

# CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO Informe Científico<sup>1</sup>

PERIODO <sup>2</sup>: 2011

Legajo N°:

## 1. DATOS PERSONALES

*APELLIDO: Di Rocco*

*NOMBRES: Florencia*

*Dirección Particular: Calle: N°:*

*Localidad: City Bell CP: 1896 Tel:*

*Dirección electrónica (donde desea recibir información): fdirocco@imbice.org.ar*

## 2. TEMA DE INVESTIGACION

## 3. DATOS RELATIVOS A INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

*INGRESO: Categoría: Asistente Fecha: 9-08-10*

*ACTUAL: Categoría: Asistente desde fecha: 9-08-2010*

## 4. INSTITUCION DONDE DESARROLLA LA TAREA

*Universidad y/o Centro: Instituto Multidisciplinario de Biología Celular*

*Facultad:*

*Departamento: Lab. Genética Molecular*

*Cátedra:*

*Otros:*

*Dirección: Calle: 526 e/ 10 y 11 N°: s/n*

*Localidad: La Plata CP: 1900 Tel: 221-4210112*

*Cargo que ocupa: Investigador*

## 5. DIRECTOR DE TRABAJOS. (En el caso que corresponda)

*Apellido y Nombres: Lidia Arbeletche de Vidal Rioja*

*Dirección Particular: Calle: N°:*

*Localidad: La Plata CP: 1900 Tel:*

*Dirección electrónica: lvidalrioja@imbice.org.ar*

<sup>1</sup> Art. 11; Inc. "e" ; Ley 9688 (Carrera del Investigador Científico y Tecnológico).

<sup>2</sup> El informe deberá referenciar a años calendarios completos. Ej.: en el año 2008 deberá informar sobre la actividad del período 1°-01-2006 al 31-12-2007, para las presentaciones bianuales.

.....  
Firma del Director (si corresponde)

.....  
Firma del Investigador

**6. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO.**

*Debe exponerse, en no más de una página, la orientación impuesta a los trabajos, técnicas y métodos empleados, principales resultados obtenidos y dificultades encontradas en el plano científico y material. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.*

Este informe corresponde al período 09/08/10 - 31/12/11

Por siglos, la explotación de los camelidos sudamericanos (básicamente de llamas y alpacas) se circunscribió a pequeñas economías regionales pero en las dos últimas décadas ha experimentado una expansión que supera las fronteras de Sud América y que exige mejor rendimiento y calidad en sus productos. Estos animales se caracterizan por su capacidad de proporcionar fibra de muy alta calidad, acompañada por precios elevados, las cuales son industrializadas para la confección de prendas de vestir de alto valor pecuniario. La llama (*Lama glama*) es el camélido doméstico más abundante de la Argentina. Si bien históricamente ha sido una especie del noroeste de nuestro país, en los últimos años se han instalado en la provincia de Buenos Aires numerosos establecimientos destinados a la cría y comercialización de productos derivados de este animal, principalmente la fibra y la carne.

Durante este período, mi labor se centró principalmente en el estudio de genes de interés productivo en llamas, relacionados a crecimiento y metabolismo energético, y más recientemente a color.

Debido a que la solicitud y plan de ingreso a carrera fue presentado en el año 2008 pero finalmente efectivizado a mediados de 2010, algunos objetivos de trabajo fueron modificados de acuerdo a los proyectos en curso y recursos disponibles en nuestro laboratorio.

Sobre secuencias de ADN o ARN mensajero de mamíferos disponibles en el GenBank, se diseñaron primers para la amplificación de los genes de hormona de crecimiento (GH) y leptina (*Lep*) mediante la técnica de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa). Los productos obtenidos se corrieron en geles de agarosa teñidos con GelRed para su visualización. Los fragmentos del tamaño esperado se secuenciaron y se analizaron mediante el programa Geneious. Se logró describir la región codificante del gen *Lep* que consiste de dos exones con alta similitud (>a 90%) a los de vaca y cerdo. El análisis de estas regiones y parte del intron 2 en 15 llamas, permitió identificar 11 SNPs (polimorfismos de un único nucleótido) uno de los cuales ubicado en el exon 3, produce un cambio en el aminoácido codificado de Leucina (L) a Glutamina (Q). Esta sustitución es no conservativa, ya que se reemplaza un aminoácido no polar como la L por otro polar como la Q y además se localiza en una región de la proteína que tiene importancia funcional.

Las regiones más informativas de este gen fueron seleccionadas para estudiar la variabilidad del mismo en tropas nativas de Jujuy (Pozuelos) y Catamarca (Laguna Blanca). La variabilidad genética medida a través de la diversidad haplotípica, número de haplotipos y heterocigosidad observada y esperada, resultó mayor en todos los casos para las llamas de Catamarca. Además, basándose en las frecuencias haplotípicas de este gen se pudo determinar que existe una diferenciación significativa entre los animales de Pozuelos y Laguna Blanca. Este dato es de relevancia ya que estas dos regiones son las principales proveedoras de llamas para los distintos establecimientos de cría extrapuneños.

Además, durante este período supervisé las tareas de la Lic Silvana Daverio durante su beca de perfeccionamiento CIC, también relacionada a genes de interés productivo en llamas. Se describió la estructura del gen completo que codifica la hormona de

crecimiento en llamas y de su promotor. Se lograron identificar 15 SNPs, tres de ellos localizados en esta última región y en la 5' UTR, que podrían afectar la expresión del gen y por lo tanto son buenos candidatos para ser utilizados en futuros estudios de asociación genotipo-fenotipo.

Con la mayor exigencia del mercado, principalmente de exportación, ha surgido la necesidad de registros de pedigree confiables para estos animales tal como ocurre en otro tipo de ganado. La prueba de ADN es utilizada para confirmar identidad, determinar parentesco y en particular para validar registros. Es por ello que también, otro de los objetivos de este período fue optimizar la tipificación de marcadores moleculares utilizando el secuenciador automático ABI Prism 3130 disponible en el IMBICE para su aplicación en casos de paternidad e identificación genética en camélidos.

## **7. TRABAJOS DE INVESTIGACION REALIZADOS O PUBLICADOS EN ESTE PERIODO.**

**7.1 PUBLICACIONES.** *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellas publicaciones en las que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Toda publicación donde no figure dicha mención no debe ser adjuntada porque no será tomada en consideración. A cada publicación, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden que figuran en ella, lugar donde fue publicada, volumen, página y año. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparece en la publicación. La copia en papel de cada publicación se presentará por separado. Para cada publicación, el investigador deberá, además, aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del trabajo y, para aquellas en las que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.*

1-Di Rocco F, Maté L, Zambelli A, Vidal-Rioja L. The Complete Mitochondrial DNA sequence of the guanaco (*Lama guanicoe*): Comparative analysis with the vicuña (*Vicugna vicugna*) genome. *Genetica* 138, (8) 813-818. (2010)

Tipo de participación: Desarrollo experimental, análisis de datos y participación en la redacción del manuscrito.

Resumen:

South American camelids comprise the guanaco (*Lama guanicoe*) and the vicuña (*Vicugna vicugna*), which are wild species, and the domestic llama (*Lama glama*) and alpaca (*Lama pacos*). This paper presents the first complete mitochondrial (mt) genome of the guanaco and the mt coding sequence of the vicuña. The guanaco mtDNA is 16,649 nucleotides long and its composition and organization are similar to the mt genome of other mammals. Excluding the control region (CR), comparison of the complete guanaco and vicuña mtDNA showed 4.4% sequence divergence. Nucleotide differences in peptide coding genes varied from 1.9% in ATP6 to 6.4% in Cyt b. These values are compatible with the close relatedness of both species identified by other authors. Based on the differences between the CR sequence here reported and that previously described, we also discuss the occurrence of NUMTs in the genome of South American camelids

2-Di Rocco F, Posik DM, Ripoli MV, Díaz S, Maté ML, Giovambattista G, Vidal Rioja LB. South American Camelid Illegal Traffic Detection by Means of Molecular Markers. *Legal Medicine*.13 (6) 289-292 (2011)

Participación en el desarrollo experimental, análisis de datos y redacción del manuscrito

Resumen:

South American camelids comprise the wild species guanaco and vicuña and their respective domestic relatives llama and alpaca. The aim of the present study was to determine by DNA analysis to which of these species belong a herd of camelids confiscated from a llama breeder but alleged to be alpacas by the prosecution, and to evaluate the usefulness of mitochondrial and autosomal DNA markers to solve judicial cases involving camelid taxa. Cytochrome b and cytochrome oxidase I mitochondrial genes and 7 STR were analyzed in 25 confiscated samples. Mitochondrial results were inconclusive because 18 of the sequestered samples presented haplotypes that corresponded to the guanaco haplogroup and the remaining seven belonged to a vicuña lineage. Microsatellite data of casework samples and llama reference samples revealed different genetic profiles by the presence of private alleles at two microsatellites suggesting that the confiscated animals could be alpaca, or at least alpaca hybrids instead of pure llama.

3-Daverio MS, Di Rocco F, Vidal Rioja L. "Growth Hormone gene in Lama glama (Llama): Characterization and SNPs identification" En: M<sup>a</sup> Á. Pérez-Cabal, J.P. Gutiérrez, I. Cervantes and M<sup>a</sup> J. Alcalde (eds.) Fibre production in South American camelids and other fibre animals. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands (2011)

Participación en el análisis de datos y redacción del capítulo.

Resumen:

Lama glama (llama) and Lama pacos (alpaca) are livestock source of meat, fiber, leather, transport and other products useful for the economy of the human population of northwest Argentina. In the last years the camelid utilization in Europe had experienced continuous growth following the importation of relatively large numbers of llamas and alpacas from South America. In spite of the growing interest of these animals around the world, very little is known about the genetic variability related to growth, health and other productive aspects. The use of polymorphisms of specific genes as detectable molecular markers is a promising alternative to the current methods of trait selection, once these genes are proved to be associated with traits of economic interest. The Growth Hormone (GH) has an important effect in the muscular development during the growth as well in the production and composition of milk during lactation. Polymorphisms of this gene have been associated to important traits in animal production (Etherton & Bauman, 1998; Maj A et al, 2007). The aim of this study was to identify and characterize the growth hormone gene and detect single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the species llama from Argentina. First, the GH gene was amplified by PCR in three llama individuals, using 4 pairs of primers designed on the coding sequence of the GH gene sequence of alpaca available at GenBank (access number: DQ 782970). The amplicons were purified and automatically sequenced. The analysis of the sequence verified that the llama GH gene consists of 1781 bp, organized in 5 exons highly conserved in llama, alpaca and dromedary. In the 5' and 3' regions the TATA box and the polyadenylation site was identified, respectively. Variability of the gene was study using 20 random llama individuals from different geographic locations. As expected, non-coding regions were variable since 3 and 4 SNPs were detected in both intron A and B. Furthermore, 2 substitutions were identified in the 3' region. The polymorphisms such as the ones presented here will be used for developing genetic markers to assay the effect of different genotypes on economically important traits.

**7.2 TRABAJOS EN PRENSA Y/O ACEPTADOS PARA SU PUBLICACIÓN.** *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellos trabajos en los que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Todo trabajo donde no figure dicha*

*mención no debe ser adjuntado porque no será tomado en consideración. A cada trabajo, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden en que figurarán en la publicación y el lugar donde será publicado. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparecerá en la publicación. La versión completa de cada trabajo se presentará en papel, por separado, juntamente con la constancia de aceptación. En cada trabajo, el investigador deberá aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del mismo y, para aquellos en los que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.*

1-Daverio S, Di Rocco F, Vidal Rioja L. The Llama (Lama glama) Growth hormone gene: sequence, organization and SNP identification. Small Ruminant Research Small Ruminant Research .<http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.08.008>

Participación en el planeamiento del trabajo, análisis de datos y redacción del manuscrito.

Resumen:

Growth hormone (GH) is a peptide hormone found in most vertebrates, which has important effects on the muscular development during growth as well as on the production and composition of milk during lactation. Here, we report the sequence and organization of the GH gene, its promoter region and several single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the llama (Lama glama), a domestic camelid from South America. Like in other mammals, the GH gene in the llama is organized in five exons separated by four introns. Comparison of its coding sequence with that of other cetartiodactyl species showed identities that ranged from 90.3% when compared with that of sheep to 99.1% when compared with that of camel (Camelus dromedarius). Introns were less conserved, particularly Intron C, which in the llama was found to be considerably shorter than in other species. In the promoter region, the TATA box showed a T/C substitution in the first base, also present in the camel. Other regulatory elements of the promoter region are fully conserved, except Sp1, CRE, and the proximal Pit-1 element, which present substitutions with respect to other cetartiodactyl species. Sequencing of the GH gene in a sample of 10 llamas allowed us to identify 15 SNPs, mainly located in non-coding regions. However, three of them were found in the promoter and the 5'-UTR of Exon 1, regions involved in transcription and translation processes. Moreover, in other species, intronic polymorphisms were found to be associated with growth and carcass traits. Therefore, further studies in llama herds will be necessary to infer the role of the polymorphisms found in this paper.

### **7.3 TRABAJOS ENVIADOS Y AUN NO ACEPTADOS PARA SU PUBLICACION.**

*Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo, indicando el lugar al que han sido enviados. Adjuntar copia de los manuscritos.*

### **7.4 TRABAJOS TERMINADOS Y AUN NO ENVIADOS PARA SU PUBLICACION.**

*Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo.*

-Daverio MS, Di Rocco F, Lorenzo Y, Vidal Rioja L. Genetic variability and haplotype structure in two growth related genes in llama (Lama glama)

Resumen:

Camelid breed is emerging as alternative to conventional livestock. Contrasting with other domestic species, little is known about variability of genes related to energetic metabolism and growth.

Here we analyzed Leptin and GH genes and characterized their variability in three Argentinean llama (*Lama glama*) herds. Eleven novel SNPs and one indel were identified in Leptin gene. Genetic diversity measures and haplotypes frequencies were computed in a sample of 156 chromosomes. In total nine haplotypes were found for Lep and seven for GH. Although geographical origin clustering were not observed, SNPs and haplotype frequencies varied significantly among herds. Based on variation of both loci we detected significant genetic differentiation among populations measured through  $F_{st}$  values. These results have relevance for planning and design of association studies

**7.5 COMUNICACIONES.** *Incluir únicamente un listado y acompañar copia en papel de cada una. (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores).*

1-Daverio MS, Di Rocco F, Vidal Rioja L. "Growth Hormone gene in Lama glama (Llama): Characterization and SNPs identification". 5th European Symposium on South American Camelids and First European Meeting on Fibre Animals. 6 al 8 Octubre de 2010, Sevilla, España  
Comunicación Libre (Poster)

2- Daverio MS, Di Rocco F Rigalt F. Vidal Rioja L. Análisis de la variabilidad del Gen de Hormona de Crecimiento en llamas. XL Congreso Argentino de Genética. 18 al 21 de septiembre de 2011. Corrientes, Argentina

**7.6 INFORMES Y MEMORIAS TECNICAS.** *Incluir un listado y acompañar copia en papel de cada uno o referencia de la labor y del lugar de consulta cuando corresponda.*

**8. TRABAJOS DE DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS.**

**8.1 DESARROLLOS TECNOLÓGICOS.** *Describir la naturaleza de la innovación o mejora alcanzada, si se trata de una innovación a nivel regional, nacional o internacional, con qué financiamiento se ha realizado, su utilización potencial o actual por parte de empresas u otras entidades, incidencia en el mercado y niveles de facturación del respectivo producto o servicio y toda otra información conducente a demostrar la relevancia de la tecnología desarrollada.*

**8.2 PATENTES O EQUIVALENTES.** *Indicar los datos del registro, si han sido vendidos o licenciados los derechos y todo otro dato que permita evaluar su relevancia.*

**8.3 PROYECTOS POTENCIALMENTE TRANSFERIBLES, NO CONCLUIDOS Y QUE ESTAN EN DESARROLLO.** *Describir objetivos perseguidos, breve reseña de la labor realizada y grado de avance. Detallar instituciones, empresas y/o organismos solicitantes.*

**8.4 OTRAS ACTIVIDADES TECNOLÓGICAS CUYOS RESULTADOS NO SEAN PUBLICABLES** *(desarrollo de equipamientos, montajes de laboratorios, etc.).*

**8.5 Sugiera nombres (e informe las direcciones) de las personas de la actividad privada y/o pública que conocen su trabajo y que pueden opinar sobre la relevancia y el impacto económico y/o social de la/s tecnología/s desarrollada/s.**

9. **SERVICIOS TECNOLÓGICOS.** Indicar qué tipo de servicios ha realizado, el grado de complejidad de los mismos, qué porcentaje aproximado de su tiempo le demandan y los montos de facturación.

Integrante del Servicio de Identificación Genética del IMBICE.  
Responsable: Dra. Lidia Vidal Rioja  
Servicio Tecnológico de Alto Nivel (STAN CONICET)  
Porcentaje de dedicación: 30%

Facturación: \$ 20.000

10. **PUBLICACIONES Y DESARROLLOS EN:**  
**10.1 DOCENCIA**

**10.2 DIVULGACIÓN**

11. **DIRECCION DE BECARIOS Y/O INVESTIGADORES.** Indicar nombres de los dirigidos, Instituciones de dependencia, temas de investigación y períodos.

12. **DIRECCION DE TESIS.** Indicar nombres de los dirigidos y temas desarrollados y aclarar si las tesis son de maestría o de doctorado y si están en ejecución o han sido defendidas; en este último caso citar fecha.

13. **PARTICIPACION EN REUNIONES CIENTIFICAS.** Indicar la denominación, lugar y fecha de realización, tipo de participación que le cupo, títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas y autores de los mismos.

14. **CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC.** Señalar características del curso o motivo del viaje, período, instituciones visitadas, etc.

-Curso "Avances en Identificación Humana mediante análisis de ADN". Buenos Aires 12 y 13 de diciembre de 2011. Realizado en el marco de las IX Jornadas Anuales de la Sociedad Argentina de Genética Forense con la participación de docentes invitados extranjeros.

15. **SUBSIDIOS RECIBIDOS EN EL PERIODO.** Indicar institución otorgante, fines de los mismos y montos recibidos.

-PICT Jovenes investigadores 10/1658 Otorgado por el FONCYT  
Tema: Identificación de marcadores moleculares diagnósticos para la detección de híbridos en camélidos sudamericanos domésticos  
Monto total: \$ 50.000  
Duración: 2 años

-Subsidio automático Investigadores CICIPBA  
Monto: \$5600  
Duración: 1 año

**16. OTRAS FUENTES DE FINANCIAMIENTO.** *Describir la naturaleza de los contratos con empresas y/o organismos públicos.*

**17. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO.**

**18. ACTUACION EN ORGANISMOS DE PLANEAMIENTO, PROMOCION O EJECUCION CIENTIFICA Y TECNOLÓGICA.** *Indicar las principales gestiones realizadas durante el período y porcentaje aproximado de su tiempo que ha utilizado.*

**19. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO.** *Indicar el porcentaje aproximado de su tiempo que le han demandado.*

-Docente del módulo “Genética Forense” del Curso de posgrado “Actualización en Genética Humana”. Dictado en el IMBICE (CONICET), La Plata. Mayo a Septiembre de 2011.

Porcentaje de dedicación: 20%

**20. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES.** *Bajo este punto se indicará todo lo que se considere de interés para la evaluación de la tarea cumplida en el período.*

Organización del Curso de posgrado “Actualización en Genética Humana”. Dictado en el IMBICE (CONICET), La Plata. Mayo a Septiembre de 2011.

Tipo de participación: Secretaria

**21. TITULO Y PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PROXIMO PERIODO.** *Desarrollar en no más de 3 páginas. Si corresponde, explicité la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.*

**IDENTIFICACIÓN DE MARCADORES MOLECULARES DIAGNÓSTICOS PARA LA DETECCIÓN DE HÍBRIDOS EN CAMÉLIDOS SUDMERICANOS DOMÉSTICOS**

#### 1.Introducción

Los camélidos sudamericanos, actualmente representados por dos especies domésticas, la alpaca y la llama, y por dos especies silvestres el guanaco y la vicuña, son parte de la fauna nativa de nuestro país. Estos animales se caracterizan por su capacidad de proporcionar fibra de muy alta calidad, acompañada por precios elevados, las cuales son industrializadas para la confección de prendas de vestir de alto valor pecuniario. En muchos países, como Estados Unidos, Australia, y algunos países de Europa también existe un mercado aún poco explorado para la venta de camélidos sudamericanos como mascotas, las que se cotizan desde \$ 1.500 hasta \$14.000, dependiendo de la singularidad del animal (Torres, 2001).

El camélido doméstico más abundante en Argentina es la llama (*Lama glama*). Tradicionalmente limitada a la zona andina, en los últimos años su cría se ha extendido a áreas extra puneñas habiendo en la actualidad más de 15 criaderos instalados en la provincia de Buenos Aires.

A pesar de que hoy se reconoce la importancia de esta especie y su potencial económico, la falta de programas adecuados de manejo trae como consecuencia bajos índices de producción y productividad. La gran variedad de animales presentes en las tropas y la escasa selección por tipo, por otra parte, implican una gran variabilidad de los rasgos productivos de las tropas actuales (Frank, 2005). A diferencia de lo que ocurre en Perú, donde se diferencian netamente alpacas y llamas, ocupando ambientes diferenciados y para distintos propósitos, en la Argentina es común que dentro de un mismo rebaño coexistan ambos morfotipos y sus gradaciones intermedias. Actualmente no hay poblaciones de alpacas puras en nuestro país. A su vez, muchas de las llamas argentinas presentan características de la fibra de alpaca. (Vilá, 2006). En la provincia de Catamarca se observan animales de vellón bastante fino y una alta proporción de color marrón, sospechándose la influencia de alpacas procedentes de Chile (Quispe y col, 2009).

El conocimiento de la diversidad genética, la correcta asignación de animales a poblaciones, y el registro de las relaciones de parentesco, es fundamental para la aplicación de programas de mejora, repoblación, conservación y utilización sustentable de unidades poblacionales de esta especie.

El ADN mitocondrial es de utilidad limitada en la identificación específica en el caso de los camélidos sudamericanos domésticos, ya que la hibridación ocurrida en el pasado entre llamas y alpacas hace que estas especies compartan haplotipos maternos en la actualidad (Stanley y col 1994; Di Rocco y col, 2011).

Los microsatélites han sido la elección primaria para asignación de individuos y también para abordar otras cuestiones evolutivas en las últimas dos décadas. Recientemente los polimorfismos de un nucleótido (SNPs) han emergido como una alternativa viable para la identificación de individuos y sus relaciones, el monitoreo de la diversidad genética y sus cambios a lo largo del tiempo y en la detección de flujo génico entre poblaciones (Seddon y col, 2005). Presentan varias ventajas con respecto a los microsatélites. Primero, como marcadores codominantes binarios, la heterocigosidad puede ser medida directamente. Segundo, a diferencia de los microsatélites su poder viene no solo del número de alelos sino del número de loci que puede ser estudiados. De esa manera, una vez que los SNPs raros son descubiertos, aun en especies de baja diversidad, el poder de discriminación puede ser equivalente al mismo número de loci en especies genéticamente diversas. Además, la naturaleza evolutiva más conservada de los SNPs los hace menos sujetos al problema de la homoplasia (Foster y col, 2010).

La reciente finalización de la secuenciación del genoma completo de la alpaca, permitió el desarrollo de un panel de mas de 700 marcadores de tipo SNP e indels. La aplicación de nuevos marcadores moleculares que permitan la identificación de animales puros y de sus híbridos, y el estudio de la diversidad genética de las poblaciones actuales, contribuirá enormemente al diseño de planes de manejo estratégicos de este recurso.

## 2. Objetivos

Los objetivos específicos de este proyecto son:

- Identificar marcadores moleculares diagnósticos del tipo SNPs (polimorfismos de un nucleótido) que permitan discriminar entre llamas y alpacas puras de sus híbridos
- Utilizar estos marcadores para determinar la composición de poblaciones de llamas de Argentina, en terminos de animales puros e híbridos

## 3. Materiales y métodos

3.1. Identificación de marcadores moleculares diagnósticos que permitan la discriminación entre llamas y alpacas puras de sus híbridos

Para ello se evaluará la utilidad de un grupo de 20 SNPs obtenidos a partir de la secuenciación del genoma completo de la alpaca.

Se amplificarán por PCR estos 20 marcadores utilizando pares de primers que permiten obtener fragmentos de aproximadamente 600 pb en una muestra consistente en al menos 20 guanacos, 20 vicuñas, 20 llamas y 20 alpacas provenientes de diferentes poblaciones y de distintos orígenes geográficos de forma que nos permita tener representada la mayor variabilidad genotípica posible. También se incluirán llamas y alpacas provenientes de zoológicos (de Mendoza y de La Plata) y de establecimientos del noroeste de nuestro país, donde la presencia de animales híbridos es más común.

El producto de PCR se correrá en geles de agarosa 2% con un patrón de peso molecular, y se teñirá con GelRed. Los fragmentos del tamaño esperado se purificarán y secuenciarán en ambas direcciones en un analizador genético ABIPrism(R) 3130.

Las secuencias obtenidas se ensamblarán y alinearán utilizando el software Geneious Pro (Drummond y col.,2009). Se identificarán los sitios polimórficos por examinación de los electroferogramas. La probabilidad de la asignación de los individuos como llamas, alpacas o híbridos será calculada utilizando el software Structure (Pritchard y col 2000)

En base a estos resultados se elegirán los marcadores mas informativos (diagnósticos) para la asignación de especies e identificación de híbridos.

3.2.Caracterización mediante el uso de SNPs diagnósticos de la composición de tres tropas de llamas

Se utilizarán los SNPs diagnósticos identificados en el punto anterior para determinar la composición de las poblaciones de llamas de nuestro país en cuanto a proporción de animales híbridos en los rodeos.

Se amplificarán por PCR los loci informativos en tres poblaciones de llamas bajo distintas condiciones de manejo, provenientes de la provincia de Jujuy (n=30), de Catamarca (n=25) y de la provincia de Buenos Aires (n=30), respectivamente. Los animales proveniente de Jujuy se crían en forma extensiva, y están destinados a la producción de fibra y el aspecto fenotípico evidencia la selección dirigida hacia animales de color blanco. La muestras de Catamarca provienen de la Cabaña Karwai que funciona en la Reserva de la Biosfera de laguna Blanca .Es una cabaña provincial que no tiene un objetivo comercial sino dar un mejoramiento genético a los pequeños productores de la Puna. Las cabaña de la provincia de Buenos Aires está situada en las afueras de La Plata (Gulla) y los animales son criados en condiciones extra puneñas, con registros de cruzamientos y genealogías para la producción de fibra fina de diferentes colores.

Los productos de amplificación se secuenciarán y las secuencias obtenidas se analizarán con el programa Geneious para la identificación de SNPs.

Posteriormente, se caracterizarán los individuos híbridos y la estructura poblacional mediante el software Structure 2.1

#### 4.Bibliografía

Drummond AJ, Ashton B, Cheung M, Heled J, Kearse M, Moir R, Stones-Havas S, Thierer T, Wilson A (2009) Geneious v4.8. <http://www.geneious.com/>

Foster y col . (2010) Single nucleotide polymorphisms for assessing genetic diversity in castor bean (*Ricinus communis*) BMC Plant Biology 10:13

Frank E , M.V.H. Hick, C.D. Gauna, H.E. Lamas, C. Renieri, M. Antonini, Phenotypic and genetic description of fibre traits in South American domestic camelids (llamas and

alpacas), Small Ruminant Research, Volume 61, Issues 2–3, February 2006, Pages 113-129.

Pritchard J.K, Stephens M,. Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155 (2000), 945–59.

Quispe E.C.,. Rodríguez T.C.,. Iñiguez L.R y. Mueller J.P (2009) Producción de fibra de alpaca, llama, vicuña y guanaco en Sudamérica. *Animal Genetic Resources Information*. 45, 1–14. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Seddon JM, Parker HG, Ostrander EA, Ellegren H (2005). SNPs in ecological and conservation studies: a test in the Scandinavian wolf population *Molecular Ecology* 14, 503–511

Stanley H, Kadwell M; Wheeler J (1994) Molecular evolution of the family Camelidae: a mitochondrial DNA study *Proc . R. Soc.Lond B* 256 1-6.

Torres L.(2001) Estrategia y plan de acción de la biodiversidad para el departamento de huancavelica como base de su desarrollo sostenible. *Biblioteca digital andina*

Vila B (2005) Camelidae En: *Mamíferos de Argentina*, [www.vicam.org.ar/publi/SubordenTylopoda.pdf](http://www.vicam.org.ar/publi/SubordenTylopoda.pdf)

---

**Condiciones de la presentación:**

- A. El Informe Científico deberá presentarse dentro de una carpeta, con la documentación abrochada y en cuyo rótulo figure el Apellido y Nombre del Investigador, la que deberá incluir:
- Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 21).
  - Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, en otra carpeta o caja, en cuyo rótulo se consignará el apellido y nombres del investigador y la leyenda "Informe Científico Período .....".
  - Informe del Director de tareas (en los casos que corresponda), en sobre cerrado.
- B. Envío por correo electrónico:
- Se deberá remitir por correo electrónico a la siguiente dirección: [ininvest@cic.gba.gov.ar](mailto:ininvest@cic.gba.gov.ar) (puntos 1 al 21), en formato .doc zipeado, configurado para papel A-4 y libre de virus.
  - En el mismo correo electrónico referido en el punto a), se deberá incluir como un segundo documento un currículum resumido (no más de dos páginas A4), consignando apellido y nombres, disciplina de investigación, trabajos publicados en el período informado (con las direcciones de Internet de las respectivas revistas) y un resumen del proyecto de investigación en no más de 250 palabras, incluyendo palabras clave.

---

**Nota:** El Investigador que desee ser considerado a los fines de una promoción, deberá solicitarlo en el formulario correspondiente, en los períodos que se establezcan en los cronogramas anuales.