

## Organizacja Międzynarodowego Testu Biegłości Profilowania STR Alpak i Lam w latach 2022/2023

Angelika Mąsior<sup>1</sup>, Justyna Wołkowicz<sup>1</sup>, Monika Domagała<sup>1</sup>, Joanna Najbar<sup>2</sup>,  
Martyna Kowalik<sup>3</sup>, Agnieszka Jeziorska<sup>4</sup>, Jacek Jeziorski<sup>4</sup>, Anna Sandomierska<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Institut Zootechniki PIB, Zakład Biologii Molekularnej Zwierząt, ul. Krakowska 1, 32-083 Balice k. Krakowa

<sup>2</sup>Hodowla Coniraya, ul. Zakrzeńskiego 48, 32-091 Sieborowice

<sup>3</sup>AlpaWet – Lecznica Weterynaryjna, Modlińska 107b, 05-110 Jabłonna

<sup>4</sup>Gospodarstwo Jeziorkowo, Ciekowiec 50, 31-998 Kraków

<sup>5</sup>Hodowla Alpakus, Ramutowo 22, 09-472 Ramutowo

Alpaki (*Vicugna pacos*) należą do rodziny *Camelidae*, plemienia *Lamini* i są nazywane Wielbładami Nowego Świata (Stanley i in., 1994; Wheeler, 2012). Ich rodzimym miejscem występowania jest region Altiplano w Andach (Wheeler, 1995). Wśród alpak można wyróżnić dwa typy – Suri i Huacaya, choć nie są to oddzielne rasy. Krzyżowanie dwóch alpak typu Suri może doprowadzić do uzyskania potomstwa typu Huacaya, podobnie jak krzyżowanie dwóch

alpak typu Huacaya może dać potomstwo typu Suri. Alpaka typu Suri cechuje się długim, prostym włóknem opadającymi na boki ciała, podczas gdy alpaka typu Huacaya posiada krótsze, pofalowane włókna, nadające ciału gąbczasty wygląd. W Andach spotyka się również zwierzęta o pośrednim wyglądzie, nazywane Chili. Jednakże, na całym świecie alpaki typu Huacaya stanowią około 90% populacji alpak (Wheeler, 1995; Podbielska i Piórkowska, 2022 b).



Fot.1. Alpaki na pastwisku,  
hodowla Coniraya  
(fot. Hodowla Coniraya)  
Photo 1. Alpacas in the pasture,  
Coniraya farm  
(photo: Coniraya farm)

Archeolodzy datują proces udomowienia alpaki na około 4000–5000 lat p.n.e. Istniały równoległe trzy hipotezy pochodzenia tych zwierząt. Według pierwszej z nich wikunia jest przodkiem alpaki; druga zakładała, że zarówno alpaka, jak i lama wywodzą się od guanako;

zwolennicy trzeciej uważali, że alpaka powstała jako krzyżówka lamy z wikunią (Wheeler, 1995). Dopiero badania genetyczne i genomowe wykazały, że alpaka wywodzi się od wikunii, podczas gdy lama od guanako (Fan i in., 2020; Kadwell i in., 2001).



Fot. 2. Nowo narodzone cria wśród stada, Gospodarstwo Jeziorkowo (fot. J. Jeziorska)  
*Photo 2. Newborn cria among the herd, Jeziorkowo farm (photo: J. Jeziorska)*

Hodowla alpaki w Polsce rozpoczęła się w 2004 r. (Podbielska i Piórkowska, 2022 b; Markowska-Daniel i in., 2018). Zwierzęta te są cenione ze względu na jakość włókna, które jest wykorzystywane do produkcji wyrobów luksusowych (Podbielska i in., 2021 a; Radzik-Rant i in., 2021). Alpaki ze względu na swoje łagodne usposobienie i łatwe nawiązywanie

kontaktu z człowiekiem są często wykorzystywane do alpakoterapii (Krajewska-Wędzina i in., 2020). Obecnie istnieją dwa Związki zrzeszające hodowców tych zwierząt w Polsce: Polski Związek Hodowców Alpaki w Warszawie oraz Stowarzyszenie Hodowców Alpaki i Lam w Nowej Hucie (Krajewska-Wędzina i in., 2020).





Fot. 3. Alpaki przy paśniku, Gospodarstwo Jeziorkowo (fot. J. Jeziorska)  
*Photo 3. Alpacas at the feeder, Jeziorkowo farm (photo: J. Jeziorska)*



Fot. 4. Alpaki na pastwisku, hodowla Coniraya (fot. Hodowla Coniraya)  
*Photo 4. Alpacas in the pasture, Coniraya farm (photo: Coniraya farm)*

Szacunkowa liczba alpак hodowanych w Polsce wynosi od 2000 (Krajewska-Wędzina i in., 2020) do około 5000 osobników (Czaplicki i in., 2018), jednak dokładna liczebność tych zwierząt w naszym kraju nadal nie jest znana. Od stycznia 2023 r. weszła w życie ustawa o systemie identyfikacji i rejestracji zwierząt. Pozwoli ona na monitorowanie polskiej populacji alpак. Alpaki są importowane z różnych krajów, jednak ze względu na wysokie restrykcje związane z eks-

portem tych zwierząt najwięcej pochodzi z Chile i Wielkiej Brytanii.

Istnieje nieco błędne przekonanie, że alpaki są łatwe w utrzymaniu i nie mają wygórowanych potrzeb w zakresie żywienia i utrzymania. Jeszcze dekadę temu były uważane w Polsce za egzotyczne. W tym czasie wiedza hodowców i lekarzy weterynarii znacznie się poszerzyła, co wymagało dużej determinacji i zaangażowania ze strony środowiska zajmującego się tymi zwierzętami.



Fot. 5. Alpaki na łące, Hodowla Alpakus (fot. Hodowla Alpakus)  
Photo 5. Alpacas in the meadow, Alpakus farm (photo: Alpakus farm)

23 stycznia 2021 r. weszła w życie *Ustawa o organizacji hodowli i rozrodzie zwierząt gospodarskich* (Dz. U. 2021, poz. 36), zgodnie z którą lista zwierząt gospodarskich została rozszerzona o gatunek *Vicugna pacos*, aby umożliwić prowadzenie hodowli alpак w sposób właściwy dla zwierząt gospodarskich (Podbielska i Radko, 2020; Podbielska i in., 2021 a). Rozpoczęto też prowadzenie ksiąg hodowlanych dla tego gatunku przez Stowarzyszenie Hodowców Alpак i Lam. Ważną kwestią w przypadku wpisywania konkretnych osobników do ksiąg hodowlanych jest przeprowadzanie identyfikacji osobniczej i kontroli pochodzenia zwierząt. Analizy z udziałem DNA pozwalają na weryfikację potomstwa

pochodzącego po wskazanych rodzicach, jak i zapobiegają ewentualnym pomyłkom i zafałszowaniom rodowodów (Podbielska i Radko, 2020). Wysokie kompetencje laboratorium w profilowaniu DNA zapewniają regularne Międzynarodowe Testy Biegłości (ang. *ISAG International Comparison Test*) organizowane przez Międzynarodowe Towarzystwo Genetyki Zwierząt (ISAG; ang. *International Society for Animal Genetics*) co dwa lata, a udział w nich zapewnia stosowanie standaryzowanej nomenklatury w profilowaniu DNA (Podbielska i in., 2021 b).

Celem pracy było przygotowanie 22 unikatowych genotypów, rozesłanych następnie do uczestników Alpaca/Llama Comparison Test.



Dwa spośród 22 genotypów miały ustalony profil DNA i służyły jako próbki referencyjne. Dodatkowo,

wszystkie próbki poddano analizom bioinformatycznym w celu określenia ich różnorodności genetycznej.



Fot. 6. Cria z matką, Hodowla Alpakus (fot. Hodowla Alpakus)  
*Photo 6. Cria with her mother, Alpakus farm (photo: Alpakus farm)*

### **Material i metody**

Materiał biologiczny w postaci krwi został pobrany do probówek z EDTA przez lekarzy weterynarii podczas rutynowych badań w hodowli. Zebrano losowo wybrane 22 próbki od różnych alpak i lam, zarówno samic jak i samców. Pochodziły one z trzech hodowli: AlpaWet – Lecznicy Weterynaryjnej w Jabłonnej, Hodowli Coniraya w Sieborowicach oraz Gospodarstwa Jeziorkowo w Krakowie. Użytkano próbki od 5 lam i 17 alpak. Spis zwierząt przedstawiono w tabeli 1. Przypisanie konkretnej próbki do hodowli zostało objęte tajemnicą.

Każdą próbkę opisano numerami od ACT1 do ACT22 w losowej kolejności. Genomowy DNA został wyizolowany komercyjnym kitem Sherlock AX Kit (A&A Biotechnology) zgodnie z protokołem dostarczonym przez pro-

ducenta. Każdą próbkę izolowano w kilkunastu powtórzeniach, po czym DNA dla każdej próby zebrano do jednej zbiorczej probówki, oddzielnie dla każdego osobnika. Spulowanie DNA dało gwarancję, że każde laboratorium dostanie izolat DNA o tej samej jakości. Stężenie i jakość DNA oceniono przy użyciu spektrofotometru NanoDrop (Thermo Fisher Scientific), po czym znormalizowano do 50 ng/μl.

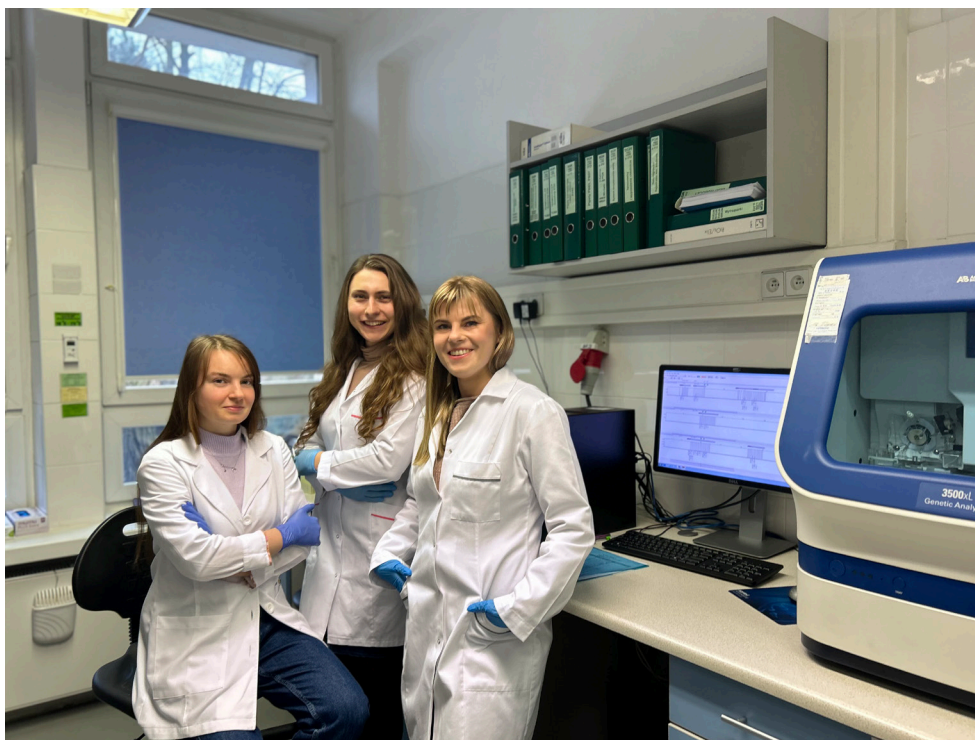
DNA amplifikowano przy użyciu 14 markerów mikrosatelitarnych: LCA19, LCA65, LCA66, YWLL44, LCA5, LCA99, LCA56, LGU50, LCA8, LCA37, LCA94, LGU49, YWLL40, YWLL29 zalecanych przez ISAG. Metodę przeprowadzono zgodnie z procedurą opisaną we wcześniejszych badaniach w tabeli 1 oraz rozdziale Materiał i metody (Podbielska i in., 2021 a). Rozdział zamplifikowa-

nych fragmentów STR przeprowadzono z wykorzystaniem sekwenatora 3500xl (Applied Biosystems), a gotowe odczyty zgenotypowano w programie GeneMapper v. 5.0 (Applied Biosystems). Spośród 22 genotypów wybrano dwie najbardziej heterozygotyczne próbki jako

referencyjne, czyli o znanym genotypie. Genotypy te zostały ustalone przez Laboratorium Genetyki Molekularnej i dostarczone wszystkim uczestnikom. Pozostałe 20 genotypów miało zostać ustalone przez biorących udział w ramach Testu Biegłości.

Tabela 1. Spis próbek objętych badaniem  
*Table 1. List of samples included in the study*

Nr próbki <i>No. of sample</i>	Gatunek <i>Species</i>	Płeć <i>Sex</i>
ACT1	alpaka	samica
ACT2	alpaka	samica
ACT3	alpaka	samica
ACT4	alpaka	samica
ACT5	alpaka	samica
ACT6	alpaka	samica
ACT7	alpaka	samica
ACT8	alpaka	samica
ACT9	lama	samica
ACT10	alpaka	samiec
ACT11	alpaka	samica
ACT12	alpaka	samiec
ACT13	alpaka	samica
ACT14	alpaka	samica
ACT15	alpaka	samiec
ACT16	lama	samica
ACT17	lama	samica
ACT18	alpaka	samica
ACT19	alpaka	samiec
ACT20	lama	samiec
ACT21	lama	samiec
ACT22	alpaka	samiec



Fot. 7. Zespół laboratoryjny w pokoju elektroforezy kapilarnej (od lewej: M. Domagała, J. Wołkowicz, A. Mąsior), Laboratorium Genetyki Molekularnej IZ PIB (fot. K. Zygmunt i M. Jankowska)  
*Photo 7. Laboratory team in the capillary electrophoresis room (from the left: M. Domagała, J. Wołkowicz, A. Mąsior), NRIAP Laboratory of Molecular Genetics (photo: K. Zygmunt and M. Jankowska)*

20 grudnia 2022 r. 11 zestawów zostało rozesłanych do 11 uczestniczących w teście laboratoriów z Ameryki Północnej i Południowej, Australii i Nowej Zelandii, Europy i Azji, zgodnie z formularzem zgłoszeniowym dostarczonym przez ISAG FASS – organizację odpowiedzialną za przetwarzanie danych oraz wyniki obliczeń związanych z uczestnictwem w Testach Biegłości. Każdą próbkę zabezpieczono parafilmem laboratoryjnym, uniemożliwiając jej odparowanie w trakcie transportu.

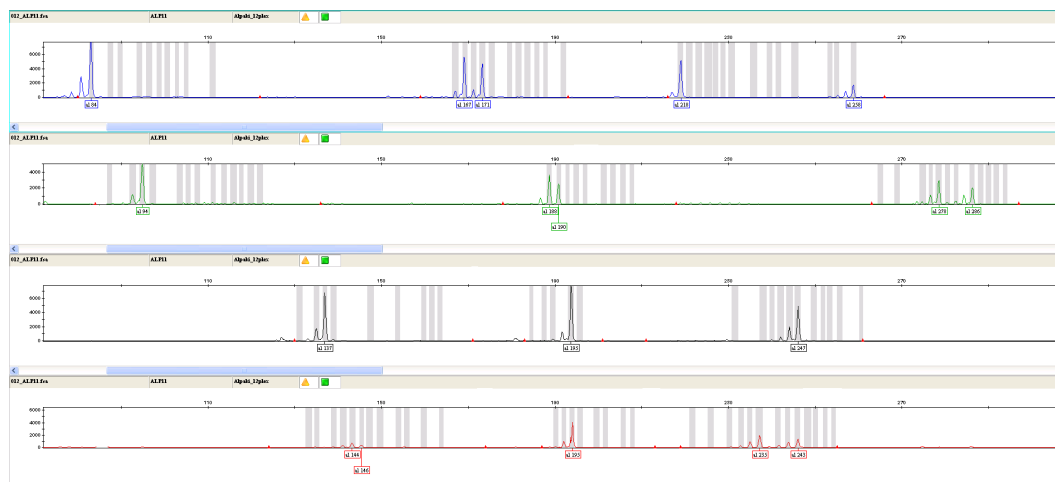
Dodatkowo, w Laboratorium Genetyki Molekularnej, po ustaleniu profili DNA dla wszystkich zwierząt, oceniono próbki również pod

kątem genetyki populacyjnej. Frekwencję występowania konkretnych alleli w każdym z badanych markerów przeprowadzono przy użyciu oprogramowania GenAlEx (Peakall i Smouse, 2006, 2012). Dendrogram odległości genetycznej Nei (Nei, 1972) skonstruowano metodą UPGMA (Garcia-Vallvé i in., 1999). Drzewo zostało zwizualizowane za pomocą programu The Interactive Tree Of Life iTOL v6 (Letunic i Bork, 2019, 2021).

### **Wyniki i ich omówienie**

Otrzymano pełne profile DNA dla 22 prób. Przykładowy profil DNA przedstawiono na rycinie 1.





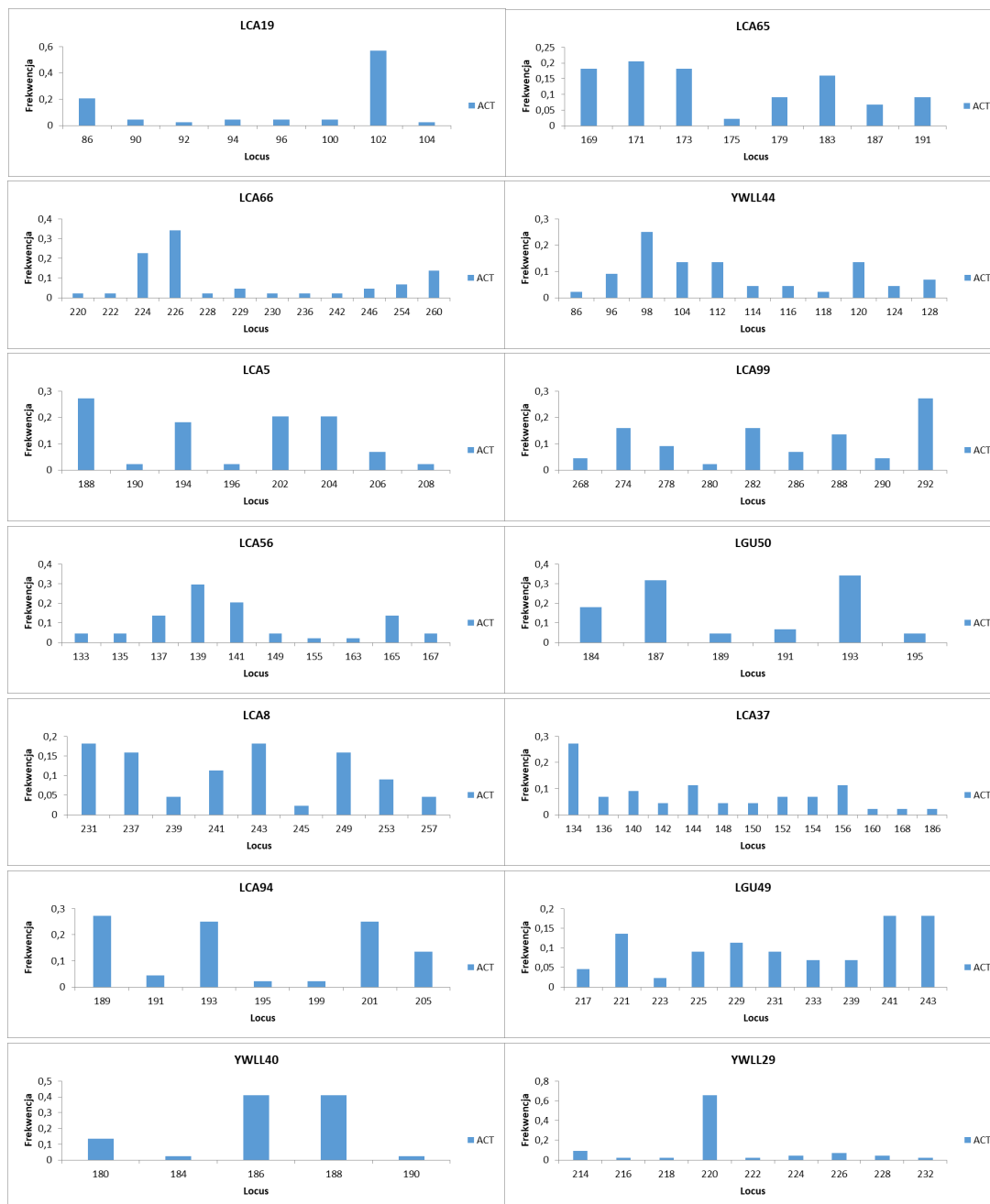
Rycina 1. Profil DNA alpaki  
*Figure 1. Alpaca DNA profile*



Fot. 8. Stado alpaki, hodowla Alpakus (fot. Hodowla Alpakus)  
*Photo 8. Herd of alpacas, Alpakus farm (photo: Alpakus farm)*



Frekwencję występowania poszczególnych alleli w analizowanych markerach mikrosatelitarnych wśród przebadanych zwierząt zaprezentowano na rycinie 2.



Rycina 2. Frekwencja alleli wśród 14 markerów mikrosatelitarnych  
 Figure 2. Allele frequencies among 14 microsatellite markers

22 wybrane zwierzęta charakteryzowały się dużą różnorodnością alleli, co wskazuje, że zostały dobrze wybrane do Alpaca/Llama Comparison Test. Pomimo losowo wybranych i niespokrewnionych ze sobą zwierząt, frekwencja występowania alleli w danym *locus* znacznie różniła się od siebie. Na częstość występowania alleli ma wpływ kilka czynników, między innymi wielkość populacji, losowe kojarzenie się osobników, brak mutacji i migracji oraz brak selekcji (Kania-Gier-

dziewicz, 2006). Założenia te są zgodne z prawem Hardy'ego i Weinberga, jednakże w rzeczywistości żadna z populacji nie odpowiada założeniom tego prawa (Gerc i Tarnowska, 2014). Alpaki jako zwierzęta hodowlane podlegają selekcji, są kupowane, jak i sprzedawane do innych hodowli, a ich kojarzenie nie jest przypadkowe.

Najbardziej polimorficzny okazał się marker LCA37, natomiast najmniej alleli odnotowano dla YWLL40 (tabela 2).

Tabela 2. Ilość alleli wykrytych w populacji oraz liczba alleli efektywnych w każdym loci  
Table 2. Number of alleles detected in the population and the number of effective alleles at each locus

Locus	Liczba alleli <i>No. of alleles</i>	Efektywna liczba alleli <i>Effective number of alleles</i>
LCA19	8,000	2,674
LCA65	8,000	6,453
LCA66	12,000	5,042
YWLL44	11,000	7,224
LCA5	8,000	5,068
LCA99	9,000	6,205
LCA56	10,000	5,694
LGU50	6,000	3,857
LCA8	9,000	7,014
LCA37	13,000	7,683
LCA94	7,000	4,523
LGU49	10,000	7,934
YWLL40	5,000	2,822
YWLL29	9,000	2,205

Co ciekawe, największą efektywną liczbą alleli charakteryzował się marker LGU49, natomiast najmniejszą YWLL29. Pomimo zanalizowanych 22 próbek otrzymano stosunkowo wysoką liczbę alleli z całej badanej puli genetycznej, jak i alleli efektywnych. Wyniki te były analogiczne do otrzymanych w oparciu o markery STR z wykorzystaniem innej, znacznie większej populacji (Podbielska i in., 2021 a). Należy jednak zaznaczyć, że w przytoczonych badaniach wykorzystano jedynie alpaki, natomiast w niniejszym badaniu, przeprowadzonym w celu określenia pa-

rametrów różnorodności przebadanych zwierząt, pulę badanych osobników stanowiło 17 alpaki i 5 lam. Efektywna liczebność populacji wskazuje tempo narastania inbrodu w populacji badanej w stosunku do populacji będącej w równowadze genetycznej (Kania-Gierdziewicz, 2006), a co za tym idzie otrzymane wyniki nie wskazywały, aby zwierzęta były narażone na inbred.

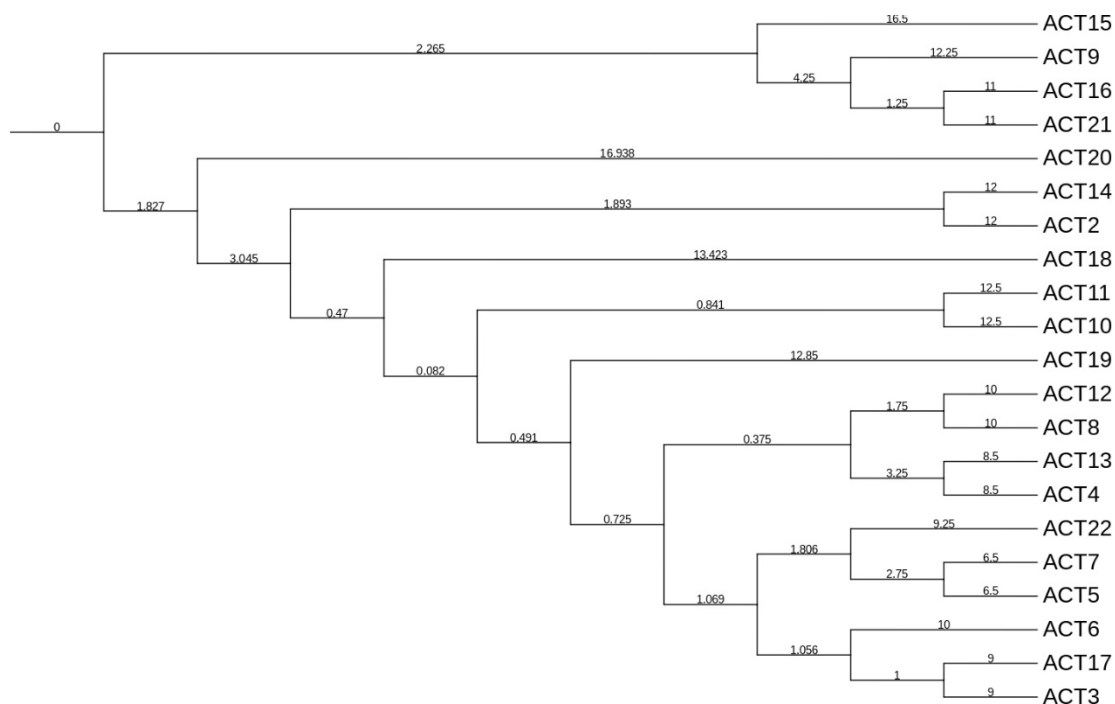
Niemniej jednak, zarówno alpaki, jak i lamy cechuje duża różnorodność genetyczna, a wykorzystywane do jej szacowania markery genetyczne charakteryzują się dużą polimorficz-



nością. W badaniach z udziałem alpak z Boliwii (Barreta i in., 2012) odnotowano wysokie bogactwo alleli, podobnie jak u boliwijskich lam (Barreta i in., 2013 a; Echalar i in., 2020). Peruwiańskie lamy również charakteryzowały się wysoką różnorodnością genetyczną (Paredes i in., 2020), podobnie jak peruviańskie alpaki (Morón i in., 2020).

Efektywna liczba alleli uwzględnia częstość, z którą występują dane allele. Na podstawie częstości występowania konkretnych alleli można konstruować dendrogramy odległości genetycznych.

Na podstawie otrzymanych 22 profili DNA sporządzono dendrogram odległości genetycznych (rycina 3).



Rycina 3. Dendrogram odległości genetycznej pomiędzy wszystkimi osobnikami według algorytmu UPGMA  
 Figure 3. Dendrogram of the genetic distance between all individuals according to the UPGMA algorithm

Otrzymano dwa główne klady genetyczne, które kolejno dzieliły się na subklady. Co ciekawe, klady nie podzieliły się zgodnie z przynależnością fenotypową zwierząt. Alpaki i lamy mają wspólne markery mikrosatelitarne (Lang i in., 1996; Penedo i in., 1999), pomimo to markery te umożliwiają dobre rozróżnienie gatunkowe tych zwierząt w przypadku, gdy mamy do czynienia z osobnikami czysto rasowymi (Podbielska i in., 2021 a). Niestety, podbój Ameryki Południowej przez Hiszpanię, który miał miejsce w XVI w., spowodował masową hybrydyzację alpak i lam hodowanych uprzednio w czystości rasy (Wheeler, 2012; Wheeler i in., 1992, 1995). Dowiedziano,

że mimo zastosowania konkretnych programów hodowlanych, alpaki i lamy wciąż genetycznie nie rozdzieliły się od siebie i do dzisiaj występują alpaki z domieszką lamy, jak i lamy z domieszką alpaki. Fakt ten został potwierdzony zarówno badaniami mikrosatelitarnego DNA (Echalar i in., 2020; Echalar i Barreta, 2022; Podbielska i in., 2021 a; Varas i in., 2020), jak i z udziałem mitochondrialnego DNA (Barreta i in., 2013 b; Marín i in., 2017; Podbielska i Piórkowska, 2022 a,b), a nawet chromosomu Y (Marín i in., 2017).

Organizacja międzynarodowych testów biegłości zwiększa rozpoznawalność Instytutu Zootechniki, jak i polskich hodowli na arenie

międzynarodowej (Podbielska i in., 2021 b). Udział w testach biegłości pozwala na uzyskanie międzynarodowej, standaryzowanej nomenklatury alleli, a tym samym uzyskiwanie profili DNA, które będą ważne na całym świecie, we wszystkich innych standaryzowanych laboratoriach. Co za tym idzie, umożliwiała sprzedaż bądź międzynarodową wymianę zwierząt, a raz wykonany profil DNA jest ważny przez całe życie zwierzę-

cia i może zostać w przyszłości wykorzystany do analizy genotypu jego potomstwa.

Jest zatem bardzo ważne utrzymanie ciągłości standaryzacji, a także biegłości w profilowaniu DNA. **W teście ACT Laboratorium Genetyki Molekularnej IZ PIB uzyskało 1. rangę w profilowaniu DNA alpak i lam otrzymując certyfikat biegłości** (rycina 4). Dowodzi to wysokich kompetencji laboratorium.



Rycina 4. Certyfikat uczestnictwa i potwierdzenia najwyższych kompetencji w Międzynarodowym Teście Biegłości dla Alpak i Lam  
Figure 4. Certificate of participation and confirmation of the highest competences in the International Llama/ Alpaca STR DNA Typing Comparison Test



### Podsumowanie i wnioski

Organizacja Testów Biegłości we współpracy z ISAG zapewnia rozpoznawalność Instytutu Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego, jak i polskich hodowli alpak na arenie międzynarodowej. Międzynarodowo-standaryzowana nomenklatura gwarantuje, że otrzymane profile DNA mogą być porównywane na całym świecie w laboratoriach, które również posiadają taką standaryzację. Wytypowane 22 próbki,

które posłużyły do przeprowadzenia międzynarodowego testu biegłości, charakteryzowały się dużą różnorodnością alleli, które występowały z różną frekwencją. Badania te potwierdziły, że alpaki i lamy utrzymywane w Polsce cechuje duża różnorodność genetyczna. Dodatkowo zaobserwowano również, że niektóre alpaki posiadały domieszkę genotypu lam, a lamy – alpak, co dowodzi, że genomy tych zwierząt wciąż nie są rozdzielone genetycznie.

### Literatura

- Barreta, J., Iñiguez, V., Saavedra, V., Romero, F., Callisaya, A.M., Echalar, J., Gutiérrez-Gil, B., Arranz, J.J. (2012). Genetic diversity and population structure of Bolivian alpacas. *Small Ruminant Research*, 105: 97–104; <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.03.002>
- Barreta, J., Gutiérrez-Gil, B., Iñiguez, V., Romero, F., Saavedra, V., Chiri, R., Rodríguez, T., Arranz, J.J. (2013 a). Analysis of genetic diversity in Bolivian llama populations using microsatellites. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 130: 321–331; <https://doi.org/10.1111/jbg.12009>
- Barreta, J., Gutiérrez-Gil, B., Iñiguez, V., Saavedra, V., Chiri, R., Latorre, E., Arranz, J.J. (2013 b). Analysis of mitochondrial DNA in Bolivian llama, alpaca and vicuna populations: A contribution to the phylogeny of the South American camelids. *Animal Genetics*, 44: 158–168; <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2012.02376.x>
- Czaplicki, Z., Mikołajczyk, Z., Prażynska, A. (2018). Analysis of functional properties of knitted fabrics made of alpaca wool and other fibres. *Fibres and Textiles in Eastern Europe*, 26: 52–59; <https://doi.org/10.5604/01.3001.0011.7302>
- Echalar, J., Barreta, J. (2022). Introgression in domestic camelid productive systems in Bolivia. *Small Ruminant Research*, 106742; <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2022.106742>
- Echalar, J., Barreta, J., Iñiguez, V., Romero, F., Callisaya, A.M., Saavedra, V. (2020). Intraspecific genetic analysis of Bolivian alpacas and interspecific relationship with llamas and vicunas. *Small Ruminant Research*, 189: 106137. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106137>
- Fan, R., Gu, Z., Guang, X., Marín, J.C., Varas, V., González, B.A., Wheeler, J.C., Hu, Y., Li, E., Sun, X., Yang, X., Zhang, C., Gao, W., He, J., Munch, K., Corbett-Detig, R., Barbato, M., Pan, S., Zhan, X., Bruford, M.W., Dong, C. (2020). Genomic analysis of the domestication and post-Spanish conquest evolution of the llama and alpaca. *Genome Biology*, 21: 1–26; <https://doi.org/10.1186/s13059-020-02080-6>
- García-Vallvé, S., Palau, J., Romeu, A. (1999). Horizontal gene transfer in glycosyl hydrolases inferred from codon usage in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Molecular Biology and Evolution*, 16: 1125–1134; <https://doi.org/10.1093/OXFORDJOURNALS.MOLBEV.A026203>
- Gerc, J., Tarnowska, E. (2014). Genetyka populacji na przestrzeni wieku. *Wszechświat*, 115: 183–188.
- Kadwell, M., Ferniez, M., Stanley, H.F., Baldi, R., Wheeler, J.C., Rosadio, R., Bruford, M.W. (2001). Genetic analysis reveals the wild ancestors of the llama and the alpaca. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 268: 2575–2584; <https://doi.org/10.1098/rspb.2001.1774>
- Kania-Gierdziewicz, J. (2006). Analiza struktury genetycznej – udział założycieli w puli genów populacji. *Wiadomości Zootechniczne*, XLIV, 2: 27–34.
- Krajewska-Wędzina, M., Raczyńska, A., Najbar, J., Turcewicz, P. (2020). Alpaki – nowy gatunek hodowlany w Polsce. Część I. Ogólna charakterystyka gatunku. *Życie Weterynaryjne*, 95 (7): 422–426.

- Lang, K.D.M., Wang, Y., Plante, Y. (1996). Fifteen polymorphic dinucleotide microsatellites in llamas and alpacas. *Animal Genetics*, 27: 293–293; <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.1996.tb00502.x>
- Letunic, I., Bork, P. (2019). Interactive Tree of Life (iTOL) v4: Recent updates and new developments. *Nucleic Acids Research*, 47: W256–W259; <https://doi.org/10.1093/nar/gkz239>
- Letunic, I., Bork, P. (2021). Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Research*, 49: W293–W296; <https://doi.org/10.1093/NAR/GKAB301>
- Marín, J.C., Romero, K., Rivera, R., Johnson, W.E., González, B.A. (2017). Y-chromosome and mtDNA variation confirms independent domestications and directional hybridization in South American camelids. *Animal Genetics*, 48: 591–595; <https://doi.org/10.1111/age.12570>
- Markowska-Daniel, I., Kita, J., Kalicki, M. (2018). Wielbłądowate jako potencjalne źródło chorób odzwierzęcych. *Życie Weterynaryjne*, 93: 470–475.
- Morón, J.A., Veli, E.A., Membrillo, A., Paredes, M.M., Gutiérrez, G.A. (2020). Genetic diversity and validation of a microsatellite panel for parentage testing for alpacas (*Vicugna pacos*) on three Peruvian farms. *Small Ruminant Research*, 193: 106246; <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106246>
- Nei, M. (1972). Genetic distance between populations. *The American Naturalist*, 106: 283–292; <https://doi.org/10.1086/282771>
- Paredes, G.F., Yalta-Macedo, C.E., Gutierrez, G.A., Veli-Rivera, E.A. (2020). Genetic diversity and population structure of llamas (*Lama glama*) from the Camelid Germplasm Bank – Quimsachata. *Genes*, 11: 541; <https://doi.org/10.3390/genes11050541>
- Peakall, R., Smouse, P.E. (2006). GenAEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6: 288–295; <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>
- Peakall, R., Smouse, P.E. (2012). GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*, 28: 2537–2539; <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
- Penedo, M.C.T., Caetano, A.R., Cordova, K.I. (1999). Six microsatellite markers for South American camelids. *Animal Genetics*, 30: 399; <https://doi.org/10.1046/j.1365-2052.1999.00526-21.x>
- Podbielska, A., Piórkowska, K. (2022 a). Examination of D-loop region and DBY gene as tools for identifying hybridisation in alpacas (*Vicugna pacos*) based on Polish populations. *Small Ruminant Research*, 211: 106690; [https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.\(2022.106690](https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.(2022.106690)
- Podbielska, A., Piórkowska, K. (2022 b). Wykorzystanie analiz molekularnych do oceny stopnia hybrydyzacji alpак utrzymywanych w Polsce. [w:] Kalbarczyk, K., Mołdoch-Mendoń, I. (red.), Chów i hodowla zwierząt – współczesne problemy z zakresu weterynarii. Wydawnictwo Naukowe TYGIEL, Lublin, ss. 69–79.
- Podbielska A., Radko A. (2020). Identyfikacja zwierząt towarzyszących i wolno żyjących. [w:] Ropka-Molik K., Smorąg Z. (red.), Chów i hodowla zwierząt gospodarskich na przestrzeni 70 lat – problemy i wyzwania. IZ PIB, Kraków, ss. 39–46.
- Podbielska, A., Piórkowska, K., Szmatoła, T. (2021 a). Microsatellite-based genetic structure and hybrid detection in alpacas bred in Poland. *Animals*, 11: 2193; <https://doi.org/10.3390/ani11082193>
- Podbielska, A., Ropka-Molik, K., Stefaniuk-Szmukier, M., Radko, A. (2021 b). Udział Instytutu Zootechniki PIB w organizacji Międzynarodowego Porównawczego Testu Biegłości Profilowania STR Gołębi w latach 2020/2021. *Wiadomości Zootechniczne*, 3: 96–100.
- Radzik-Rant, A., Rant, W., Pofelska, O. (2021). Wpływ odmiany barwnej na cechy jakościowe wełny alpак rasy huacaya. *Wiadomości Zootechniczne*, 59: 15–22.
- Stanley, H.F., Kadwell, M., Wheeler, J.C. (1994). Molecular evolution of the family Camelidae: A mitochondrial DNA study. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 256: 1–6; <https://doi.org/10.1098/rspb.1994.0041>



- Varas, V., Vásquez, J.P., Rivera, R., Longo, A., Valdecantos, P.A., Wheeler, J.C., Johnson, W.E., Marín, J.C. (2020). Interbreeding among South American camelids threatens species integrity. *Journal of Arid Environments*, 181; <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2020.104249>
- Wheeler, J.C. (1995). Evolution and present situation of the South American Camelidae. *Biological Journal of the Linnean Society*, 54: 271–295; [https://doi.org/10.1016/0024-4066\(95\)90021-7](https://doi.org/10.1016/0024-4066(95)90021-7)
- Wheeler, J.C. (2012). South American camelids – past, present and future. *Journal of Camelid Science*, 5: 1–24.
- Wheeler, J.C., Russel, A.J.F., Stanley, H.F. (1992). A measure of loss: prehispanic llama and alpaca breeds. *Archivos de Zootecnia*, 41: 467–475.
- Wheeler, J.C., Russel, A.J.F., Redden, H. (1995). Llamas and alpacas: Pre-conquest breeds and post-conquest hybrids. *Journal of Archaeological Science*, 22: 833–840; [https://doi.org/10.1016/0305-4403\(95\)90012-8](https://doi.org/10.1016/0305-4403(95)90012-8)

## ORGANIZATION OF THE 2022/2023 INTERNATIONAL LLAMA/ALPACA STR DNA TYPING COMPARISON TEST

### Summary

Alpacas (*Vicugna pacos*) belong to the South American camelids, native to the Altiplano region in the Andes. Alpaca breeding is also popular outside South American countries. In Poland, alpacas have been bred since 2004, and since 2021 they have been recognized as farm animals. An important aspect of animal breeding is conducting DNA profiling, which ensures parentage testing. High competence in DNA profiling is guaranteed by participation in proficiency tests organized by the International Society for Animal Genetics (ISAG). Such tests are organized every two years in collaboration with one of the participating laboratories. In the years 2022/2023, the organizer of the Alpaca/Llama Comparison Test was the National Research Institute of Animal Production in Balice. Twenty-two random samples from three farms were prepared and sent to all test participants. The samples were amplified using the multiplex PCR method, followed by STR separation using a capillary sequencer. The completed readings were genotyped, and the established DNA profiles were subjected to bioinformatics analysis. The selected DNA profiles were characterized by high genetic diversity, and the prepared DNA isolates were used to obtain standardized nomenclature by 12 laboratories.

**Key words:** alpacas, llamas, SACs, DNA profiling, STR markers, Comparison Test