

ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD MITOCONDRIAL DE ALPACAS EN NUEVE ZONAS DEL SUR DE PERÚ

Melo, C.¹, Manunza, A.¹, Melo, M.², Olivera, L.² y Amills, M.¹

¹Centre de Recerca en Agrigenòmica, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, España. ²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano, 0051 Puno, Perú. E-mail: Carola.Melo@uab.cat

INTRODUCCIÓN

La alpaca (*Vicugna pacos*) es uno de los animales domésticos más importantes de la región de los Andes. La mayor población mundial se encuentra en Perú (80%), siendo el departamento de Puno la zona de mayor concentración de alpacas del país (www.inia.gob.pe). La fina calidad de su fibra, su carácter sociable y su inteligencia hacen de la alpaca un importante recurso ganadero y un excelente animal de compañía. A partir del s.XVI, con la introducción de ganado ibérico asociada a la colonización española, la llama y la alpaca fueron diezmadas hasta el extremo de eliminar, en menos de un siglo, el 90% del censo existente. Las poblaciones supervivientes fueron desplazadas a grandes altitudes, adaptándose a una ecología agreste y en la cual no prosperaban animales de origen europeo (Novoa, 1984). La hibridación entre camélidos sudamericanos probablemente ocurrió con mayor frecuencia durante y después de la colonización española. Sumando a ésto la drástica reducción de las poblaciones y la consecuente pérdida en la calidad de la fibra, no sería aventurado presumir una importante pérdida de la pureza genética de esta especie (Kadwell et al., 2001). Una de las principales líneas de acción en los programas de conservación de alpacas consiste en caracterizar la variabilidad genética de las poblaciones existentes mediante el empleo de marcadores moleculares. En este trabajo hemos analizado la diversidad mitocondrial de alpacas Huacayo y Suri distribuidas en nueve zonas ganaderas del sur peruano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se extrajo DNA de 44 muestras de fibra de alpacas representativas de los tipos Huacayo (N = 38) y Suri (N = 6). Las regiones e individuos muestreados fueron escogidos de acuerdo al censo poblacional y al estándar fenotípico, respectivamente. Se diseñaron los cebadores a partir de la secuencia mitocondrial de alpaca publicada en GenBank (NC_002504). Los productos de PCR fueron secuenciados con el *BigDye Terminator v.3.1 Cycle Sequencing kit* (Applied Biosystems) en un secuenciador automático ABI PRISM 3730 (Applied Biosystems). Las secuencias fueron analizadas con el programa *Sequencing Analysis v.5.1.1* (Applied Biosystems) y alineadas con el programa Multalin (Corpet, 1998). Se utilizó el programa *DnaSP v.4.5* (Rozas et al., 2003) para calcular los valores de diversidad nucleotídica (π) y haplotípica (Hd). El programa MEGA5 (Tamura et al., 2011) fue empleado para construir un árbol filogenético obtenido con el método de máxima verosimilitud usando el modelo Hasegawa-Kishino-Yano (Figura 2), en el que se incluyeron las secuencias de alpaca obtenidas en el presente trabajo, así como secuencias de guanaco (*Lama guanicoe*) y las dos variedades de vicuña existentes (*Vicugna vicugna mensalis* y *Vicugna vicugna vicugna*). Para determinar la robustez de la topología del árbol se utilizó un test de *bootstrap* con 1000 permutaciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fueron amplificadas la región control (D-loop, 1484 pb) y el gen citocromo B (*MT-CYB*, 1355 pb) del genoma mitocondrial de la alpaca. Al secuenciar la región D-loop se identificaron 20 haplotipos distintos, observándose una elevada diversidad nucleotídica ($\pi = 0.0296$) y haplotípica (Hd= 0.944). En cuanto al gen *MT-CYB*, se evidenció la existencia de 16 haplotipos, con una diversidad haplotípica de 0.893 y una diversidad nucleotídica de 0.026. Los resultados obtenidos son similares a los descritos en otras especies de camélidos analizadas mediante el uso de marcadores microsatélites (Wheeler et al., 2001; Marín et al., 2007). Nuestros resultados indican que existe un alto grado de variabilidad genética en las nueve zonas ganaderas estudiadas, pese a la gran reducción poblacional sufrida durante el proceso de colonización español. A pesar de haber estudiado muestras de individuos con un elevado estándar fenotípico, se observó la existencia de dos haplotipos mitocondriales correspondientes a vicuña y guanaco. En principio, la vicuña y la alpaca

están estrechamente emparentadas, tal como ha demostrado el análisis de DNA mitocondrial y microsátélites realizado por Kadwell et al. (2001). Por ello, resulta esperable el agrupamiento de alelos de ambas especies. Por el contrario, la presencia de variantes mitocondriales que agrupan con las de guanaco sólo podría entenderse como una consecuencia de la fuerte hibridación que tuvo lugar entre alpacas y llamas (*Lama glama*), siendo éstas últimas las portadoras de alelos mitocondriales de guanaco. Un objetivo de futuro consistiría en caracterizar genéticamente cada una de las subpoblaciones de alpaca indicadas en la Tabla 1 y Figura 1, con la finalidad de inferir la estructura poblacional y la historia demográfica de esta especie.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Kadwell, M., Fernández, M., Stanley, H., Baldi, R., Wheeler, J., Rosadio, R. & Bruford, M. 2001. Proc. Biol. Sci. 268: 2575-2584.
- Marin, J., Casey, C., Kadwell, M., Yaya, K., Hoces, D., Olazabal, J., Rosadio, R., Rodríguez, J., Spotorno, A., Bruford, M., & Wheeler, J. 2007. Heredity 99 (1): 70-80.
- Novoa, C. & Wheeler, J. 1984. In: Evolution of Domesticated Animals, I. L.Mason, Ed., Longman, London, pp.116-128.
- Rozas, J., Sánchez-Delbarrio, J., Messeguer, X. & Rozas, R. 2003. Bioinformatics 19 (18): 2496-2497.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. & Kumar, S. 2011. MEGA5. Mol. Biol. Evol. (submitted).
- Wheeler, J., Fernández, M., Rosadio, R., Hoces, D., Kadwell, M. & Bruford, M. 2001. RIVP 1: 170-183.

Agradecimientos: Este trabajo se realizó gracias a la colaboración de alpaqueros Peruanos quienes han contribuido con las muestras para este estudio.

Tabla 1. Distribución geográfica de las muestras de alpaca analizadas.

Región analizada	MT-CYB (N)	D-loop (N)
Nuñoa - Puno	5	6
Azángaro - Puno	4	4
Lampa – Puno	3	4
Santa Lucía – Puno	5	6
Ocuviri – Puno	3	3
Macusani - Puno	6	7
Caylloma -Arequipa	5	5
Cayllali -Arequipa	5	4
Layo - Cusco	4	5
TOTAL	40	44



Figura 1. Localización de las zonas muestreadas en Perú

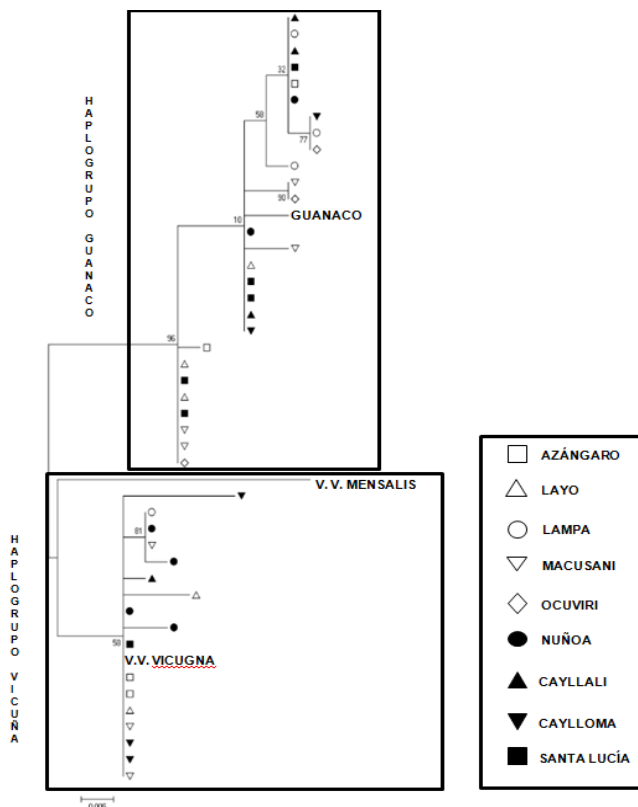


Figura 2. Árbol filogenético de máxima verosimilitud de las secuencias mitocondriales D-loop correspondientes a la alpaca, el guanaco y los dos tipos de vicuña existentes.

ANALYSIS OF THE MITOCHONDRIAL DIVERSITY OF ALPACAS IN NINE FARMING AREAS OF THE SOUTHERN REGION OF PERU

ABSTRACT: In this work, we have characterized the variability of the D-loop region and the cytochrome B (*MT-CYB*) mitochondrial genes in alpacas (N = 44) distributed in nine farming areas of the southern region of Peru. Sequencing of the D-loop region revealed the existence of 20 haplotypes. Haplotype (Hd) and nucleotide (π) diversities reached values of 0.944 and 0.0296, respectively. Moreover, analysis of the *MT-CYB* region evidenced the segregation of 16 haplotypes (Hd = 0.893, π = 0.026). This result indicates that alpaca has retained a considerable level of genetic variation in spite of past demographic bottlenecks. Maximum likelihood phylogenetic analysis of D-loop and *MT-CYB* sequences allowed us to identify two main alpaca mitochondrial lineages related with either vicuña or guanaco. This result suggests an extensive hybridization between alpacas and llamas. A next goal would be to identify purebred alpacas as a strategy to improve the quality of fiber traits.

Keywords: Alpaca, D-loop, cytochrome B, mitochondrial diversity.