



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
Y DE LA AGRICULTURA**

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

**TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE INGENIERO AGROPECUARIO**

**TEMA: “DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS,
MOLECULARES Y ORGANOLÉPTICOS DE LÍNEAS NATIVAS DE
CUYES (*Cavia porcellus*)”**

AUTOR: BUITRÓN ZABALA, DANIELA ESTEFANIA

DIRECTOR: Ing. Mgs. FALCONÍ SALAS PATRICIA XIMENA

SANGOLQUÍ

2019



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, ***“DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS, MOLECULARES Y ORGANOLÉPTICOS DE LÍNEAS NATIVAS DE CUYES (*Cavia porcellus*)”*** realizado por el señorita ***Buitrón Zabala, Daniela Estefania*** el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 08 de febrero de 2019

Firma:

Ing. Mgs. Falconí Salas Patricia Ximena

C.C. 0601618580



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, *Buitrón Zabala, Daniela Estefania*, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: *“Determinación de parámetros zootécnicos, moleculares y organolépticos de líneas nativas de cuyes (Cavia porcellus)”* es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

Sangolquí, 08 de febrero de 2019

Firma:

Buitrón Zabala Daniela Estefania

C.C. 1723560015



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORIZACIÓN

*Yo, **Buitrón Zabala, Daniela Estefania**, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación “**Determinación de parámetros zootécnicos, moleculares y organolépticos de líneas nativas de cuyes (*Cavia porcellus*)**”*

Sangolquí, 08 de febrero de 2019

Firma:



Buitrón Zabala Daniela Estefania

C.C. 1723560015

DEDICATORIA

A:

Dios y la Virgen por sus infinitas bendiciones, bondad y amor, además de haberme dado salud para lograr mis objetivos.

Mis padres Margarita y Carlos por todo su apoyo incondicional, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada por todo su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años.

Mis hermanos Vanessa y José Luis, con los cuales hemos salido adelante a pesar de todas las dificultades.

Mis abuelitos Virginia y José, que desde el cielo me han apoyado y siempre han sido una guía en mi vida.

Mi madrina Ximena que siempre me ha apoyado y aconsejado como una amiga y madre, que ha estado en los buenos y malos momentos.

Mis Tíos Blanqui y José que se han convertido en mis abuelitos, los cuales siempre han estado a mi lado apoyándome y brindándome su inmenso amor.

Mi compañero y amigo incondicional Antonio por apoyarme y extenderme su mano en los momentos difíciles y por el amor brindado cada día a lo largo de toda mi formación profesional.

Mi hermosa perrita Chiris que estuvo a mi lado en todas las noches de desvelo y que ahora desde el cielo sé que me sigue acompañando.

AGRADECIMIENTO

A:

Dios y la Virgen por todas las bendiciones que he recibido durante todos estos años.

Mi familia los cuales han estado a mi lado, apoyándome y guiándome en todos los aspectos de mi vida.

La Universidad de las Fuerzas Armadas–ESPE, la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I, sus maestros y trabajadores, quienes me brindaron sus conocimientos y guía en mi formación profesional.

Ingeniera Patricia Falconí por la oportunidad de realizar mi investigación, su guía, su conocimiento y todo su apoyo a lo largo de toda la carrera y en especial en la elaboración de esta investigación.

Al IICA e INIAP por su apoyo económico a lo largo de toda esta investigación

Al Ingeniero Luis Rodríguez por todo su apoyo y guía en esta investigación

Al Doctor Eduardo Morillo por brindarme sus conocimientos y apoyo.

Mis amigos Víctor y Jessica que han estado en los momentos difíciles, aconsejándome y brindándome toda su amistad

Mi grupo CHACAREROS – IASA por haber sido una parte importante en toda mi formación académica además de darme la oportunidad de conocer a grandes personas que ahora son parte de mi familia y todos los hermosos recuerdos que me han dejado.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

INIAP:	Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias
DNB	Departamento Nacional de Biotecnología
g:	Gramos
ml:	Mililitro
µl:	Microlitro
µM:	Micromoles
pb:	Pares de bases
dNTP's:	Desoxinucleotidos trifosfatos
°C:	Grados Centígrados
SSRs:	Secuencias Simples Repetidas, del inglés <i>Simple Sequence Repeat Microsatellites</i>
PCR:	Reacción de cadena polimerasa
Ho:	Heterocigosidad Observada
He:	Heterocigosidad Esperada
PIC:	Contenido de información polimórfica
UPGMA:	Agrupamiento de pares no ponderadas con medias aritméticas, en inglés <i>Unweighted Paired Grouping Method with Arithmetic Averages</i>
NJ:	Método de Unión de Vecinos, en inglés <i>Neighbour Joining</i>
PCoA:	Análisis de coordenadas principales
AMOVA:	Análisis molecular de varianza

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARÁTULA

CERTIFICACIÓN	i
AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD	ii
AUTORIZACIÓN	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	vi
ÍNDICE DE CONTENIDOS	vii
ÍNDICE DE TABLAS	xv
ÍNDICE DE FIGURAS	xvi
RESUMEN	xviii
ABSTRACT	xix

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1	Antecedentes	1
1.2	Justificación	2
1.3	Planteamiento del problema.....	5
1.3.1	El Problema	5
1.3.2	Los Efectos	5
1.3.3	Las Causas	6
1.4	Objetivos	6
1.4.1	Objetivo General	6
1.4.2	Objetivos Específicos	6
1.5	Hipótesis	6

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1	Generalidades.....	7
2.2	Descripción Taxonómica	8
2.3	Tipo de Cuyes	8
2.3.1	Clasificación por conformación	8
2.3.1.1	Tipo A.....	8
2.3.1.2	Tipo B.....	9
2.3.2	Clasificación de Cuyes según el pelaje	9
2.3.2.1	Tipo I.....	9
2.3.2.2	Tipo II.....	10
2.3.2.3	Tipo III.....	11
2.3.2.4	Tipo IV	11
2.3.3	Tipos de Cuyes según el pelaje	12
2.3.3.1	Pelaje simple.....	12
2.3.3.2	Pelaje compuesto.....	14
2.3.3.3	Overos.....	14
2.3.3.4	Fajados.....	15
2.3.3.5	Combinados.....	15
2.3.3.6	Particularidades en el cuerpo.....	15
2.3.3.7	Particularidades en la cabeza.....	15
2.4	Tipos Raciales en el país.....	15
2.4.1	Tipo racial Peruano mejorado	16
2.4.2	Tipo racial Macabeo	16
2.4.3	Tipo racial Criollo	16
2.5	Ubicación de cuyes nativos.....	17
2.6	Calidad de la carne de cuy	18

2.7	Beneficios de la carne de cuy.....	19
2.8	Producción de cuy a nivel nacional.....	19
2.9	Genética del Cuy (<i>Cavia porcellus</i>).....	20
2.10	Diversidad Genética.....	21
2.10.1	Mutación.....	21
2.10.2	Selección Natural.....	22
2.10.3	Endogamia.....	22
2.10.4	Deriva Genética.....	22
2.10.5	Migración.....	22
2.11	Herramientas Moleculares.....	23
2.11.1	Reacción en Cadena Polimerasa (PCR).....	23
2.11.2	Marcadores Moleculares.....	23
2.11.3	Marcadores Microsatélites (SSRs).....	24
2.11.4	Secuenciador Automático DNA Analyzer LI-COR 4300 s.....	24

CAPÍTULO III METODOLOGÍA

3.1	Ubicación del lugar de investigación.....	26
3.1.1	Ubicación Política.....	26
3.1.2	Ubicación Geográfica.....	26
3.1.3	Ubicación Ecológica.....	27
3.2	Materiales.....	28
3.2.1	Materias de Campo.....	28
3.2.2	Materias de Laboratorio.....	28
3.2.3	Equipos.....	29
3.2.4	Reactivos.....	29
3.2.5	Organismos.....	30
3.2.6	Insumos.....	30

3.3	Métodos.....	30
3.3.1	Primera fase de investigación (Parámetros Zootécnicos).....	30
3.3.1.1	Animales.....	31
3.3.1.1.1	Selección de los machos.....	32
3.3.1.1.2	Selección de las hembras.....	32
3.3.1.2	Dieta.....	32
3.3.1.3	Pesaje semanal de los animales.....	33
3.3.1.4	Control de Mortalidad.....	33
3.3.2	Segunda fase de investigación (Pruebas Organolépticas y Composición de la carne de cuy).....	33
3.3.2.1	Pruebas Organolépticas.....	33
3.3.2.2	Composición de la Carne de Cuy.....	34
3.3.3	Tercera fase de investigación (Caracterización Molecular).....	34
3.3.3.1	Material Biológico.....	34
3.3.3.2	Muestreo del Materia Genético.....	34
3.3.3.3	Extracción de ADN Genómico.....	35
3.3.3.3.1	Protocolo de extracción de ADN Genómico a partir de Folículos pilosos.....	35
3.3.3.4	Cuantificación de ADN Genómico.....	36
3.3.3.5	Validación de PRIMERS.....	37
3.3.3.6	Validación de Polimorfismo.....	37
3.3.3.7	Selección de Primers Microsatélites.....	39
3.3.3.8	PCR con método M13 – Tailing Microsatélites.....	39
3.3.3.8.1	Monoplex de microsatélites M13.....	39
3.3.3.9	Secuenciador automático DNA Analyzer LI-COR 4300s.....	40
3.3.3.9.1	Genotipaje de los fragmentos amplificados.....	40
3.3.4	Variables Zootécnicas a Evaluar.....	42
3.3.4.1	Peso de la hembra al empadre.....	42

3.3.4.2	Peso de la hembra post parto.....	42
3.3.4.3	Peso de la hembra post destete.....	42
3.3.4.4	Peso de la camada al nacimiento.....	42
3.3.4.5	Peso de la camada al destete.....	42
3.3.4.6	Ganancia de Peso.....	42
3.3.4.7	Número de crías nacidas vivas y nacidas muertas.....	42
3.3.4.8	Número de crías destetadas.....	43
3.3.4.9	Efectividad del celo post parto.....	43
3.3.4.10	Efectividad del celo post destete.....	43
3.3.4.11	Análisis Organolépticos.....	43
3.3.5	Variables Moléculas a Evaluar.....	43
3.3.5.1	Análisis de Diversidad Genética.....	43
3.3.5.1.1	Tamaño de la Muestra:.....	43
3.3.5.1.2	Número de Observaciones:.....	44
3.3.5.1.3	Disponibilidad:.....	44
3.3.5.1.4	Frecuencia de Alélica:.....	44
3.3.5.1.5	Genotipos.....	44
3.3.5.1.6	Número de alelos:.....	44
3.3.5.1.7	Coefficiente de inbreeding dentro de la población (f):.....	44
3.3.5.1.8	Heterocigosis Observada (H _o):.....	45
3.3.5.1.9	Heterocigosis Esperada (H _e):.....	45
3.3.5.1.10	Contenido de información de polimorfismo (PIC):.....	45
3.3.5.2	Estructura Genética.....	45
3.3.5.2.1	Análisis de Agrupamiento.....	45
3.3.5.2.1.1	Cálculos de frecuencia.....	46
3.3.5.2.1.2	Construcción de Arboles Genéticos.....	46

3.3.5.2.2	Métodos multivariados	46
3.3.5.2.2.1	Análisis de Coordenadas Principales (PcoA)	47
3.3.5.2.2.2	Análisis Molecular de Varianza	47
3.3.5.2.2.3	Distancias Genéticas.....	47
3.3.5.2.2.4	Identificación de Duplicados.....	48
3.4	Diseño Experimental.....	48
3.4.1	Tipo de diseño	48
3.4.2	Tratamientos a comparar	49
3.4.3	Características de las unidades experimentales.....	49
3.4.4	Croquis del diseño	50
3.5	Análisis Estadístico de Variables Zootécnico.....	50
3.5.1	Esquema de análisis de varianza	50
3.5.2	Modelo matemático.....	50
3.5.3	Análisis funcional.....	51
3.6	Análisis Estadístico de Variables Molecular	51

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	Parámetros Zootécnicos	53
4.1.1	Peso de la hembra al empadre	53
4.1.2	Peso de la hembra post parto.....	54
4.1.3	Peso de la hembra al destete.....	55
4.1.4	Tamaño de camada al nacimiento	56
4.1.5	Tamaño de la camada al destete	57
4.1.6	Peso de las crías al nacimiento	58
4.1.7	Peso de las crías al destete.....	59
4.1.8	Peso de la camada al nacimiento	61
4.1.9	Peso de la camada al destete.....	62

4.1.10	Datos de ganancia de peso de las crías	63
4.1.10.1	Ganancia de peso de los gazapos machos hasta la 8va semana	63
4.1.10.2	Ganancia de peso de los gazapos hembras hasta la 8va semana	64
4.2	Análisis Organolépticos y Composición de la carne de siete líneas de cuyes	65
4.2.1	Fase Visual	65
4.2.2	Fase Olfativa.....	66
4.2.3	Fase Gustativa	66
4.2.4	Análisis General de las variables organolépticas	68
4.2.5	Composición de la Carne de Siete Líneas de Cuyes	69
4.3	Análisis Moleculares.....	71
4.3.1	Colecta de Material Biológico.....	71
4.3.2	Caracterización Molecular	71
4.3.2.1	Extracción y cuantificación de ADN.....	71
4.3.2.2	Validación de ADN con el primer MS V	72
4.3.2.3	Pruebas de amplificación en monoplex de SSR con la técnica M13 “Tailing” para el analizador LI-COR 4300	73
4.3.2.4	Genotipaje de materiales biológicos de cuy (<i>Cavia porcellus</i>).....	75
4.3.2.5	Análisis Estadístico	80
4.3.2.5.1	Diversidad Genética del Cuy (<i>Cavia porcellus</i>).....	80
4.3.2.5.1.1	Número de Alelos.....	80
4.3.2.5.1.2	Frecuencias Alélicas.....	81
4.3.2.5.1.3	Genotipos, Heterocigosis Observada, Heterocigosis Esperada y Contenido de Información Polimórfica	84
4.3.2.6	Estructura Genética	86
4.3.2.6.1	Análisis de agrupamiento	86
4.3.2.6.2	Árbol de distancias entre Individuos	87
4.3.2.6.3	Análisis de datos multivariados.....	89

4.3.2.7	Análisis Global.....	90
4.3.2.7.1	Análisis de coordenadas principales (PCoA).....	90
4.3.2.7.2	Análisis molecular de varianza (AMOVA) y Estadística F.....	92
4.3.2.7.3	Distancia Genética de Nei.....	93
4.3.2.7.4	Identificación de duplicados.....	93

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1	Conclusiones.....	95
5.2	Recomendaciones.....	97
5.3	Bibliografía.....	98

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	<i>Valores nutritivos de los tipos de carne</i>	19
Tabla 2	<i>Identificación de las hembras por poza</i>	32
Tabla 3	<i>Descripción de los tratamientos estudiados</i>	49
Tabla 4	<i>Descripción la unidad experimental</i>	49
Tabla 5	<i>Esquema de análisis de varianza para un diseño Factorial</i>	50
Tabla 6	<i>Promedio \pm error estándar del peso al empadre de hembras de 7 líneas de cuyes</i>	53
Tabla 7	<i>Promedio \pm error estándar del peso post parto de hembras de primer parto de 7 líneas de cuyes</i>	55
Tabla 8	<i>Promedio \pm error estándar del peso post destete de hembras de segundo parto de 7 líneas de cuyes</i>	56
Tabla 9	<i>Promedio \pm error estándar del peso de la crías al nacimiento de hembras de 7 líneas de cuyes</i>	59
Tabla 10	<i>Promedio \pm error estándar del peso de las crías al destete de hembras de 7 líneas nativas de cuyes</i>	60
Tabla 11	<i>Promedio \pm error estándar del peso de la camada al nacimiento de hembras 7 líneas de cuyes</i>	61
Tabla 12	<i>Promedio \pm error estándar del peso de la camada al destete de hembras 7 líneas de cuyes</i>	63
Tabla 13	<i>Promedio \pm error estándar de los análisis organolépticos de la carne de cuy de 7 líneas nativas</i>	69
Tabla 14	<i>Composición de la carne de cuy de 7 líneas nativas de cuy</i>	70
Tabla 15	<i>Monoplex de primers SSRs estandarizados para el LI-COR</i>	75
Tabla 16	<i>Alelos registrados con su respectiva frecuencia para 88 materiales de cuy con 10 loci SSRs. En azul se muestran los alelos menos frecuentes y en rojo los alelos más frecuentes para cada locus SSRs</i>	82
Tabla 17	<i>Parámetros de diversidad genética de los 88 materiales de cuy amplificadas</i>	85
Tabla 18	<i>Resumen del análisis molecular de varianza</i>	93
Tabla 19	<i>Cálculos de distancias de Nei entre las diez líneas de cuy</i>	93
Tabla 20	<i>Individuos con alta identidad molecular</i>	94

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Cuy Tipo A	9
Figura 2	Cuy Tipo B	9
Figura 3	Línea Tipo I	10
Figura 4	Cuy Tipo II	10
Figura 5	Cuy Tipo III	11
Figura 6	Cuy Tipo I.....	12
Figura 7	Cuy Violeta	13
Figura 8	Cuy Negro.....	13
Figura 9	Cuy Nevado	15
Figura 10	Lugares de Colecta de Cuyes de diferentes líneas nativas.....	18
Figura 11	Selección de Animales para Mejoramiento	21
Figura 12	Detección de bandas en LI-COR 4300s.....	25
Figura 13	Imagen satelital de la Hacienda El Prado IASA-I, Proyecto de Especies Menores.	27
Figura 14	Ficha de Identificación de Muestras	35
Figura 15	Distribución de los tratamientos en el campo.....	50
Figura 16	Peso al empadre de hembras en 7 líneas de cuyes	54
Figura 17	Peso post parto de dos partos de hembras en 7 líneas de cuyes	55
Figura 18	Peso post destete de dos partos de hembras en 7 líneas de cuyes.....	56
Figura 19	Tamaño de la Camada al Nacimiento de dos partos en 7 líneas de cuyes.....	57
Figura 20	Tamaño de la Camada al Destete de dos partos en 7 líneas de cuyes.....	58
Figura 21	Peso al nacimiento de las crías en dos partos de 7 líneas de cuyes	59
Figura 22	Peso al destete de las crías en dos partos de 7 líneas de cuyes	60
Figura 23	Peso de la camada al nacimiento en dos partos de 7 líneas de cuyes	62
Figura 24	Peso de la camada al destete en dos partos de 7 líneas de cuyes.....	63

Figura 25	Peso final promedio de machos de 7 líneas de cuyes	64
Figura 26	Peso final promedio de hembras de 7 líneas de cuyes	65
Figura 27	Porcentaje de aceptación de la variable color en la carne de cuy	66
Figura 28	Porcentaje de aceptación de la variable olor en la carne de cuy	66
Figura 29	Porcentaje de aceptación de la variable consistencia en la carne de cuy	67
Figura 30	Porcentaje de aceptación de la variable sabor en la carne de cuy	67
Figura 31	Análisis de conglomerados de Ward	68
Figura 32	Cuantificación de ADN genómico de cuy en geles de agarosa al 0,8% (Carril Inicial: marcador de peso molecular Low Mass –Ladder, carril 2 al 11: ADN Genómico de muestras de cuy).....	72
Figura 33	Muestras de ADN de Cuy validado, amplificados con el primer MS V, en geles de agarosa al 2% (Carril inicial: marcador 100Kb).....	73
Figura 34	Productos de amplificación de 25 primers de cuy amplificados en 700 y 800nm. A) Muestra la estandarización en 700 nm y B) la estandarización en 800nm.	74
Figura 35	Imágenes de los geles obtenidos en LI-COR que indican los alelos de los monoplex PCy-002, PCy-004, PCy-007, PCy-008.	77
Figura 36	Imágenes de los geles obtenidos en LI-COR que indican los alelos de los monoplex PCy-009, PCy-012, PCy-017, PCy-019.	78
Figura 37	Imágenes de los geles obtenido en el LI-COR que indican los alelos de los monoplex PCy-0020, PCy-022, PCy-023, PCy-024	79
Figura 38	Número de alelos de 10 microsatélites utilizados en el genotipaje de 7 líneas de cuyes.....	81
Figura 39	Dendograma de líneas de cuyes construido con el método Neighbour joining.....	86
Figura 40	Árbol de distancias individuales construido con el método de Neighbord-Joining	88
Figura 41	PCoA obtenido con el coeficiente de similitud SM, que indica la agrupación de 88 materiales en 3 coordenadas	89
Figura 42	Análisis de conglomerados por línea	91
Figura 43	Porcentajes obtenidos del AMOVA	92

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar los parámetros zootécnicos, calidad de carne y caracterización genética de 7 líneas nativas de cuyes, se utilizó un DCA con 6 repeticiones por tratamiento. Se determinó que la línea Tipo IV fue superior al peso promedio al momento del destete con 1525g. La ganancia de peso promedio de las crías hasta la 8^{va} semana fue 800g para machos y 756.25g para hembras. El peso promedio de la camada al nacimiento y destete destacó la línea Nevada con 466g y 758g respectivamente. En la parte organoléptica el cuy negro tuvo el mejor puntaje general con 3,78/5, así mismo esta línea tiene el mayor contenido de proteína con 21,18g/100g. Para la parte molecular se utilizaron 88 materiales biológicos con 6 líneas nativas, 1 línea mejorada y 10 marcadores microsatélites. La medición de la diversidad genética reveló una riqueza alélica de 81 alelos identificados que osciló entre 6 y 13 alelos por locus, una heterocigosidad observada entre 0,29 y 0,71, una heterocigosidad esperada de 0,64 a 0,83 y un PIC promedio de 0,71. Las tasas de relación entre individuos de la misma línea y entre las líneas fueron de 84% y 16% respectivamente. Las distancias genéticas entre poblaciones van de 0,34 a 0,56. Esta investigación ha demostrado que los microsatélites son útiles para la caracterización genética, además en los últimos años los cuyes están demostrando una tendencia a la formación de grupos genéticos.

PALABRAS CLAVES:

- **CUY**
- **LÍNEAS NATIVAS**
- **PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS**
- **CARACTERIZACIÓN MOLECULAR**

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the zootechnical parameters, meat quality and genetic characterization of 7 native lines of guinea pigs, using a DCA with 6 repetitions per treatment. It was determined that the Type IV line was superior to the average weight at the time of weaning with 1525g. The average weight gain of the offspring until the 8th week was 800g for males and 756.25g for females. The average weight of the litter at birth and weaning highlighted the Nevada line with 466g and 758g respectively. In the organoleptic part, the black guinea pig had the best overall score with 3.78 / 5, likewise this line has the highest protein content with 21.18g / 100g. For the molecular part, 88 biological materials with 6 native lines, 1 improved line and 10 microsatellite markers were used. The measurement of genetic diversity revealed an allelic richness of 81 identified alleles that ranged between 6 and 13 alleles per locus, a heterozygosity observed between 0.29 and 0.71, an expected heterozygosity of 0.64 to 0.83 and a PIC average of 0.71. The relationship rates between individuals of the same line and between the lines were 84% and 16% respectively. The genetic distances between populations range from 0.34 to 0.56. This research has shown that microsatellites are useful for genetic characterization, and in recent years guinea pigs have shown a tendency towards the formation of genetic groups.

KEY WORDS:

- **GUINEA PIG**
- **NATIVE LINES**
- **ZOOTECNIC PARAMETERS**
- **MOLECULAR CHARACTERIZATION**

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

El Cuy, curi, cobayo o también llamado conejillo de indias (*Cavia porcellus*), se ha ido asociando al hombre andino, “las pruebas existentes demuestran que el cuy fue domesticado hace 2500 a 2600 años” (Chauca, 1997), así mismo, en estudios realizados se encontró depósitos de excremento de cuy que datan de 300 a 250 años antes de Cristo en el Templo de Cerro Sechin.

El cuy en las zonas rurales está destinado para autoconsumo gracias a su rápida reproducción y crianza económica, además de ser utilizado en medicina y rituales religiosos (Chauca, 1997); por su amplia distribución a nivel mundial, también ha sido introducido en la industria de la mascotería especialmente en USA y Europa.

El consumo del cuy en Ecuador está vinculado con las épocas de siembra y cosecha, rituales y festividades como San Pedro y San Pablo, Yamor, Inti-Raymi, etc. Se lo sirve en las fiestas comunitarias, en las bodas y hasta se lo prepara para mujeres en estado de gestación. Además, también tiene un espacio en la cocina gourmet del país, ya que su carne posee una gran versatilidad de elaboración. En la zona norte del Ecuador la crianza de este animal es realizada por pequeños productores, en reducidos espacios cercanos a la vivienda, pero en la actualidad se fomenta la crianza tecnificada que implica mejorar la producción para tener una comercialización sostenida y atraer a consumidores de varios países sudamericanos. (El Telegrafo, 2016).

La distribución de *Cavia porcellus* en la actualidad radica en Colombia, Perú, Ecuador y Bolivia principalmente, lo cual no ha cambiado desde la época aborígen donde encontrábamos

especies como *Cavia cutleri* como antecesor de la especie doméstica que se produce actualmente. Sin lugar a duda las tribus aborígenes ya trabajaban con estos animales.

Debido a la alta demanda de esta carne con alto valor nutritivo ha llevado a los investigadores a mejorar genéticamente a los cuyes para que la producción sea netamente de carne con un alto porcentaje de prolificidad, dejando atrás varias líneas de cuyes navitas olvidándolas y rezagándolas a criaderos de nivel familiar en comunidades rurales, los mismos que en la actualidad se están perdiendo atentando con un patrimonio genético propio de nuestro país.

Hoy en día el país vive una transformación política y social basado en el plan nacional del buen vivir el cual fomenta la preservación flora y fauna nativa del país, incluyendo a las líneas nativas de cuyes (*Cavia porcellus*) y su preservación como patrimonio. Sin embargo no se encuentra criaderos o instituciones que contenga dentro de su producción núcleos de líneas nativas para su preservación o estudio por lo cual nace una problemática de identidad sobre este animal.

Con lo descrito anteriormente se pretende recolectar información zootécnica y molecular de las líneas nativas que aún se pueden encontrar en el país, así como, la creación de núcleos genéticos para posteriores investigación y conservación de este animal que junto a la llama, alpaca y vicuña son representativas de América del Sur.

Para esto se tomará parámetros zootécnicos que ayuden a la identificación y manejo eficiente de estas líneas para su explotación y propagación, realizando pruebas organolépticas que ayudaran con una descripción de tipos de cuyes nativos que pueden ser usados para producción de carne.

1.2. Justificación

La crianza de cuyes en el Ecuador en los últimos años se ha basado en explotar las líneas mejoradas dejando rezagadas a las líneas nativas de cuyes incluso a un paso de desaparecer o

destinadas a una producción rudimentaria en las comunidades rurales de la sierra, es así, que todos los datos que se encuentran disponibles sobre producción de cuyes se basan en líneas mejoradas dejando un vacío en cuanto a información de nuestras líneas nativas en producción, ya que estas son explotadas sin una tecnificación por las familias para su autoconsumo, rituales religiosos y en ocasiones para la venta, realizando cruzamientos sin un criterio técnico de líneas nativas y mejoradas para tener mejores réditos económicos.

Al no contar con información técnica, reproductiva y productiva sobre estas líneas autóctonas, no podemos dar un criterio si estas podrían ser aptas para un programa de mejoramiento genético, ni alguna otra cualidad importante para el uso humano como la presencia de algún aminoácido o mineral.

La información genética de estas líneas son inexistentes por lo cual no podemos asegurar que sean líneas o alguna raza propia de nuestro país, con lo cual es de suma importancia conocer su dendograma y posteriormente su estudio de genes.

Las poblaciones que tienen rasgos genéticos particulares y únicos se denominan recursos genéticos (Hodges, 1990) y (Hammaond, 1994). Latinoamérica posee una amplia diversidad de recursos genéticos animales, los cuales son empleados en diferentes sistemas y bajo variadas condiciones ecológicas y sociales (Hammaond, 1994). El cuy es un recurso genético que posee características que son únicas en ambientes específicos. Por consiguiente, es un material genético valioso que necesita ser protegido, mantenido y mejorado como la base para políticas y programas nacionales de mejoramiento.

Las adversidades a las que se enfrentan los recursos genéticos animales en el mundo son los siguientes: La disminución de la variabilidad genética dentro de las líneas de alta producción, empleadas en sistemas intensivos y la rápida desaparición de líneas locales a través de la introducción de líneas exóticas. Por tanto, es necesario desarrollar programas de acción sobre

el manejo sostenible, preservación (in situ y ex situ) y banco de datos de recursos genéticos locales de acuerdo con los sistemas de producción sostenibles (Rico, 2009).

La importancia de mantener en el país núcleos genéticos nativos se basa en que estos animales han desarrollado sistemas de adaptación en los diferentes años, creando inmunidad y resistente a algunas enfermedades que líneas mejoradas no poseen. La creación de núcleos genéticos tiene una base en crear variabilidad y tener diferentes cruzamiento de animales que sean óptimos para el productor y conservación del patrimonio genético.

Se hace necesario la recolección de estas líneas nativas y su preservación en núcleo por parte de la universidad para que los futuros alumnos conozcan el patrimonio genético de esta especie y futuras investigaciones así como su preservación en el tiempo.

El propósito de esta investigación es el estudio morfológico, organoléptico y molecular de las siguientes líneas nativas:

- Tipo I
- Tipo II
- Tipo III
- Tipo IV
- Negros
- Nevados
- Violetas

Para la determinación de parámetros zootécnicos: número de camada, peso al nacimiento, peso al destete, condición de la hembra, porcentaje de fertilidad, edad al empadre, peso al empadre, porcentaje de mortalidad, ganancia de peso hasta los 50 días, peso de la hembra en gestación, peso de la hembra al destete.

Además de pruebas organolépticas de la carne y pruebas moleculares.

Determinando con una comparación de medias entre las variables mencionadas con las líneas mejoradas.

Esta investigación pretende crear núcleos genéticos de estas líneas nativas con información técnica que pueda servir tanto a investigadores como a los pequeños productores sobre el manejo de estos animales.

1.3. Planteamiento del problema

Dentro del Ecuador el mercado de cuyes (*Cavia porcellus*) es uno de los más importantes especialmente en la parte rural, ya que, la crianza de estos animales se realizó por parte de pequeños productores que están dejando de lado las especies nativas por especies mejoradas por la demanda que existe en el mercado. Actualmente la crianza de especies mejoradas a mediana y grande escala está rezagando las especies criollas a pequeños productores y crianza traspatio los cuales no están muy interesados en tener una producción de calidad, sino en tener mayor números de animales para venderlos a terceros (El Telegrafo, 2015).

1.3.1. El Problema

La falta de información en el área genética han ocasionado que líneas nativas cavícolas, se vayan desplazando únicamente a sectores rurales, lo cual ha generado una carencia de animales, innovación y tecnología en el manejo productivo de la especies menores, limitando su desarrollo genético y productividad.

1.3.2. Los Efectos

- Falta de mejoramiento genético de líneas nativas.
- Poca investigación en estas líneas.
- Bondades de estas líneas que no se ha explotado.
- Falta de estudios para reconocer una línea propia del país para su manejo e investigación.

1.3.3. Las Causas

La falta de estudios para establecer líneas genéticas propias adaptadas a parámetros y condiciones agroclimáticas de las diferentes zonas de interés productivo, que ayuden a la mejora de los animales existentes para establecer sistemas productivos óptimos.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General

Determinar parámetros zootécnicos, moleculares y organolépticos de líneas nativas de cuyes (*Cavia porcellus*)

1.4.2. Objetivos Específicos

- Evaluar núcleos genéticos de las líneas de cuyes Tipo I, II, III, IV, negro, nevado y violeta (*Cavia porcellus*).
- Llevar a cabo pruebas organolépticas de la carne de líneas nativas de cuyes (*Cavia porcellus*).
- Caracterizar molecularmente individuos de tipos de cuyes I, II, III, IV, negro, nevado y violeta (*Cavia porcellus*).

1.5. Hipótesis

Ho: Las líneas nativas tienen diferencias significativas en parámetros zootécnicos, organolépticos y moleculares.

H1: Las líneas nativas no tienen diferencias significativas en parámetros zootécnicos, organolépticos y moleculares.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Generalidades

El cuy, roedor originario de la zona andina, es un animal productor de carne para autoconsumo generalmente en el ámbito rural como crianzas a nivel familiar que abastece en la alimentación además de ayudar en la economía del hogar en muchos de los casos (Chauca & Zaldivar, 1994).

Se presume que su domesticación fue realizado mucho antes de la conquista española por nuestros aborígenes tales como Quitus, Cañaris, Salasacas, Imbayas, Puruhaés, Panzaleos, etc. quienes lo tenían en su alimentación como una de sus principales fuentes de proteína, debido a esto el cuy se ha adaptado a diferentes climas desde el páramo hasta los valles (Trujillo, 1994).

Perú y Ecuador son los países con mayor número de animales distribuidos en todo su territorio, mientras en Colombia y Bolivia su distribución es regional y con poblaciones menores (Chauca, 1997). En el Ecuador, según el “III CENSO NACIONAL AGROPECUARIO” se calcula que existen 5’067.049 de cabezas de cuy distribuidas en 337.423 Unidad de Producción Agrícola (UPA) (INEC, 2012).

A pesar que la crianza del cuy en su mayoría se encuentra en las zonas rurales, no son los únicos en su crianza ya que existen explotaciones a gran escala, teniendo un 50% de explotaciones tradicionales, 45% semitecnificadas y 5% tecnificadas, en el país se mantiene un manejo tradicional en el cual los conocimientos son transmitidos de padres a hijos, dando poca importancia a la sanidad, nutrición y tecnificación ya que en la mayoría de los casos son solo destinados para el autoconsumo y venta de animales en mercados de la zona (Moncayo, 2009).

2.2. Descripción Taxonómica

Cavia porcellus, es conocido con distintos nombre dependiendo del país o región en el que se encuentran: América del Sur (Cuy), México (Cuye), Caribe y Canarias (Curi), España (Cobayo), Estados Unidos (Conejillo de Indias).

La clasificación taxonómica del cuy se muestra a continuación

Reino	Animal
Phylum	Vertebrata
Subphylum	Gnathostomata
Clase	Mammalia
Subclase	Theiria
Infraclases	Eutheria
Orden	Rodentia
Suborden	Hystricomorpha
Familia	Caviidae
Género	<i>Cavia</i>
	<i>Cavia aperea aperea</i> Erxleben
	<i>Cavia aperea aperea</i> Lichtenstein
Especie	<i>Cavia cutleri</i> King
	<i>Cavia porcellus</i> (Linnaeus)
	<i>Cavia Cobaya</i>

Fuente: (INIAP, 2011)

2.3. Tipo de Cuyes

Para los tipos y variedades se les agrupa a los cuyes de acuerdo a su conformación, forma, longitud de pelo y tonalidad de pelaje (Chauca, 1997).

2.3.1. Clasificación por conformación

2.3.1.1. Tipo A

- Cuyes mejorados.
- Conformación enmarcada dentro de un paralelepípedo.
- Buena longitud, profundidad y ancho.
- Mayor desarrollo muscular, fijado en una buena base ósea.

- Temperamento tranquilo.
- Buena conversión alimenticia.



Figura 1. Cuy Tipo A

2.3.1.2. Tipo B

- Poca profundidad y desarrollo muscular escaso.
- Forma angulosa.
- Cabeza triangular y alargada.
- Mayor variabilidad en el tamaño de orejas.
- Muy nervioso.



Figura 2. Cuy Tipo B

2.3.2. Clasificación de Cuyes según el pelaje

2.3.2.1. Tipo I

- Pelo corto y lacio pegado al cuerpo.
- Colores simples claros, oscuros o combinados.
- Mejor comportamiento como productor de carne.

- Característico del cuy peruano (productor de carne).
- Puede o no poseer remolinos en la frente.
- Pelo corto y lacio pegado al cuerpo.
- Mayor difusión.



Figura 3. Línea Tipo I

2.3.2.2. Tipo II

- Pelo corto y lacio formando rosetas o remolinos a los largo del cuerpo.
- En cruzamiento con otro tipo se pierde fácilmente.
- Buen comportamiento como productor de carne.
- Menos precoz.
- Representa a los cuyes criollos.
- Diversos colores.
- No es una población dominante.



Figura 4. Cuy Tipo II

2.3.2.3. Tipo III

- Pelo largo y lacio.
- Presenta subtipos que corresponden al tipo 1 y 2 con pelo largo.

Cuyes subtipo III-1: pelo largo, lacio y pegado al cuerpo, pueden o no presentar remolinos en la frente.

Cuyes subtipo III-2: pelo largo, lacio y en rosetado, poco difundido pero bastante solicitado por la belleza que presenta, no es buen productor de carne, utilizado como mascota.



Figura 5. Cuy Tipo III

2.3.2.4. Tipo IV

- Pelo ensortijado sobre todo al nacimiento, esta característica se va perdiendo en su desarrollo tornándose erizado.
- Forma de cabeza y cuerpo es redonda de tamaño medio
- Buena implantación muscular y con grasa de infiltración
- El sabor de su carne destaca
- Variabilidad de subparámetros productivos y reproductivos le da un potencial como productor de carne.



Figura 6. Cuy Tipo I

2.3.3. Tipos de Cuyes según el pelaje

En el pelaje de los cuyes su coloración depende de dos pigmentos:

- Granular: Posee tres variantes: Rojo, Marrón y Negro
- Difuso: Se encuentra entre el color amarillo pálido a marrón rojizo

Estos pigmentos fueron encontrados en la capa externa del pelo, se encuentra completamente formados y siempre en asociación con pigmentos granulados.

La clasificación de acuerdo al color del pelaje se ha realizado en función a los colores simples, compuestos y a la forma como están distribuidos en el cuerpo.

2.3.3.1. Pelaje simple

Lo constituyen pelajes de un solo color, entre los que podemos distinguir:

Blanco:

- Blanco mate
- Blanco claro

Bayo (amarillo):

- Bayo claro
- Bayo ordinario
- Bayo oscuro

Alazán (rojizo):

- Alazán claro
- Alazán dorado
- Alazán cobrizo
- Alazán tostado

Negro:

- Negro brillante
- Negro opaco

Violeta:

- Violeta claro
- Violeta oscuro



Figura 7. Cuy Violeta



Figura 8. Cuy Negro

2.3.3.2. Pelaje compuesto

Son tonalidades formadas por pelos que tienen dos o más colores

Moro:

- Moro claro: más blanco que negro
- Moro ordinario: igual blanco que negro
- Moro oscuro: más negro que blanco

Lobo:

- Lobo claro: más bayo que negro
- Lobo ordinario: igual bayo que negro
- Lobo oscuro: más negro que bayo

Ruano:

- Ruano claro: más alazán que negro
- Ruano ordinario: igual alazán que negro
- Ruano oscuro: más negro que alazán

2.3.3.3. Overos

Son combinaciones de dos colores, siempre presente el moteado blanco, que puede ser o no predominante. En la denominación se nombra el color predominante.

Overo:

- Overo bayo (blanco amarillo)
- Bayo overo (amarillo blanco)
- Overo alazán (blanco rojo)
- Alazán overo (rojo blanco)
- Overo moro (blanco moro)
- Moro overo (moro blanco)

- Overo negro (blanco negro)
- Negro overo (negro blanco)

2.3.3.4. Fajados

Tienen los colores divididos en secciones o franjas de diferentes colores.

2.3.3.5. Combinados

Presentan secciones en forma irregular y de diferentes colores.

2.3.3.6. Particularidades en el cuerpo

Presentan manchas dentro de un manto de color claro

- Nevado: Pelos blancos salpicados
- Mosqueado: Pelos negros salpicados

2.3.3.7. Particularidades en la cabeza

- Luceros: Presentan manchas en la cabeza



Figura 9. Cuy Nevado

2.4. Tipos Raciales en el país

En el Ecuador, el cuy presenta características fenotípicas muy variables por lo que no se puede hablar de razas de cuyes, esto es gracias a los cruzamientos no controlados que se han tenido desde hace muchos años. (León, 2000).

En los últimos años se han efectuado trabajos de mejoramiento genético y se puede hablar de cuyes de los tipos raciales Peruano mejorado, Macabeo y Criollo (Castro, 2002).

Los cuales se describen a continuación:

2.4.1. Tipo racial Peruano mejorado

- Los cuyes de este tipo son el resultado de un cruce genético.
- Presentan desarrollo muscular marcado, precocidad y eficiente conversión alimenticia.
- El color de su pelaje es blanco, castaño, rojo o alazán con blanco; puede ser combinado o fajado y por su pelo liso corresponde al Tipo I.
- Puede o no tener remolino en la cabeza, con orejas caídas, ojos negros aunque existen individuos con ojos rojos.
- No es un animal polidáctilo, existe predominancia de animales con 4 dedos en los miembros anteriores y 3 en los posteriores.
- Los adultos llegan hasta los 1723g de peso promedio.
- Este tipo racial ha presentado adaptación a ecosistemas de Costa y Sierra, desde el nivel del mar hasta altitudes de 3500 m.s.n.m, (Castro, 2002).

2.4.2. Tipo racial Macabeo

- Los cuyes de este tipo racial presentan buen desarrollo muscular, son precoces y se adaptan a una variedad de alimentos.
- Se desarrollan bien en condiciones climáticas variables y diversos sistemas de crianza (jaula y/o pozas).
- Poseen cabeza grande y robusta, lo mismo que sus patas.
- El color de su pelaje rojo-castaño con blanco, puede ser combinado o fajado, por su pelo liso corresponde al Tipo I.
- Sus ojos son negros y sus orejas son muy grandes y caídas (Castro, 2002).

2.4.3. Tipo racial Criollo

- Poco desarrollo muscular, cuerpo delgado y anguloso, cabeza alargada y con un par de orejas erectas.

- Es un animal pequeño, nervioso y muy rústico, debido a su adaptación al medio es poco exigente en la calidad de alimento.
- Criado técnicamente mejora su productividad.
- Tiene un buen comportamiento productivo al ser cruzado con cuyes mejorados de líneas precoces.
- Es criado principalmente en el sistema familiar y su rendimiento productivo es bajo y lento (Castro, 2002).

2.5. Ubicación de cuyes nativos

En la actualidad los cuyes nativos han sido rezagados a los sectores rurales del país, especialmente de la sierra Ecuatoriana, esto se debe a su tasa de crecimiento lenta, lo que ha llevado a los pequeños y medianos productores a criar cuyes de línea comerciales (Tipo I).

En los sectores que se pueden encontrar los cuyes nativos por ser lugares donde la explotación cunicola es tradicional o no tecnificada se encuentran en: Ambato, El Quinche, Machachi, Saquisilí, Salcedo y Pujilí.

Aunque existen muchos mercados de animales a nivel de la serranía como Riobamba e Ibarra estos no fueron elegidos, ya que, su venta se centra en animales de líneas comerciales como Inti, Perú y Andina.



Figura 10. Lugares de Colecta de Cuyes de diferentes líneas nativas

2.6. Calidad de la carne de cuy

La carne de cuy posee grasa compuesta por un alto porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados, los cuales influyen de forma directa en la prevención de las enfermedades cardiovasculares.

Dentro de los ácidos grasos poliinsaturados que posee, se encuentran los de la familia omega 3 y omega 6, En la tabla 1 se muestra una comparación entre el valor nutritivo de la carne de cuy y otras carnes.

Tabla 1
Valores nutritivos de los tipos de carne

Composición de la canal	Cordero	Cerdo	Pollo	Conejo	Cuy
Agua (%)	52	42	64	65	
Proteína (%)	15	15	16	20,4	20,3
Grasa (%)	23	34	11	8,0	7,8
Ácidos grasos saturados (%)	13	13	4	1,5	0,9
Ácidos grasos monoinsaturados (%)	9	17	4	1,5	1,9
Ácidos grasos poliinsaturados (%)	1	4	3	1,5	1,7
Relación proteína: grasa	0,65	0,44	1,45	4,80	4,82
Relación AG insaturados: saturados	0,77	1,61	1,75	2,00	2,00
Relación AG Poliinsaturados: monoinsaturados	0,11	0,23	0,75	1,00	1,00
Kcal/100 g de carne	267	366	163	128	125
Proteína (g)/100 Kcal.	5,6	4,1	9,8	16,9	17,1

Fuente: Fernández, L. y Hernández, A. 2012.

En la actualidad los consumidores consideran a las carnes rojas como poco sanas por su alto contenido de ácidos grasos saturados y colesterol. Lo que favorece en la actualidad el incremento en los consumos de carne de cuy.

La carne de cuy, los ácidos grasos insaturados están bien equilibrados entre las dos series omega 6 y omega 3 (Fernández, Martín, & Apraez, 2016)

2.7. Beneficios de la carne de cuy

El consumo de carne de cuy es óptimo para los que deseen ingerir proteínas de alta calidad, según estudios pediátricos niños de edades tempranas que consumen carne de cuy presenta mejor sistema autoinmune y desarrollo intelectual por el contenido de ácidos grasos.

La carne de cuy posee un enzima llamado asparginasa, que actúa sobre tumores deteniendo su crecimiento, este enzima actúa contra el aminoácido aspargina, que es precursor de la formación de células carcinogénicas en el organismo.

2.8. Producción de cuy a nivel nacional

De acuerdo con una proyección realizada por el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC) y los resultados del Censo Agropecuario efectuado en el 2011 se determina que en el

2016 se produjeron al menos 4,9 millones de cuyes en las cuatro provincias. El estudio también determina que la producción total en el país en ese año fue de 6,6 millones.

2.9. Genética del Cuy (*Cavia porcellus*)

Los estudios de genética en cuyes, como animal de laboratorio, han sido conducidos en dos fases distintas. La primera incluye el período que va de 1900 hasta los inicios de la década del 60. Esta se caracterizó principalmente por el análisis de los caracteres visibles como el color, textura de la capa y por estudios sobre los efectos de la consanguinidad. La segunda fase se inicia en la década del 60 con los estudios dirigidos al análisis de los caracteres bioquímicos, fisiológicos e inmunológicos, lográndose un mayor entendimiento de la biología fundamental, aplicable a otros mamíferos (Chauca, 1997).

En Ecuador, como en los países Andinos, desde la domesticación del cuy ha existido la selección natural, en la cual los animales que mejor se adaptan a su medio han sobrevivido, multiplicándose y produciendo una progenie con características idénticas, sufrido mutación a lo largo de todo tiempo que los han hecho subsistir en un medio adverso. En la actualidad se modifica su ambiente para que tengan condiciones óptimas en cuanto a nutrición, sanidad y manejo para que el cuy pueda expresar todo su potencial productivo. A nivel genético se realizaron selecciones, cruzamientos con animales de elite cuidando que no exista parentesco entre ellos para no tener problemas de consanguinidad. (Chauca, 1997).



Figura 11. Selección de Animales para Mejoramiento
Fuente: Chauca, L. 2007.

2.10. Diversidad Genética

La diversidad Genética se define como las variaciones heredables que ocurren en cada organismo, entre los individuos de una población y entre las poblaciones dentro de una especie. (Piñero, 2010). Siendo la diversidad genética las diferencias existentes entre los alelos encontrados dentro del genoma. A su vez de intervenir los factores antes mencionados, es determinante los procesos evolutivos que transcurren con el paso del tiempo. Para que ocurra un proceso evolutivo debe existir algo que seleccionar, es decir, varios alelos que codifiquen para un carácter, mientras más alelos posee un gen mayor es la probabilidad de evolución. La pérdida de individuos, poblaciones y especies disminuye la variabilidad de genes, con lo que dificulta la adaptación a cambios. (Moreno, 2001).

2.10.1. Mutación

Modificación o alteración estable y heredable del material genético, cambio de rasgos hereditarios, que altera la secuencia de ADN ocasionando variaciones, que pueden desaparecer o permanecer en el tiempo y en todos los individuos de la especie. (Barbadilla, 2017).

2.10.2. Selección Natural

Se da sobre el fenotipo, que son las características observables de un individuo, siendo el producto del genotipo. Cuando estas características le ayudan a un organismo a sobrevivir y reproducirse mejor en un medio ambiente particular, aumenta la frecuencia de los alelos ventajosos, produciéndose una microevolución (Khan Academy, 2018).

2.10.3. Endogamia

Se produce cuando individuos con un alto grado de consanguinidad se cruzan, apareamiento no al azar. En este proceso no se alteran las frecuencias de los alelos, al contrario cambian los genotipos, aumentando los individuos homocigotos con una reducción de los heterocigotos (Ocampo, 2013).

2.10.4. Deriva Genética

Es una selección al azar de genes debido a un error de muestreo que modifica la frecuencia alélica de la siguiente generación, a partir del conjunto de genes de la generación actual. Sin tomar en cuenta el beneficio o daño que el alelo proporciona al portador. Aunque ocurre en poblaciones de todos los tamaños, sus efectos tienden a ser más fuertes en poblaciones pequeñas (Khan Academy, 2018).

2.10.5. Migración

Es la transferencia de genes de una población a otra, debido a la migración de individuos. Si dos poblaciones difieren en las frecuencias de sus alelos en algunos de sus genes, entonces el intercambio de individuos entre poblaciones producirá una alteración en las frecuencias de los genes en cada una de las poblaciones (Barbadilla, 2017).

2.11. Herramientas Moleculares

2.11.1. Reacción en Cadena Polimerasa (PCR)

Es una técnica de amplificación exponencial in vitro de segmentos específicos del genoma, cuyo objetivo es producir suficiente ADN de la región para ser analizado (secuenciado, visualizado o clonado), sin embargo es necesario conocer por lo menos parcialmente el fragmento que se desea trabajar (Khan Academy, 2018).

Para este proceso simultáneo de duplicación de ADN es necesario fragmentos cortos y sencillos de ADN complementarios (primers), que servirán de guía para la Taq polimerasa en la síntesis de ADN, los desoxinucleótidos (dNTPs) los cuales serán incorporados a la cadena molde, ion magnesio (Mg^{+}), buffer y agua.

Todo este proceso necesita de tres pasos fundamentales que irán en ciclos consecutivos: Desnaturalización ($95^{\circ}C$), el cual ayudara en la apertura de la doble cadena de ADN; Anillamiento ($40 - 65^{\circ}C$), donde se realizara la unión de los oligonucleótidos encontrados en la mezcla con extremo 3, aquí los cebadores se acoplaran a sus secuencias complementarias; Síntesis ($72^{\circ}C$), la última etapa del proceso de PCR, donde el copiado del templado unido por enlaces iónicos van creado nuevos fragmentos de ADN ayudado de la Taq polimerasa (Khan Academy, 2018).

2.11.2. Marcadores Moleculares

Un marcador genético es un carácter que se encuentra ligado a un locus (lugar específico en el genoma), que puede ser rastreado, es decir que a partir de la característica conocida se puede identificar la presencia o ausencia de un carácter heredable, ayudando en la selección de individuos que incluso no expresen el rasgo de interés. Teniendo dos tipos de marcadores: Marcadores Morfológicos y Marcadores Moleculares (Solís & Andrade, 2005).

2.11.3. Marcadores Microsatélites (SSRs)

Los microsatélites SSRs o secuencias simples repetidas, son cadenas cortas de 1 a 6 pares de bases repetidas en tándem, que se encuentran en forma dispersa a lo largo de todos los cromosomas, ya sea en secciones codificantes como no codificantes, siendo altamente polimórficos, lo cual, aportan con información útil que puede ayudar a la solución de problemas específicos (Khan Academy, 2018).

2.11.4. Secuenciador Automático DNA Analyzer LI-COR 4300 s

LI-COR 4300 s es un instrumento de tercera generación, semiautomático con una tecnología sumamente sensible de detección de fluorescencia infrarroja. Dicha detección infrarroja es una ventaja clave ya que las moléculas biológicas, geles y placas de vidrio tienen poca fluorescencia infrarroja, entonces las señales del marcador fluorescente son limpias y fuertes y se detectan con una alta sensibilidad. Este equipo utiliza electroforesis en geles de acrilamida (KB Plus Gel Matriz 6.5%), para sus diversas aplicaciones que son la secuencia de ADN, análisis de AFLPs, de microsatélites, cDNA AFLPs, tilling y eco-tilling. (LI-COR Biosciences, 2009).

Para la detección de los microsatélites se empleará el método “M13-tailing”, en donde a cada uno de los primers SSRs (secuencia forward) se le añadirá la secuencia de nucleótidos (5'-CAC GAC GTT GTA AAA CGA C-3') al extremo 5. Durante la PCR, esta cola de nucleótidos se une al IRDye-labeled M13 Primer (secuencia complementaria marcada con fluorescencia infrarroja a 700 u 800 nm) que se añadió al coctel de reacción. Los productos de amplificación SSRs quedan marcados y al ser separados por electroforesis, son detectados simultáneamente por los dos canales del genotipador, generándose dos imágenes de corrida en tiempo real, una en 700 nm y otra en 800nm (Morillo, Caracterización Molecular, 2018).

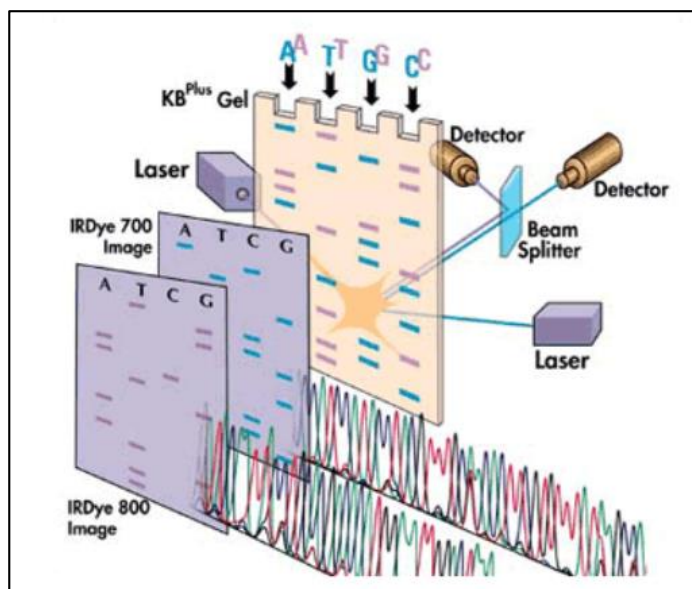


Figura 12. Detección de bandas en LI-COR 4300s
Fuente: (LI-COR Biosciences, 2009)

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. Ubicación del lugar de investigación

Para la fase zootécnica y organoléptica: El presente trabajo fue realizado en las instalaciones del proyecto de especies menores de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I, de la Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE.

Para la fase molecular y composición de carne de cuy: La caracterización molecular se realizó en el laboratorio de Biotecnología Molecular del Departamento Nacional de Biotecnología (DNB) de la Estación Experimental Santa Catalina del Instituto Nacional Autónomo de Investigación Agropecuaria (INIAP), mientras que, la composición de carne de cuy se efectuó en el laboratorio NOVAGESTION en Guayaquil.

3.1.1. Ubicación Política

Hacienda “El Prado” – Carrera de Ingeniera Agropecuaria IASA I

Provincia: Pichincha

Cantón: Rumiñahui

Parroquia: San Fernando

Sector: Hda. El Prado, proyecto de especies menores

3.1.2. Ubicación Geográfica

La ubicación geográfica del proyecto de especies menores donde se realizó la fase de campo se encuentra descrita a continuación.

Altitud: 2748 m.s.n.m.

Latitud: 0°23'20" Sur

Longitud: 78°24'44" Oeste



Figura 13 Imagen satelital de la Hacienda El Prado IASA-I, Proyecto de Especies Menores.

Fuente: (Google Maps, 2018)

3.1.3. Ubicación Ecológica

La ubicación ecológica del proyecto de especies menores donde se realizó la fase de campo se encuentra descrita a continuación.

Zona de Vida:	Bosque húmedo
Zona ecológica:	Montano bajo
Temperatura media:	13,92°C
Temperatura máxima:	21,30°C
Temperatura mínima:	6,74°C
Precipitación anual:	1531mm
Heliófila:	4 – 5 horas
Horas Luz:	12 horas luz
Humedad relativa:	64,11 %
Viento:	1,5 m/s

Suelo: Franco Arcilloso

Periodo de lluvias: Octubre a Mayo

Fuente: Estación Meteorológica de la Hacienda el Prado (Arce M. 2015)

3.2. Materiales

3.2.1. Materias de Campo

- 7 Pozas de 1m x 1,5m (1,5m²)
- Comederos
- Bebederos
- Carretillas
- Rastillo
- Palas
- Cuaderno de Campo
- Caja de manejo de reproductoras

3.2.2. Materias de Laboratorio

- Kit de Extracción
- Tubos eppendorf de 1,5
- Soporte Magnético
- Tubos para PCR
- Placas de PCR
- Micropipetas
- Puntas estériles para micropipetas
- Gradillas
- Guantes

3.2.3. Equipos

- Balanza
- Micro centrifugadora
- Termociclador
- Equipo de Electroforesis en gel de agarosa
- Vórtex
- Baño María
- Congelador
- Cámara de flujo laminar
- Computadora
- Cuantificador de ADN EPOCH
- Equipo de Fotodocumentación ENDURO GDS
- Equipo para Genotipar LI – COR 4300s

3.2.4. Reactivos

- Buffer de Lysis
- Resina
- Buffer de Lavado
- Buffer de Elución
- Agua Ultrapura
- Etano 95 – 100%
- Alcohol Isopropilico
- Tampón de Incubación
- Proteinasa K
- DTT

- Alcohol antiséptico
- Agua destilada
- Taq DNA polimerasa
- Agarosa ultrapura
- Primers para Cuyes
- Syber gold
- Blue juice
- Marcadores de ADN de 100pb y 1kb
- Buffers TAE 1X para gel de agarosa
- Buffer 1X para gel de poliacrilamida
- Marcador de 700 y 800
- DNTPs

3.2.5. Organismos

- 35 hembras (5 Tipo I, 5 Tipo II, 5 Tipo III, 5 Tipo IV, 5 Negros, 5 Nevados, 5 Violetas)
- 7 machos (1 Tipo I, 1 Tipo II, 1 Tipo III, 1 Tipo IV, 1 Negro, 1 Nevado, 1 Violeta)

3.2.6. Insumos

- Balanceado
- Forraje
- Vitamina C
- Fármacos

3.3. Métodos

3.3.1. Primera fase de investigación (Parámetros Zootécnicos)

Para la ejecución de la investigación se colectaron diferentes líneas nativas de cuyes en: Ambato, Quinche, Machachi, Saquisilí y Salcedo, fueron transportados a las instalaciones del

proyecto de especies menores del IASA I, para lo cual se los puso en cuarentena, desparasito y se suministró antibiótico.

Para el presente estudio se conformaron grupos de 5 hembras y 1 macho por cada línea (colocados en pozas), los cuales estuvieron sometidos a un sistema semi-intensivo, con una alimentación mixta (forraje y balanceado), adicionalmente contaron con suministro de agua ad-libitum. Los datos para esta fase se tomaron hasta el segundo parto los cuales involucraron las siguientes variables: ganancia de peso, peso al empadre, al parto y destete de las reproductoras. En cuanto a la camada se tomaron variables como: número de crías nacidas, número de crías destetadas, peso al nacimiento, peso al destete y mortalidad de madres y crías.

72 horas antes de la entrada de los animales se procedió a la preparación del galpón, para esto se realizó una limpieza general, desinfección y acondicionamiento de las pozas con flameado para la eliminación de parásitos, insectos o cualquier organismo patógeno que pueda afectar el bienestar de los animales, para terminar se pasó con diésel las tablas de las pozas, con el objeto de controlar cualquier microorganismo que pudiese infectar el desarrollo de los animales.

Cada 15 días en todas las pozas, se realizaba el cambio de la cama (tamo más las excretas), seguido se desinfectaba con una rotación de: CRESO y AMITRAZ AL 21%, culminada la desinfección se colocaba una cama nueva de tambo desinfectado.

3.3.1.1. Animales

Los animales utilizados para el presente estudio pertenecieron al proyecto de especies menores de la Hacienda El Prado, IASA I, más los provenientes de Ambato, Quinche, Machachi, Saquisilí y Salcedo.

3.3.1.1.1. Selección de los machos

Se utilizó 7 machos, uno por cada línea (Tipo I, Tipo II, Tipo III, Tipo IV, Negros, Nevados, Violetas) de un peso entre 950 a 1050kg.

3.3.1.1.2. Selección de las hembras

Para el caso de las hembras se necesitaron 35 hembras reproductoras, tomando como principal criterio de selección, un peso mínimo de 850gr, además de sus condiciones físicas y sanitarias.

Con las hembras se conformaron grupos según su línea, fueron identificadas con tinte negro en diferentes partes del cuerpo para tener un mayor control de los registros, la cual se detalla a continuación (Ver Tabla 2).

Tabla 2
Identificación de las hembras por poza

Nº de hembra	Identificación
1	Nariz
2	Cabeza
3	Hombros
4	Lomo
5	Cola
6	Oreja Derecha
7	Oreja Izquierda

Autor: Buitrón. D, 2019

3.3.1.2. Dieta

La mezcla forrajera predominante durante el experimento consistió de Alfalfa (45%) y RayGrass (50%), Kikuyo y Llantén en una proporción del (5%), sin embargo, en el verano se utilizó la mezcla forrajera de Avena y Vicia.

El forraje se cortaba un día antes de ser suministrado, almacenado a la sombra para evitar problemas de humedad y desencadenar timpanismo en los animales.

En el caso del concentrado, se formuló en las instalaciones de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria – IASA I, el cual contenía 20% de proteína y 2,9Mcal/kg de energía.

3.3.1.3. Pesaje semanal de los animales

El pesaje de todas las madres se realizó una vez a la semana durante un mes por cada parto, en horas de la mañana, con una balanza digital, obteniendo los pesos en g/hembra, todos estos datos eran ingresados en una bitácora digital.

Para las crías de igual manera el pesaje fue semanal por poza tanto para machos y hembras, este pesaje fue a las 08:00 a.m. durante 8 semanas para conocer la dinámica de crecimiento así mismo los datos eran ingresados a una bitácora digital.

3.3.1.4. Control de Mortalidad

Todas las mañanas antes del suministro de la dieta se verificó la existencia de animales muertos y sanidad de los mismos, esto se lo hacía observando cada poza y detectando comportamiento anormal que podían presentar los animales.

3.3.2. Segunda fase de investigación (Pruebas Organolépticas y Composición de la Carne de Cuy)

3.3.2.1. Pruebas Organolépticas

Se sacrificó 7 cuyes machos, uno por línea, con tres meses de edad aproximadamente, adobados con 15 g de sal, para posteriormente ser horneados por 2 horas a 200°C, durante el proceso de horneado se humectó el cuy con aceite cada media hora para evitar que la carne pierda su jugosidad.

En las instalaciones de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I, se realizó las pruebas de palatabilidad, para lo cual se requirió de 30 personas al azar “Catadores”, los cuales recibieron un plato con 3g de carne de cuy por cada línea, una botella de agua y la ficha de palatabilidad (Anexo E).

3.3.2.2. Composición de la Carne de Cuy

Se utilizó 14 cuyes machos, 2 por cada línea, con tres meses de edad aproximadamente, fueron pesados antes y después de su sacrificio (Anexo F), se mandó aproximadamente 1kg de carne de cuy por línea al laboratorio NOVAGESTION (Guayaquil), donde se realizó las pruebas de: Proteína, Calcio, Hierro, Fósforo y Aceites y grasas.

3.3.3. Tercera fase de investigación (Caracterización Molecular)

3.3.3.1. Material Biológico

Se efectuó la caracterización de 88 cuyes (*Cavia porcellus*) de cada línea en estudio (Tipo I, Tipo II, Tipo III, Tipo IV, Negros, Nevados y Violetas), provenientes del proyecto de especies menores de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I.

3.3.3.2. Muestreo del Materia Genético

La recolección de las muestras biológicas fueron obtenidas de cuyes vivos (*Cavia porcellus*) al azar, sin importar la edad que estos tengan, ya que el ADN extraído no se altera por este factor.

La toma de muestras se realizó a 88 animales a partir del pelo de la zona del cuello, se seleccionaron al azar, 10 individuos por línea nativa (5 hembras y 5 machos), además de 28 individuos de la línea mejorada, por fines investigativos se procedió a subdividir a esta línea en 4 subgrupos (Rosario Auqui, San Luis, Tipo I) para investigar si existe diferencias dentro de esta línea, se detallada en el Anexo G.

A cada individuo seleccionado se le cepillo tres veces la zona del cuello para eliminar el material genético muerto o de otros individuos una vez cepillado, se tomó un mechón con un número aproximado de 30 pelos, y de un solo tiro se los arrancó, colocándolos con cuidado en el sobre de muestreo previamente identificado (Ver figura 14), esta acción se repitió otras dos veces, se los agrupó y se colocó en una funda ziploc para transportarlos en un cooler con hielo,

para posteriormente colocarlos en la nevera a -20°C para su conservación hasta el momento de ser utilizados.

N° Muestra
Fecha de Recolección
Línea de Cuy
Identificación
Sexo
Lugar de Nacimiento

Figura 14. Ficha de Identificación de Muestras
Autor: Buitrón. D, 2019

3.3.3.3. Extracción de ADN Genómico

Se transportó 88 muestras de pelo de cuy desde el proyecto de especies menores de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria - IASA I en sobres cerrados e identificados hacia los laboratorios de Biotecnología Molecular del Departamento de Biotecnología de la Estación Experimental Santa Catalina perteneciente al INIAP. Para la extracción de ADN genómico se efectuó a partir de folículos pilosos de pelo de cuy a través de la utilización del kit de extracción de PROMEGA DC4700 y DC6745.

La metodología del protocolo mencionado se detalla a continuación:

3.3.3.3.1. Protocolo de extracción de ADN Genómico a partir de Folículos pilosos

(Promega, 2018)

Corte los folículos pilosos del tallo del cabello y se colocó en tubos Eppendorf de 1,5ml de capacidad, se añadió 100ul de solución de buffer de incubación/ proteinasa K recién preparada (suficiente para cubrir la mezcla), se mezcló e incubó a 56°C durante 1 hora. A continuación se colocó la muestra a temperatura ambiente y se agregó 600ul de tampón de lisis más 7ul de resina DNA IQTM, se agitó en vórtex por 3 segundos e incubó durante 5 minutos a temperatura ambiente, se agitó en vórtex por 2 segundos y se llevó los tubos al soporte de separación

magnética, la separación ocurrirá inmediatamente, se eliminó con cuidado la solución sin alterar el pellet de resina formado a un costado del tubo.

Se agregó 100ul de tampón de lisis y nuevamente se agitó en vórtex por 2 segundos, se volvió a colocar los tubos en el soporte de separación magnética y se desechó la solución de tampón de lisis. Consecutivamente se agregó 100ul de tampón de lavado 1x preparado, se llevó a vórtex por 2 segundos y se regresaron las muestras al soporte de separación magnética para desechar toda la solución, el lavado se repite dos veces más.

Con el tubo en el soporte de separación magnética y la tapa abierta, se dejó secar la resina por 5 minutos, se añadió 100ul de tampón de elución y se llevó a incubar a 60°C por 5 minutos. Para finalizar se retiró las muestras de la fuente de calor, se dio vórtex por 2 segundos e inmediatamente se colocó en el soporte de separación magnética y se transfirió cuidadosamente la solución de ADN a tubos Eppendorf de 0,6ml de volumen.

3.3.3.4. Cuantificación de ADN Genómico

La estimación de ADN genómico se realizó a través del equipo de Espectrofotómetro para Microplacas EPOCH de BioTek, el cual arroja en sus resultados la cantidad de ADN genómico que existe por microlitro (ul).

Además se realizó una comparación visual con el patrón de bandas obtenidos con el marcador de peso molecular 1Kb, en un gel de agarosa al 0,8%, el cual contiene 80ml de TAE 1X, 0,64g de Agarosa y 4ul de syber safe.

Para la preparación de muestras se mezcló 2ul de ADN con 2ul de buffer de carga “Blue juice”, y se prosiguió a cargar 4ul de esta mezcla en cada uno de los pocillos del gel. Adicionalmente se colocó 2ul de marcador de peso molecular 1kb en el primer pocillo del gel.

Para la electroforesis se utilizó un buffer de corrida TAE 1x, a 100 voltios por 30 minutos, para posteriormente visualizarlos en el fotodocumentador en gel ENDURO™ GDS.

En base a los resultados obtenidos en la cuantificación en el equipo de Espectrofotómetro para Microplacas EPOCH, se normalizaron las soluciones de ADN a una concentración de 5ng/ul, para lo cual se utilizó una disolución de agua con tartrazina 1x.

3.3.3.5. Validación de PRIMERS

Con el ADN verificado y diluido se efectuaron pruebas de validación con 31 primers, publicados por (Kanitz, 2009) y (Aviles, 2015), según el protocolo de (Morillo & Miño, 2011).

La reacción de amplificación se realizó en un volumen final de 7,5ul con una concentración final de: tampón 1X PCR SSR, 2mM de MgCl₂, 0,3mM de dNTP's, 0,5uM de cebador Forward, 0,5uM de cebador Reverse, 0,07 U de Taq (5 U/ul) y 1,33ng de ADN (Morillo & Miño, 2011).

Para verificar que se realice correctamente la reacción de PCR, se incluyó un control negativo el cual tenía todos los componentes del coctel de amplificación a excepción del ADN genómico que fue reemplazado por agua ultrapura.

Para la amplificación se colocó las muestras en un Termociclador empleando el siguiente programa de amplificación: Un ciclo de desnaturalización a 94°C por 5 minutos, 30 ciclos consecutivos de desnaturalización a 94°C por 45 segundos, de anillamiento 55°C por 1 minuto, de elongación cíclica a 72°C por 2 minutos y un ciclo final de elongación a 72°C por 7 minutos, por ultimo una estabilización a 10°C por 10 minutos.

La electroforesis de los productos amplificados se realizó en gel de agarosa al 2%, el cual constaba de 80ml de TAE 1x, 1,6g de agarosa y 8ul de syber safe, con un buffer de corrida de TAE 1x.

3.3.3.6. Validación de Polimorfismo

Para la validación de polimorfismo se amplificaron los 29 primers con el método "M13 Tailling", conforme a lo indicado en Morillo & Miño 2011. En este método la secuencia

Forward tiene añadida una secuencia de nucleótidos denominada M13 (5'-CAC GAC GTT GTA AAA CGA C- 3') al extremo 5' del primer.

Los productos amplificados quedan marcados por el IRDye – labeled M13, el cual separa los 19 pares de bases añadidos al forward, una vez empezada la corrida las muestras son detectadas simultáneamente por dos canales de genotipado, generándose dos imágenes de corrida en tiempo real, una en 700 nm y otra en 800nm.

Para las pruebas de amplificación (monoplex) realizadas mediante el método “M13 – Tailling” en el genotipador LI-COR DNA Analyzer 4300s, permitió verificar el tamaño esperado de los productos microsatélites obtenidos y al mismo tiempo determinar la longitud de onda (700 u 800nm) en la que mejor amplifique. Para la determinación de este último parámetro en primera instancia se realizó la amplificación de los microsatélites en un marcaje de 700nm, para posteriormente amplificarlos en un marcaje de 800nm.

Utilizando 7 muestras de ADN genómico de Cuy, uno por cada línea en estudio más un control negativo para verificar que no exista contaminación.

La reacción de amplificación se realizó en un volumen final de 5ul con una concentración final de: tampón 1X PCR SSR, 2,5mM de MgCl₂, 0,2mM de dNTP's, 0,16uM de M13 700/800, 0,01uM de cebador Forward, 0,16uM de cebador Reverse, 0,05U de Taq (5 U/ul) y 2ng de ADN (Morillo & Miño, 2011).

El volumen final de la reacción se cubrió con aceite mineral para evitar la evaporación de las muestras, inmediatamente se realizó la amplificación en un termociclador empleando el siguiente programa de amplificación: Un ciclo de desnaturalización a 94°C por 2 minutos, 95°C por 4 minutos, 25 ciclos consecutivos de desnaturalización a 95°C por 1 minutos, de anillamiento 55°C por 2 minutos, de elongación cíclica a 72°C por 2 minutos y un ciclo final de elongación a 72°C por 10 minutos, por último una estabilización a 4°C por 10 minutos.

La preparación de las muestras previo a la corrida en el LI-COR consistió colocar 5ul de blue para tener una disolución 1:1 con las muestras preparadas para 800nm y 15 ul de blue en disolución 1:3 con las muestras preparadas para 700nm. La corrida tuvo una duración de una hora y media.

3.3.3.7. Selección de Primers Microsatélites

Para la selección de los Primers microsatélites a utilizar se verificó el tamaño esperado (pb) en los productos microsatélites amplificados. En base a la calidad de los productos de amplificación obtenidos, se seleccionó 12 primers microsatélites, detallados en el Anexo I. Conjuntamente con estas pruebas, se pudo verificar la calidad del ADN genómico extraído para los materiales en estudios.

3.3.3.8. PCR con método M13 – Tailing Microsatélites

3.3.3.8.1. Monoplex de microsatélites M13

Con los 12 primers seleccionados la amplificación (monoplex) realizada mediante la metodología “M13-Tailing” en el genotipador LI-COR DNA Analyzer 4300s, fue realizada con placas enteras utilizando las 88 muestras de ADN genómico de cuy más un negativo para verificar que no exista contaminación. Dentro de las placas se encuentran los espacios específicos para la colocación del marcador de fluorescencia (IRDye) tanto en 700 u 800nm.

Las amplificaciones se realizaron en parejas, para que al momento ser cargadas en el LICOR DNA Analyzer 4300s corran dos placas consecutivas una en 700nm y otra en 800nm. La reacción de amplificación se realizó en un volumen final de 5ul con una concentración final de: tampón 1X PCR SSR, 2,5mM de MgCl₂, 0,2mM de dNTP's, 0,16uM de M13 700/800, 0,01uM de cebador Forward, 0,16uM de cebador Reverse, 0,05U de Taq (5 U/ul) y 2ng de ADN (Morillo & Miño, 2011).

El volumen final de reacción se cubrió con 12ul de aceite minera para evitar la evaporación de las muestras. Consecutivamente se realizó la amplificación en un Termociclador empleando el siguiente programa de amplificación: Un ciclo de desnaturalización a 94°C por 2 minutos, 95°C por 4 minutos, 25 ciclos consecutivos de desnaturalización a 95°C por 1 minutos, de anillamiento 55°C por 2 minuto, de elongación cíclica a 72°C por 2 minutos y un ciclo final de elongación a 72°C por 10 minutos, por ultimo una estabilización a 4°C por 10 minutos.

3.3.3.9. Secuenciador automático DNA Analyzer LI-COR 4300s

La preparación del gel de poliacrilamida al 6,5% consiste en mezclar 20ml de Gel Matriz KB Plus 6.5%, 150ul Persulfato de Amonio (APS) 10% y 15 ul de TEME, esta mezcla se deposita entre dos placas de vidrio, previamente lavadas con agua – detergente y tratadas con isopropanol. Seguidamente, se coloca el peine para formar la línea base y se deja polimerizar por 1 hora. Posteriormente se ensambla la placa de poliacrilamida en el equipo LI-COR analyzer 4300s. Para la corrida electroforética se utiliza el buffer TBE 1x KB Plus LI-COR.

3.3.3.9.1. Genotipaje de los fragmentos amplificados

Para realizar el genotipaje es necesario la utilización del software SAGA^{GT} anexo en el equipo LI-COR 4300s, se creó un proyecto denominado “Cuyes 2018”, en el cual ingresaron parámetros como: tallas de los marcadores de peso molecular IRDye 700 u 800nm (50 a 350 pb), nombres de los primers, rango de amplificación esperado y marcaje a utilizar.

Con toda la información introducida, se prosiguió a crear el gel en el cual se asignó la ubicación de las muestras y marcador de peso molecular dentro de los 96 pocillos del gel y se estableció el loci con los que se va a genotipar dichas muestras. Consecutivamente, se inició una pre-corrida de 25 minutos, previo a la carga de las muestras para que los laser se enfoquen y reconozcan el gel.

Las muestras fueron previamente preparadas antes de ser cargadas en el LI-COR, para lo cual se colocó 5ul de blue stop LI-COR en el caso de usar un marcaje de 800nm y 15ul de blue stop LI-COR para el marcaje de 700nm, seguido de una centrifugación de las placas. Posteriormente se realizó la desnaturalización de los productos amplificados a 95°C por 5 minutos e inmediatamente se los colocó en hielo para impedir que las hebras de ADN se unan nuevamente. El volumen de la carga de las muestras en el gel de poliacrilamida fue de 0,8ul. Primero se cargaron las muestras con marcaje de 800nm y luego de correr tres minutos se cargaron las muestras con marcaje de 700nm. La electroforesis se realizó a 1500 V durante 90 minutos en el LI-COR.

El marcador de peso molecular utilizado fue el IRDye 700nm u 800 nm que va desde 50 a 350 pb. Los productos resultantes (locus) marcados con la fluorescencia M13 pasan frente a los láseres del equipo, y son reconocidos de acuerdo a la longitud de onda. Una vez finalizada la corrida, el LI-COR creó y guardó las imágenes del gel en archivos formato Tiff. (800nm y 700nm), para que pueda ser interpretado por el software SAGA^{GT} se abrió el proyecto denominado “Cuyes 2018”, se seleccionó el gel requerido y se abrió la imagen, en la cual se identificó la posición de las bandas (alelos), determinándose de esta manera si se trataba de un individuo homocigoto (una banda) o heterocigoto (dos bandas) según el número de bandas.

Los datos del genotipaje fueron importados al programa Microsoft Excel, en donde se obtuvo una matriz genotípica que muestran los tamaños (pb) de los alelos reportados por cada loci microsatélites, de esta manera cada individuo estuvo identificado por su genotipo. Cuando no existió amplificación, se etiquetó con signo de interrogación (?) y consecutivamente se efectuó nuevamente una amplificación de los GAP's obtenidos. Los locus microsatélites que no amplificaron se consideraron como datos perdidos y se prosiguió a elaborar la matriz genotípica final.

3.3.4. Variables Zootécnicas a Evaluar

3.3.4.1. Peso de la hembra al empadre.

Se pesaron con una balanza, las hembras al primer parto tenían un peso mínimo de 850g de peso, además cada hembra se identificó con tinte negro localizado en diferentes partes del cuerpo, lo cual nos ayudó con el registro individual para la toma de datos.

3.3.4.2. Peso de la hembra post parto.

Se procedió mediante el uso de una balanza, cuando la hembra parió, este proceso se estableció a través de un cronograma de partos, donde se realizó visitas al galpón en la mañana y en la tarde para identificar las hembras paridas y tomar sus pesos los mismos que se expresaron en g/hembra.

3.3.4.3. Peso de la hembra post destete

Se procedió a medir mediante el uso de una balanza: el destete se realizó a los catorce días del parto, una vez separadas las crías se tomó el peso de las madres.

3.3.4.4. Peso de la camada al nacimiento

Este peso se tomó con la ayuda de una balanza, una vez reconocidos los gazapos recién nacidos de una camada se los peso y pintó a cada uno de los animales para su identificación

3.3.4.5. Peso de la camada al destete

Se calculó el peso mediante el uso de una balanza, una vez destetados a los 14 días se procedió a tomar su peso en conjunto.

3.3.4.6. Ganancia de Peso

Se procedió a pesar una vez por semana a todos los animales en ayunas para estimar la ganancia de peso semanal.

3.3.4.7. Número de crías nacidas vivas y nacidas muertas

Se procedió a medir mediante el conteo de los gazapos al momento del parto.

3.3.4.8. Número de crías destetadas

Se procedió a medir contando los gazapos al momento del destete. Variable que nos ayudará a determinar la mortalidad en el periodo de destete.

3.3.4.9. Efectividad del celo post parto

Se procedió a medir en función del conteo del intervalo entre partos se estableció un rango de 66 ± 3 días para determinar la efectividad de este celo.

3.3.4.10. Efectividad del celo post destete

Se procedió a medir en función del conteo del intervalo entre partos, se establecerá un rango mayor al establecido en el celo post partum de 66 ± 3 días para determinar la efectividad de este celo.

3.3.4.11. Análisis Organolépticos

Los 30 catadores seleccionados al azar evaluaron los atributos y variables presentados en la ficha de cata propuesta. Las variables que se evaluaron fueron vista, nariz y boca.

3.3.5. Variables Moléculas a Evaluar

3.3.5.1. Análisis de Diversidad Genética

Para el estudio de la diversidad genética se tomaron en cuenta los siguientes parámetros para esto se usó el programa Power Marker V3.25 (Liu, Muse, & Weir, 2004), para lo cual la matriz genotípica previamente efectuada en el programa Microsoft Office Excel fue guardado como archivo de texto en formato “txt” y posteriormente importada al programa estadístico para el cálculo de los diferentes parámetros.

3.3.5.1.1. Tamaño de la Muestra

Número de individuos analizados.

3.3.5.1.2. Número de Observaciones

Es el número de genotipos observados para los materiales en cada locus. Si existen datos perdidos, no existen alelos, disminuye el número de observaciones.

3.3.5.1.3. Disponibilidad

Se define como:

$$\frac{1 - Obs}{n}$$

Dónde:

- Obs: Número de observaciones
- n: Número de individuos incluidos en la muestra

Manifiesta el porcentaje de materiales en el que está presente un locus SSR

3.3.5.1.4. Frecuencia de Alélica

Se refiere al número de veces que un alelo, se encuentra presente en relación con el número total de alelos de la población en estudio para un locus. Se expresa solo en proporción.

$$\text{Frecuencia alelica} = \frac{\text{Frecuencia absoluta de un alelo determinado}}{\text{Número total de alelos de la población para un locus}}$$

3.3.5.1.5. Genotipos

Número de genotipos generados por locus.

3.3.5.1.6. Número de alelos

Cantidad de alelos de un locus.

3.3.5.1.7. Coeficiente de inbreeding dentro de la población (f)

Es la probabilidad de que ambas copias de un determinado gen sean derivadas de un mismo ancestro.

3.3.5.1.8. Heterocigosis Observada (H_o)

Indica la proporción de individuos heterocigotos en una población, para cualquiera de los loci (Aranguren, Román, Isea, Villasmil, & Jordana, 2005). A mayor frecuencia de un alelo, existe menor heterocigosis. Se expresa de la siguiente manera:

$$H_o = \frac{\text{Individuos Heterocigotos}}{\text{Número total de Materiales}}$$

3.3.5.1.9. Heterocigosis Esperada (HE)

Es la probabilidad de que dos alelos tomados al azar de la población sean diferentes. La heterocigosis esperada es un buen estimador de la variabilidad, dado que se aplica a cualquier especie, independientemente de su estructura reproductiva o genética, pudiéndose por lo tanto realizar comparaciones entre ellas.

3.3.5.1.10. Contenido de información de polimorfismo (PIC)

Es una medida de diversidad genética estrechamente relacionada. Es decir es la informatividad de un marcador genético, que depende del número de alelos para ese locus y de sus frecuencias relativas. El PIC es similar al valor de heterocigocidad y oscila entre 0 y 1 (Aranguren, Román, Isea, Villasmil, & Jordana, 2005).

3.3.5.2. Estructura Genética

3.3.5.2.1. Análisis de Agrupamiento

Este análisis se utiliza para representar gráficamente, mediante un árbol, las relaciones individuales y grupales entre los materiales evaluados, se basa en una matriz de distancias genéticas individuales, Para ello se utilizó el programa Power Marker versión 3.5 (Liu, Muse, & Weir, 2004), el análisis comprende los siguientes pasos:

3.3.5.2.1.1. Cálculos de frecuencia

Las distancias genéticas estiman el tiempo que ha transcurrido desde la separación entre poblaciones y se basan en ciertas diferencias genéticas existentes dentro y entre poblaciones (Aranguren, Román, Isea, Villasmil, & Jordana, 2005).

La matriz genotípica para el cálculo de distancias genéticas se transformó en una matriz de datos binarios que oscila entre 0 (no existe variabilidad) y 1 (muchoa divergencia), para posteriormente calcular la matriz de distancias con opción de alelos compartidos (Shared Allele Distance, DAS), la distancia entre un individuo y la población se toma como el promedio de distancia entre el individuo y los miembros de esa población.

3.3.5.2.1.2. Construcción de Árboles Genéticos

Los árboles filogenéticos son diagramas que representan las relaciones evolutivas entre un grupo de organismos, los cuales descienden de ancestros en común (Khan Academy, 2018).

La matriz de distancias genéticas es la base para la construcción de estos árboles filogenéticos, los cuales utilizan métodos de agrupamiento como UPGMA (*método de agrupamiento no ponderado por pares*) o NJ (*Neighbour Joining*).

El UPGMA, método más sencillo para la creación de dendograma, consiste en buscar las distancias más pequeñas en la matriz y agrupan las unidades que la conforman como una sola unidad taxonómica independiente.

Este método asume distintas tasas evolutivas, por lo que la longitud de sus ramas es proporcionales a la cantidad de cambio evolutivo. Luego de realizar los árboles en Power Marker v3.0, fueron visualizados en TREEVIEW 1.6.6 (Page, 2001).

3.3.5.2.2. Métodos multivariados

Estos métodos permiten identificar estructuras fuertes que se crean dentro de una población, debido a los efectos individuales, es decir, se determina las relaciones entre los materiales

dependiendo de la posición en que se encuentren en el espacio, mientras más cerca se encuentran entre si los materiales más estrechamente relacionados se encuentran.

3.3.5.2.2.1. Análisis de Coordenadas Principales (PcoA)

Es un método que permite proyectar en un plano de dos o tres dimensiones el conjunto de muestras analizadas, en función de dos o tres ejes de varianza. Para realizar el PcoA se utiliza el software NTSYS ver2.2 (Rohlf, 2002).

Se abrió “NTedit” e importando la matriz binaria calculada en PowerMarker 3.5 (Liu, Muse, & Weir, 2004), se arregló en Excel, asignando a los datos perdidos un 9 para posteriormente guardarlos en formato “nts” para que pueda ser usada por el software; luego se calculó una matriz de similitud utilizando el coeficiente SM de la opción “Simqual”, la matriz obtenida se guardó para ser utilizada en la opción “Dcenter”, y después mediante la opción “EIGEN” se obtuvo la dispersión de las muestras en dos y tres dimensiones y los porcentajes de varianza de cada coordenada (Morillo, Caracterización Molecular, 2018).

3.3.5.2.2.2. Análisis Molecular de Varianza

El análisis molecular de varianza (AMOVA) (Excoffier, Smouse, & Quattro, 1992) se basa en la diferenciación genética entre poblaciones y dentro de las poblaciones. El AMOVA se calculó por medio de programa GenALEX ver. 6.5 (Peakall & Smouse, 2012).

3.3.5.2.2.3. Distancias Genéticas

La distancia genética manifiesta la diferencia a nivel entre poblaciones o especies. El número de sustituciones alélicas por locus que se han dado en la evolución separada de dos poblaciones, grupos o especies (Nei, 1978), ya que permite estimar distancias genéticas cuando se dispone exclusivamente de frecuencias alélicas como en entre caso. Este índice viene dado por:

$$D = - \ln l_{xy}$$

Siendo:

L_{xy} : índice de identidad genética media entre las poblaciones x e y, que viene dado por la fórmula:

$$L_{xy} = J_{xy} / \sqrt{J_x J_y}$$

Dónde:

J_{xy} : Media aritmética sobre los r loci estudiados de $j_{xy} = \sum x_i y_i$

J_x : Media aritmética sobre los r loci de $j_x = \sum x_i^2$

J_y : Media aritmética sobre los r loci de $j_y = \sum y_i^2$

Siendo x_i e y_i las frecuencias del alelo i en las poblaciones X e Y

El valor de la identidad de Nei va de 0 a 1, mientras que la distancia genética de Nei puede adquirir valores entre cero a infinito. Estos parámetros fueron calculados en el programa GenAIEx ver. 6.5 (Peakall & Smouse, 2012) en la opción “Frequency”.

3.3.5.2.2.4. Identificación de Duplicados

En la identificación de duplicados se utilizó el software Excel Microsatellite Toolkit (Park, 2001), para lo cual fue necesaria la matriz genotípica, que contiene las tallas de los alelos, se selecciona la opción diploide “double column format”, posteriormente se escogió la opción “finding matching simples”. Se usó la diferencia de por lo menos diez alelos para comparar las tallas.

3.4. Diseño Experimental

3.4.1. Tipo de diseño

Esta investigación se usó un diseño completamente al azar DCA con 5 repeticiones por tratamiento.

3.4.2. Tratamientos a comparar

El factor evaluado fueron siete líneas genéticas de cuyes (Tipo I, Tipo II, Tipo III, Tipo IV, Negro, Nevado y Violeta), que corresponden a los siguientes tratamientos. (Ver Tabla 3).

Tabla 3

Descripción de los tratamientos estudiados

Tratamiento	Descripción
T1	Tipo I
T2	Tipo II
T3	Tipo III
T4	Tipo IV
T5	Negro
T6	Nevado
T7	Violeta

Autor: Buitrón. D, 2019

3.4.3. Características de las unidades experimentales

Tabla 4

Descripción la unidad experimental

Descripción	Unidad Experimental
Número de unidades experimentales totales	35
Número de unidades por línea	5
Especie	Cuy
Líneas	Mejorada: Tipo I Nativas: Tipo II, Tipo III, Tipo IV, Negro, Nevado y Violeta
Edad promedio	3 meses

Autor: Buitrón. D, 2019

3.4.4. Croquis del diseño

En cada poza se colocó 5 hembras por línea y 1 macho.

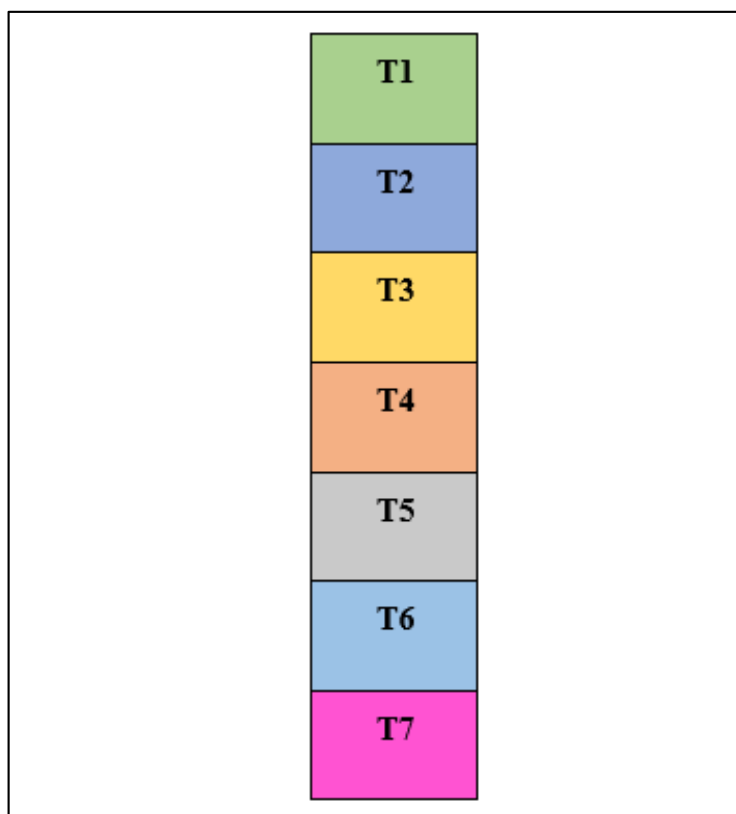


Figura 15. Distribución de los tratamientos en el campo

3.5. Análisis Estadístico de Variables Zootécnico

3.5.1. Esquema de análisis de varianza

Para el diseño Factorial (4 x3) se utilizó el siguiente esquema de ANAVA

Tabla 5

Esquema de análisis de varianza para un diseño Factorial

Fuentes de variación	Grados de libertad
Total	7 - 1 = 6
Línea	7 - 1 = 6
Error	28
Total	34

Autor: Buitrón. D, 2019

3.5.2. Modelo matemático

$$Y_{ij} = \mu + L_i + e_{ijk}$$

Donde:

Y_{ij} = Valor del parámetro en determinación.

μ = media general

L_i = efecto del i-ésima línea genética de cuy

e_{ij} = Efecto del error experimental.

3.5.3. Análisis funcional

Los datos fueron analizados en el paquete estadístico INFOSTAT, mediante un análisis de varianza (ANOVA); para las variables de peso al empadre, peso al nacimiento, peso al destete, peso de la camada al nacimiento, peso de la camada al destete, tamaño de la camada viva al nacimiento y tamaño de la camada al destete, además se utilizó una prueba de comparación de medias Duncan con un grado de error del 5%.

3.6. Análisis Estadístico de Variables Molecular

El genotipaje de los cuyes (*Cavia porcellus*) se realizó en el software SAGA^{GT} Microsatélites, asistente de lectura de imágenes, que son proporcionadas por el secuenciador automático DNA analyzer LI-COR 4300s.

Cuando se terminó de genotipar, los datos obtenidos del software son importados a Microsoft Excel, donde se creó la matriz de genotípica que muestra los tamaños de cada uno de los alelos de los diferentes materiales de estudio, si una muestra no tenía amplificación se lo consideraba como GAP o dato perdido, para que un marcador entre en el análisis de los datos no podía tener más del 10% de GAPS. Esta matriz genotípica es la base para el análisis de los datos en los diferentes programas a utilizar.

En primera instancia se utilizó el paquete estadístico de genética poblacional PowerMarker versión 3.25 (Liu, Muse, & Weir, 2004), GenALEX Versión 6.5 (Peakall & Smouse, 2012), NTSYS versión 2.2 (Rohlf, 2002), STRUCTURE versión 2.0 (Pritchard, Stephens, & Donnelly,

2000), Excel Microsatellite Toolkit (Park, 2001) y TREEVIEW versión 1.6.6 (Page, 2001). Los parámetros de diversidad determinados fueron: número y tamaño de alelos, frecuencia alélica, número de genotipos, contenido de información polimórfica (PIC), heterocigosis observada (H_o) y esperada (H_E), alelos compartidos y privados, análisis molecular de varianza (AMOVA) y distancia genética de Nei.

Adicionalmente se realizó una asignación genética, análisis de agrupamiento, análisis de multivariados (PcoA) e identificación de duplicados a través de la comparación de genotipos multilocus microsatélites.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Parámetros Zootécnicos

4.1.1. Peso de la hembra al empadre

Para la variable peso al empadre se encontró diferencias significativas para línea ($F_{31-6}=3,78$; $p=0,0061$), en el cual se determina que la línea de cuy Tipo I tuvo mejores resultados (Ver Tabla 6).

En el 2015 Mendoza, en su evaluación fenotípica de cuyes determinó un peso de 701g para las hembras nativas de 4 meses de edad, siendo valores similares para las hembras violetas; para las otras líneas se tuvo una edad promedio de 3 meses con pesos mayores a los reportados.

Para el 2014 Martínez, en su estudio de raza sintética de cuyes nativos x peruanos, reporta un peso de 900g al empadre, teniendo valores similares para las líneas nativas, sin embargo para el cuy mejorado tipo I reporta un peso de 1200gr.

En la (Figura 16), muestra que la línea mejorada Tipo I tiene mejores pesos al momento del empadre, sin embargo dentro de los cuyes nativos la línea de cuy Tipo IV tiene resultados similares a la mejorada, seguidas por las líneas Tipo III, Nevadas, Tipo II y Negras, al final se encuentra la línea Violeta que es la más pequeña de todas.

Tabla 6

Promedio \pm error estándar del peso al empadre de hembras de 7 líneas de cuyes

Tratamientos	Medias	E.E.			
Violetas	750	79,24	A		
Negras	860	79,24	A	B	
Tipo II	958,33	79,24	A	B	C
Nevadas	1010	79,24		B	C
Tipo III	1057,14	79,24		B	C
Tipo IV	1150	79,24			C
Tipo I	1200	79,24			C

Autor: Buitrón. D, 2019

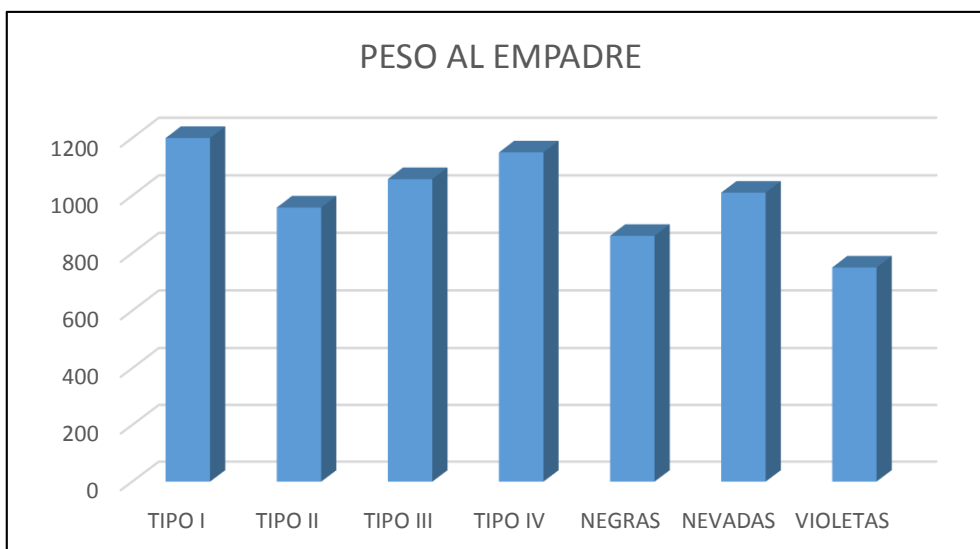


Figura 16. Peso al empadre de hembras en 7 líneas de cuyes

4.1.2. Peso de la hembra post parto

Para la variable peso post parto de hembras en los dos partos se encontró diferencia significativa para línea ($F_{30-6}=4.28$; $p=0,0031$), por lo cual se determina que la línea mejorada de cuy Tipo I (mejorada) tuvo mejores resultados (1856.25), para las líneas nativas el cuy (Tipo IV) fue la mejor s en los dos partos con un peso de 1479.17g. (Ver Tabla 7).

En el 2015 Mendoza reportó un peso de la hembra post parto de 850g, siendo menores a los reportados en este estudio teniendo en el primer y segundo parto el mayor peso del tipo I 1650g y 2037.5g y el menor de 1012g y 1187.5g para el cuy violeta.

En la (Figura 17), los cuyes nativos de la línea de cuy (Tipo IV) tienen resultados similares a la mejorada (Tipo 1), mientras que la línea nativa violeta reporta el menor peso con 1100g.

Tabla 7

Promedio \pm error estándar del peso post parto de hembras de primer parto de 7 líneas de cuyes

Tratamiento	Medias	E.E.			
Violetas	1100,00	106,88	A		
Tipo II	1154,17	106,88	A	B	
Negras	1195,00	106,88	A	B	
Nevadas	1345,00	106,88	A	B	
Tipo III	1425,00	106,88	A	B	
Tipo IV	1479,17	106,88		B	
Tipo I	1856,25	106,88			C

Autor: Buitrón. D, 2019

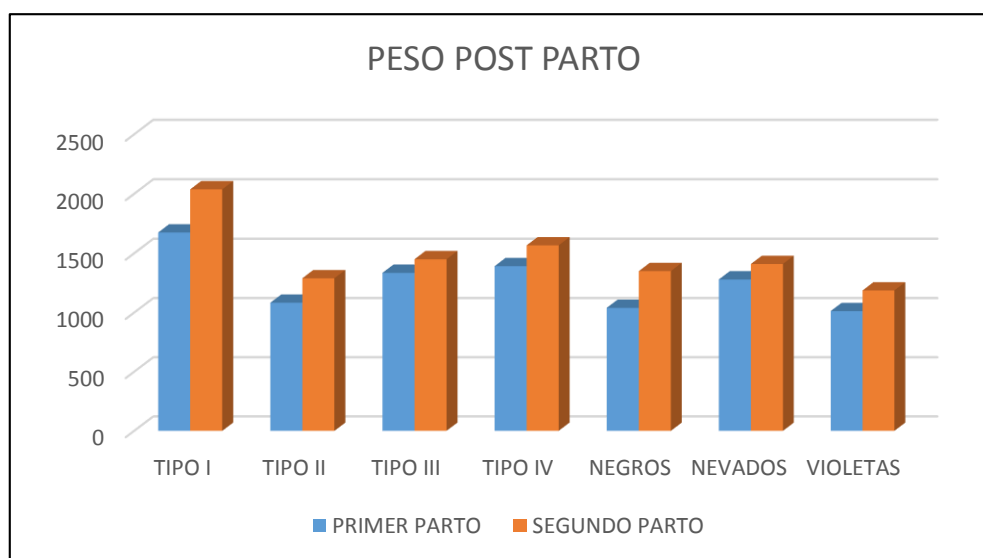


Figura 17. Peso post parto de dos partos de hembras en 7 líneas de cuyes

4.1.3. Peso de la hembra al destete

Para la variable peso post destete de las hembras para los dos partos se encontraron diferencias significativas para línea ($F_{30-6}=4,59$; $p=0,0020$), por lo cual se determina que la línea mejorada de cuy Tipo I presentó el mejor peso (1806.25g), para las líneas nativas el cuy tipo IV presentó un peso de 1525g (Ver Tabla 8).

En la (Figura 18), muestra los dos destetes de las hembras en el que la línea mejorada Tipo I tiene pesos superiores al momento del destete, y la línea nativa violeta presentó el peso más bajo obteniendo un peso de 1118.75g.

En el año 2015 Mendoza, reportó en su estudio un peso de 950gr de cuyes nativos, siendo significativamente menores a los reportados en los dos partos de los cuyes violetas con pesos de 1012.5g y 1225g respectivamente por parto.

Dentro de las otras líneas de cuyes nativas el cuy tipo IV presentó los mejores valores de peso al destete de 1433.33g y 1616.6g respectivamente siendo dentro del grupo de líneas nativas la que mejor condición corporal obtuvo en la finalización de la lactancia.

Tabla 8

Promedio \pm error estándar del peso post destete de hembras de segundo parto de 7 líneas de cuyes

Tratamiento	Medias	E.E.			
Violetas	1118,75	114,08	A		
Tipo II	1200,00	114,08	A		
Negras	1235,00	114,08	A	B	
Nevadas	1340,00	114,08	A	B	
Tipo III	1403,57	114,08	A	B	
Tipo IV	1525,00	114,08		B	C
Tipo I	1806,25	114,08			C

Autor: Buitrón. D, 2019

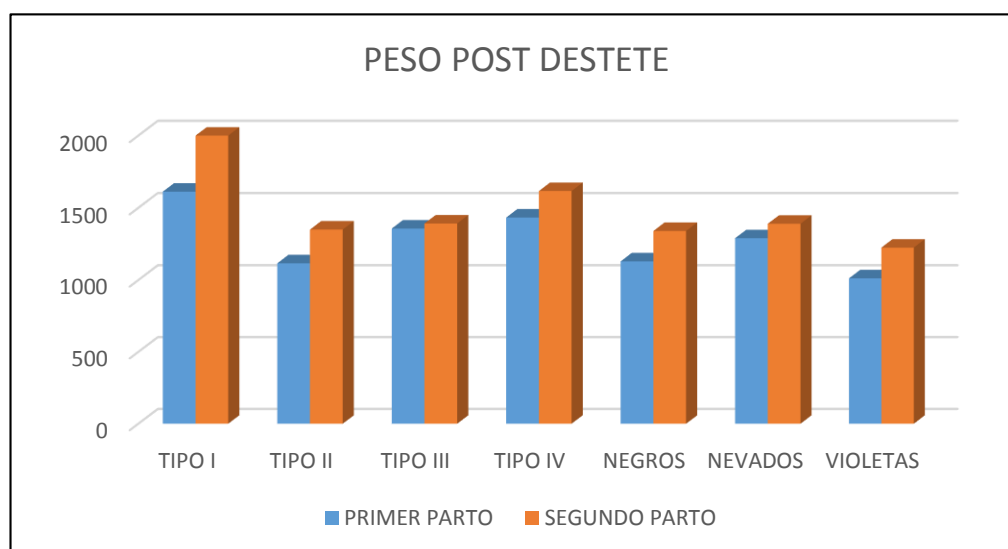


Figura 18. Peso post destete de dos partos de hembras en 7 líneas de cuyes

4.1.4. Tamaño de camada al nacimiento

La variable tamaño de la camada al nacimiento no presentó diferencias significativas por efecto de línea en ninguno de los partos, sin embargo, se observa que la línea nevada con 3,4,

tiene el mejor tamaño de camada frente a las otras líneas para el primer parto, mientras que al segundo parto la línea tipo II igualó a la nevada con 3,4 en tamaño de camada.

Cedillo en su estudio de ecotipos de Cañar y Azuay del año 2017, reporta un tamaño de camada de 1.2 y 1.4 respectivamente, siendo significativamente menores a los reportados en este estudio.

En el año 2010 Barrera reporta que para cuyes criollos un tamaño de camada de 2.2 crías/parto, siendo similares al valor reportado por las líneas de cuyes tipo III, nevados y violetas.

Para las otras líneas las mejores fueron: Tipo IV - 3,33 para el primer parto y Tipo I – 3,25 para el segundo parto (Ver Figura 19).

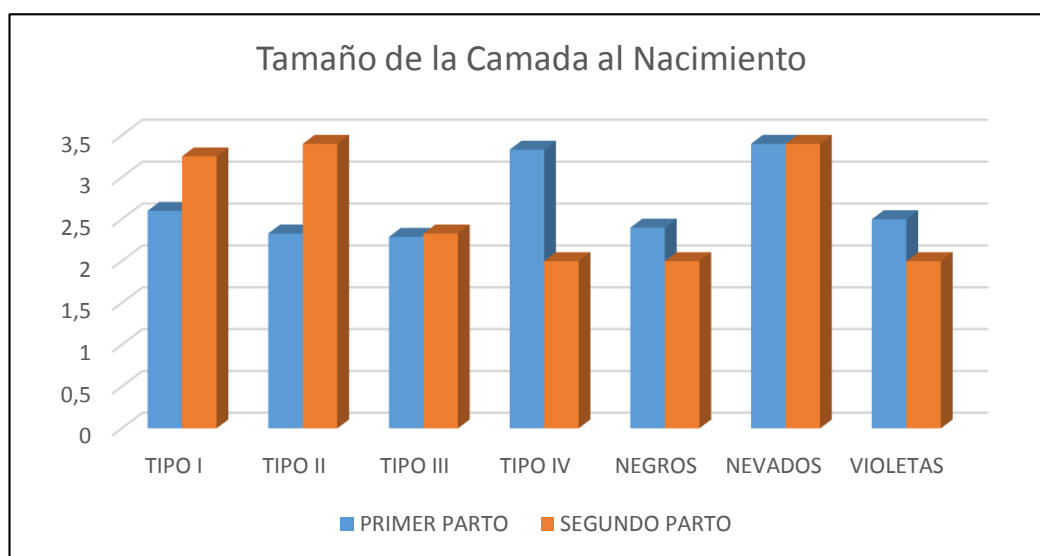


Figura 19. Tamaño de la Camada al Nacimiento de dos partos en 7 líneas de cuyes

4.1.5. Tamaño de la camada al destete

Para esta variable no se encontró diferencias significativas, siendo la línea nativa (Tipo IV) con 3, la que tuvo mejor tamaño de camada al destete, seguida por el Tipo I y Nevados con 2,5 para el primer parto, mientras que para el segundo parto la línea Tipo I con 3,25 tuvo el mejor tamaño de camada al destete seguido de las línea Nevada con 3,2 (Ver Figura 20).

Cedillo en su estudio realizado en el 2017 reporta valores de 1.9 para las dos líneas nativas estudiadas en el primer parto, estos valores son similares a los valores de los cuy violeta y tipo III, sin embargo para la línea tipo I (mejorado) y nevado son significativamente menores a los reportados por estos con 3 crías al destete.

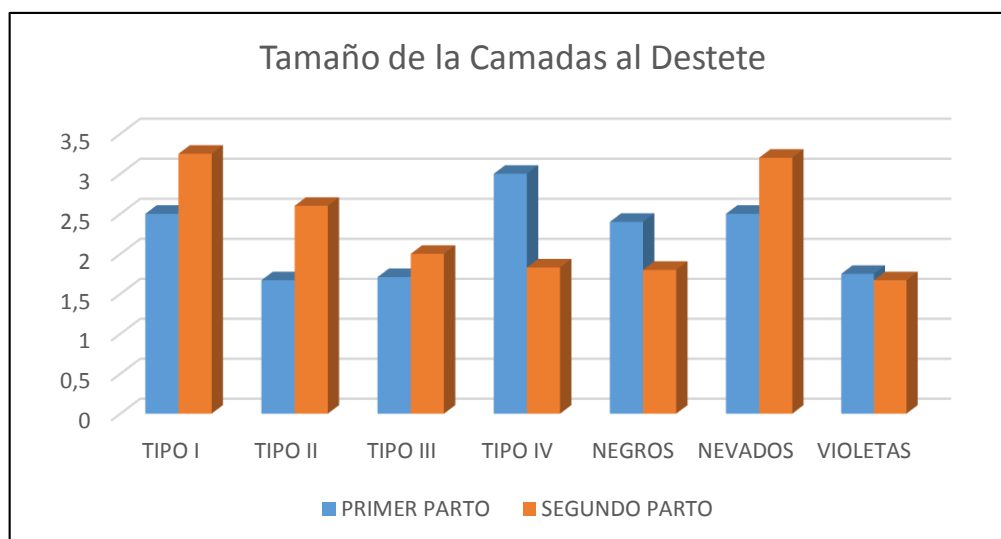


Figura 20. Tamaño de la Camada al Destete de dos partos en 7 líneas de cuyes

4.1.6. Peso de las crías al nacimiento

Para esta variable no existió diferencia significativa en los dos partos, sin embargo la línea nativa Negra reportó el mejor peso promedio con 171g, seguida de la línea mejorada (Tipo I) con un peso de 143.80 y la línea Violeta con el peso más bajo de 119.75g. (Ver Tabla 9).

David (2014), reporta para cuyes nativos un peso de 127.5g, siendo menores a los reportados en el peso de las crías del presente estudio.

En la (Figura 21) se indicó que para el primer parto la línea mejorada (Tipo I) con 187,5g tuvo el mejor peso promedio en el nacimiento, seguido por los negros con 165,2g, mientras que para el segundo parto la línea Tipo IV con 208,3g fueron los de mayores pesos, seguido por los violetas y negros con 183,33g y 180g respectivamente

Tabla 9

Promedio \pm error estándar del peso de la crías al nacimiento de hembras de 7 líneas de cuyes

Tratamiento	Medias	E.E.	
Violeta	119,75	20,23	A
Tipo II	123,67	20,23	A
Tipo IV	139,50	20,23	A
Nevado	141,80	20,23	A
Tipo III	143,57	20,23	A
Tipo I	143,80	20,23	A
Negro	171,00	20,23	A

Autor: Buitrón. D, 2019

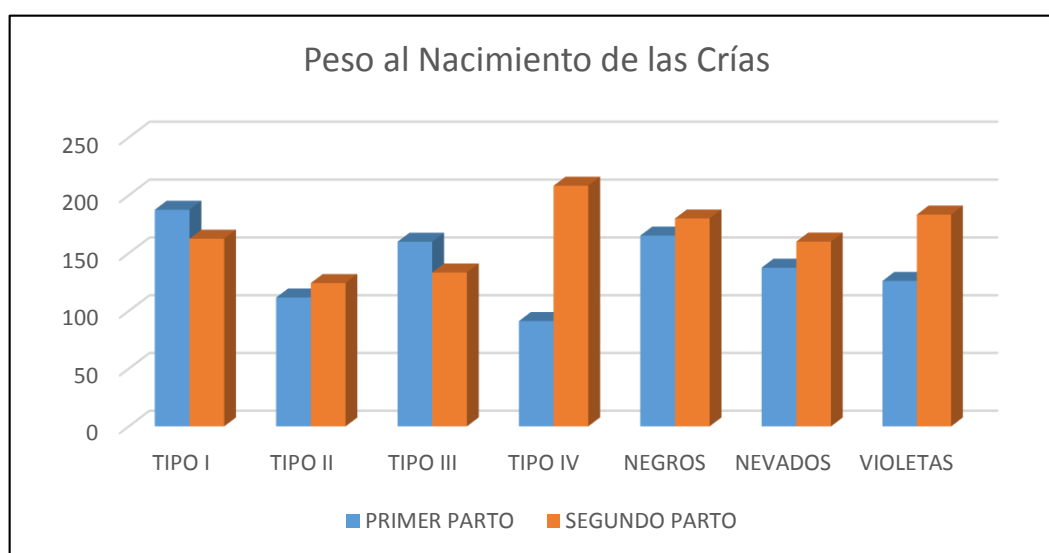


Figura 21. Peso al nacimiento de las crías en dos partos de 7 líneas de cuyes

4.1.7. Peso de las crías al destete

La variable peso de las crías al destete no se obtuvo diferencia significativa, sin embargo la línea mejorada (Tipo I) reportó el mayor con 375,50g y dentro de las líneas nativas el cuy negro con 360,80g el primer parto la línea Tipo I con 400g, con mejor peso al destete, seguido por los negros con 340g, mientras que en el segundo parto los Tipo IV destacaron con un peso de 375g seguido por los negros con 340g. (Ver Tabla 10).

David, reporta en su estudio en el 2014 que los cuyes nativos tienen un peso al destete de 250 g, este valor concuerda con los reportados en este estudio, para el tipo I este valor es

significativamente menor, para la mejor línea nativa que fue el negro presentó un mayor peso en este estudio de 340g mientras que la línea violeta reporto un peso de 275,50g.

Para esta variable el cuy negro en los dos partos presentó pesos iguales de 340g, siendo la línea estable y con mayor peso a los reportados por David en su estudio (2014).

En la (Figura 22) se muestra que el cuy nativo negro tiene los pesos homogéneos en los dos partos, para la línea mejorada (Tipo I) reporta mayor peso en el primer parto se debe a la muerte de una reproductora lo cual disminuyo este peso de las crías.

Tabla 10

Promedio \pm error estándar del peso de las crías al destete de hembras de 7 líneas nativas de cuyes

Tratamiento	Medias	E.E.			
Violeta	275,50	26,49	A		
Tipo III	290,50	26,49	A	B	
Nevado	292,20	26,49	A	B	
Tipo II	324,60	26,49	A	B	C
Tipo IV	337,00	26,49	A	B	C
Negro	360,80	26,49		B	C
Tipo I	375,50	26,49			C

Autor: Buitrón. D, 2019

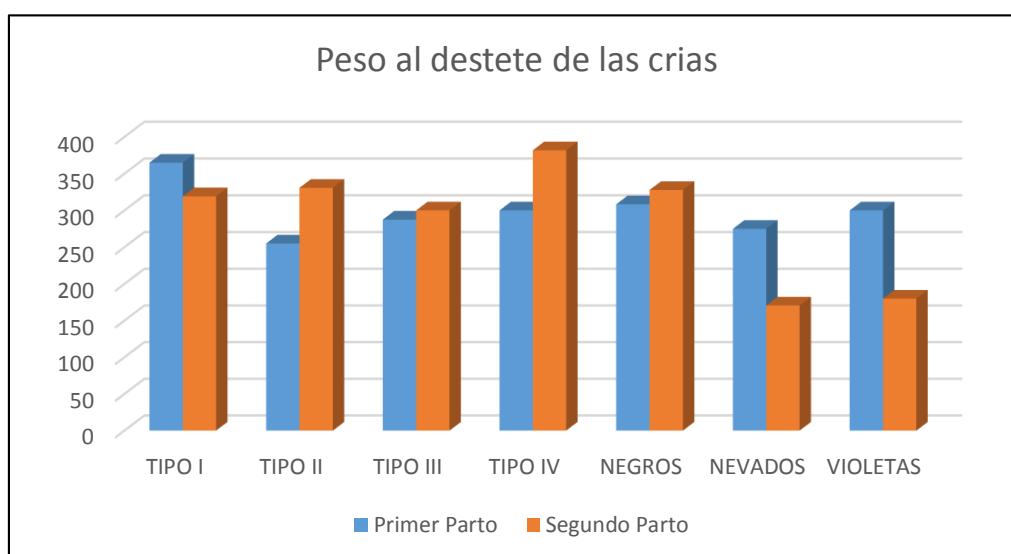


Figura 22. Peso al destete de las crías en dos partos de 7 líneas de cuyes

4.1.8. Peso de la camada al nacimiento

Para esta variable no se encontró una diferencia significativa para la línea, sin embargo la línea Nevada y línea mejorada (Tipo I) consiguieron los mejores pesos de camada al nacimiento con un peso de 466,66g y 392g respectivamente (Ver Tabla 11).

En el año 2017 Cedillo, reporta que para sus cuyes nativos un peso de 287,6g y 219.3 respectivamente en hembras de primer parto siendo similares para las líneas nativas de violetas, tipo III y tipo II sin embargo para la línea nevada es menor ya que en el presente estudio reporta 437,5g.

Para el segundo parto Osorio en el año 2016, reporta pesos de hasta 400g en cuyes mejorados sin embargo estos pesos son menores en los encontrados en las hembras de segundo parto de las líneas nativas como la nevada y tipo II.

En la (Figura 23) se puede observar dentro de las líneas nativas la línea violeta reporta el menor peso con 220,25g, mientras que los cuyes Nevados fueron superiores en el peso de los dos partos al cuy mejorado (Tipo I).

Tabla 11

Promedio \pm error estándar del peso de la camada al nacimiento de hembras 7 líneas de cuyes

Tratamiento	Medias	E.E.		
Violeta	220,25	56,58	A	
Tipo III	291,57	56,58	A	B
Negro	336,60	56,58	A	B
Tipo II	379,17	56,58	A	B
Tipo IV	391,00	56,58	A	B
Tipo I	392,00	56,58	A	B
Nevado	466,60	56,58		B

Autor: Buitrón. D, 2019

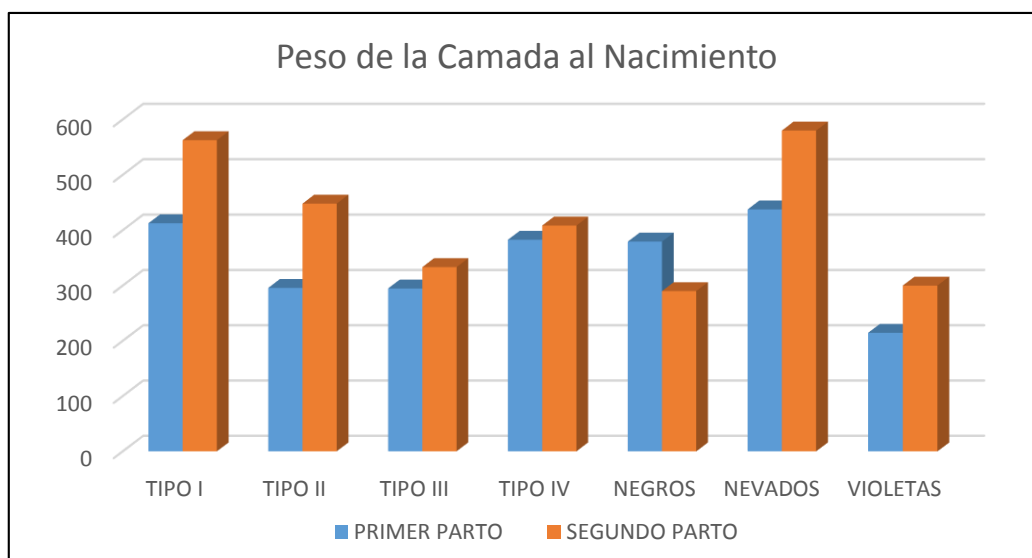


Figura 23. Peso de la camada al nacimiento en dos partos de 7 líneas de cuyes

4.1.9. Peso de la camada al destete

En la variable peso de la camada al destete presentó diferencia significativa para Línea ($F_{31-6}=2,73$; $p=0,0302$), donde la línea de cuy mejorada (Tipo I) y la línea nativa Nevada reportaron los mejores pesos con un valor de 901.40g y 750.60g respectivamente (Tabla 12).

En el año 2017 Cedillo, reporta para sus dos líneas nativas pesos de 354.5g y 482.4g, siendo en hembras de primer parto, siendo valores para el las líneas nativas del Cañar con el valor más alto similares a los encontrados en esta tesis, sin embargo el cuy negro reportó un peso de 740g.

En la (Figura 24), se puede notar la línea mejorada (Tipo I) tiene el mejor peso en los dos partos con 975g y 1012.4g respectivamente en cuanto a las líneas nativas los mejores fueron los negros para el primer parto y las nevadas para el segundo parto.

Tabla 12

Promedio \pm error estándar del peso de la camada al destete de hembras 7 líneas de cuyes

Tratamiento	Medias	E.E.		
Violeta	437,75	99,87	A	
Tipo III	461,71	99,87	A	
Tipo II	572,17	99,87	A	
Tipo IV	651,17	99,87	A	B
Negro	666,80	99,87	A	B
Nevado	750,60	99,87	A	B
Tipo I	901,40	99,87		B

Autor: Buitrón. D, 2019

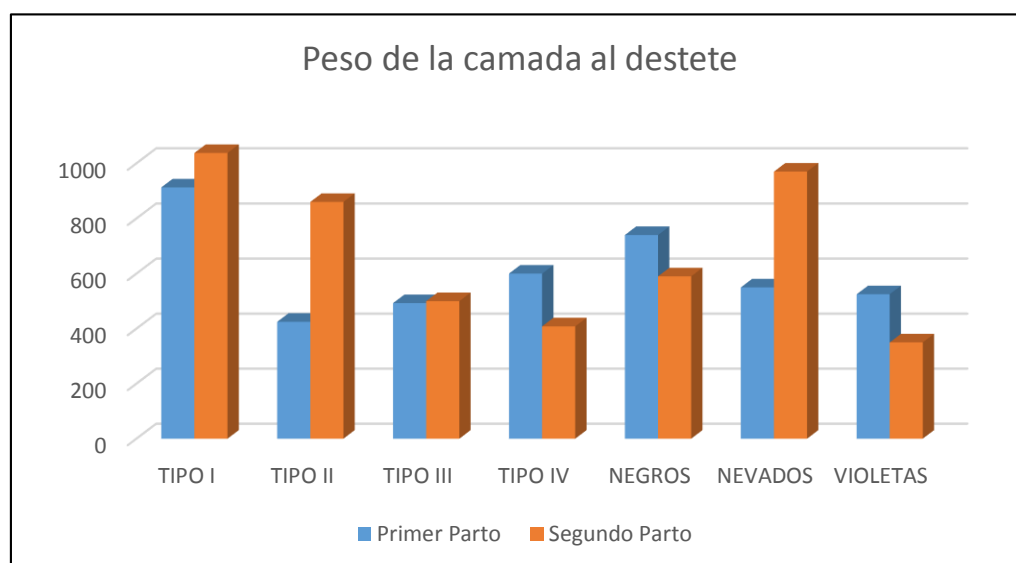


Figura 24. Peso de la camada al destete en dos partos de 7 líneas de cuyes

4.1.10. Datos de ganancia de peso de las crías

Los datos se pueden observar en los Anexos A y B

4.1.10.1. Ganancia de peso de los gazapos machos hasta la 8va semana

Para evaluar la ganancia de peso de las hembras se utilizó un diseño DCA, el cual fue significativo para los dos partos en el factor línea ($F_{344-6}=22,48$; $p<0,0001$); dando como resultado que la línea nativa (Tipo IV) tuvo mayores pesos al culminar la 8va semana de edad para los dos partos con un peso de 800g y la nevada reporta el menor peso con 625g. (Ver Figura 25).

En el estudio de Cedillo en el 2017 las líneas nativas tienen un peso a los 90 días de 608.5g, siendo similares a los reportados en las líneas nativas.

Los pesos reportados por Chura en el 2014, para cuyes nativos a la saca de 835gr es decir en 10 semanas de crianza, en el caso de las hembras, mientras que para los machos de segundo parto tiene pesos similares a los reportados por el autor, pero a la 8va semana, siendo la línea de cuy tipo IV la de mejor peso en los dos partos.



Figura 25. Peso final promedio de machos de 7 líneas de cuyes

4.1.10.2. Ganancia de peso de los gazapos hembras hasta la 8va semana

Para evaluar la ganancia de peso de las hembras se utilizó un diseño DCA, el cual fue significativo para el factor línea en los dos partos ($F_{296-6}=17,01$; $p<0,0001$); dando como resultado que la línea nativa (Tipo IV), tuvo mayores pesos al culminar la 8va semana con un peso de 756.25g seguido de la línea mejorada (Tipo I) con un peso de 743.75g mientras que la línea violeta reporta el menor peso con 587.5g. (Ver Figura 26).

En el estudio realizado por Barrera en el año 2010, con cuyes negros mejorados reporta un peso a la 10ma semana de hembras de 524.70g, siendo similares a los reportados en este estudio en los dos partos de los cuyes negros en el primer parto, para el segundo parto las hembras de color negro presentaron un peso de 700g, siendo superiores a los del estudio mencionado.

En el año 2014 David, en su estudio reporta un peso a la 8va semana de líneas nativas en Colombia de 672.2g, teniendo similitud a las reportadas en el estudio sin embargo el autor no excluye el factor sexo.

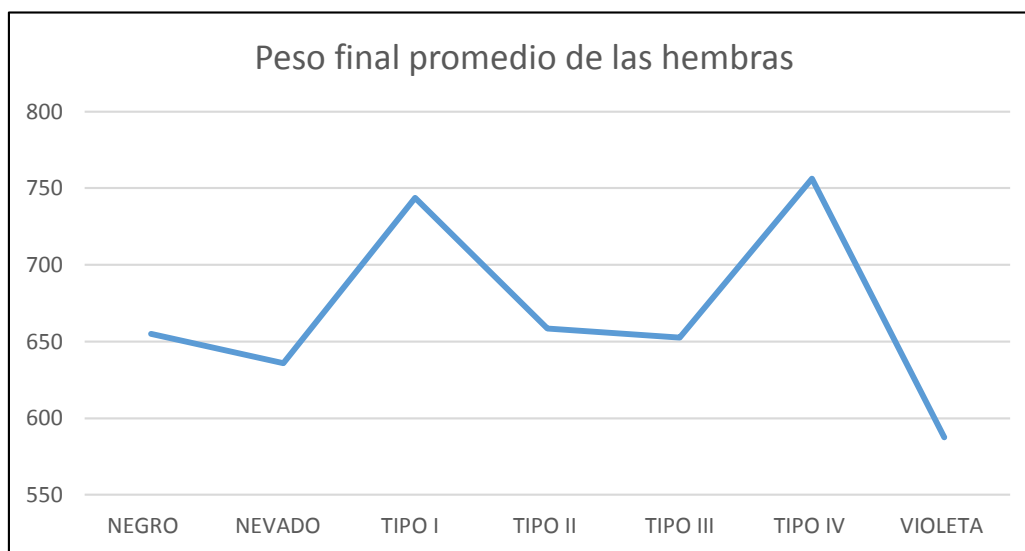


Figura 26. Peso final promedio de hembras de 7 líneas de cuyes

4.2. Análisis Organolépticos y Composición de la carne de siete líneas de cuyes

4.2.1. Fase Visual

Dentro de la fase visual se analizó la variable color, el cual es un aspecto muy importante al momento de comercializar el cuy.

El Cuy Tipo I es el que presentó mayor aceptación en cuanto al color en la carne, sin embargo esto se debe a que esta línea es la comercializada en la actualidad, con respecto a las líneas nativas los cuyes Tipo II y Tipo III tuvieron la mayor aceptación (Ver Figura 27).

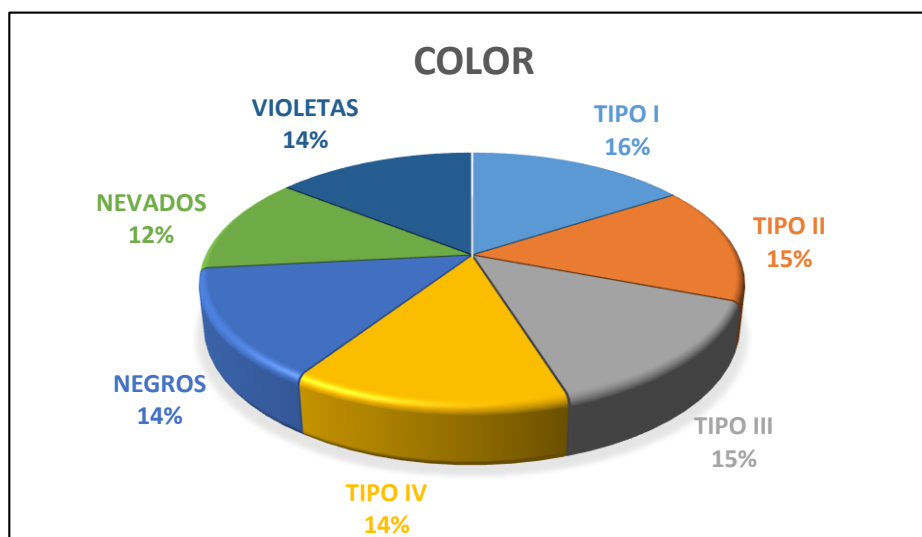


Figura 27. Porcentaje de aceptación de la variable color en la carne de cuy

4.2.2. Fase Olfativa

Al momento de comercializar el cuy un aspecto importante es el olor y dentro de este análisis el cuy Tipo I tuvo la mayor aceptación, seguido por las Líneas Negras y Tipo IV, siendo las líneas Tipo III y Nevados los de menor aceptación por los catadores (Ver Figura 28).

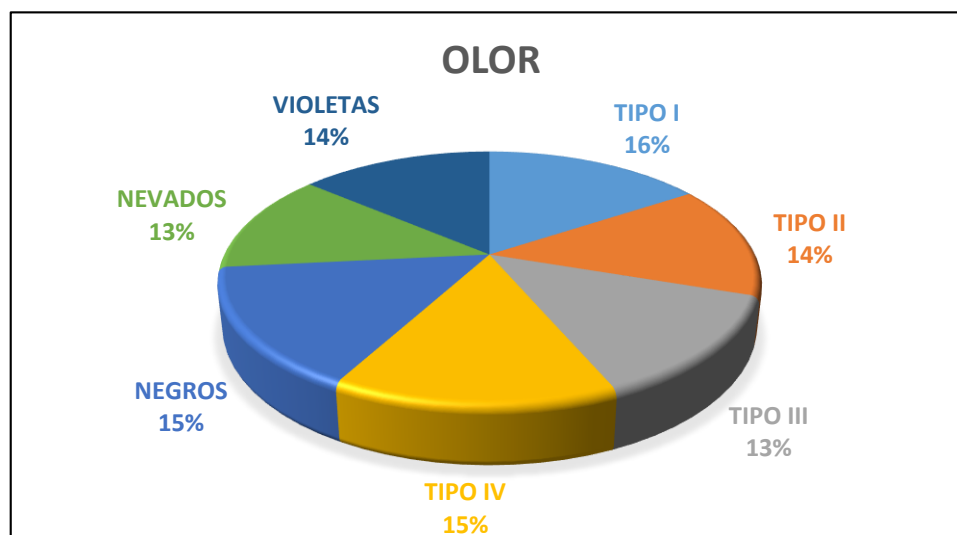


Figura 28. Porcentaje de aceptación de la variable olor en la carne de cuy

4.2.3. Fase Gustativa

Para la fase gustativa se evaluaron dos aspectos: la consistencia de la carne y el sabor de la misma, los cuales son fundamentales al momento de la venta de cuyes.

En cuanto a la consistencia de la carne las líneas con mayor aceptación por los catadores fueron: Tipo II y Tipo III, siendo los de menor aceptación las líneas: nevada, Tipo I y Tipo IV (Ver Figura 29).

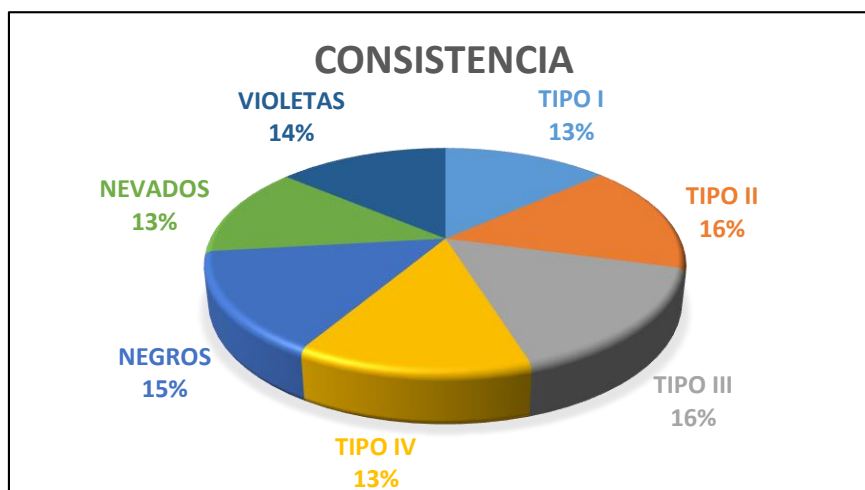


Figura 29. Porcentaje de aceptación de la variable consistencia en la carne de cuy

Para la variable sabor los de mejor aceptación fue la línea mejorada Tipo I, mientras tanto para las líneas nativas los que tuvieron mayor aceptación fueron el Tipo IV y Negros, siendo los nevados los de menor aceptación (Ver Figura 30).

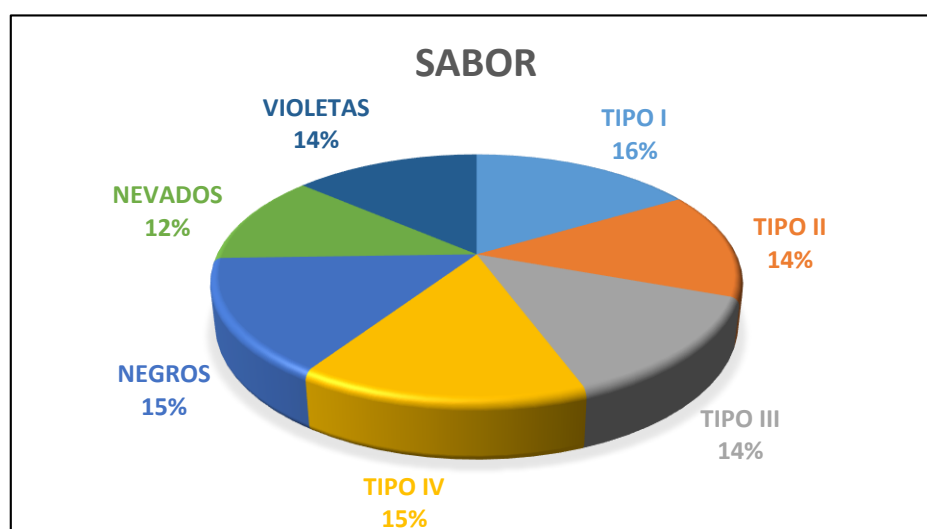


Figura 30. Porcentaje de aceptación de la variable sabor en la carne de cuy

4.2.4. Análisis General de las variables organolépticas

Se realizó un análisis multivariado de los datos obtenidos en los análisis organolépticos del producto, obteniendo dos conglomerados o grupos (1 y 2), siendo el grupo 2 los cuyes nevados y el grupo 1 el resto de líneas (Ver Figura 31). Al realizar una prueba de Hotelling al 95% de confiabilidad, se encontró que existe una diferencia significativa ($F_{203-6}=5,04$; $p=0,0001$) entre las 7 líneas del estudio, así la línea (Nevados) presentó menor valor promedio entre todas las variables (3,18), con respecto al promedio del resto de líneas, por lo que se puede decir que los cuyes Nevados fueron los menos aceptados por los catadores (Ver Tabla 13).

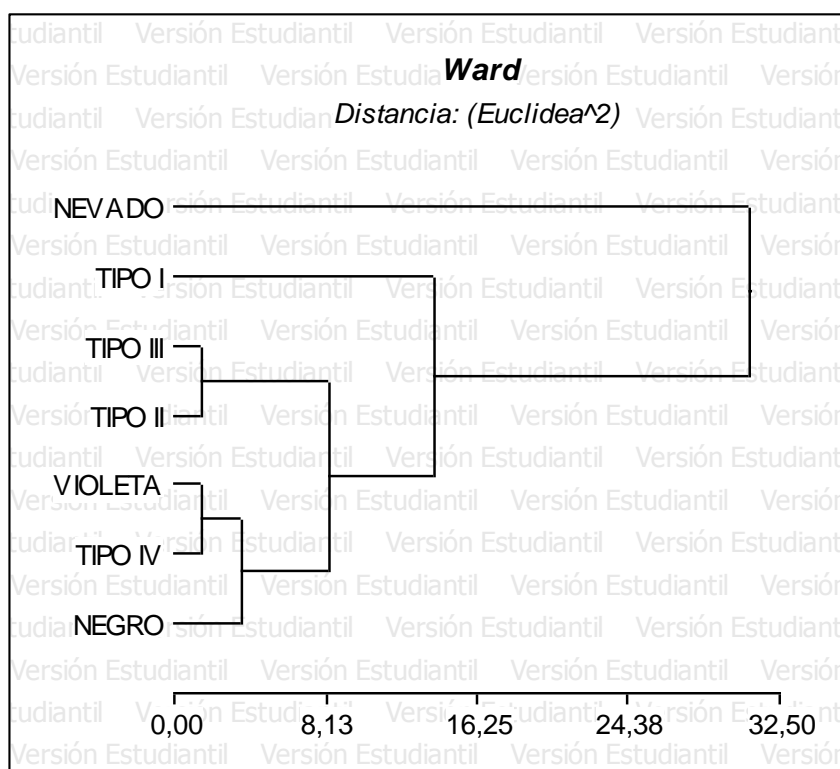


Figura 31. Análisis de conglomerados de Ward

En la tabla 13, muestra la clasificación mediante una prueba de Duncan para la aceptación sensorial de la carne de cuy, mostrando que el cuy nevado es el menos palatable para el panel de catadores teniendo una media de 3.18 sobre 5 puntos, y el cuy tipo I con 3.95, el cuy negro y

tipo II fueron las líneas criollas con mayor aceptación para el panel de consumidores teniendo una media de 3.78 y 3.77 respectivamente.

Estos valores son similares a los reportados por Jaramillo (2011), en donde muestra valores de 4.1 para carne de cuy fresca y 4.3 para carne de cuy ahumada.

En el año 2014 Guevara, reporta medias de 2.91 para cuyes mejorados con una inclusión de harina de pajuro del 2%, siendo menores a los reportados en este estudio.

Tabla 13

Promedio ± error estándar de los análisis organolépticos de la carne de cuy de 7 líneas nativas

Tratamiento	Medias	E.E.			
Nevado	3,18	0,11	A		
Violeta	3,56	0,11		B	
Tipo III	3,65	0,11		B	C
Tipo IV	3,65	0,11		B	C
Tipo II	3,77	0,11		B	C
Negro	3,78	0,11		B	C
Tipo I	3,95	0,11			C

Autor: Buitrón. D, 2019

4.2.5. Composición de la Carne de Siete Líneas de Cuyes

La tabla 14, revela los resultados de los análisis fisicoquímicos realizados en la carne de cuy de las 7 diferentes líneas de cuy evaluados.

Los cuyes negros presentaron el mayor porcentaje de proteína superior al cuy tipo I con 21.18%, para el calcio el cuy tipo II presentó un contenido de 1.71g, para el hierro el tipo I presentó el mayor contenido con 0.05g, fósforo, el tipo II con 0.84 g, y para aceites y grasas los cuyes nevados con un valor de 13.89g, todos estos valores están reportados sobre 100g de carne.

Presenta a la línea de cuy negro y tipo III como los valores más altos en contenido de proteína.

Para Flores en el año 2016, reporta un valor de carne de cuy peruano mejorado de 17.78% siendo similar al presentado en la tabla 26, así como un contenido de grasa de 8.56% siendo

menor al reportado sin embargo la dieta suministrada puede influir en esta variable como reporta Chauca, (2008)

Para el año 2018 Higaonna, reporta los valores de minerales para calcio 13.56mg, fosforo 89.60mg y hierro 1.18mg, siendo estos valores menores a los reportados en este estudio tanto para la línea de cuy mejorada como para los cuyes nativos.

Mientras que Flores en el 2016, concluye que las líneas nativas presentan el mayor contenido de proteína siendo similar a los resultados expuestos en esta investigación donde los cuyes negros presentaron el mayor valor de 21.18%.

Guerrero en el año 2008, reporta un contenido de proteína de 20.3% para cuyes alimentados con alfalfa, siendo similares a los valores de cuyes nativos con una dieta mixta de raygrass-alfalfa, así mismo el autor concluye que el nivel de grasa y aceites depende de la dieta suministrada y la edad de saque de este.

En cuanto a otras especies como la carne de pollo que es la más consumida a nivel mundial, Codony para el 2011, reporta un valor para la pechuga de pollo de 21.2%, de calcio 5mg y fosforo 210mg siendo estos valores similares a los reportados en líneas nativas tipo III y IV.

Tabla 14

Composición de la carne de cuy de 7 líneas nativas de cuy

Tratamiento	Proteína g/100g	Calcio g/100g	Hierro g/100g	Fosforo g/100g	Aceites y grasas g/100g
Tipo I	17,31	0,81	0,05	0,48	13,69
Tipo II	18,98	1,71	0,04	0,84	11,77
Tipo III	20,94	0,9	0,04	0,53	11,4
Tipo IV	20,72	0,14	0,04	0,53	13,71
Negros	21,18	0,42	0,04	0,39	12,02
Nevados	17,23	0,24	0,04	0,17	13,89
Violetas	17,67	0,77	0,04	0,51	11,02

Autor: Buitrón. D, 2019

4.3. Análisis Moleculares

4.3.1. Colecta de Material Biológico

En esta investigación se analizaron 88 muestras pertenecientes a 7 líneas de cuyes; 6 fueron nativas (Tipo II, Tipo III, Tipo IV, Negro, Nevados y Violetas) y 1 pertenece a la línea mejorada Tipo I.

4.3.2. Caracterización Molecular

4.3.2.1. Extracción y cuantificación de ADN

La cuantificación de ADN en geles de agarosa de los diferentes materiales de estudio, presentó bandas definidas en la mayoría de los casos, a pesar que algunas muestras no presentan bandas al momento de realizar las amplificaciones, estos tiene muy buenos resultados (Figura 32), con el fin de verificar la información obtenida en geles de agarosa, se realizó la cuantificación en el espectrofotómetro EPOCH, obteniendo una media de 31,26ng/ul y un índice de pureza de 1.6, las concentraciones obtenidas se encuentran en el Anexo H.

(Buitrón, 2015), en su estudio reporta valores de 116,5 ng/ul y un índice de pureza de 1.9, estos valores fueron obtenidos a través de la extracción de ADN de cortes de oreja del animal, siendo mayores a los reportados en este estudio, que se debe al tipo de material para la extracción de ADN.

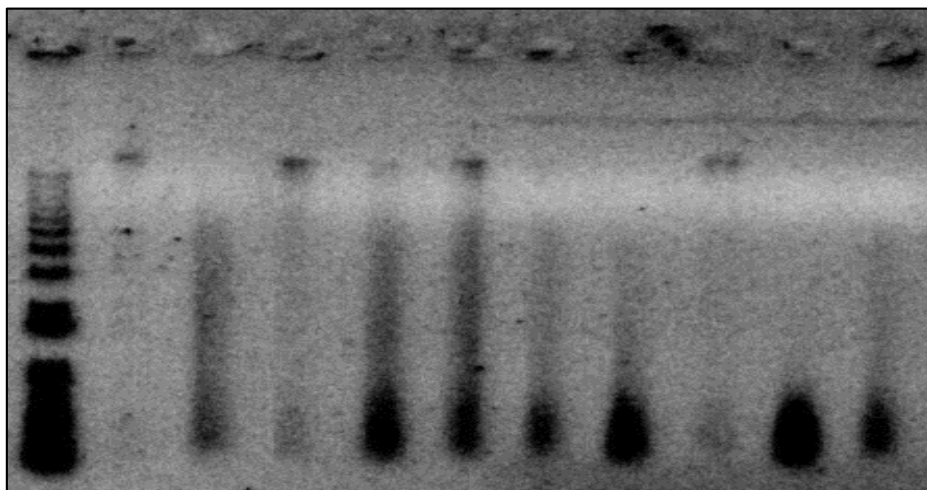


Figura 32. Cuantificación de ADN genómico de cuy en geles de agarosa al 0,8% (Carril Inicial: marcador de peso molecular Low Mass –Ladder, carril 2 al 11: ADN Genómico de muestras de cuy).

4.3.2.2. Validación de ADN con el primer MS V

La validación se realizó con el primer MS V con el cual se obtuvo bandas de ADN bien definidas en los geles de Agarosa al 2%. En la Figura 33 se presenta la validación de algunas muestras.

La utilización de este marcador para la validación de ADN, se debió a su alto índice polimórfico de 0,73 presentado en el estudio de (Buitrón, 2015).

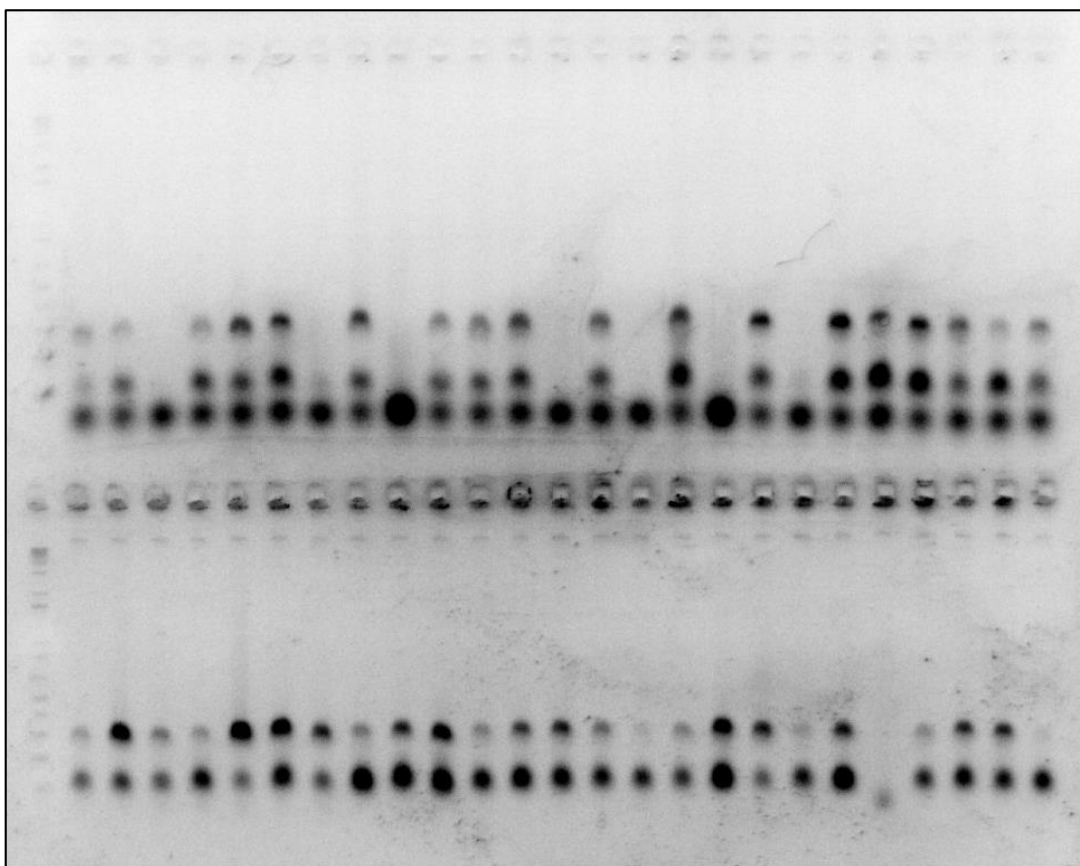


Figura 33. Muestras de ADN de Cuy validado, amplificadas con el primer MS V, en geles de agarosa al 2% (Carril inicial: marcador 100Kb).

4.3.2.3. Pruebas de amplificación en monoplex de SSR con la técnica M13 “Tailing” para el analizador LI-COR 4300

Con los 25 primers microsatélites reportados por (Aviles, 2015), (Kanitz, 2009) se realizaron pruebas de amplificación con 7 muestras de cuy (CP-01; CP-11; CP-21; CP-31; CP-41; CP-51; CP-61). Utilizando el protocolo detallado en la Tabla 8 del Capítulo 3, de los cuales se seleccionaron 12 primer los cuales mostraron ser mayormente polimórficos, el criterio que se utilizó para la selección de los primers fue la obtención de un patrón de bandeo claro. En general los 25 primers amplificaron en el tamaño esperado. En la (Figura 34) se muestra las amplificaciones obtenidas de los primers utilizados.

Se utilizaron 12 microsatélites dinucleótidos, 8 tomados de Avilés (2015) y 4 de microsatélites de obtenidos de Kanitz et al. (2009) y Asher et al. (2008)

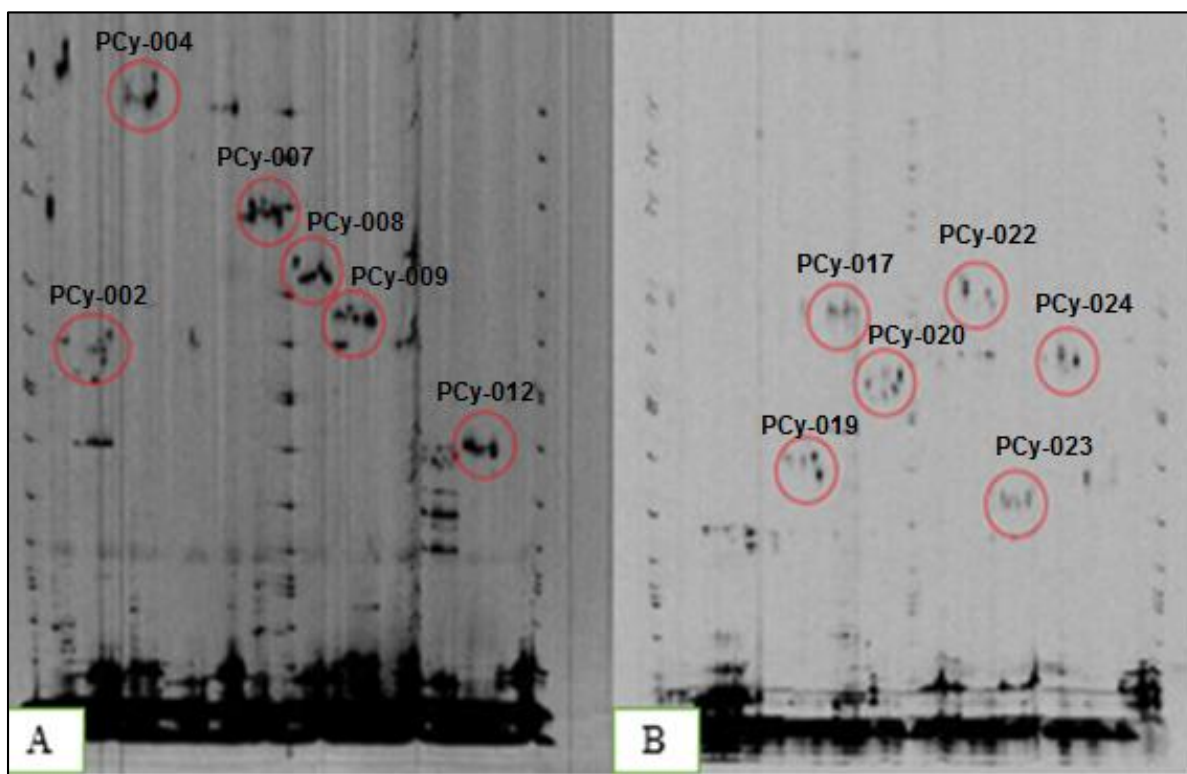


Figura 34. Productos de amplificación de 25 primers de cuy amplificados en 700 y 800nm.
A) Muestra la estandarización en 700 nm y B) la estandarización en 800nm.

Se evaluaron pruebas monoplex de 12 primers seleccionados, mediante las cuales se comprobó que todos los loci amplificaban el tamaño esperado, a la vez se determinó la longitud de onda (700 u 800nm) en que mejor se visualizaba los productos amplificados. Los resultados del monoplexaje se detallan en la Tabla 15

Tabla 15
Monoplex de primers SSRs estandarizados para el LI-COR

Primers	Tamaño (pb)	Marcaje IRDye	Temperatura Final (°C)
PCy-002	236	700	55°C
PCy-004	367	700	55°C
PCy-007	273	700	55°C
PCy-008	258	800	55°C
PCy-009	228	800	55°C
PCy-012	162	700	55°C
PCy-017	242	800	55°C
PCy-019	154	700	55°C
PCy-020	210	800	55°C
PCy-022	248	800	55°C
PCy-023	164	800	55°C
PCy-024	225	700	55°C

Autor: Buitrón. D, 2019

4.3.2.4. Genotipaje de materiales biológicos de cuy (*Cavia porcellus*)

Con la selección de los 12 primers y temperaturas óptimas se efectuaron las corridas electroforéticas con las 88 muestras de ADN de cuy de acuerdo a un orden determinado en el DNA Analyzer LI-COR 4300s, para proseguir con el scoring de las muestras en el software SAGA^{GT} Microsatelite versión 3.3.

En las Figuras 35, 36 y 37 se observan los patrones de bandas para los 12 loci microsatélites amplificados, en los cuales se pueden distinguir dos alelos por locus y en pocos casos más de dos alelos (Ver figura 37), los cuales fueron descartados, ya que, no se encontró un criterio para seleccionar solo dos alelos.

Para todos los loci microsatélites que se presentan en la Figura 35, se puede apreciar la presencia de una sola banda (Individuos homocigotos), o de dos bandas de diferentes tamaños (Individuos heterocigotos). En general, todos los microsatélites tienen una buena amplificación y diversos alelos, siendo el locus más informativo o polimórficos es PCy-022 (Ver Figura 37).

En el caso de las muestras no amplificadas o GAPS, se realizó una nueva amplificación, con los datos obtenidos se llenó la matriz de genotipaje (Anexo J), una vez terminada la matriz se descartaron los microsátélites que obtuvieron más del 10% de GAPS, PCy-002 y PCy-004, con un 58% y 15% respectivamente.

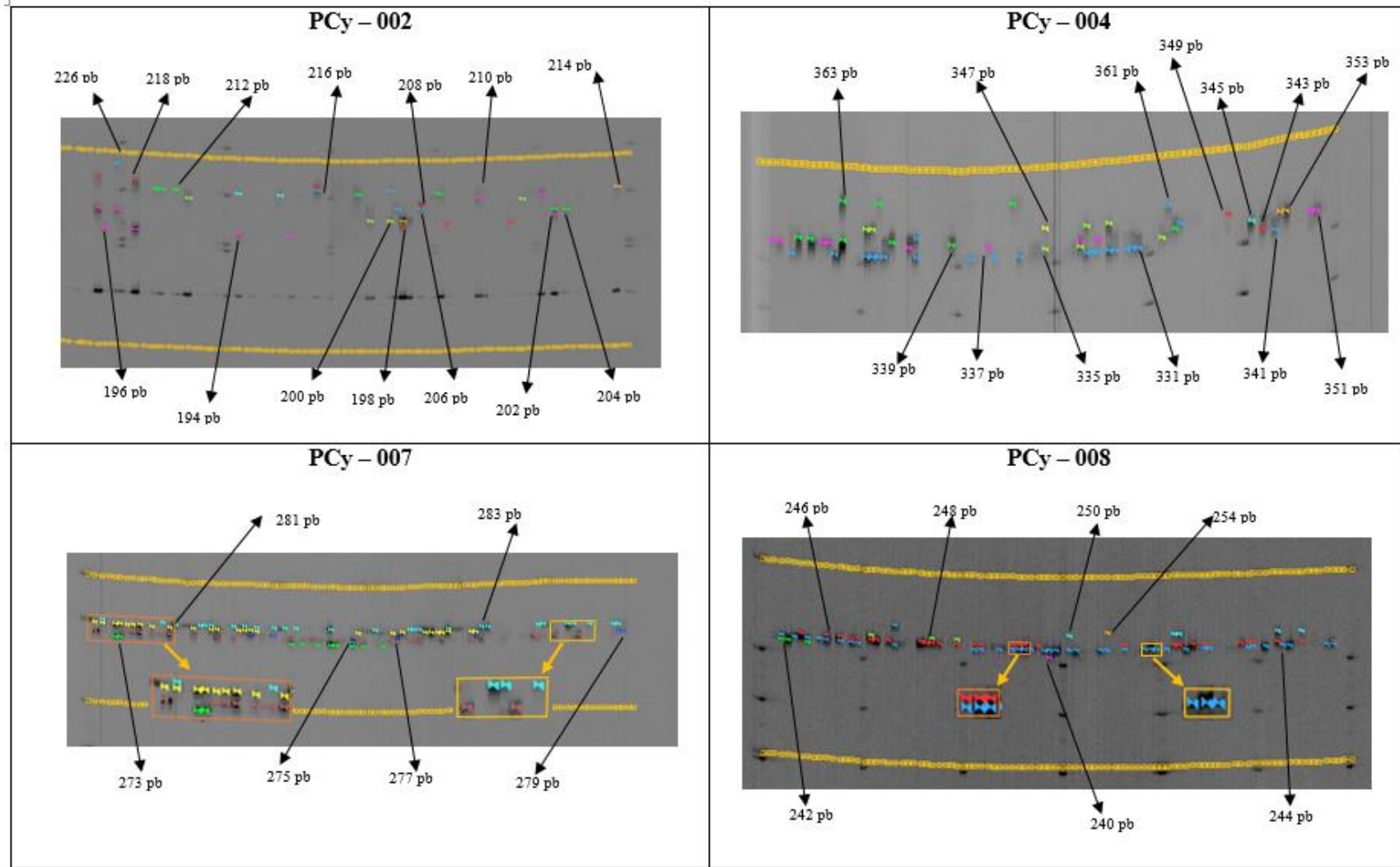


Figura 35. Imágenes de los geles obtenidos en LI-COR que indican los alelos de los monoplex PCy-002, PCy-004, PCy-007, PCy-008.

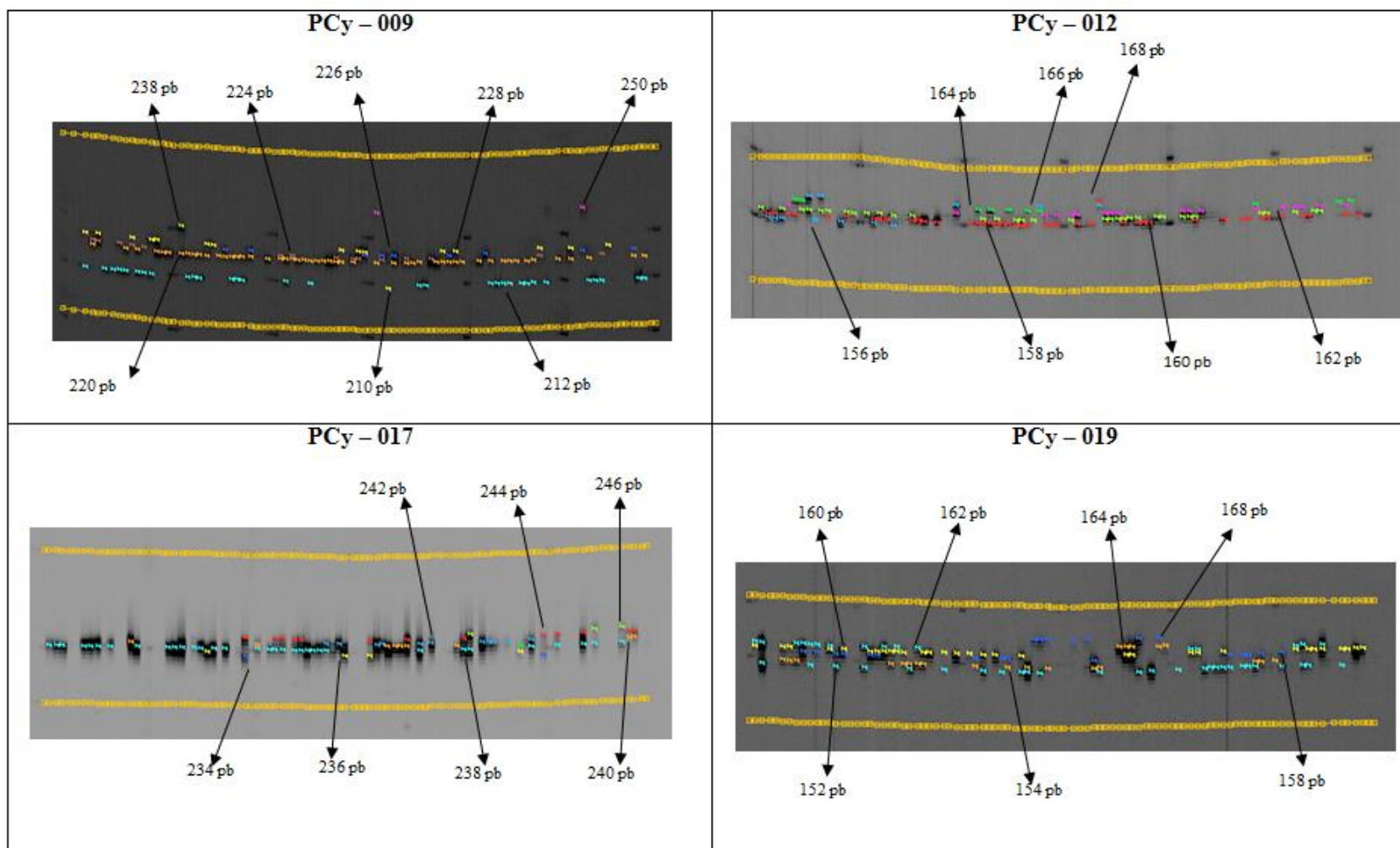


Figura 36. Imágenes de los gels obtenidos en LI-COR que indican los alelos de los monoplex PCy-009, PCy-012, PCy-017, PCy-019.

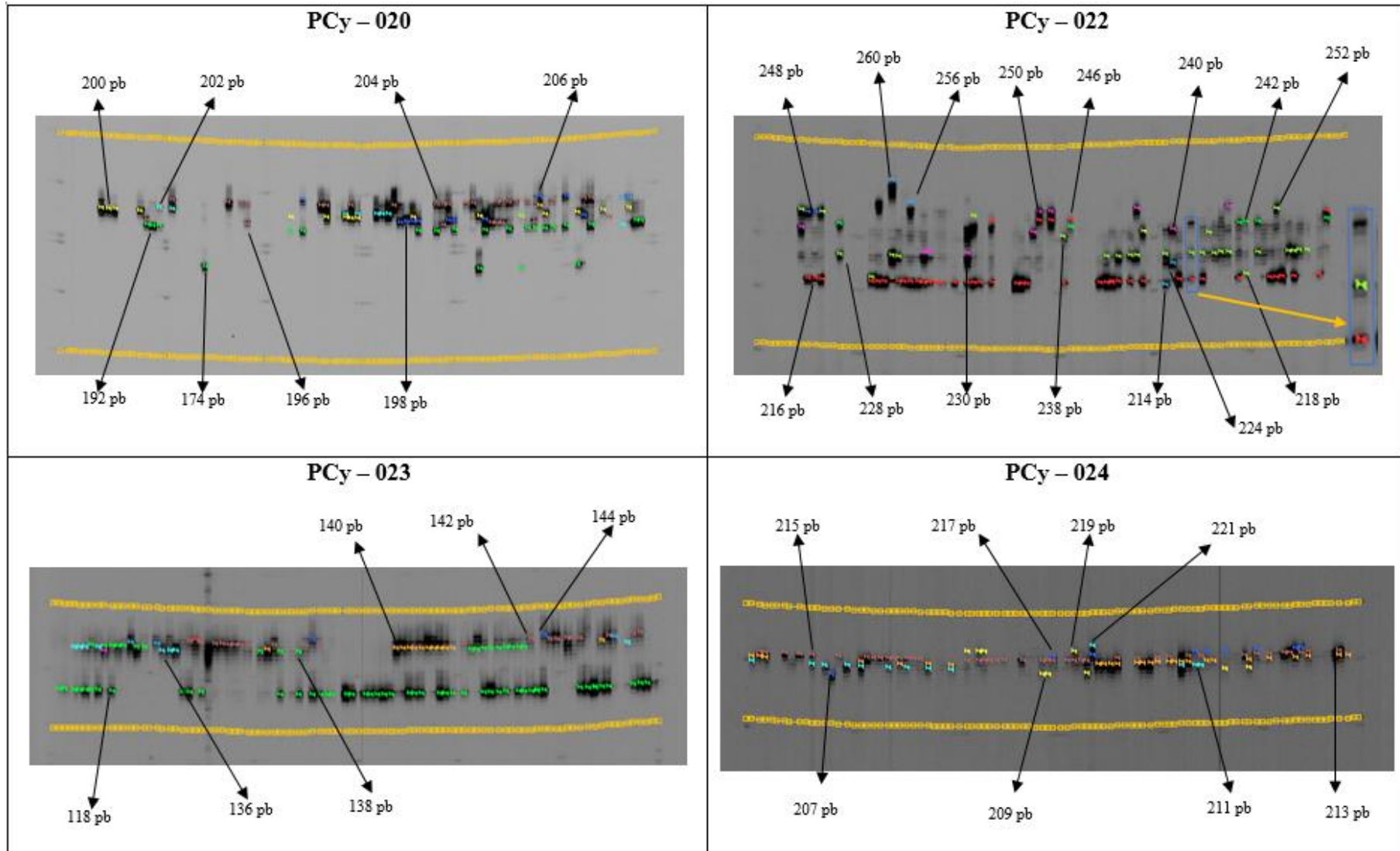


Figura 37. Imágenes de los geles obtenido en el LI-COR que indican los alelos de los monoplex PCy-0020, PCy-022, PCy-023, PCy-024

4.3.2.5. Análisis Estadístico

Para la matriz de genotipaje final se utilizó la información arrojada por el software SAGA^{GT}, a partir de los 12 loci microsatélites (Anexo J), el cual es proporcional el tamaño de alelo para cada material, a estos se restó 19 pb pertenecientes a la cola del M13, colocada en el primer para poder unirse al marcaje de fluorescencia del LI-COR 4300s. Para los análisis se utilizaron 10 de los 12 loci microsatélites, descartándose la información de los loci PCy-002 y PCy-004 debido a la cantidad de datos faltantes.

4.3.2.5.1. Diversidad Genética del Cuy (*Cavia porcellus*)

La diversidad genética está dada por el número de alelos, frecuencia alélica, genotipos, heterocigosidad observada, heterocigosidad esperada y contenido de información polimórfica.

4.3.2.5.1.1. Número de Alelos

En la figura 38 se puede observar que los locus con mayor número de alelos es el PCy-022 con 14 alelos, mientras que los locus con menor número de alelos fue PCy-023 con 6 alelos.

Se registraron 81 alelos para 10 locus en 88 muestras de ADN de cuy con un promedio de 8,1 alelos/locus.

En el estudio se mostró un alto nivel de polimorfismo para todos los locis, siendo este un valor difieren de los reportados por Avilés en el 2016 y (Ayagirwe, y otros, 2017), en cuyes domésticos que obtuvieron un promedio de 10,8 y de 3,45 respectivamente.

En general se obtuvieron 81 alelos en 88 muestras de ADN con 10 locis teniendo un buen número con respecto a los reportados por Avilés (2015) obteniendo 215 alelos en una población 100 muestras de cuy, mientras que Ayagirwe identificó 17 alelos para 119 individuos con 12 SSRs.

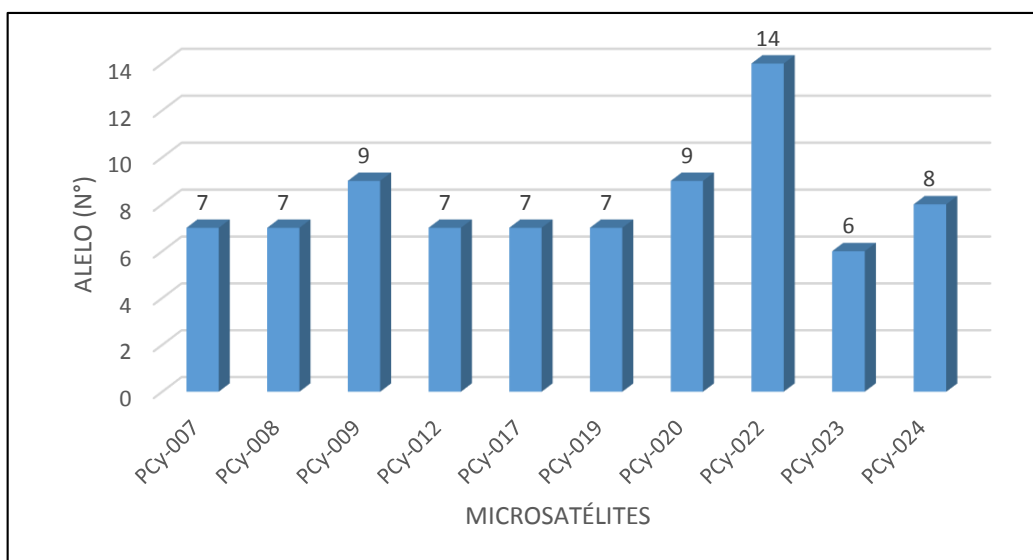


Figura 38. Número de alelos de 10 microsatélites utilizados en el genotipaje de 7 líneas de cuyes.

4.3.2.5.1.2. Frecuencias Alélicas

En la tabla a continuación se presentan los locus SSRs con sus alelos reportados por (Aviles, 2015) y (Kanitz, 2009) y frecuencia alélica.

En el cual se muestra que el alelo con mayor frecuencia pertenece al PCy-008 – 244pb con un valor de 0,5367, mientras que alelo con menor frecuencia corresponde a los locus PCy-009 – 238pb, PCy-012 – 168pb y el PCy-022 – 230pb y 260pb con un valor de 0,0050. En la tabla 16 se muestran las frecuencias alélicas por cada locus microsatélite.

En el estudio realizado en el INIAP por Buitrón en el 2015, con 5 marcadores microsatélites para 19 muestras de cuy obtuvieron un rango de longitud de 119 a 304 pares de bases lo que muestra una similitud en el presente estudio.

Tabla 16

Alelos registrados con su respectiva frecuencia para 88 materiales de cuy con 10 loci SSRs. En azul se muestran los alelos menos frecuentes y en rojo los alelos más frecuentes para cada locus SSRs

Locus	Número de Alelos	Peso Reportado* (pb)	Peso Encontrado (pb)	Frecuencia Alélica
PCy - 007	7	273	273	0,06
			275	0,0272
			277	0,3044
			279	0,1156
			281	0,2233
			283	0,2589
			289	0,0106
			240	0,0056
			242	0,085
PCy - 008	7	258	244	0,5367
			246	0,2711
			248	0,0367
			250	0,05
			254	0,015
			210	0,01
			212	0,255
			220	0,0083
			224	0,3867
PCy - 009	9	228	226	0,12
			228	0,1033
			230	0,0983
			238	0,005
			250	0,0133
			156	0,0561
			158	0,3906
PCy - 012	7	162	160	0,2928
			162	0,1467
			164	0,0833
			166	0,0256
			168	0,005

CONTINÚA



			234	0,0133
			236	0,145
			238	0,4258
PCy - 017	7	242	240	0,2003
			242	0,1111
			244	0,0739
			246	0,0306
			152	0,1944
			154	0,1417
PCy - 019	7	154	158	0,0894
			160	0,3483
			162	0,0939
			164	0,0606
			168	0,0717
			174	0,0344
			192	0,1922
			196	0,0539
PCy - 020	9	210	198	0,1022
			200	0,1556
			202	0,0661
			204	0,055
			206	0,2894
			208	0,0511
			216	0,421
			218	0,0133
			224	0,0118
			228	0,2344
			230	0,005
			238	0,0331
PCy - 022	14	248	240	0,0379
			242	0,1063
			246	0,0283
			248	0,0361
			250	0,0439
			252	0,0183
			256	0,0056
			260	0,005

CONTINÚA 

			118	0,43
			136	0,0383
PCy - 023	6	164	138	0,2283
			140	0,1533
			142	0,105
			144	0,045
			207	0,0306
			209	0,0722
			211	0,1567
PCy - 024	8	225	213	0,2567
			215	0,3739
			217	0,085
			219	0,02
			221	0,005

*Tamaño de Microsatélites de *Cavia porcellus* reportado por (Aviles, 2015) y (Kanitz, 2009).

Autor: Buitrón. D, 2019

4.3.2.5.1.3. Genotipos, Heterocigosis Observada, Heterocigosis Esperada y Contenido de Información Polimórfica

En la Tabla 17 se puede observar los principales parámetros de diversidad genética observada en 88 materiales de cuyes, por cada locus.

Para el número genotipos, el locus que presentó mayor número fueron PCy-020 y PCy-022 con 27 genotipos, mientras que el PCy-008 obtuvo el menor número con 13 genotipos.

Otro parámetro importante determinado fue la heterocigosidad esperada (HE) obteniendo como el valor más alto al locus PCy-020 con un valor 0,83 una media de 0,75 y como el valor más bajo perteneciente al locus PCy-008 con un valor de 0,64. Por otro lado el locus PCy-020 fue el que presentó el mayor número de individuos heterocigotos con un valor de 0,71, representado con la Variable de Heterocigosis Observada, además de obtener una media de 0,59 como valor de esta variable.

Por último, el contenido de información del polimorfismo o PIC, presentó su valor más alto para el locus PCy-020 con un valor de 0,81, considerándolo uno de los más polimórficos a diferencia del locus PCy-008 que con un valor de 0,59 considerándolo el marcador menos

informativo, sin embargo el promedio presentado para todos los locus de 0,71 nos da una muy buena información para el estudio Ver tabla 30

En el 2009, Kanitz reporta para HE como valor promedio 0,611 siendo inferior a 0,75, mientras que la Ho de este trabajo (0,59), es inferior al Ho (0,611) del mismo autor y aunque Kanitz no reporta valores de PIC su valor fue reportado por Kouakuo et al. (2015) con un valor de 0,622 siendo este valor inferior al obtenido por Avilés (2015) con un valor de 0,713 similar al de este trabajo.

Tabla 17
Parámetros de diversidad genética de los 88 materiales de cuy amplificadas

Marcador	Mayor Frecuencia Alélica	Número de Genotipos	Disponibilidad	Heterocigosis Esperada	Heterocigosis Observada	PIC
PCy-007	0,30	19	0,95	0,78	0,64	0,74
PCy-008	0,52	13	0,97	0,64	0,42	0,59
PCy-009	0,41	19	1,00	0,74	0,61	0,70
PCy-012	0,38	17	0,95	0,73	0,64	0,69
PCy-017	0,45	14	0,97	0,73	0,29	0,69
PCy-019	0,33	21	0,94	0,80	0,70	0,78
PCy-020	0,30	27	0,98	0,83	0,71	0,81
PCy-022	0,43	27	0,94	0,75	0,67	0,72
PCy-023	0,42	16	1,00	0,72	0,60	0,68
PCy-024	0,37	21	0,95	0,76	0,57	0,73
Promedio	0,39	19,40	0,97	0,75	0,59	0,71

Autor: Buitrón. D, 2019

4.3.2.5.2. Estructura Genética

4.3.2.5.3. Análisis de agrupamiento

Para el análisis de agrupamiento genético se utilizó el método NJ (*Neighbour joining*), llegando a un árbol consenso a partir de la utilización 1000 repeticiones de bootstrap para evaluar la validez y fiabilidad de la topografía del árbol.

En la figura 39, el árbol muestra la relación existente entre las líneas de cuyes, en el cual se puede visualizar que las líneas Rosario y San Luis, Violetas y Nevados y Tipo II y Tipo III son las que tienen una relación más estrecha filogénicamente, un poco más alejadas se encuentran las líneas Auqui, Negros y Tipo IV y finalmente alejándose claramente la Tipo I.

Avilés en el 2016, obtuvo resultados similares en el momento de los análisis de agrupamiento incluso aplicado un método diferente como es el UPGMA, en su estudio se muestra una clara separación entre las líneas mejoradas y las nativas.

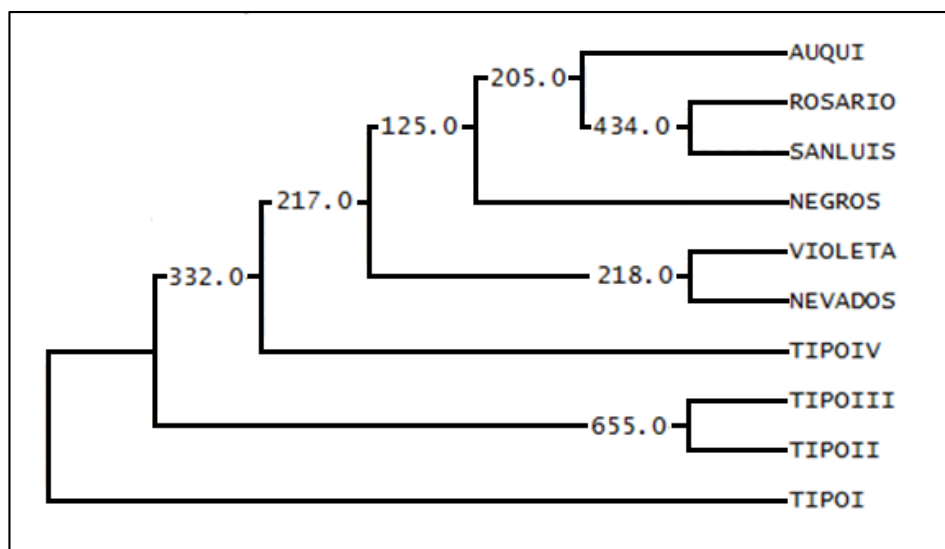


Figura 39. Dendrograma de líneas de cuyes construido con el método Neighbour joining

4.3.2.5.4. Árbol de distancias entre Individuos

En la figura 40 se muestra el árbol consenso de 100 repeticiones de distancia de individuos DSA construido a partir del método neighbor - joining, con 6 líneas nativas (Tipo II, Tipo III, Tipo IV, Negro, Nevado y Violeta) y 4 líneas comerciales (Tipo I, Auqui, San Luis y Rosario), en la figura no se observa ningún tipo de agrupamiento.

Al igual que en el presente estudio varios investigadores que han realizado este tipo de análisis han reportado que no existe una formación fuerte de grupos (Spotorno, Valladares, Marín, & Zeballos, 2004) y (Burgos - Paz, Cerón-Muñoz, & Solarte-Portilla, 2011)

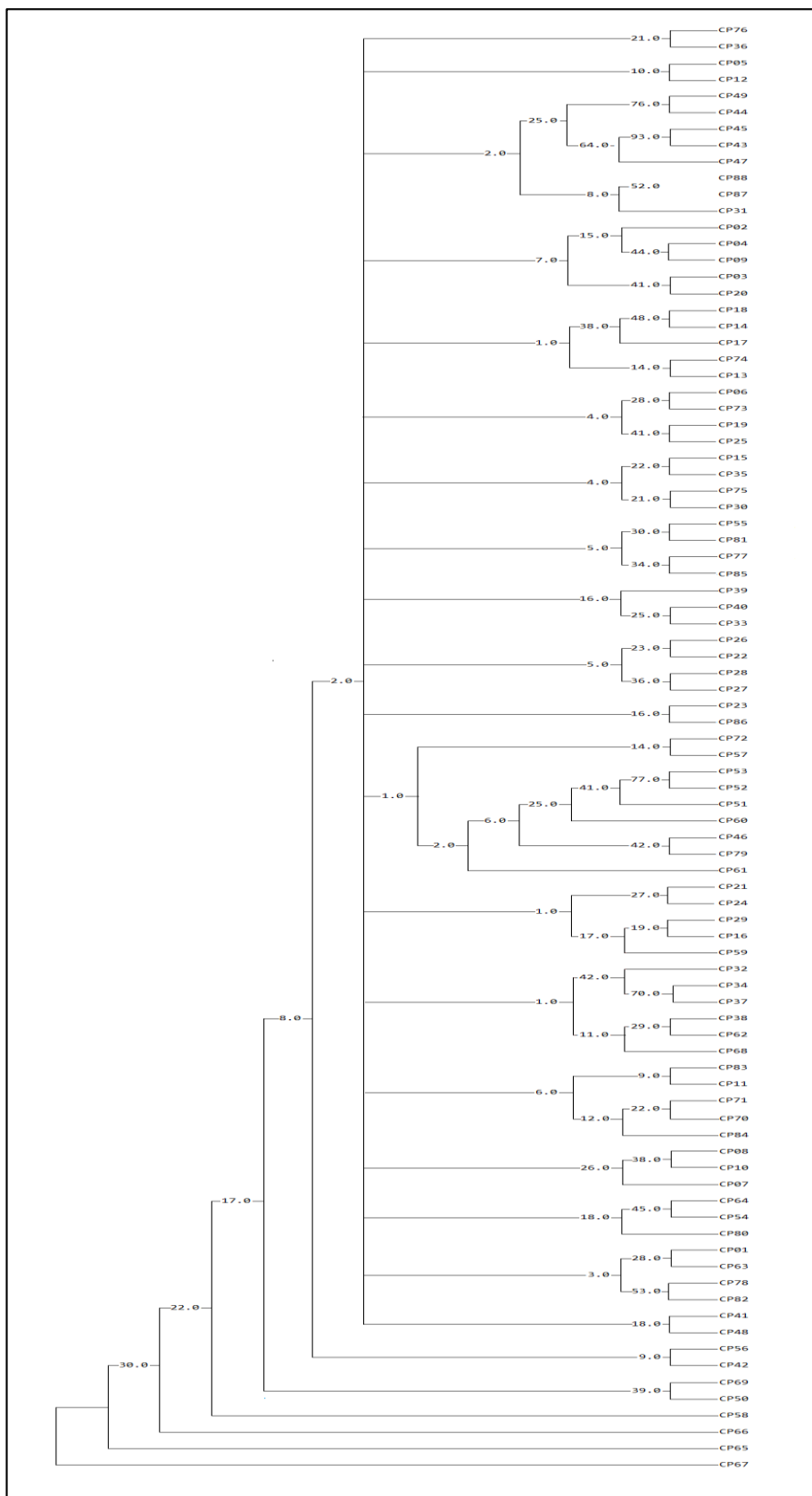


Figura 40. Árbol de distancias individuales construido con el método de Neighbor - Joining

4.3.2.5.5. Análisis de datos multivariados

En las Figuras 41 muestra el análisis factorial en dos y tres dimensiones con 10 poblaciones de cuyes, en el cual se observa el agrupamiento de 10 líneas en el centro, sin embargo se puede apreciar un alejamiento de las líneas Tipo I y Tipo IV y una relación más estrecha entre los cuyes tipo III y negros, finalmente se observa una mayor dispersión de la línea violeta. A demás se puede notar una tendencia de separación de las líneas Tipo I y Tipo IV

Buitrón (2015), refleja resultados diferentes en ese caso se formaron claramente dos clusters, en el cual en el agrupamiento menor se encontraban 4 de las muestras de los individuos mientras que en la agrupamiento más grande estaba representado por las 15 muestras faltantes.

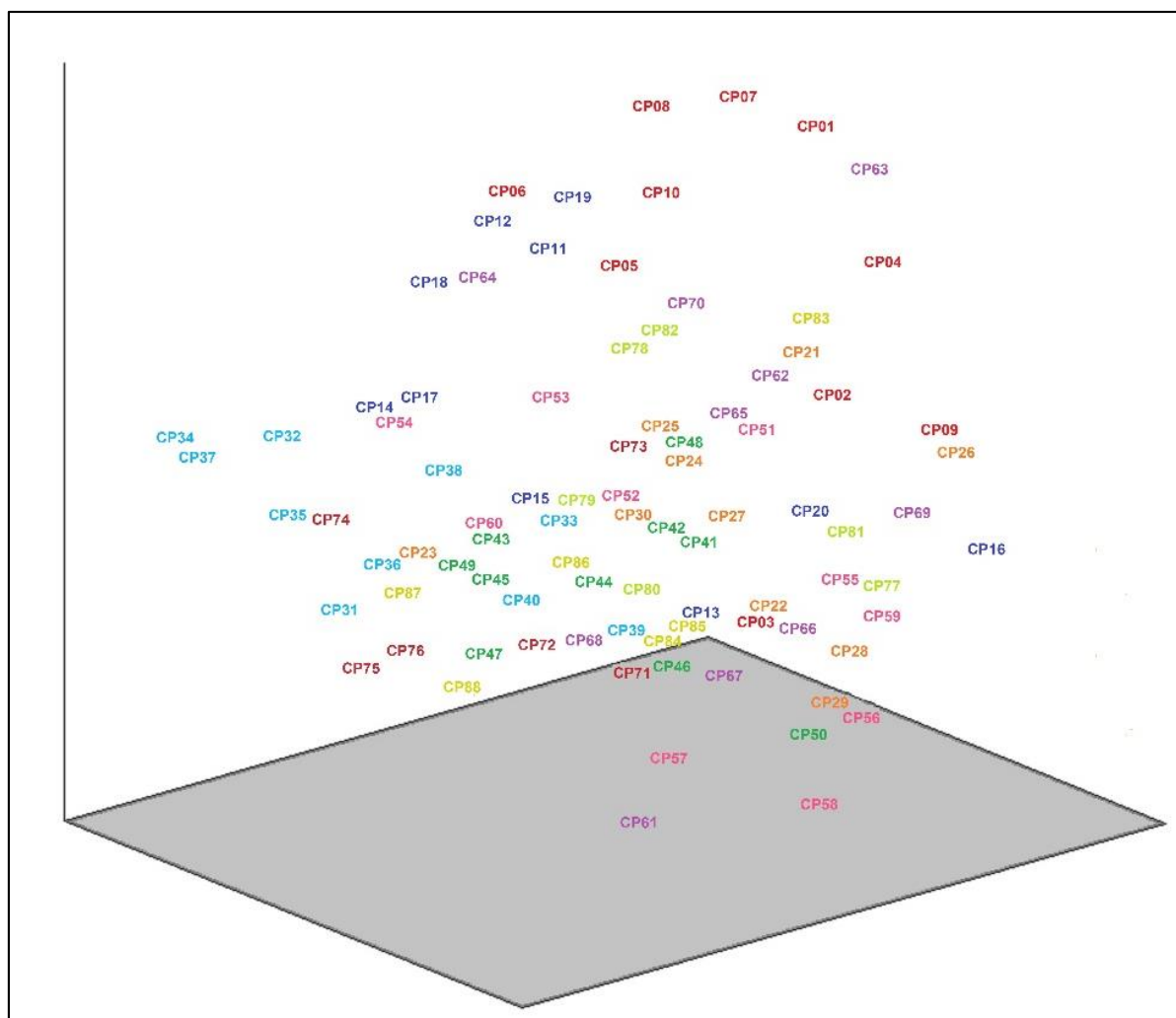


Figura 41. PCoA obtenido con el coeficiente de similitud SM, que indica la agrupación de 88 materiales en 3 coordenadas

4.3.2.6. Análisis Global

4.3.2.6.1. Análisis de coordenadas principales (PCoA)

En la figura 42 se presenta el análisis de coordenadas principales global, de lo materiales obtenidos en las instalaciones de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I, donde se puede observar que se forma un pool genético en el cual se muestra una alta diversidad genética, además se observa una clara separación entre las líneas nevada y tipo II.

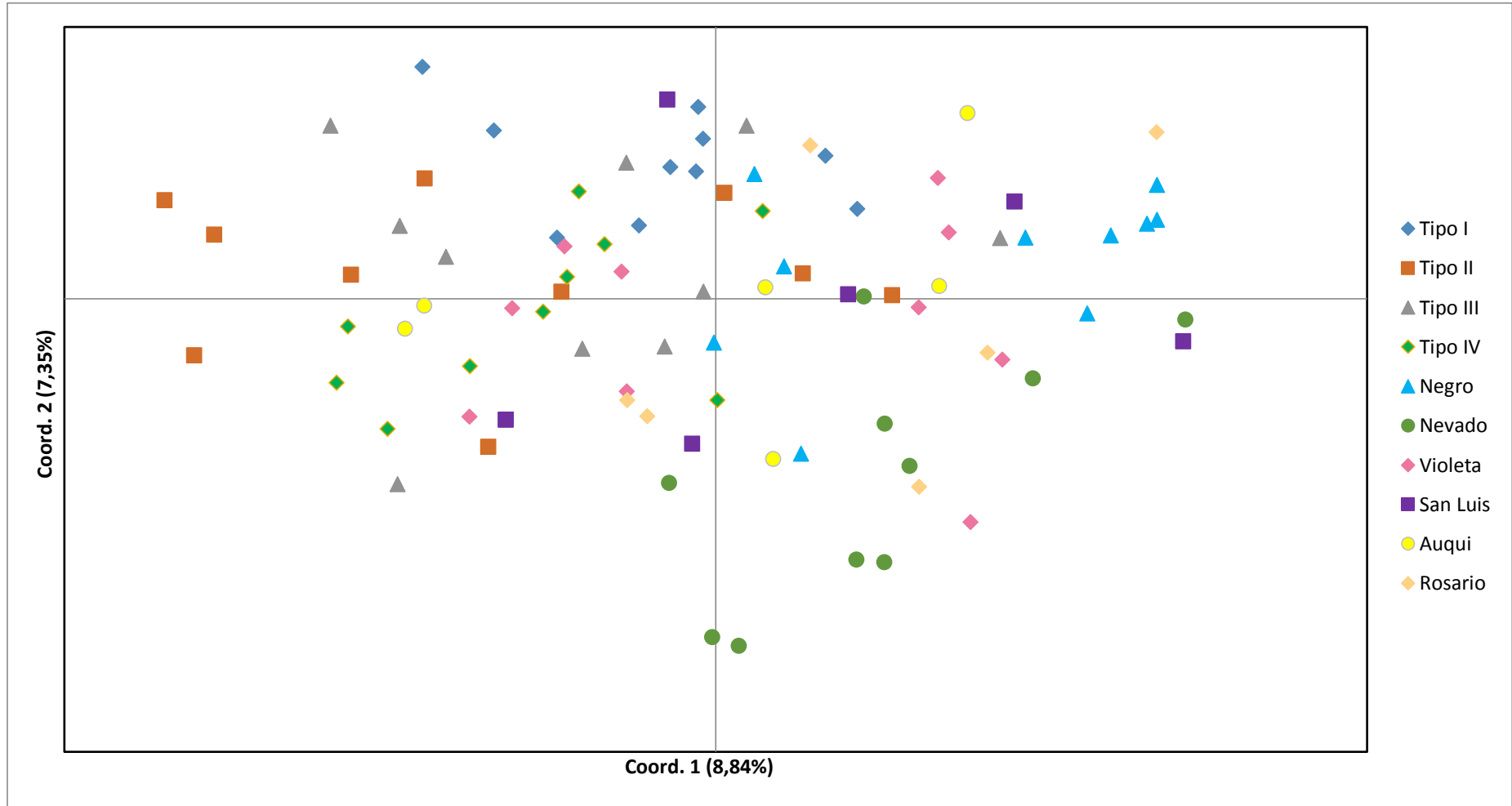


Figura 42. Análisis de conglomerados por línea

4.3.2.6.2. Análisis molecular de varianza (AMOVA) y Estadística F

El análisis molecular de varianza muestra diferenciación genética de todos los materiales de cuyes. El número de individuos es 88, el número de líneas es 10 (Tipo I, Tipo II, Tipo III, Tipo IV, Negro, Nevado, Violeta, Auqui, San Luis y Rosario) y el número de regiones es 1. Los cálculos se realizaron con un número de permutaciones de 999.

Los datos obtenidos del AMOVA se resumen en la tabla 18 mostrando una diferencia del 16% procedente de las diferencias líneas y el 84% de la variación observada entre individuos y un índice de fijación F_{ST} de 0,159 (Figura 43).

En el 2016, Avilés muestra valores superiores del porcentaje de variación observado entre individuos con el 92%, mientras que para la relación entre grupos su valor fue inferior con un 7,68% y un índice de fijación de 0,1766, sin embargo en los dos estudios se puede observar que la mayor diferencia existe entre los individuos.

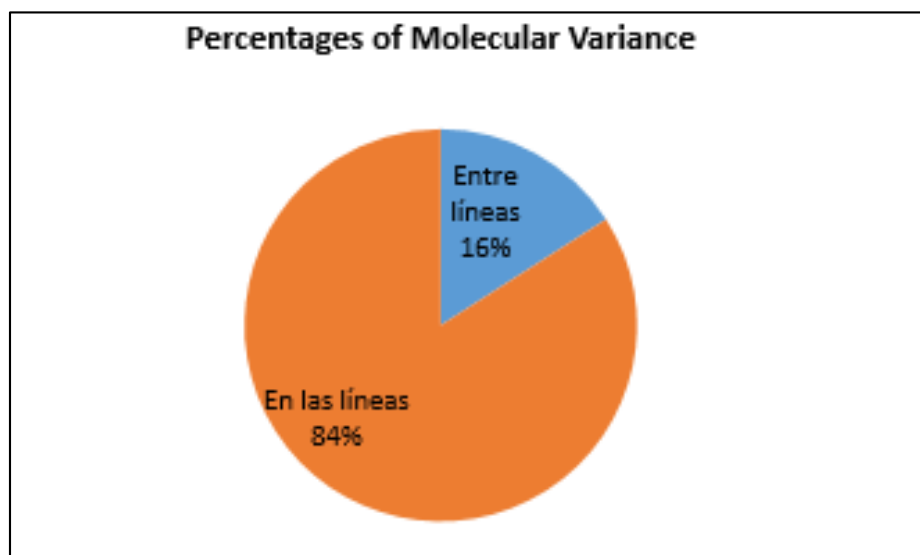


Figura 43. Porcentajes obtenidos del AMOVA

Tabla 18*Resumen del análisis molecular de varianza*

Origen	g.l	Suma de Cuadrados	Componentes de la Varianza	Est. Var.	% de Variación Genética
Entre líneas	9	198,230	22,026	1,569	16%
En las líneas	78	646,133	8,284	8,284	84%
Total	87	844,364		9,853	100%

Autor: Buitrón. D, 2019

4.3.2.6.3. Distancia Genética de Nei

La mayor similitud se observó para las líneas Tipo II y Tipo III con una distancia de Nei de 0,34, mientras la mayor diferencia es para las líneas Tipo II y Negros; Tipo I y Rosario con una distancia de 0,56 (Ver Tabla 19).

En Camerún para el año 2017, existen reportes de una diferencia genética pequeña que va de 0,008 a 0,277, siendo valores diferentes a los obtenidos en este trabajo, así mismo en Colombia para el 2011 Burgos - Paz mostró valores que oscilan entre 0,0474 y 0,171.

Tabla 19*Cálculos de distancias de Nei entre las diez líneas de cuy*

	Auq	Neg	Nev	Ros	Sl	Tip I	Tip II	Tip III	Tip IV	Vio
Auq	0,00									
Neg	0,47	0,00								
Nev	0,44	0,52	0,00							
Ros	0,42	0,54	0,49	0,00						
Sl	0,39	0,46	0,49	0,39	0,00					
Tip I	0,46	0,49	0,47	0,56	0,53	0,00				
Tip II	0,42	0,56	0,51	0,49	0,44	0,41	0,00			
Tip III	0,40	0,54	0,46	0,46	0,46	0,45	0,34	0,00		
Tip IV	0,43	0,47	0,50	0,49	0,37	0,47	0,41	0,43	0,00	
Vio	0,39	0,53	0,43	0,44	0,48	0,48	0,45	0,40	0,47	0,00

Autor: Buitrón. D, 2019

4.3.2.6.4. Identificación de duplicados.

A partir del análisis de agrupamiento se pueden comparar las 88 muestras de ADN, en pares entre todos los individuos en lo cual que algunos materiales comparten un alto porcentaje de alelos, lo que nos indica que estos individuos poseen una alta identidad molecular esto se puede

observar entre las muestras CP34 y CP37 siendo los dos de la misma línea (Tipo IV), los cuales comparte un 90% de sus alelos, no obstante, la distribución alélica de estos poseen, puede ser completamente diferente. En la tabla 20 se muestran los individuos que tienen una identidad molecular hasta el 25%, mostrando que en la comparación los individuos pertenecen a la misma línea genética

Tabla 20
Individuos con alta identidad molecular

Muestra 1	Muestra 2	Porcentaje	No. Alelos	No. Matched
CP34	CP37	90,00%	20	18
CP43	CP45	85,00%	20	17
CP52	CP53	85,00%	20	17
CP54	CP64	85,00%	20	17
CP32	CP37	80,00%	20	16
CP52	CP60	80,00%	20	16
CP44	CP49	77,78%	18	14
CP08	CP01	75,00%	20	15
CP04	CP08	75,00%	20	15
CP29	CP25	75,00%	20	15
CP25	CP27	75,00%	20	15
CP32	CP34	75,00%	20	15
CP54	CP60	75,00%	20	15

Autor: Buitrón. D, 2019

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- La línea nativa con mejores resultados zootécnicos presentó el cuy tipo IV con un peso de las madres al destete en los dos partos de 1433.33g y 1616.67g respectivamente así como la ganancia de peso de las crías tanto para machos y hembras a la 8va semana con peso de 828.57gr para machos en el segundo parto y para hembras de 790g.
- La línea nevada presentó el mejor peso de la camada al nacimiento en los dos partos con pesos de 437.5g y 580 g respectivamente. Para la variable peso al destete de igual forma en el segundo parto la línea nevada presentó un peso de camada 970g, siendo superior a las otras líneas nativas y a la mejorada.
- Para la variable olfativa reflejó que los catadores prefirieron el cuy tipo IV y el negro. Para la consistencia el cuy tipo III y II, por último para el sabor no existió diferencia entre las líneas a excepción de los nevados, sin embargo, los cuyes negros presentaron la mejor aceptación organoléptica.
- En el análisis organoléptico en la apariencia se determinó que no existió diferencia en cuanto al color de la piel de las 7 líneas evaluadas.
- La caracterización molecular de 88 muestras de cuy mediante la utilización de diez microsátelites, reveló una riqueza alélica de 81 locus, con un promedio de 8,1 alelos/locus.
- La heterocigosidad esperada 0,75 indica que los microsátelites seleccionados forman un conjunto de gran utilidad informativa para la caracterización de cuyes.
- El PIC de 0,71 demostró un gran polimorfismo y diversidad genética en las muestras de cuy analizadas.

- Los análisis multivariados PcoA corroboraron la falta de estructura genética de los cuyes, sin embargo, el Cuy Tipo I y Tipo IV muestran una tendencia de diferenciación.
- De acuerdo al AMOVA el valor de variación entre líneas fue del 16% y entre individuos del 84%, mostrando una alta variación genética, además de tener un distanciamiento genético que oscila entre 0,34 y 0,56.

5.2. Recomendaciones

- Se recomienda continuar estudios de la canal en diferentes tiempos de conservación de las 7 líneas nativas establecidas en la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I
- Continuar con investigaciones de crías de las líneas nativas en cuanto, sanidad y nutrición para obtener mejor índices productivos.
- Difundir la importancia de las líneas nativas que posee en Ecuador a los pequeños productores y su beneficio que con lleva conservarlas.

5.3. Bibliografía

- Aranguren, J., Román, R., Isea, W., Villasmil, Y., & Jordana, J. (2005). Los Microsatélites (STR's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: Una revisión. En *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* (págs. 30-42).
- Aviles, D. (2015). Isolation and Characterisation of a Dinucleotide Microsatellite Set for a Parentage and Biodiversity Study in Domestic Guinea Pig (*Cavia porcellus*). *Italian Journal of Animal Science*, 614 - 620.
- Aviles, D. (2016). *Caracterización Genética de Cuy Doméstico en América*. Obtenido de http://www.uco.es/zootecniaygestion/img/pictorex/02_16_30_Tesis_Aviles-Esquivel.pdf
- Ayagirwe, R., Meutchieye, F., Djikeng, A., Skilton, R., Osama, S., & Manjeli, Y. (2017). Genetic Diversity and Structure of Domestic Cavy (*Cavia porcellus*) Populations from Smallholder Farms in Southern Cameroon. *Animal production*, 1-121. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/319165120_Genetic_Diversity_and_Structure_of_Domestic_Cavy_Cavia_porcellus_Populations_from_Smallholder_Farms_in_Southern_Cameroon
- Barbadilla, A. (2017). *La genética de poblaciones*. Obtenido de <http://bioinformatica.uab.es/base/base3.asp?sitio=geneticapoblaciones&anar=quees>
- Barrera, A. (2010). Evaluación de las características productivas y reproductivas de cuyes negros manejados en jaulas versus pozas. Riobamba: Facultad de ciencias Pecuarias, Escuela Superior Politecnica de Chimborazo.
- Buitrón, J. (2015). Caracterización molecular de 19 genotipos de *Cavia porcellus* con marcadores SSR. *INIAP*, 97-106.
- Burgos - Paz, W., Cerón-Muñoz, M., & Solarte-Portilla, C. (2011). *Genetic diversity and population structure of the guinea pig (Cavia porcellus, Redentia, Caviidae) in Colombia*. Obtenido de *Genética y biología molecular*: <https://dx.doi.org/10.1590/S1415-47572011005000057>
- Castro, H. (2002). *Sistemas de crianza de cuyes a nivel familiar-comercial en el sector rural*. Lima.
- Chauca. (1997). *FAO*. Obtenido de *Produccion de Cuyes (Cavia porcellus)*: <http://www.fao.org/docrep/w6562s/w6562s.htm#TopOfPage>
- Chauca, L., & Zaldivar, M. (Mayo de 1994). *INIA*. Obtenido de *Crianza de cuyes*: <https://idl-bnc-idrc.dspacedirect.org/bitstream/handle/10625/13468/100144.pdf?sequence=1>

- El Telegrafo. (19 de Octubre de 2015). *El telegrafo*. Obtenido de Más de 710 mil familias se dedican a la crianza de cuyes en el país: <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/economia/8/mas-de-710-mil-familias-se-dedican-a-la-crianza-de-cuyes-en-el-pais>
- El Telegrafo. (30 de abril de 2016). *El Telegrafo*. Obtenido de El ancestral consumo de cuyes: <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/regional-norte/1/el-ancestral-consumo-de-cuyes>
- Excoffier, L., Smouse, E., & Quattro, J. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA restriction data. En G. 131.
- Fernández, L., Martín, S., & Apraez, J. (29 de Marzo de 2016). *Noticias Axón Comunicación*. Obtenido de Las Ventajas nutricionales de comer carne de cuy: <http://www.noticiasaxoncomunicacion.net/2016/03/las-ventajas-nutricionales-de-comer-carne-de-cuy/>
- Guzmán, C. (2000). *Caracterización de fenotipo y genotipo de cuyes Cavia porcellus para la determinación de razas o tipos*. . Sangolquí: Escuela Politécnica del Ejército .
- Hammaond, K. (1994). Conservation of Domestic Animal Diversity: Global Overview. . Canada: Proceedings of the World Congress on Genetics Applied to Livestock Production.
- Hodges, J. (1990). *Animal genetic resources*. Impact Sci Soc.
- INEC. (2012). *III CENSO NACIONAL AGROPECUARIO*. Obtenido de SINAGAP: <http://sinagap.agricultura.gob.rc/index.php/resultados-nacionales/file/287-45-otras-especies-existent-por-tamano-de-upa?start=40>
- INIAP. (2011). *INIAP*. Recuperado el 17 de Abril de 2014, de http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Manual_%20cuyes.pdf.
- INIAP. (2011). *INIAP*. Recuperado el 17 de Abril de 2014, de http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Manual_%20cuyes.pdf.
- Kanitz, R. (2009). Characterization of new microsatellite loci for the South-American rodents *Cavia aperea* and *C. magna*. *Conservation Genet Resour*, 47-50.
- Khan Academy. (2018). *Deriva Génica*. Obtenido de <https://es.khanacademy.org/science/biology/her/heredity-and-genetics/a/genetic-drift-founder-bottleneck>
- Kouakou, D., & Speybroeck, N. (2015). *Typifying guinea pig (Cavia porcellus) farmers in urban*. Obtenido de <https://hal-agrocampus-ouest.archives-ouvertes.fr/hal-00730146/document>

- León, V. (2000). *Curso Técnico: Crianza y manejo de cuyes*. Quito.
- LI-COR Biosciences. (2009). *Automated Microsatellite Analysis*. Lincoln, Nebraska 68504 USA. Obtenido de <http://www.licor.com/bio/PDF/genomics/microsat.pdf>
- Liu, J., Muse, S., & Weir, B. (2004). *Power Marke: Integrate analysis environment for genetic marker data*. Obtenido de Bioinformatics: <https://brcwebportal.cos.ncsu.edu/powermarker/index.html>
- Moncayo, R. (2009). *El cuy en Ecuador. Seminario Internacional de cuyes*. Huancayo.
- Moreno, C. (2001). Métodos para medir la diversidad. En *M&T-Manuales y Tesis SEA, Vol 1* (pág. 84). Zaragoza.
- Morillo, E. (2018). *Caracterización Molecular*. Departamento Nacional de Biotecnología del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias - Estación Experimental Santa Catalina.
- Morillo, E., & Miño, G. (2011). *Manual de Biología Molecular INIAP*. INIAP.
- Nei, M. (1972). Genetic distance between populations. En 1. *American Naturalist*.
- Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individualas. En 8. *Genetics*.
- Ocampo, G. (2013). La endogamia en la producción animal. 465-479.
- Page, R. (2001). *TreeView . 2*. Obtenido de <https://www.treeview.co.uk/download-file/?v=2>
- Park, S. (2001). *Microsatellite*. Obtenido de Genetics Dept, TCD, Ireland.
- Peakall, R., & Smouse, P. (1 de Octubre de 2012). *GenAlEx 6.5: análisis genético en Excel. Software genético de población para la enseñanza y la investigación: una actualización. Bioinformática 28, 2537-2539*. Obtenido de <http://biology-assets.anu.edu.au/GenAlEx/Welcome.html>
- Piñero, D. (2010). La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas. 438.
- Pritchard, J., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). *Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data*. *Genetics: 155, 945-959*. Obtenido de <https://web.stanford.edu/group/pritchardlab/structure.html>
- Promega. (2018). *Tissue and Hair Extraction Kit (for use with DNA IQ™) Technical Bulletin*. Obtenido de <https://worldwide.promega.com/resources/protocols/technical-bulletins/101/tissue-and-hair-extraction-kit-for-use-with-dna-iq-protocol/>
- Rico, E. (2009). Obtenido de http://www.dicyt.umss.edu.bo/archivos/Rico_Numbela.pdf

- Rohlf, J. (2002). *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.2*. *Departamento de Ecology and evolution State University of New York*. 1:20. Obtenido de <http://www.exetersoftware.com/cat/ntsyspc/ntsyspc.html>
- Solís, L. Y., & Andrade, A. (Enero de 2005). ¿Qué son los marcadores moleculares? *La ciencia y el hombre*, 41-46. Obtenido de ¿Qué son los marcadores moleculares?: <https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol18num1/articulos/moleculares/index.htm>
- Spotorno, A., Valladares, J., Marín, J., & Zeballos, H. (2004). Molecular diversity among domestic guinea-pigs (*Cavia porcellus*) and their close phylogenetic relationship with the Andean wild species *Cavia tschudii*. *Revista Chilena de Historia Natural*, 243-250.
- Trujillo, B. (1994). *Biología del Cuy*. Riobamba: Freire.