromosómico.

Estas diferencias refuerzan las hipótesis con respecto al origen de llamas y alpacas, por que la alpaca y vicuña presentan el mismo patrón de bandas GTG en el cromosoma 1 (fig. 3),

mientras que hay una diferencia significativa con el patrón de bandeo en el brazo corto con llamas, por lo tanto se apoya la hipótesis de que la alpaca deriva de la vicuña y la llama tendría un origen un tanto distinto o habría derivado de la otra especie silvestre como es el guanaco, como describe en su trabajo Marin y colaboradores (2007). En el presente estudio se observó esta diferencia, en vicuñas y alpacas la banda oscura 1p12 y la terminal clara 1p13 (fig. 3), son diferentes a las banda clara 1p12 y terminal oscura 1p13 de llama. Estas diferencias son observables en 20 metafases cariotipadas en cada animal por especie.

La diferencia en el cromosoma 2, la banda (2q13) en llamas se observa delgada y bien definida, en alpacas esta banda se observa un poco más gruesa. En el cromosoma 11 se observa una diferencia de tamaño entre llamas, alpacas y vicuñas. Las vicuñas presentan un cromosoma más corto y ausencia de la región (2 q23) pudiendo deberse a polimorfismos o arreglos cromosómicos en ancestros de la vicuña.

En el cromosoma 27 se puede observar una diferencia significativa, en llamas la presencia de una banda (27q12) oscura y una banda (27q13) clara, en alpacas y vicuñas se observa un patrón invertido (27q12) clara y una banda (27q13) oscura, pudiendo deberse a una inversión o reordenamiento del cromosoma. El patrón de bandas G compartido por vicuñas y alpacas se presenta como un estado derivado, sinapomorfía exclusiva heredada a partir de un cambio producido en un ancestro común pero que no es ancestro de llamas.

Con respecto a la diferenciación mediante bandeo GTG entre individuos de la misma especie se observó diferencias a nivel de polimorfismo que ayudo a diferenciar individuos. Cuando en una población uno o varios cromosomas están presentes en dos o más formas estructurales alternativas se dice que hay un polimorfismo cromosómico y los individuos de dicha población pueden ser homocigotos o heterocigotos para este tipo estructural del cromosoma o cromosomas cuando los diferentes tipos de individuos homocigotos y heterocigotos se mantienen en proporciones fijas en la población se dice que es un polimorfismo cromosómico equilibrado. Por lo general el polimorfismo equilibrado es debido a un mayor valor adaptativo de los heterocigotos.

Con respecto al cromosoma 1 comparando los individuos LL1 y LL4 se observa polimorfismo en la región (1q 12). Los individuos LL1, LL2, LL3 presentan una banda clara mientras que el Individuo LL4 presenta una banda oscura. El análisis de bandeo GTG del cromosoma 3 comparando el LL2 y LL4 muestra polimorfismo en la región (1q 36), LL4 presenta una banda clara de mayor tamaño en las 20 metafases analizadas. Con respecto al cromosoma 1 del individuo A1 (alpaca) se observa una interesante diferencia donde existe polimorfismo pero el individuo es heterocigoto, donde la banda (1p 13) en un cromosoma presenta una banda clara y el otro cromosoma una banda oscura, observado en el total de las metafases analizadas (fig.9), es posible que esta diferencia en ambos cromosomas revele su naturaleza mestiza o existiera introgresión en ancestros de este animal. En la comparación del cromosoma 6 entre los individuos A1 y A3, se observa que A1 presenta una banda (6q 33) oscura en comparación a A3, este polimorfismo fue observado en 20 metafases del individuo A1.

9. Conclusiones.

- La técnica de bandeo GTG es una herramienta muy valiosa para la caracterización de especies domésticas.
- Se obtuvo una buena resolución de bandas GTG por lo tanto fue posible reconocer y caracterizar los distintos cromosomas.
- Mediante esta técnica es posible diferenciar las dos especies de camélidos domésticos, mediante las diferencias en los cromosomas 1, 2, 11 y 27.
- Las diferencias entre cromosomas de las dos especies domésticas son constantes y se observan en todos los animales y metafases analizadas, dichas diferencias podrían estar fijadas en los cromosomas.
- Siendo que las diferencias son mínimas entre individuos, se encontraron diferencias a nivel de polimorfismo, mediante las cuales fue posible diferenciar entre distintos animales de la misma especie.

8. Bibliografía.-

- Aranguren-Méndez J., Jordana J. 2001 “Utilización de marcadores de ADN (microsatélites) en poblaciones de animales domésticos en peligro de extinción” Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela.
- Alaou et al. 2000 “Caracterización Citogenética de Cinco Razas Asnales Españolas en Peligro de Extincion” Universitat Autònoma de Barcelona.
- Álvarez Romero J., Medellín R. A. 2005 “ *Lama glama*. Vertebrados superiores exóticos en México”. Universidad Nacional Autónoma de México D.F., SNIB-CONABIO.
- Avila Felipe, Das Pranab J., Kutzler Michelle, Owens Elaine, Perelman Polina, Rubes Jiri, Hornak Miroslav, Johnson Warren E., and Raudsepp Terje 2012 “Development and Application of Camelid Molecular Cytogenetic Tools” *Heredity*, doi:10.1093.
- Barreta J., Gutierrez B., Iñiguez V., Saavedra V., Chiri R., Latorre E., Arranz J. 2012 “Analysis of mitochondrial DNA in Bolivian llama, alpaca and vicuna populations: a contribution to the phylogeny of the South American camelids” *Animal Genetics* 74: 158-168.
- Briones A. I., Valdivia R. V. 1985 “Defectos anatómicos en el camélido sudamericano doméstico IDESIA” Chile, Vol. 9.
- Bustamante A. V., Maté M. , Hugo E. L., Guillermo G., Zambelli A., Vidal L. R. 2006 “Análisis de diversidad genética en tres poblaciones de llamas (*Lama glama*) del noroeste argentino”. *Revista Chilena de Historia Natural* 79: 175-187.
- Cardozo A. 1980 “El complejo de cría, producción e industrialización de camélidos en el cantón turco” www.Saberesbolivianos.com
- De Robertis 2001 “Biología Celular y Molecular” Editorial El Ateneo, Argentina.
- Edwards C.J., Gaillard C., Bradley D.G., 2000 “Y-specific microsatellite polymorphism in a range of bovid species” *animal genetix* 31; 127-130.
- Edwards C.J., Baird J.F., MacHugh D.E., 2007 “Taurine and Zebu admixture in near East cattle: a comparison of mitochondrial, autosomal Y-chromosomal data” *animal genetix* 38; 520-524.
- Espinoza R., Oliveros N., Arias N. 2008 “ Descripción de la estructura cromosómica de los Camélidos Sudamericanos” Univeridad Nacional de San Marcos, Perú.

- FAO 2010 “La Situación de los Recursos Zoo genéticos Mundiales para la Alimentación y la agricultura”.
- Freshney, R. I. 2005 “Culture of animal cells: A manual of basic technique. John Wiley & Sons Wiley-Liss”, Inc. 5th ed. New York, USA.
- Halbert D.N., Deer N. J. 2007 “A Comprehensive Evaluation of Cattle Introgression into US Federal Bison Herds” *Heredity* 98:1-12.
- Kadwell M., Fernandez M., Staley H., Baldi R., Wheeler J. C., Rosadio R., Bruford M.. 2001 “Genetics analysis reveals the wild ancestors of the llama and alpaca” *The Royal Society*, 10.1098/rspb 2001.1774
- Kikkawa Y., Takada T., Sutopo, Nomura K., Namikawa T., Yonekawa H., Amano T., 2002 “ Philogenies using mtDNA and SRY provide evidence for male-mediated introgression in Asian domestic cattle ” *animal genetix* 34: 96-101.
- Lenstra A. J., Groeneveld F. L., Eding H., Kantanen J., Williams L. J., Taberlet P., Nicolazzi L. E., Ikner So. J., Simianer H., Ciani E., Garcia F. J., Bruford, W. M. W. Ajmone-Marsan P., Weigend S. 2012 “Molecular tools and analytical approaches for the characterization of farm animal genetic diversity “43: 483–502.
- Li Y., Korol A. B., Fahima T., Nevo E. 2004 “Microsatellites within genes: structure, function, and evolution”. *Molecular Biology and Evolution* 21: 991-1007
- Marin J. C., Zapata B., Gonzales B., Bonacic C., Wheeler J., Casey C., Bruford M., Allinde A., Spotorno A. E. 2007 “Sistemática, taxonomía y domesticación de alpacas y llamas: Una nueva evidencia cromosómica y molecular” *Revista Chilena de historia Natural* 80: 201-140
- Mate M. L., Rocco F. DI., Zambelli A., Vidal-Rioja L. 2004 “Mitochondrial DNA structure and organisation of the control region of South American camelids” *molecular ecology* 4; 765-767.
- Mozcoso 2003 “Proyectos demostrativos en bofedales para la crianza de alpacas” del sistema TDPS, Ulla Ulla Bolivia.
- Muñoz M. G., Medina R. 1993 “Citogenética aplicada a la producción de caprinos y ovinos” *Revista Científica, FCV-LUZ*. 3: 283-288
-
-

- Paz-y-Miño C & López-Cortés A. 2014 “Genética Molecular y Citogenética Humana: Fundamentos, aplicaciones e investigaciones en el Ecuador” Universidad de las Américas. Universidad Yachay, Quito, Ecuador. 400 pp.
- Popescu 2000 “Techniques in Animal Cytogenetics” Springer , Paris Francia.
- Pozo G. J., Solano P. N. 2005 “Censo Poblacional de Camélidos Domésticos y características básicas de su crianza en la provincia de Antabamba – Apurímac” Editorial MARENASS, Primera edición, Apurímac Perú, pp125.
- Qi B. X., Jianlin H., Wang G., J. Rege E. O., Hanotte O. 2009 “Assessment of cattle genetic introgression into domestic yak populations using mitochondrial and microsatellite DNA markers” *Animal Genetics*, 41: 242–252.
- Quispe E.C., Rodríguez T.C., Iñiguez L.R. and Mueller J.P. 2009 “Producción de fibra de alpaca, llama, vicuña y guanaco en Sudamérica” *Animal Genetic Resources Information* V 45. 1-14.
- Raggi S. 1993 “Características fisiológicas y productivas de los camélidos sudamericanos domésticos”. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Actas del II Simposio Internacional de Estudios Altiplánicos, Chile.
- Renieri C., Frank E.N., Rosati A.Y., Antonini M. 2006 “Definición de razas en llamas y alpacas” *Animal GeneticResourcesInformation*, 45: 45–54.
- Rondines G. Ñ. K. 2006 “Programa de mejoramiento genético de alpacas y llamas de la región Ayacucho” INIA.
- Salinas M. F., <http://www.unfv.edu.com.pe>, “La Continuidad Genética de la llama (*Lama Glama*) Taxas de carne, color de fibra, transporte y ritos propiciatorios”. 1998, Universidad Nacional Federico Villa real, Lima Perú.
- Sasse J. M., Mariasearram M., Babu R., Kinne J., Wernery U. 1999 “South American camelid microsatellite amplifications in *camelusdromearius*”. *Animal Genetics* 31: 68-79
- San Martín. F. 1993 “Estrategias nutricionales de los camelidos sudamericanos en las zonas altoandinas del Perú”. Universidad Nacional Mayor De San Marcos Chile, Actas del II Simposio Internacional de Estudios Altiplánicos.
-
-

- Urquieta B. M. 1993 “Estrategias reproductivas de los camélidos sudamericanos en el altiplano”. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Actas del II Simposio Internacional de Estudios Altiplánicos, Chile.
- Vargas T. M. 2005a “Situación actual de los camélidos sudamericanos en Bolivia” Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo a la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina.
- Vargas T. M. 2005b “Situación actual de los camélidos sudamericanos en Chile”. Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo a la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina.
- Wheeler J. C. 1991 “Los camélidos sudamericanos: origen, evolución y status actual”. Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos: 11-48
- Wheeler J. C., Chikhi L., Bruford M. W. 2004 “Genetic analysis of the origins of domestic south american camelids” *Genetics and Animal Domestication*, 23: 331-341
- Zerabruk M., Li M., Kantanen J., Olsaker I., Ibeagha-Awemu, E. Erhardt M. G., Vangen O. 2011 “ Genetic diversity and admixture of indigenous cattle from North Ethiopia: implications of historical introgressions in the gateway region to Africa” *Animal Genetics*. 43, 257–266.
- Ozkinay C., Mitelman F. 1979 “A simple trypsin- Giemsa technique producing simultaneous G- and C-banding in human chromosomes” *Hereditas* 90: 1 4 (1 979)

ANEXO:**Definiciones.-**

Introgresion: La dispersión natural de genes de una especie en otra a consecuencia de un proceso de hibridación interespecifica seguido de retrocruzamiento sucesivos.

Tama: Grupo numeroso de animales de ganado doméstico de la misma especie.

Sinapomorfia: Caracteres que se originaron de un ancestro común, el carácter se observa desde el ancestro hasta todos sus descendientes.