

IX. APÉNDICES

A. **Secuencias de los once microsátélites.** A continuación se presentan las secuencias para los once microsátélites trabajados. Nótese que la secuencia microsátélite está marcada con color azul, y las regiones en las que se hibridizan los iniciadores están subrayadas.

1. Secuencia de NP94F

5'-

TTCAACTTGCATGCCTGCAGGTCGACTCTAGAGGATCACGAGTACCGCACGGCAC
CACAGCCCATGATTGAACACTCGCACGCTCGCTCGCTCACCGCGTAACAGC
ATCGACGGCGACGACGACCATGTTGCACGCTTTCGAAAAGATTATGTTGTTCCCTC
GGCGAAAGCGCCTTACCAGCCAAGTGTACGCGAGCCAGGGTTTTAGGGGACGTC
ACATAAAATGTCCTAATCTACAGCTGGGGCCACCGGGGCAGTTCGCGAGCGCGC
GAGCGCGCCCGGATTTATGGAAATGAGATTTTCGCGAGCAAATCCGCATCCGAGG
GAGGACGATTAGCCCGGCTCAACCCTCGTGCTCGTGCTCGGGAGGAAAGGGATTC
CTTTTTTTTTGTTTTGCTTCATCTCCTTTAGCGTTCGTGCCGTGTGTGAGCACGTA
TTACTATTTACATAATATTTGCCTCATAATTTATGCCACATCC**CACACACATAC**
ACGCGCGCGCGCTCGAATACAAAGGGCCC**TTTCTCAGCCACATACGCACACATG**
CGGCGAAGAACACACGCACGCGGTACAACAAGTTGCGCCAATAAATCATCCCCG
GGCACCATCGNCTTGGCATNAAGCTCGCTGCAAAAAGCGCGAAATTGTNACTTAC
GGCCGCGGGCAAGCTATCGGCTACAACATTCACACACACACACACACACTTN
AAGATGCCCCAAAAACAGGGCTNAACCGTNGGTGGATCAAACCATCGGGTTGG
TNAAGTTACTTTTCGATCCCGTGCCGGCTGCATGCTGGACNACCTCANTGTTCANN
TTTACCTTTATAACGAGCATTANCNCANCATTTGANGTTCGGGGNTCTGNTCCTTT
TTCNAAGCTTAATNCCCAATTAAGCATTCNAAACGACTNTTTNGAGCCNTTAAA
ACTGGTTGNNGNTTCTTTTCCAAAAATNCTTACCAACCCACTTTGGGCAAACNTT
GGTTTGCGNTTTTGGAACCCACCCAAAACCTGGAATTGTTTTCNNTGCGANAACAA
ACANT-3'

Tamaño de la secuencia amplificada: 102 pb + 41 pb (iniciadores) = 143 pb

2. Secuencia de NP113F

5'-

GAAANCCCGCATGCCTGCANGTCGACTCTAGAGGATCGCAAAGAAACCCCAAGC
AGCTGGAATTGTTGAAGGAGGAATTGGACATGCTAAAAGAAAATAGGGCGGATC
ATACCCTGCTCGCCGGTTCGATGGGCCGTACCCACAGCCACCCATCGCCCATGT
CGTTGTGGACGAAGAAGATGTCCCCCTTCTGGAACGTCAGCTCATCCGTATCGGG

CATCTTCGTGTAGGGCAGGATCAACGCATGAATCTATGCAATAGTTTCGAGAATGA
 ACCACACATATTCAACCAATTCTTCCTGATACGAGGTACACGAAGCTACCTCATT
 CTACGTACATTCACTCCAACCCTTCACACGCTGAATTCCACCATTTTGATCAAT
 CGTAATCTGCAGCCAGCAGCCAGCTTGCCATGTGGTCCATCACTTTTGTCAATTGC
 AGACCACGAACGTAGTGTTCGTAAATTATCGATGTATCACAGCCAATTTTCATGG
 GTAACCCTACAGTAAATAAGAGTACAGCTTCATACGAGAAATCGAAATTCGAAA
 CCACCATTGGAACATGGGATTTACATAATAGCAGCGGAAAACTATGCCGCCTT
 TGCATTATAAGCAAGGATTAGGTAAGTTCCCGTGGAAATGTTCCGTTGCCAACAGA
 GAAAGAGTATTGGAATGGTGTGTAAGCTAAATGAAATTATACCAACCGAACGC
ATCATTCAATGTTTCGATGGTCATACGT**CACACACACACGCATACACACACACACA**
CACACACTACACATATAGNTTTAACGTA CTGNTAGGATGGACCAGTATCGCATGC
GTTTCGANCCGGCGCGAAACTGATGGTAGACGATGCTTCCGANACCAGGCGTAG
 CCGTTAGCATTGATGCTGNTGNGGACNAACTGGGGCGANCCCCGGGTNCCGA
 GCTCGAATTCGTANTCATGGGNCATAGCTGGTTTCCTGGGGTGAAATGGTTNTCC
 CGTTACAATTCCCCNACATTCNAACCCGGAGGCATTAAG-3'

Tamaño de la secuencia amplificada: 73 pb + 42 pb (iniciadores) = 115 pb

3. Secuencia de NP76consA

5'-

CGTCGATCGCGGACGCAAACCTCCMAGCTAAATTGGAGAAGAGAAGAGGGGTTTCG
 CATCATCATCCCCGTGGCTGCCTCTCATCATCATCATCATCGATGATGATCAA
 TTACCCGGTTTTTCTGCAGGACACCTGTGGTCCGGCTTACCGCCAGTGATAAATACT
 TCAATTTTCTCCTTGCCCGTTCTGGTGACGCCGGCAG**ACACACCCATACACACA**
CACACACACACACACACACACACATACGCCCACTCACTCTGTGTTCTGTGAAA
AAGGCCGATTCTGCGTTCCAGTACGCGAAGGTTTGATAAATACCGCCTTACTTAT
 ATCGATAAGAGATTACAGGACGAACGATGATCGAAAAAATCGGATTCCGCCGCG
 CGGCTTACGACGTTGGACGGACATCGCGTACCTGCTGTCGTCGTCGTCGATC
 CCCGGGTACCGAGCTCGAATTCGTAATCATGGTCATAGCTGTTTCCTGTGTGAAA
 TTGTTATCCGCTACAATTCCACACAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTGTA
 GCCTGGGGTGCCTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGC
 CCGSTTTAGTCGGGAAACCTGTGCTGCCAGCTGCATTAATGAATCGGCCAACGC
 GCGGNGAGAGGCGGTTTGCCKATTGGCGCTCTTTCGSTTCCTCGCTCACTGACTCG
 CTGCGCTCGGTTCG-3'

Tamaño de la secuencia amplificada: 104 pb + 40 pb (iniciadores) = 144 pb

4. Secuencia de NP128F

5'-

GAAANCCCGCATGCCTGCAGGTGCGACTCTAGAGGATCGGCCAGCAGCGTATCGTC
 ACGACCGGACGAATGCGATCATCCCAAGCATCTTCCCCATTCTTCTCGTCATCGTG
CTCTCGTGATGGCCCGTGACCGTGGCCCAGCACCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
CTCTCTTTCTCCCTCCTGTTCCCTCCTTTCTCTCGTGCATTACGGTGCGCCTTGA
GAAATCGTCCAAATTGTATGATAAATGATTTTTAATAATATTAATTTGAAGATAT
 AAATCTAATGTGTCAAGTCGTTATCGATGGAATGTTAAGTTGCGCGTTGCGCGTT
 GCGCGTTGCGGCACGCGGCTCACGCAGGGAAATTGAGTGGCTACACTTGGTGATT
 CTGGAATGGAATGATTTGGAAATTCACAACCACCAGCACCACCATCACCACCAC
 CACGCCTCGCACGCCGCTAGCATTCCAGCAATGCGCGATCGCGAGCCGGCTGAGC
 AGAGCGACTGATTGTCATCTCCGAGGGCCGCCATTTTTTCTCCCATCCATGTTTTT
 CGGGGGGGGGGGTGACGACGATGCTTCAAATGACCGACCGACTGGTGGC
 GGTGGGGTCTTTTTTACCAGTTTTTTTTGCATTTAAATGCGAATCAAAAGCTAA
 AGACAAAAGGGCTTACTGTGGCGCTCGCAAGGCCGGAAGGCTGACTATGGAATG
 GAAATGGAACCCGCGTGGCGTTTATGATTTTATATTAATCAACCCGCAAGCAGCA
 TGGCNCTTGAATTGGGAACCAANCCTANNCACATACTTTTGTGGGCAAACCTTG
 CCCNTTACGTCCCTTCCAGTGGACTTTACTGGTTATTGTTGGGGCGTCCCTCGTT
 TTTTGNNCAAAGNCTTTTCTTNGGTTAATANCCCTTACAANNNTTCGCCGGGGNA
 TTGCCCCCGGGAGCAAACNGGTNTTACNGGAAACATNGGGGGGAATTCCCCAA
 ACNCCCCAAACCCTTTATTTAAATCCCGGGGGTNANNTN-3'

Tamaño de la secuencia amplificada: 97 pb + 41 pb (iniciadores) = 138 pb

5. Secuencia de NP81R

5'-

GATCGCGGCTGTGTGTTGAAGAGGGGTGTAGGGGGCGGGTGTGTTGGTGCCTTC
 TCGTCATCAACAGTGAACCGTTCCTGGTGTGAAGAGCCTTCCATCTCGCACCGGG
 AGCGAGAAGCGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGGTCAACGATAGCGGAGGCC
GTTACCAAACCTTTCGGTTCGGTTAGTGCGTTGGCGGGGGTAGACTGATGAGGGCG
 GTGAATTATCCTGCTGAAGGAAGGGGGAGTGGAAGTANGGAAGATGCTAACNGT
 NGCCACCATAACCACCAGCGACACTCAACCGTAATNCTTGCCATCCTATGTCCAC
 TTNTTGGATGGATGGATGGNTGGATTNNNCTGNATGCNCTGGATGGATGAAGCCT
 TTCA-3'

1-1193	L 5-1	Junio	2001	Santa Rosa	3670	19
ID	Lote	Mes	Año	Localidad	ID vial	ID análisis
1-20-342	L 12-1	Septiembre	2000	Santa Rosa	1323	20
1-20-341	P 26-1	Septiembre	2000	Santa Rosa	5268	21
1-25-360	L-36-1	Septiembre	2000	El Afán	852	22
1-25-487	L 47-1	Octubre	2000	El Afán	5375	23
1-25-485	L 2-1	Octubre	2000	El Afán	5391	24
1-1392	L 47-1	Agosto	2001	El Afán	5641	25
1-1478	L 37-1	Septiembre	2001	Horizontes	5789	26
1-1478	L 37-1	Septiembre	2001	Horizontes	5786	27
1-1313	L 9-1	Julio	2001	Horizontes	5613	28
1-27-373	L-61-1	Septiembre	2000	Horizontes	876	29
1-27-503	L 37-1	Octubre	2000	Horizontes	3178	30
1-1395	L 43-1	Agosto	2001	Margaritas II	5647	31
1-1310	L 18-2	Julio	2001	Margaritas II	3318	32
1-1309	L 43-1	Julio	2001	Margaritas II	5586	33
1-1213	L 10-1	Junio	2001	Margaritas II	3573	34
1-1302	L 3-1	Julio	2001	Santa Ana	5605	35
1-24-489	L 36-1	Octubre	2000	Santa Ana	2675	36
1-24-357	L-12-1	Septiembre	2000	Santa Ana	846	37
1-24-357	L-12-1	Septiembre	2000	Santa Ana	847	38
1-1466	L 12-1	Septiembre	2001	Santa Ana	5652	39
1-5-405	L 18-1	Octubre	2000	Carolina	965	40
1-1505	L 6-1	Octubre	2001	Carolina	5845	41
1-1505	L 6-1	Octubre	2001	Carolina	5846	42
1-5-278	L 6-1	Septiembre	2000	Carolina	4766	43
1-1421	L 29-1	Septiembre	2001	Carolina	5661	44
1-1164	L 27-1	Junio	2001	El Peñón	1813	45
1-1154	L A-4	Junio	2001	El Peñón	3808	46
1-1156	L 15-1	Junio	2001	El Peñón	1759	47
1-7-312-1	L 48-1	Septiembre	2000	El Peñón	5199	48
1-7-425	L 15-1	Octubre	2000	El Peñón	5327	49

1-8-287	L 58-1	Septiembre	2000	Esija	4786	50
ID	Lote	Mes	Año	Localidad	ID vial	ID análisis
1-8-287	L 58-1	Septiembre	2000	Esija	4787	51
1-1346	L 72-1	Agosto	2001	Punto Chico	5614	52
1-1257	L 72-1	Julio	2001	Punto Chico	3766	53
1-1147	L 72-1	Junio	2001	Punto Chico	1814	54
1-1493	L 72-1	Octubre	2001	Punto Chico	6244	55
1-22-289	A 14-1	Septiembre	2000	Punto Chico	4843	56
1-1-388	L 5-1	Octubre	2000	Monterrey	1094	57
1-1-256	L 59-1	Septiembre	2000	Monterrey	4700	58
1-1-256	L 59-1	Septiembre	2000	Monterrey	4701	59
1-1-258	L 5-1	Septiembre	2000	Monterrey	4746	60
1-1-258	L 5-1	Septiembre	2000	Monterrey	4747	61
1-1-258	L 5-1	Septiembre	2000	Monterrey	4745	62
1-2-263	L 53-1	Septiembre	2000	Sonora	3227	63
1-1234	L 54-1	Julio	2001	Sonora	3667	64
1-1235	L 48-2	Julio	2001	Sonora	5573	65
1-1237	L 10-2	Julio	2001	Sonora	5576	66
1-1122	L 17-1	Junio	2001	Sonora	1763	67
1-1121	L 54-1	Junio	2001	Sonora	1779	68
1-2-263	L 53-1	Septiembre	2000	Sonora	3228	69
1-2-262-1	L 17-1	Septiembre	2000	Sonora	4658	70
1-23-579	L 7-1	Noviembre	2000	El Quetzal	2438	71
1-23-579	L 7-1	Noviembre	2000	El Quetzal	2439	72
1-23-580	L 36-1	Noviembre	2000	El Quetzal	2447	73
1-23-580	L 36-1	Noviembre	2000	El Quetzal	2448	74
1-23-582	L 11-1	Noviembre	2000	El Quetzal	2455	75
1-10-559	L 4-1	Noviembre	2000	Lorena	3229	76
1-17-685	L-37-1	Diciembre	2000	San Alfonso	125	77
1-17-685	L-37-1	Diciembre	2000	San Alfonso	127	78
1-17-686	L-27-1	Diciembre	2000	San Alfonso	514	79
1-17-575	L 22-1	Noviembre	2000	San Alfonso	3223	80

1-17-574	L 53-1	Noviembre	2000	San Alfonso	3230	81
ID	Lote	Mes	Año	Localidad	ID vial	ID análisis
1-20-699	L-5-1	Diciembre	2000	Santa Rosa	391	82
1-20-772	L 53-1	Enero	2001	Santa Rosa	1718	83
1-20-774	L 47-1	Enero	2001	Santa Rosa	2396	84
1-20-613	L 53-1	Noviembre	2000	Santa Rosa	2598	85
1-20-772	L 53-1	Enero	2001	Santa Rosa	1715	86
1-25-717	L-47-1	Diciembre	2000	El Afán	424	87
1-25-625	L-36-1	Noviembre	2000	El Afán	110	88
1-25-626	L-2-1	Noviembre	2000	El Afán	113	89
1-25-626	L-2-1	Noviembre	2000	El Afán	114	90
1-798	L 61-1	Enero	2001	Horizontes	6221	91
1-798	L 61-1	Enero	2001	Horizontes	6222	92
1-1566	L 37-1	Noviembre	2001	Horizontes	6358	93
1-26-722	L 10-1	Diciembre	2000	Margaritas II	2382	94
1-797	L 10-1	Enero	2001	Margaritas II	6312	95
1-24-630	L-3-1	Noviembre	2000	Santa Ana	84	96
1-5-546	L 29-1	Noviembre	2000	Carolina	3039	97
1-5-546	L 29-1	Noviembre	2000	Carolina	3040	98
1-5-546	L 29-1	Noviembre	2000	Carolina	3041	99
1-5-544	L 15-1	Noviembre	2000	Carolina	5359	100
1-7-571	L 15-1	Noviembre	2000	El Peñón	3429	101
1-7-571	L 15-1	Noviembre	2000	El Peñón	3430	102
1-7-571	L 15-1	Noviembre	2000	El Peñón	3431	103
1-1557	L 21-1	Noviembre	2001	El Peñón	6347	104
1-1559	L 15-1	Noviembre	2001	El Peñón	6349	105
1-8-757	L 58-2	Enero	2001	Esija	1712	106
1-22-537	L 50-1	Noviembre	2000	Punto Chico	3164	107
1-22-537	L 50-1	Noviembre	2000	Punto Chico	3165	108
1-22-538	L 31-1	Noviembre	2000	Punto Chico	5372	109
1-1562	L 72-1	Noviembre	2001	Punto Chico	6354	110
1-1562	L 72-1	Noviembre	2001	Punto Chico	6355	111

1-1-727	L 59-1	Enero	2001	Monterrey	2388	112
ID	Lote	Mes	Año	Localidad	ID vial	ID análisis
1-1-518	L-59-1	Noviembre	2000	Monterrey	38	113
1-1-516	L-5-1	Noviembre	2000	Monterrey	46	114
1-1551	L 26-1	Noviembre	2001	Monterrey	6284	115
1-1551	L 26-1	Noviembre	2001	Monterrey	6285	116
1-1551	L 26-1	Noviembre	2001	Monterrey	6286	117
1-2-521	L-7-1	Noviembre	2000	Sonora	35	118
1-2-521	L-7-1	Noviembre	2000	Sonora	36	119
1-2-521	L-7-1	Noviembre	2000	Sonora	37	120
1-521	L 7-1	Noviembre	2000	Sonora	6201	121
1-952	L 11-1	Marzo	2001	Cari	1379	122
1-941	L 7-1	Marzo	2001	El Quetzal	1415	123
1-925	L 36-1	Marzo	2001	Lorena	1422	124
1-947	L 22-1	Marzo	2001	San Alfonso	1369	125
1-947	L 22-1	Marzo	2001	San Alfonso	1370	126
1-947	L 22-1	Marzo	2001	San Alfonso	1372	127
1-948	L 27-1	Marzo	2001	San Alfonso	1398	128
1-948	L 27-1	Marzo	2001	San Alfonso	1399	129
1-960	L12-1	Marzo	2001	Santa Rosa	1719	130
#2♂P						131
#2♀P						132
#2F1B						133
#2F1C						134
#2F1D						135
#7♂P						136
#7♀P						137
#7F1A						138
#7F1B						139
#7F1D						140
#2F1A						141
#7F1C						142

1-1376	L 36-1	Agosto	2001	El Quetzal	5634	143
ID	Lote	Mes	Año	Localidad	ID Vial	ID análisis
1-23-458	L 23-1	Octubre	2000	El Quetzal	5403	144
1-23-326	L 11-1	Septiembre	2000	El Quetzal	5299	145
1-23-327	L 36-1	Septiembre	2000	El Quetzal	5318	146
1-23-327	L 36-1	Septiembre	2000	El Quetzal	5319	147
1-23-327	L 36-1	Septiembre	2000	El Quetzal	5320	148
1-1378	L 27-1	Agosto	2001	San Alfonso	5639	149
1-1293	L 42-1	Julio	2001	San Alfonso	3338	150
1-1293	L 42-1	Julio	2001	San Alfonso	3339	151
1-1292	L 37-1	Julio	2001	San Alfonso	3369	152
1-1292	L 37-1	Julio	2001	San Alfonso	3370	153
1-1292	L 37-1	Julio	2001	San Alfonso	3371	154
1-1292	L 37-1	Julio	2001	San Alfonso	3372	155
1-1294	L 22-1	Julio	2001	San Alfonso	3401	156
1-1294	L 22-1	Julio	2001	San Alfonso	3402	157
1-1294	L 22-1	Julio	2001	San Alfonso	3403	158
1-1294	L 22-1	Julio	2001	San Alfonso	3404	159
1-1188	L 27-1	Junio	2001	San Alfonso	3677	160
1-1188	L 27-1	Junio	2001	San Alfonso	3678	161
1-1064	L 21-1	Mayo	2001	San Alfonso	1756	162
1-1064	L 21-1	Mayo	2001	San Alfonso	1757	163
1-17-461	L 27-1	Octubre	2000	San Alfonso	3422	164
1-17-461	L 27-1	Octubre	2000	San Alfonso	3423	165
1-17-461	L 27-1	Octubre	2000	San Alfonso	3424	166
1-17-461	L 27-1	Octubre	2000	San Alfonso	3425	167
1-17-461	L 27-1	Octubre	2000	San Alfonso	3426	168
1-1513	L 53-1	Octubre	2001	San Alfonso	6251	169
1-17-330	L 22-1	Septiembre	2000	San Alfonso	5080	170
1-1540	L 1-1	Octubre	2001	El Afán	6260	171
1-1546	L 41-1	Octubre	2001	El Afán	6276	172
1-25-360	L-36-1	Septiembre	2000	El Afán	849	173

1-25-360	L-36-1	Septiembre	2000	El Afán	850	174
ID	Lote	Mes	Año	Localidad	ID Vial	ID análisis
1-25-360	L-36-1	Septiembre	2000	El Afán	851	175
1-25-361	L 19-1	Septiembre	2000	El Afán	1321	176
1-1396	L 67-1	Agosto	2001	Horizontes	4033	177
1-1396	L 67-1	Agosto	2001	Horizontes	4034	178
1-1396	L 67-1	Agosto	2001	Horizontes	4035	179
1-1396	L 67-1	Agosto	2001	Horizontes	4036	180
1-1396	L 67-1	Agosto	2001	Horizontes	4037	181
1-1396	L 67-1	Agosto	2001	Horizontes	4038	182
1-1311	L 61-1	Julio	2001	Horizontes	3381	183
1-27-503	L 37-1	Octubre	2000	Horizontes	3177	184
1-27-503	L 37-1	Octubre	2000	Horizontes	3179	185
1-27-503	L 37-1	Octubre	2000	Horizontes	3180	186
1-27-501	L 83-2	Octubre	2000	Horizontes	3225	187
1-27-501	L 83-2	Octubre	2000	Horizontes	3226	188
1-1310	L 18-2	Julio	2001	Margaritas II	3319	189
1-1310	L 18-2	Julio	2001	Margaritas II	3320	190
1-1310	L 18-2	Julio	2001	Margaritas II	3321	191
1-1213	L 10-1	Junio	2001	Margaritas II	3574	192
1-26-497	L 43-1	Octubre	2000	Margaritas II	5389	193
1-26-365-1	L 18-1	Septiembre	2000	Margaritas II	2387	194
1-1473	L 27-1	Septiembre	2001	Margaritas II	4373	195
1-1475	L 18-2	Septiembre	2001	Margaritas II	5922	196
1-24-489	L 36-1	Octubre	2000	Santa Ana	2676	197
1-24-491	L 3-1	Octubre	2000	Santa Ana	5401	198
1-7-426	L 48-1	Octubre	2000	El Peñón	1575	199
1-7-426	L 48-1	Octubre	2000	El Peñón	1576	200
1-7-426	L 48-1	Octubre	2000	El Peñón	1577	201
1-1344	L 12-1	Agosto	2001	Punto Chico	5625	202
1-1257	L 72-1	Julio	2001	Punto Chico	3767	203
1-22-289	A 14-1	Septiembre	2000	Punto Chico	4844	204

1-22-293-1	L 72-1	Septiembre	2000	Punto Chico	5195	205
ID	Lote	Mes	Año	Localidad	ID Vial	ID análisis
1-22-293-1	L 72-1	Septiembre	2000	Punto Chico	5196	206
1-1234	L 54-1	Julio	2001	Sonora	3668	207
1-1122	L 17-1	Junio	2001	Sonora	1764	208
1-1121	L 54-1	Junio	2001	Sonora	1780	209
1-1408	L 10-2	Septiembre	2001	Sonora	5659	210
1-2-390	L 53-1	Octubre	2000	Sonora	963	211
1-2-389	L 48-1	Octubre	2000	Sonora	964	212
1-23-682	L-7-1	Diciembre	2000	El Quetzal	389	213
1-23-579	L 7-1	Noviembre	2000	El Quetzal	2435	214
1-23-579	L 7-1	Noviembre	2000	El Quetzal	2436	215
1-23-579	L 7-1	Noviembre	2000	El Quetzal	2437	216
1-23-580	L 36-1	Noviembre	2000	El Quetzal	2440	217
1-23-580	L 36-1	Noviembre	2000	El Quetzal	2441	218
1-23-580	L 36-1	Noviembre	2000	El Quetzal	2442	219
1-23-580	L 36-1	Noviembre	2000	El Quetzal	2443	220
1-23-580	L 36-1	Noviembre	2000	El Quetzal	2444	221
1-23-580	L 36-1	Noviembre	2000	El Quetzal	2445	222
1-23-580	L 36-1	Noviembre	2000	El Quetzal	2446	223
1-17-685	L-37-1	Diciembre	2000	San Alfonso	126	224
1-17-575	L 22-1	Noviembre	2000	San Alfonso	3224	225
1-20-772	L 53-1	Enero	2001	Santa Rosa	1184	226
1-20-772	L 53-1	Enero	2001	Santa Rosa	1713	227
1-20-772	L 53-1	Enero	2001	Santa Rosa	1714	228
1-20-772	L 53-1	Enero	2001	Santa Rosa	1716	229
1-20-772	L 53-1	Enero	2001	Santa Rosa	1717	230
1-1559	L 15-1	Noviembre	2001	El Peñón	6350	231
1-1-516	L-5-1	Noviembre	2000	Monterrey	45	232

C. Recetas de buffers y soluciones.

Preparación de Fenol saturado con Agua

1. Se saca la botella de fenol del congelador y se deja fuera hasta que llegue a temperatura ambiente.
2. Se afloja la tapadera de la botella para evitar que la presión la rompa.
3. Se coloca la botella en un baño de agua a 65°C hasta que los cristales se hayan deshecho.
4. Si la botella es de 100g, la saturación se puede realizar allí mismo. Si la botella es de 1 kg, se retira la porción de fenol que se va a saturar y lo que no se va a utilizar se guarda a -20°C bajo nitrógeno.
5. Se agrega suficiente agua destilada-desionizada para llenar la botella de 100g hasta la base del cuello.
6. Se cierra la botella y se mezclan las fases hasta que se forme una emulsión fina.
7. Se coloca a 4°C hasta que las fases se separan (8 – 16 horas).
8. Se aspira la capa superior.
9. Se hacen alícuotas de fenol del volumen deseado y se les agrega suficiente agua destilada-desionizada para cubrir el fenol.
10. Se almacena a 4°C, protegido de la luz (en botellas de color ámbar o en botellas envueltas en papel aluminio).

Preparación de Fenol saturado con Tris-HCl

1. Se toma una alícuota de fenol saturado con agua y se le agrega un volumen igual de Tris-HCl 0.5 M, pH 8.0.
2. Se mezcla bien y se dejan separar las fases a temperatura ambiente.
3. Se aspira la fase acuosa superior.
4. Se agrega un volumen de Tris-HCl 0.1M, pH 8.0 y se repite el paso 2.
5. Se revisa el pH de la fase acuosa con papel pH y se repiten los pasos 3 y 4 hasta obtener el pH deseado (pH 8).
6. Se almacena a 4°C protegido de la luz (en botellas de color ámbar o en botellas envueltas en papel aluminio).

Buffer de macerado

Buffer de macerado (0.1 M Tris-HCl, 0.6 M EDTA, 0.08 M NaCl, 0.5% SDS, sucrosa 0.16M, pH 9, 100mL)

Tris- HCl 1 M, pH 9.0	10 mL
EDTA 0.5 M, pH 8.0	12 mL
NaCl 5 M (11.688g/40mL)	1.6 mL
SDS 20% (p/v)	2.5 mL
Sucrosa	5.48 g

Agua destilada aforar a 100 mL

Se filtra la solución a través de un filtro de 0.2 u, luego se calienta a 65°C por una hora para desactivar las Dnasas. Se almacena en refrigeración. Para un almacenamiento a más largo plazo, se congela en alícuotas a -20°C. Antes de utilizar, dejar que el buffer llegue a temperatura ambiente para redissolver el precipitado de SDS antes de utilizarlo.

Buffer TBE 10X

Tris base	108 g
Acido bórico	55 g
<u>EDTA 0.5M, pH 8.0</u>	<u>40 mL</u>
Volumen total	1 L

Levadura y cereal

75 g cereal

25 g levadura

Se muele, y se ponen varias pizcas del polvo en el agua.

D. Estrategias para el análisis simultáneo de múltiples fragmentos utilizando un equipo de electroforesis capilar 3100

1. Consideraciones para el diseño experimental. El marcaje con diferentes colorantes fluorescentes permite analizar varios loci independientes en la misma línea, utilizando el color o el tamaño para distinguir entre diferentes fragmentos. Los factores a considerar al diseñar el experimento son:

- Rangos de tamaños de alelos que se traslapan
- Múltiple reacción en cadena de la polimerasa (PCR)
- Optimización de la concentración de sales
- Correr varias muestras en la misma línea
- Medir y cuantificar muestras de fragmentos

(Guía química GeneScan)

a. Rangos de tamaños de alelos que se traslapan. Si el rango de el tamaño de diferentes productos de PCR se traslapan, se puede realizar lo siguiente para diferenciarlo y poder trabajarlos juntos:

- Marcar productos que se traslapan con diferentes colores
- Escoger nuevos iniciadores para alterar el tamaño del fragmento del producto de PCR
- Montar productos que se traslapan en diferentes pozos de la gel

(Guía química GeneScan).

b. Múltiple reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se puede realizar una múltiple reacción de PCR al agregar más de una pareja de iniciadores en el mismo tubo de reacción y realizar el PCR. Si se lleva a cabo lo anterior, primero se debe considerar la compatibilidad de los iniciadores tal como excesivas regiones de complementaridad, o temperaturas de hibridización similares (Guía química GeneScan).

Una vez se hayan escogido parejas de iniciadores compatibles, se debe de probar si la co-amplificación de las parejas es buena. El hacer una reacción múltiple requiere optimizar las condiciones de la reacción, y algunas veces requiere volver a diseñar los iniciadores (Guía química GeneScan).

c. Optimización de la concentración de sales. Cargar varios productos de PCR en la misma línea mejora el procedimiento, pero también incrementa la concentración de sales en las muestras. Esto puede inhibir completamente la desnaturalización de la doble hebra de ADN. Por ejemplo, el ABI Prism 377 detecta menos ADN haciendo la señal más débil. Para prevenir que las altas concentraciones de sales tengan un impacto negativo en las corridas, se debe asegurar que se utilicen volúmenes iguales de formamida y solución de PCR. Para aumentar la intensidad de la señal, se puede realizar una de las dos opciones siguientes:

- Combinar las muestras, precipitar el producto y resuspender las muestras
- Utilizar una columna de separación iónica.

Si se evaporan las muestras se incrementa la concentración de sal, lo cual dificulta la desnaturalización en los pasos subsiguientes (Guía química GeneScan).

d. Correr varias muestras en la misma línea. Se puede hacer un PCR en tubos de reacción separados, luego se juntan los productos, y se corren varias muestras en la misma línea de la gel. Si se van a correr múltiples muestras juntas, considerar lo siguiente:

- Utilizar diferentes colorantes ABI Prism para marcar cada muestra que se va a correr en la misma línea.
- Cada colorante tiene diferente absorción máxima, por lo que la intensidad de cada señal fluorescente emitida difiere para cada colorante. La intensidad de emisión de la señal de cada colorante tiene el siguiente orden, puesto de menor a mayor:
 - ROX (menor intensidad de señal)
 - TAMRA
 - HEX
 - 6-FAM, TET (mayor intensidad de señal)

(Guía química GeneScan)

Al marcar los fragmentos, se debe utilizar mayor concentración de colorante para colorantes que tienen menor intensidad de emisión que para los que tienen mayor intensidad. Por ejemplo, se necesita utilizar ocho veces más de colorante ROX que de 6-FAM, o TET para generar señales de similar intensidad. Al escoger la combinación de colorantes para marcar las muestras, escoger aquellos que se puedan detectar por el mismo filtro virtual A ó C (cuadro 35) (Guía química GeneScan).

Set de Filtros Virtuales					
		A		C	
Colorantes		Color Mostrado	Longitud de Onda del Centro de Detección	Color Mostrado	Longitud de Onda del Centro de Detección
fosforo amidita	HEX	Verde	559 nm	Amarillo	557 nm
	6-FAM	Azul	535 nm	Azul	532 nm
	TET	*	*	Verde	543 nm
NHS Esteres	TAMRA	Amarillo	586 nm	Rojo	584 nm
	ROX	Rojo	615 nm	*	*
	5-FAM	Azul	535 nm	*	*
	JOE	Verde	559 nm	*	*
[F] dUTPs	TAMRA	Amarillo	586 nm	Rojo	584 nm
	RG6	Verde	559 nm	Amarillo	557 nm
	R110	Azul	535 nm	Azul	532 nm

* no se recomienda; el filtro virtual no está adaptado a la emisión máxima

Cuadro 35. Colorantes ABI Prism y los colores que muestran los sets de filtros virtuales

e. Cuantificar fragmentos. Al preparar las muestras, se debe considerar cómo el escoger el colorante y el estándar afecta el análisis del tamaño del fragmento y la cantidad. Para un mismo estudio, se debe utilizar el mismo estándar y colorantes para todas las muestras (Guía química GeneScan).

Al analizar los resultados, se debe comparar únicamente la altura, tamaño o áreas de los picos de los fragmentos que están marcados con el mismo colorante. Por ejemplo, comparar los fragmentos marcados con HEX únicamente con otros fragmentos marcados con HEX (Guía química GeneScan).

E. Métodos para marcar con fluorescencia. La aplicación más común del GeneScan es analizar el ADN amplificado por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Existen dos técnicas que se pueden utilizar para marcar los fragmentos de ADN con fluorescencia durante la amplificación en el proceso de PCR:

- Marcaje en el extremo 5'
- Marcaje fluorescente con dUTP

(Guía química GeneScan)

A continuación se describe la técnica del marcaje en el extremo 5', ya que fue la utilizada en este estudio.

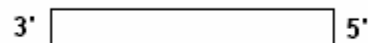
1. Marcaje en el extremo 5'. Esta técnica utiliza iniciadores marcados con fluorescencia para marcar una de las hebras de la plantilla de ADN durante el PCR. Uno de los iniciadores debe estar marcado con fluorescencia en el extremo 5' (Guía química GeneScan).

Los productos de PCR se pueden marcar en una o ambas hebras. De todas formas, bajo condiciones desnaturalizantes, los productos de PCR que están marcados en ambas hebras pueden ser detectados como picos dobles debido a que la secuencia de ambas hebras es diferente. Las dos hebras se pueden marcar con diferentes colores para aplicaciones que requieran el análisis de las dos hebras (Guía química GeneScan).

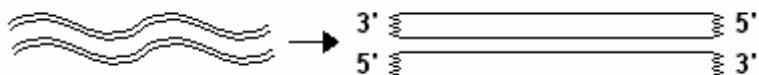
La técnica del marcaje en el extremo 5' consiste de cuatro pasos:

Iniciador *forward* con marcaje

Iniciador *reverse* sin marcaje



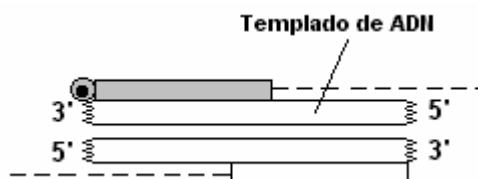
- 1) Desnaturalización



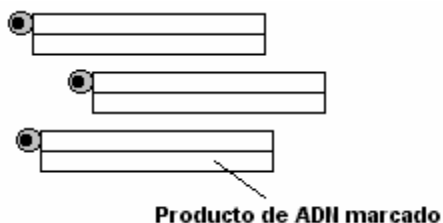
- 2) Hibridación



- 3) Extensión



4) Amplificación



Más adelante cuando el producto de PCR se desnaturaliza, las hebras se separan. Únicamente la hebra con marcaje es detectada por el ABI Prism 377. La técnica con marcaje fluorescente con dUTP sí marca ambas hebras de ADN (Guía química GeneScan).

F. Arreglo de capilares de 36 cm. Al escoger la distancia para leer entre pozos durante la corrida, se debe de tomar en cuenta si el protocolo requiere alta resolución o es un análisis de alta velocidad. Para aplicaciones que requieren de alta resolución se debe de escoger la distancia de 36 cm. Esta aplicaciones muestran bastante separación entre los fragmentos analizados, y permiten obtener mayor el tamaño de los fragmentos con mayor exactitud y precisión. Para aplicaciones que requiere de alta velocidad, en donde no se requiere alta resolución entre fragmentos, se debe de escoger la distancia de 12 cm. La figura 35 muestra un ejemplo de los resultados obtenidos al analizar una muestra utilizando primero 36 cm y luego 12 cm de distancia para leer entre pozos (Guía química GeneScan).

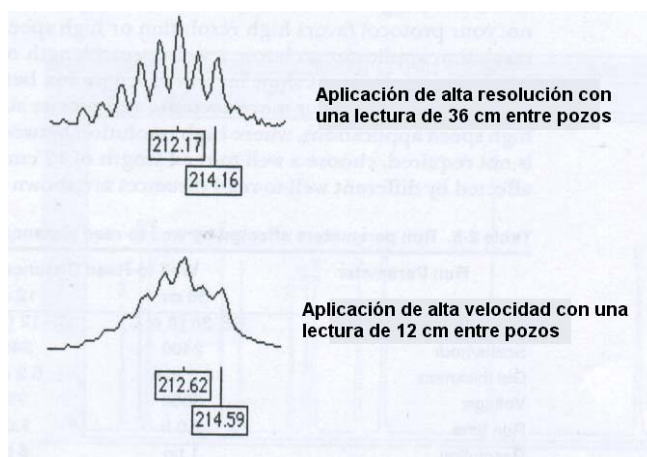


Figura 35. Efecto de la distancia, entre pozos, en la resolución de fragmentos (Guía química GeneScan)

G. Marcador molecular GeneScan-500. Es un estándar interno útil para fragmentos que tienen un tamaño entre 35 y 300 pares de bases. Los fragmentos del estándar interno están uniformemente espaciados para proveer un tamaño exacto (Cuadro 36).

500	350	200	100
490	340	160	75
450	300	150	50
400	250	139	35

Cuadro 36. Tamaños moleculares, en nucleótidos, del fragmento desnaturalizado de GeneScan-500

GeneScan-500 está preparado por la digestión con Pst I de un plásmido de ADN, seguido de la ligación de TAMRA ó ROX- marcado 22-meroligodeoxinucleótido para cortar los extremos. Una digestión enzimática subsecuente con BstU I produce fragmentos de ADN que contienen un solo colorante, TAMRA ó ROX (Guía química GeneScan).

GeneScan-500 consta de fragmentos de ADN de doble hebra, pero solamente una de las hebras está marcada con colorante de ABI prism. Como consecuencia, bajo condiciones desnaturalizantes, aunque las dos hebras migren a diferente velocidad, solamente la hebra marcada se detecta. Por lo anterior, se pueden desprestigiar los picos partidos que resultan cuando dos hebras se mueven a través de una gel desnaturalizada a diferentes velocidades (Figura 36). Si GeneScan-500 se corre bajo condiciones nativas se obtiene un patrón de picos diferente al obtenido bajo condiciones desnaturalizantes.

El patrón de los picos de un estándar interno corrido bajo condiciones naturales depende de la preparación de la gel y las condiciones de corrida (Guía química GeneScan).

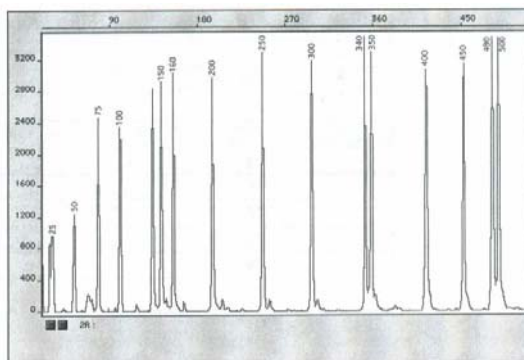


Figura 36. Electroferograma de GeneScan-500 bajo condiciones desnaturalizantes (Guía química GeneScan)

H. Método *Local Southern*. Este método determina el tamaño de los fragmentos al utilizar la relación recíproca entre el tamaño del fragmento y la movilidad, como fue descrito por E.M. Southern (1979) (Manual del usuario GeneScan). La ecuación que utiliza es la siguiente:

$$L = [c/(m-m_0)] + L_0$$

Esta ecuación describe la relación recíproca entre la movilidad, m , y el tamaño, L_0 , de los fragmentos estándar y c una constante. Este método utiliza los cuatro fragmentos que estén más cercanos al fragmento desconocido para calcular dos curvas de calibración y dos valores de tamaño para el fragmento desconocido que más se ajuste al valor. Al utilizar este método, solo se analiza la región del estándar interno que este mas cerca del fragmento desconocido. En el cuadro 37 se explica como trabaja el método *Local Southern* (Manual del usuario GeneScan).

Paso	Acción
1	Las constantes de la curva se calculan para cada grupo de tres puntos vecinos en el estándar. Se crea una curva, por separado, para cada grupo de tres puntos.
2	Luego se crea una curva al utilizar tres puntos estándar (dos puntos abajo y un punto arriba del fragmento) y se determina el tamaño del fragmento.
3	Se crea otra curva al seleccionar un grupo adicional de tres puntos (un punto abajo y dos puntos arriba del fragmento) y se asigna otro valor.
4	Se hace un promedio de los dos valores asignados para determinar el tamaño del fragmento desconocido.

Cuadro 37. Método Local Southern (Manual del usuario GeneScan)

I. Manual del programa *Allelogram*

Allelogram: Programa automatizado para definir alelos de marcadores microsatélites

Contenido: USO
 ENTRADA
 convert_format.sh
 SALIDA
 GRÁFICAS

USO:

- 1) crear el ejecutable:

allelogram.c escrito en ANSI C y puede ser compilado (en Unix) como sigue:

```
gcc-lm-o allelogram.exe allelogram.c
```

- 2) crear el archivo de entrada con el formato requerido – ver sección ENTRADA
- 3) ejecutar el programa con el comando:

```
allelogram.exe allelogram_ipt.dat markerlist.dat
```

durante la ejecución se requiere:

- Tamaño de repetición (número en pb, por ejemplo 3 para un marcador trinucleótido)
- Distancia para el punto de corte (pb) de la media para el tamaño de los alelos (por ejemplo ~ 0.5 para marcadores dinucleótidos)

N.B.

- Los archivos de salida están escritos en el directorio “allelogram_output.dir”. El directorio debe crearse antes de correr el programa.
- Los programas deben correrse en el directorio allelogram.dir para asegurar que los archivos de salida se envíen al directorio apropiado.

ENTRADA:

El programa allelogram requiere de 2 archivos de entrada

- i) allelogram_ipt.dat: es el principal archivo de datos (contiene el tamaño de los alelos)
- ii) markerslist.dat
- i) Hay dos formatos de entrada:

--

Formato 1: es el archivo de datos de entrada requeridos por el programa allelogram (allelogram_ipt.dat)

Formato 2: es convertido en el formato 1 por el *script* convert_format.sh

Formato 1:

El archivo de datos de entrada debe contener una línea para cada persona con los siguientes campos:

Columna 1: código que identifica a la persona (alfanumérico)

Columna 2-N: tamaño de los alelos, 2 parejas (4 columnas) por marcador:

- pareja de alelos con números enteros (poner cero si no se ha hecho el llamado de alelos previamente)
- datos crudos de los picos de parejas de alelos (obtenidos de un programa de genotipificación)

Un ejemplo de un fragmento de archivo, describiendo 3 individuos genotipificados con 2 marcadores:

```
1234 320 332 320.71 332.67 112 118 111.82 117.79
1234a 322 332 322.54 332.54 114 120 113.69 119.87
1011 322 324 322.67 324.57 116 118 115.96 117.86
. . . . .
. . . . .
. . . . .
```

Las columnas 2, 3, 6, 7 corresponden a los alelos que se han definido manualmente (son valores discretos asignados) antes de usar el programa. Si los alelos todavía no se han definido manualmente, estas columnas deben tener un 0 para cada individuo.

```
1234 0 0 320.71 332.67 0 0 111.82 117.79
1234a 0 0 322.54 332.54 0 0 113.69 119.87
1011 0 0 322.67 324.57 0 0 115.96 117.86
```

Las columnas 4, 5, 7, 8 corresponden al valor real asignado a cada fragmento de ADN.

Formato 2:

Este archivo de datos de entrada debe contener para cada marcador una línea para cada persona con los siguientes campos:

Columna 1: el marcador, puede ser numérico, con caracteres o ambos sin espacios.

Columna 2: código individual, id.

Columna 3, 4: el tamaño de las parejas de alelos definidos anteriormente (se coloca 0 si no se ha hecho previamente)

Columna 5, 6: los datos crudos de las parejas de picos (obtenidos de un programa de genotipificación)

```
D7S481 1234 320 332 322.71 332.67
D7S481 1234a 322 332 322.54 332.54
D7S481 1011 322 334 322.67 324.57
. . . . .
. . . . .
. . . . .

D7S594 1234 112 118 111.82 117.79
D7S594 1234a 114 120 113.69 119.87
D7S594 1011 116 118 115.96 117.86
```

El *script* “convert_format.sh” convierte el formato 2 en el formato 1 y crea el archivo markerslist.dat.
Ver sección de convert_format.sh

ii)

markerslist.dat: es la lista de nombres de los marcadores con el orden correspondiente al archivo de entrada.

D7S481

D7S594

.

.

El archivo markerslist.dat es creado por el *script* “convert_format.sh”

convert_format.sh

script para convertir el formato del archiv en el formato requerido por el programa

ENTRADA:

Ver formato 1 en la sección INPUT (i)

USO:

i) compilar el programa “markerlist.c” (utilizado en convert_format.sh) con el comando:

gcc-o markerlist.exe markerlist.c

para crear el ejecutable markerlist.exe

ii) correr el *script*:

convert_format.sh file_format1.dat

Nota: correrlo en el directorio allelogram.dir

SALIDA: allelogram_ipt.dat : file_format2.dat

Ver formato 2 en la sección ENTRADA (i)

markerslist.dat : lista de marcadores

- entrada requerida por el programa

SALIDA:

(en el directorio allelogra_out.dir)

- allelogram_format1.out : como el formato de entrada 1 únicamente con las parejas de alelos definidos.
- allelogram_format2.out : como el formato de entrada 2 únicamente con las parejas de alelos definidos.
- allelogram_all.out : como el formato de entrada 1 con las parejas de alelos definidos para cada marcador (3 parejas, 6 columnas, por marcador)
- binstats.out : la información de cada *bin* o cajuela por marcador
- allele.err : lista los alelos que tengan distancia del promedio del *bin* > al punto de corte especificado. Nota: para cada marcador a una salida separada para cada alelo en la pareja.

En el futuro se podrá incluir la intensidad del pico en los datos de entrada y se podrá definir un punto de corte para la intensidad. Por ejemplo, si la intensidad del pico es menor de 50 se eliminan los alelos.

GRÁFICAS:

USO:

1) Copiar

- archivo de salida "allelogram_all.out" y
- archivo "markerslist.dat"

en el directorio "graph.dir"

2) El programa merge.c se utiliza en allele_gph.sh ; se debe crear el ejecutable antes de correr allele_gph.sh

Compilarlo utilizando:

```
gcc -lm-o merge.exe merge.c
```

3) Correr el *script*:

```
allele_gph.sh allelogram_all.out markerslist.dat
```

- A medida que el *script* se mueve y muestra las gráficas, el usuario debe oprimir cualquier tecla para eliminar la figura actual y mostrar la siguiente figura.

Cada gráfica muestra 3 curvas – picos (sin cambio)

alelos definidos manualmente (si se incluyeron)

alelos definidos automáticamente

El programa le pregunta al usuario:

- si incluyo los alelos definidos manualmente o coloco cero como dato
- si quiere salvar la gráfica como archivo ps

El *script* también llama a merge.exe y un número de comandos awk/shell para buscar datos y asegurarse que los datos que tengan cero se eliminen.

GRÁFICAS:

eje-x: conteo acumulativo de alelos para un marcador

eje-y: tamaño del alelo

J. Archivos de salida "allelegram.err", para cada marcador utilizado

MARCADOR NP76consA :

Alelos con distancia del pico promedio del *bin* > 0.250 :

MARCADOR NP76consA :

Alelos con distancia del pico promedio del *bin* > 0.250 :

MARCADOR NP38F :

Alelos con distancia del pico promedio del *bin* > 0.250 :

MARCADOR NP38F :

Alelos con distancia del pico promedio del *bin* > 0.250 :

MARCADOR Aa2-25 :

Alelos con distancia del pico promedio del *bin* > 0.250 :

MARCADOR Aa2-25 :

Alelos con distancia del pico promedio del *bin* > 0.250 :

MARCADOR NP94F :

Alelos con distancia del pico promedio del *bin* > 0.300 :

Código 2 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i> = 0.641
	pico promedio = 148.379

pico del alelo = 149.020

MARCADOR NP94F :

Alelos con distancia del pico promedio del *bin* > 0.300 :

MARCADOR NP113F :

Alelos con distancia del pico promedio del *bin* > 0.400 :

MARCADOR NP113F :

Alelos con distancia del pico promedio del *bin* > 0.400 :

MARCADOR NP128F :

Alelos con distancia del pico promedio del *bin* > 0.400 :

Código 56 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i> = 0.500	
	pico promedio	= 159.660
	pico del alelo	= 160.160

MARCADOR NP128F :

Alelos con distancia del pico promedio del *bin* > 0.400 :

Código 54 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i> = 0.500	
	pico promedio	= 159.660
	pico del alelo	= 159.160

MARCADOR NP81R :

Alelos con distancia del pico promedio del *bin* > 0.500 :

Código 45 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i> = 0.799	
	pico promedio	= 103.961
	pico del alelo	= 104.760
Código 200 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i> = 0.929	
	pico promedio	= 103.961
	pico del alelo	= 104.890
Código 205 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i> = 0.532	
	pico promedio	= 102.942

pico del alelo = 102.410

 MARCADOR NP81R :

Alelos con distancia del pico promedio del *bin* > 0.500 :

 MARCADOR Aa190 :

Alelos con distancia del pico promedio del *bin* > 0.450 :

Código 3 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.453
	pico promedio	= 157.807
	pico del alelo	= 158.260
Código 4 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.456
	pico promedio	= 151.736
	pico del alelo	= 151.280
Código 6 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.536
	pico promedio	= 151.736
	pico del alelo	= 151.200
Código 9 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.947
	pico promedio	= 148.837
	pico del alelo	= 147.890
Código 23 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.967
	pico promedio	= 148.837
	pico del alelo	= 147.870
Código 25 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.857
	pico promedio	= 148.837
	pico del alelo	= 147.980
Código 28 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.456
	pico promedio	= 151.736
	pico del alelo	= 151.280
Código 42 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.564
	pico promedio	= 151.736
	pico del alelo	= 152.300
Código 43 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 1.037
	pico promedio	= 148.837

	pico del alelo	= 147.800
Código 44 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.703
	pico promedio	= 157.807
	pico del alelo	= 158.510
Código 45 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.474
	pico promedio	= 151.736
	pico del alelo	= 152.210
Código 46 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.474
	pico promedio	= 151.736
	pico del alelo	= 152.210
Código 55 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.738
	pico promedio	= 149.938
	pico del alelo	= 149.200
Código 75 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.633
	pico promedio	= 157.807
	pico del alelo	= 158.440
Código 78 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.613
	pico promedio	= 157.807
	pico del alelo	= 158.420
Código 79 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.456
	pico promedio	= 151.736
	pico del alelo	= 151.280
Código 82 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.686
	pico promedio	= 153.554
	pico del alelo	= 154.240
Código 87 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.683
	pico promedio	= 157.807
	pico del alelo	= 158.490
Código 90 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.508
	pico promedio	= 155.832
	pico del alelo	= 156.340
Código 95 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.967
	pico promedio	= 148.837

	pico del alelo	= 147.870
Código 97 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.987
	pico promedio	= 148.837
	pico del alelo	= 147.850
Código 102 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.588
	pico promedio	= 155.832
	pico del alelo	= 156.420
Código 106 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.456
	pico promedio	= 151.736
	pico del alelo	= 151.280
Código 108 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.474
	pico promedio	= 151.736
	pico del alelo	= 152.210
Código 109 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.586
	pico promedio	= 162.034
	pico del alelo	= 162.620
Código 110 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.524
	pico promedio	= 151.736
	pico del alelo	= 152.260
Código 122 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.474
	pico promedio	= 151.736
	pico del alelo	= 152.210
Código 130 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.613
	pico promedio	= 157.807
	pico del alelo	= 158.420

 MARCADOR Aa190 :

Alelos con distancia del pico promedio del *bin* > 0.450 :

Código 3 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.474
	pico promedio	= 151.736
	pico del alelo	= 152.210
Código 9 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.454

	pico promedio	= 151.736
	pico del alelo	= 152.190
Código 18 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.687
	pico promedio	= 165.943
	pico del alelo	= 166.630
Código 23 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.627
	pico promedio	= 165.943
	pico del alelo	= 166.570
Código 25 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.563
	pico promedio	= 157.807
	pico del alelo	= 158.370
Código 40 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.633
	pico promedio	= 157.807
	pico del alelo	= 158.440
Código 42 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.548
	pico promedio	= 164.062
	pico del alelo	= 164.610
Código 46 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.750
	pico promedio	= 159.660
	pico del alelo	= 160.410
Código 47 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.618
	pico promedio	= 155.832
	pico del alelo	= 156.450
Código 49 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.452
	pico promedio	= 155.832
	pico del alelo	= 155.380
Código 50 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.558
	pico promedio	= 155.832
	pico del alelo	= 156.390
Código 67 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.536
	pico promedio	= 151.736
	pico del alelo	= 151.200

Código 74 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.567
	pico promedio	= 165.943
	pico del alelo	= 166.510
Código 90 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.750
	pico promedio	= 159.660
	pico del alelo	= 160.410
Código 91 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.557
	pico promedio	= 165.943
	pico del alelo	= 166.500
Código 97 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.603
	pico promedio	= 157.807
	pico del alelo	= 158.410
Código 98 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.546
	pico promedio	= 151.736
	pico del alelo	= 151.190
Código 108 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.668
	pico promedio	= 155.832
	pico del alelo	= 156.500
Código 110 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.643
	pico promedio	= 157.807
	pico del alelo	= 158.450
Código 112 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.572
	pico promedio	= 164.062
	pico del alelo	= 163.490
Código 122 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.766
	pico promedio	= 153.554
	pico del alelo	= 154.320
Código 123 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.687
	pico promedio	= 168.367
	pico del alelo	= 167.680
Código 130 :	desviación del alelo del promedio del <i>bin</i>	= 0.516
	pico promedio	= 162.034
	pico del alelo	= 162.550

K. Archivos de salida "binstats.out" con información sobre cada *bin*, para cada marcador
 MARCADOR NP76consA :

alelo	menor	mayor	promedio <i>bin</i>	NumAlelos	Mín cuadrado	dev std
1	110.39	110.39	110.39	1	0.00	0.00
2	113.86	113.86	113.86	1	0.00	0.00
3	123.25	123.39	123.33	4	0.01	0.06
4	125.20	125.50	125.34	29	0.13	0.07
5	127.07	127.33	127.21	15	0.08	0.07
6	129.06	129.23	129.14	2	0.01	0.08
7	131.04	131.31	131.17	21	0.13	0.08
8	133.11	133.44	133.25	9	0.08	0.09
9	135.13	135.37	135.26	10	0.07	0.08
10	137.12	137.21	137.17	3	0.00	0.04
11	139.09	139.26	139.18	4	0.01	0.06
12	141.23	141.47	141.36	11	0.05	0.07
13	143.45	143.60	143.53	6	0.01	0.05
14	145.57	145.82	145.69	4	0.04	0.11
15	147.73	147.86	147.80	4	0.02	0.07
16	149.74	150.00	149.90	6	0.05	0.09
17	152.00	152.04	152.02	3	0.00	0.02
18	153.95	153.95	153.95	1	0.00	0.00
19	156.03	156.03	156.03	1	0.00	0.00

MARCADOR NP38F :

alelo	menor	mayor	promedio <i>bin</i>	NumAlelos	Mín cuadrado	dev std
1	94.38	94.38	94.38	1	0.00	0.00
2	100.00	100.07	100.02	4	0.00	0.03
3	101.95	102.01	101.97	4	0.00	0.02
4	104.03	104.03	104.03	1	0.00	0.00
5	107.84	107.93	107.88	4	0.00	0.03
6	111.81	111.89	111.84	4	0.00	0.03
7	113.62	113.90	113.80	7	0.05	0.08

8	115.80	115.80	115.80	1	0.00	0.00
9	117.75	117.98	117.85	6	0.03	0.07
10	119.61	119.84	119.72	15	0.09	0.08
11	121.68	121.94	121.81	24	0.10	0.07
12	123.78	123.97	123.86	24	0.04	0.04
13	125.79	125.98	125.90	10	0.04	0.07
14	127.80	128.03	127.93	13	0.08	0.08
15	129.87	130.12	129.99	16	0.05	0.06
16	131.84	132.07	131.98	12	0.05	0.06
17	134.02	134.18	134.10	8	0.02	0.06
18	136.08	136.24	136.15	5	0.02	0.06
19	138.15	138.15	138.15	1	0.00	0.00
20	140.08	140.16	140.13	3	0.00	0.04
21	142.34	142.55	142.42	5	0.04	0.09
22	144.50	144.59	144.55	2	0.00	0.05
23	167.39	167.39	167.39	1	0.00	0.00

MARCADOR Aa2-25 :

alelo	menor	mayor	promedio bin	NumAlelos	Mín cuadrado	dev std
1	90.06	90.06	90.06	1	0.00	0.00
2	93.40	93.63	93.51	7	0.04	0.08
3	95.55	95.57	95.56	3	0.00	0.01
4	97.57	97.95	97.72	69	0.41	0.08
5	99.60	100.00	99.78	34	0.31	0.09
6	101.70	101.99	101.80	24	0.14	0.08
7	103.65	103.88	103.74	15	0.08	0.07
8	105.66	105.83	105.72	13	0.03	0.05
9	107.70	107.88	107.79	4	0.02	0.07
10	109.57	109.83	109.69	15	0.08	0.07
11	111.63	111.81	111.70	10	0.03	0.05
12	113.63	113.67	113.65	2	0.00	0.02
13	115.64	115.68	115.67	3	0.00	0.02
14	119.61	119.61	119.61	1	0.00	0.00

15	121.81	121.81	121.81	1	0.00	0.00
16	131.89	131.89	131.89	1	0.00	0.00
17	138.18	138.18	138.18	1	0.00	0.00
18	153.77	153.77	153.77	1	0.00	0.00

MARCADOR NP94F :

alelo	menor	mayor	promedio bin	NumAlelos	Mín cuadrado	dev std
1	107.95	108.06	107.99	5	0.01	0.04
2	129.29	129.48	129.38	4	0.02	0.08
3	138.25	138.50	138.37	15	0.08	0.07
4	146.82	146.82	146.82	1	0.00	0.00
5	148.10	149.02	148.38	31	0.83	0.16
6	152.09	152.09	152.09	1	0.00	0.00
7	155.46	155.46	155.46	1	0.00	0.00
8	162.49	162.49	162.49	1	0.00	0.00

MARCADOR NP113F :

alelo	menor	mayor	promedio bin	NumAlelos	Mín cuadrado	dev std
1	93.16	93.26	93.20	4	0.01	0.04
2	101.72	102.49	102.11	42	1.28	0.17
3	103.15	103.15	103.15	1	0.00	0.00
4	108.70	108.93	108.79	6	0.05	0.09
5	110.55	110.97	110.76	70	0.50	0.08
6	112.41	112.64	112.55	29	0.11	0.06
7	114.40	114.56	114.47	9	0.02	0.05
8	116.33	116.47	116.41	4	0.01	0.05
9	118.35	118.35	118.35	1	0.00	0.00
10	120.26	120.26	120.26	1	0.00	0.00
11	125.68	125.68	125.68	1	0.00	0.00
12	129.91	130.07	130.00	5	0.02	0.06
13	131.44	131.44	131.44	1	0.00	0.00

14	133.43	133.43	133.43	1	0.00	0.00
----	--------	--------	--------	---	------	------

MARCADOR NP128F :

alelo	menor	mayor	promedio <i>bin</i>	NumAlelos	Mín cuadrado	dev std
1	101.50	102.23	101.85	38	1.27	0.18
2	118.95	118.97	118.96	2	0.00	0.01
3	122.95	123.23	123.06	10	0.08	0.09
4	124.92	125.32	125.17	27	0.20	0.09
5	126.70	127.27	127.09	4	0.21	0.23
6	129.20	129.32	129.26	2	0.01	0.06
7	131.28	131.41	131.34	2	0.01	0.06
8	133.25	133.45	133.35	2	0.02	0.10
9	144.10	144.10	144.10	1	0.00	0.00
10	150.17	150.26	150.21	2	0.00	0.05
11	152.74	152.85	152.80	2	0.01	0.05
12	159.16	160.16	159.66	2	0.50	0.50
13	161.58	161.58	161.58	1	0.00	0.00

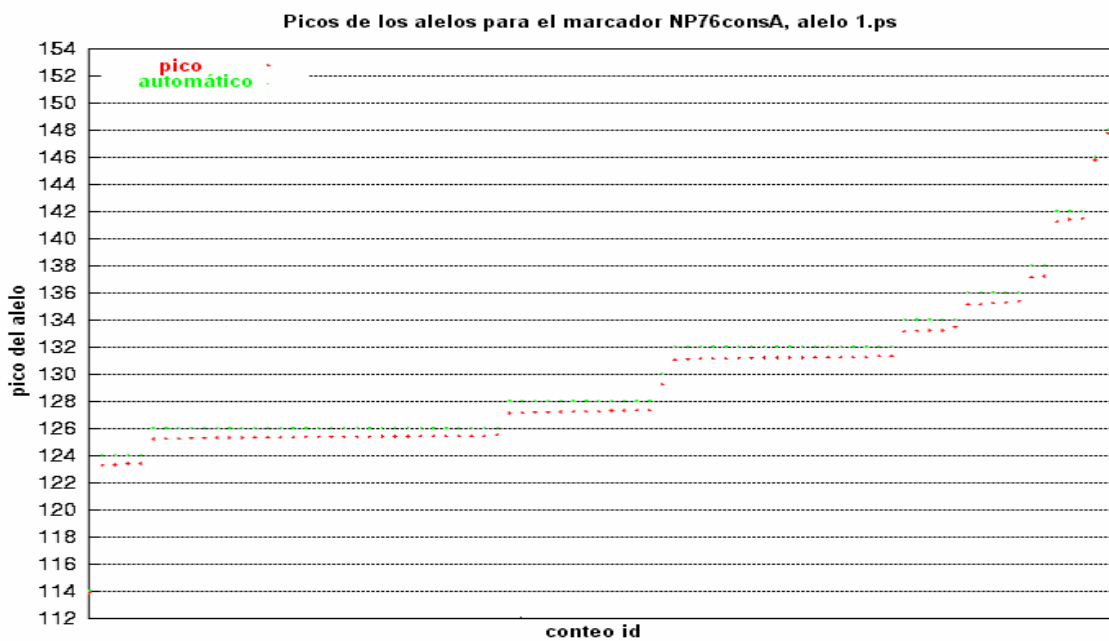
MARCADOR NP81R :

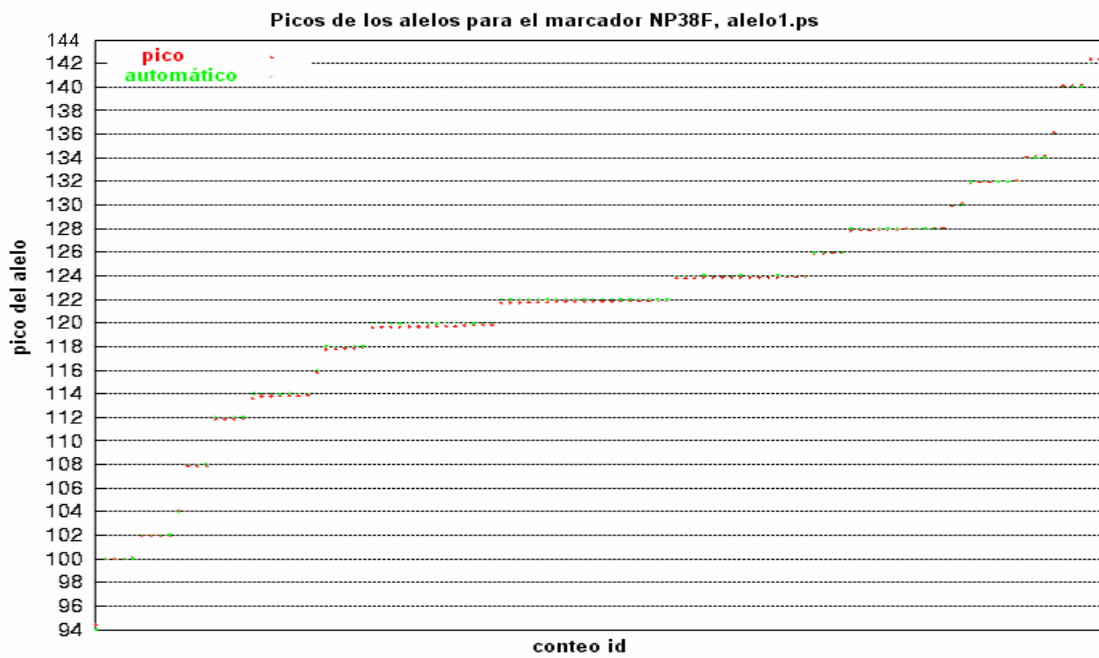
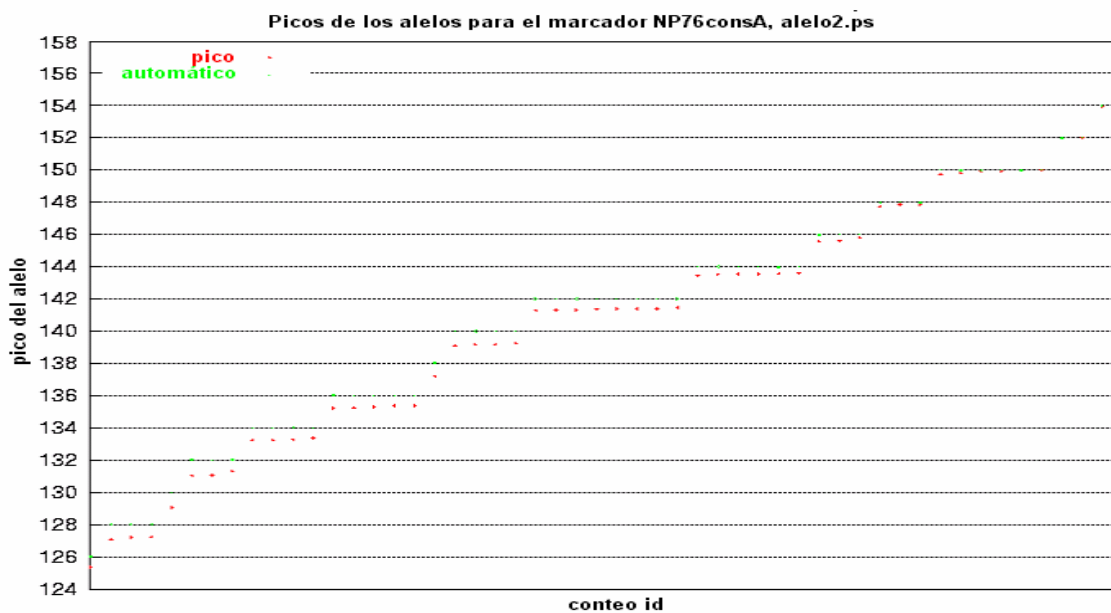
alelo	menor	mayor	promedio <i>bin</i>	NumAlelos	Mín cuadrado	dev std
1	81.99	82.30	82.18	37	0.11	0.05
2	94.59	94.59	94.59	1	0.00	0.00
3	96.41	96.76	96.67	9	0.10	0.11
4	98.54	98.83	98.70	4	0.04	0.10
5	100.65	100.75	100.70	2	0.00	0.05
6	102.41	103.41	102.94	24	1.38	0.24
7	103.48	104.89	103.96	14	2.33	0.41
8	108.83	108.83	108.83	1	0.00	0.00
9	113.15	113.15	113.15	1	0.00	0.00

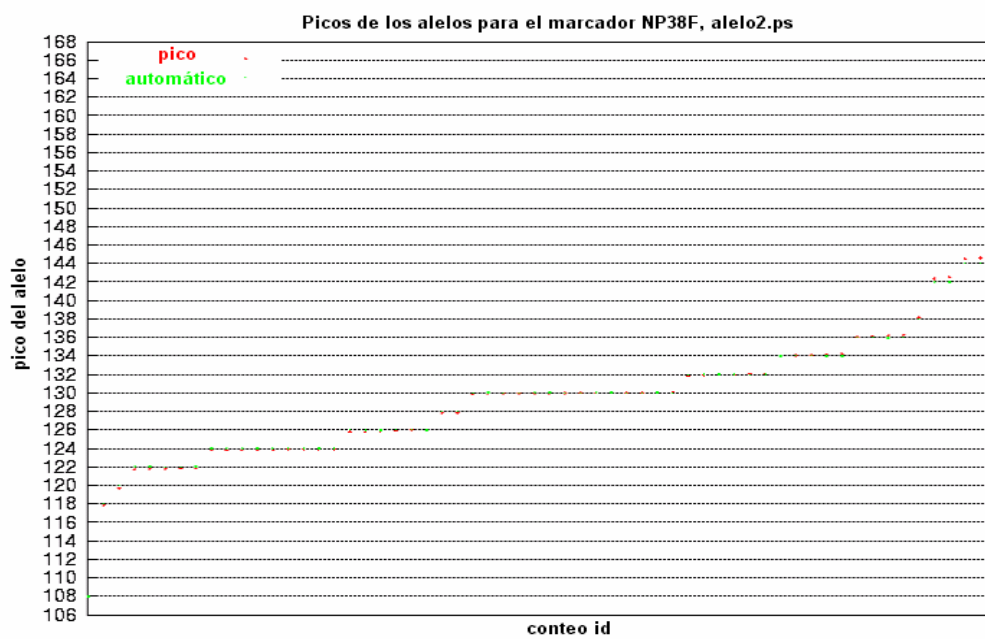
MARKER Aa190 :

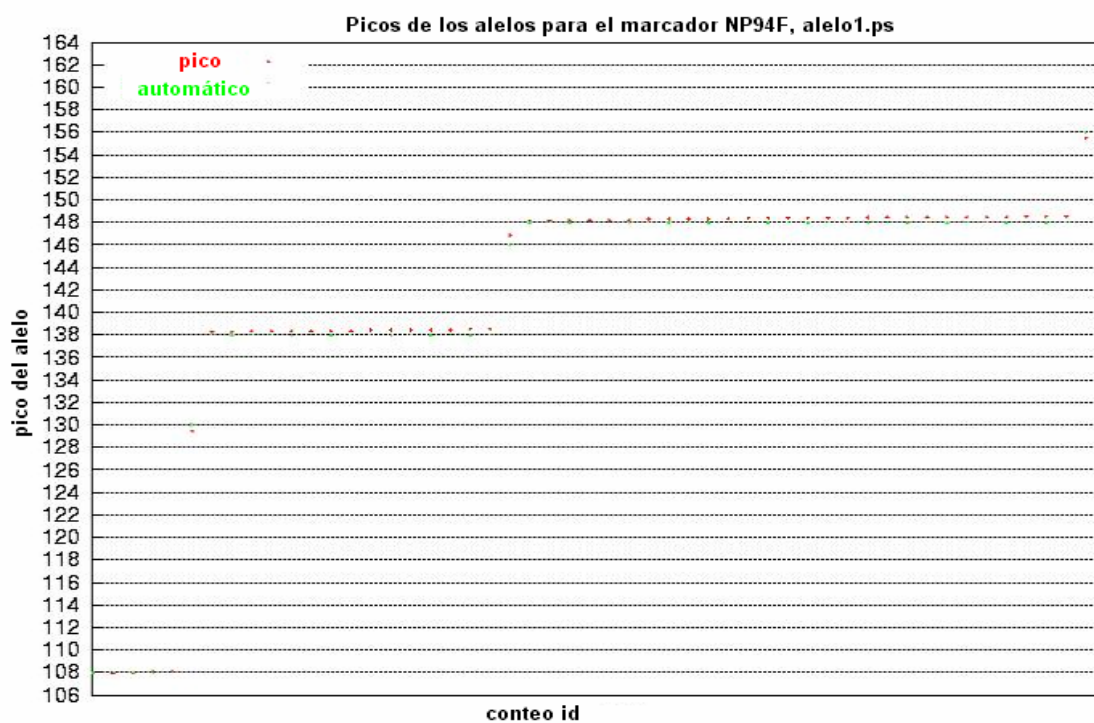
alelo	menor	mayor	promedio <i>bin</i>	NumAlelos	Mín cuadrado	dev std
1	144.64	144.64	144.64	1	0.00	0.00
2	146.78	147.01	146.91	11	0.06	0.07
3	147.80	149.13	148.84	28	7.09	0.50
4	149.20	150.25	149.94	9	0.73	0.28
5	151.19	152.30	151.74	22	4.81	0.47
6	153.31	154.32	153.55	10	1.34	0.37
7	155.38	156.50	155.83	13	2.84	0.47
8	157.40	158.51	157.81	31	5.71	0.43
9	159.50	160.41	159.66	19	1.32	0.26
10	161.64	162.62	162.03	5	1.02	0.45
11	163.49	164.61	164.06	4	0.94	0.48
12	165.62	166.63	165.94	14	2.13	0.39
13	167.68	168.74	168.37	3	0.71	0.49
14	169.71	169.71	169.71	1	0.00	0.00
15	174.65	174.65	174.65	1	0.00	0.00

L. Archivo "allele_gph.sh" de gráficas para cada marcador utilizado

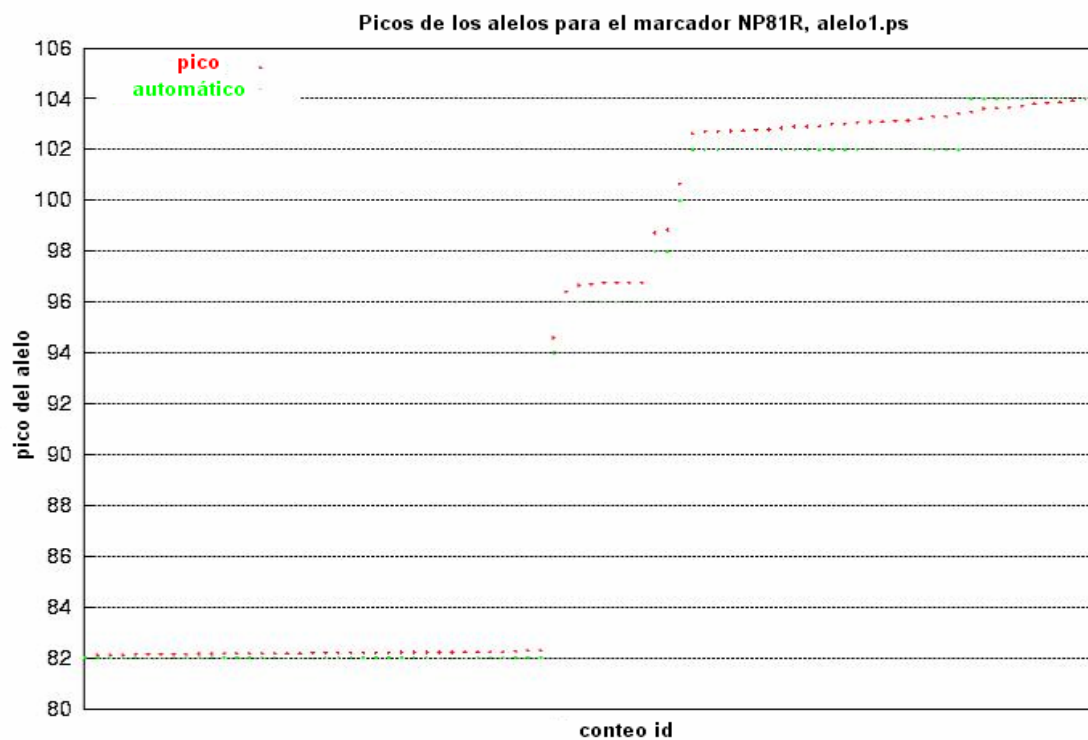


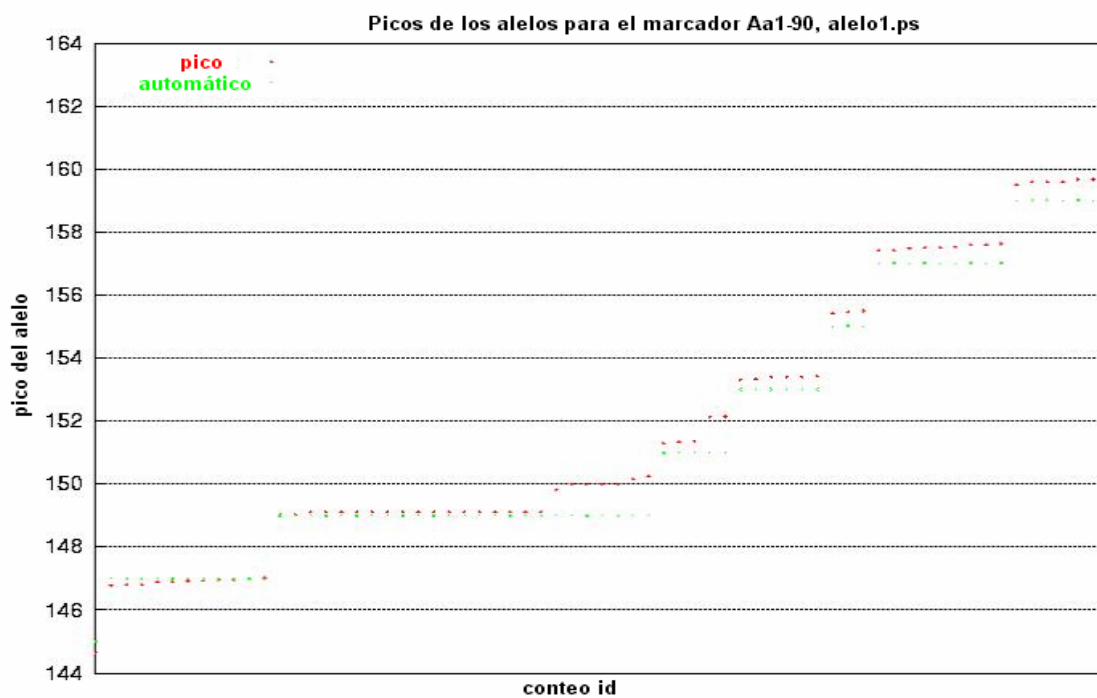
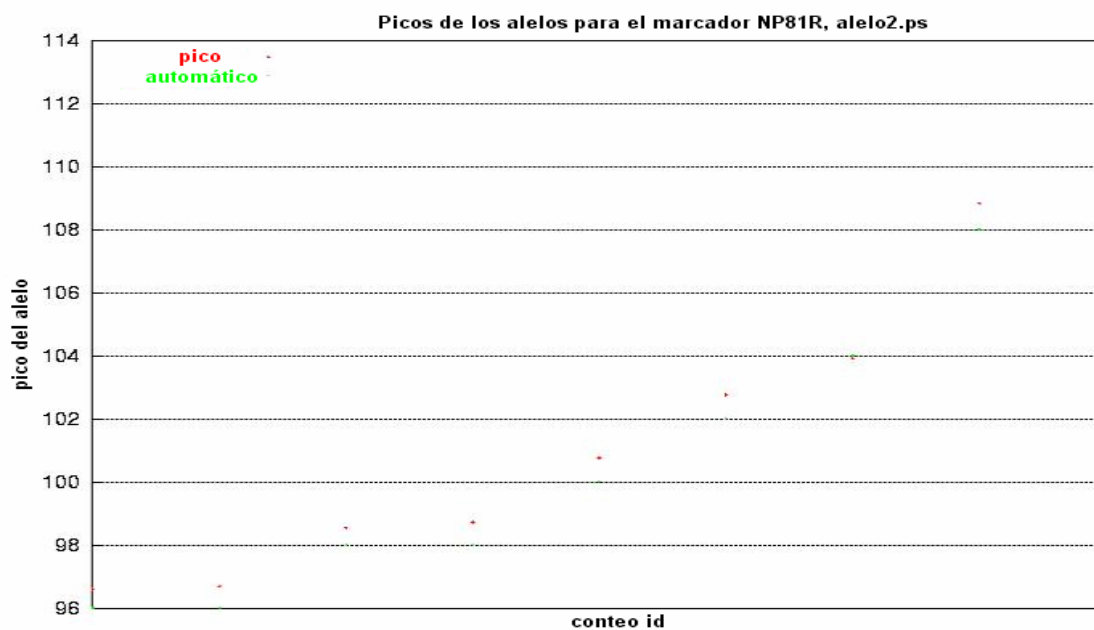


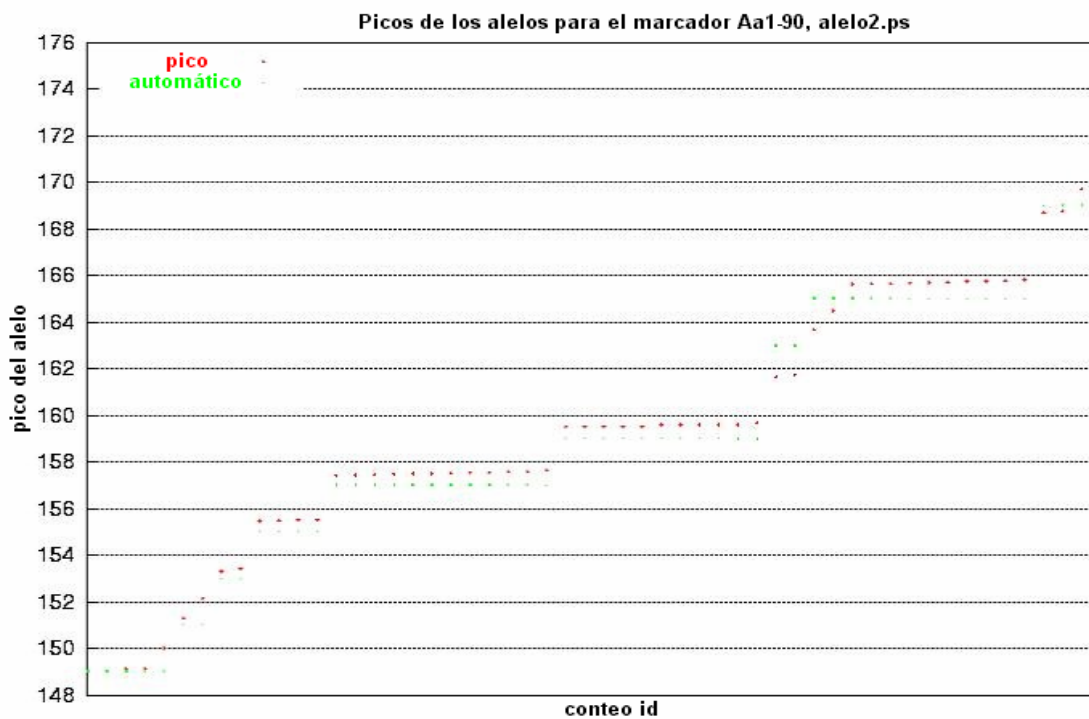












M. Electroferogramas de muestras listadas en el archivo "allelogram.err"

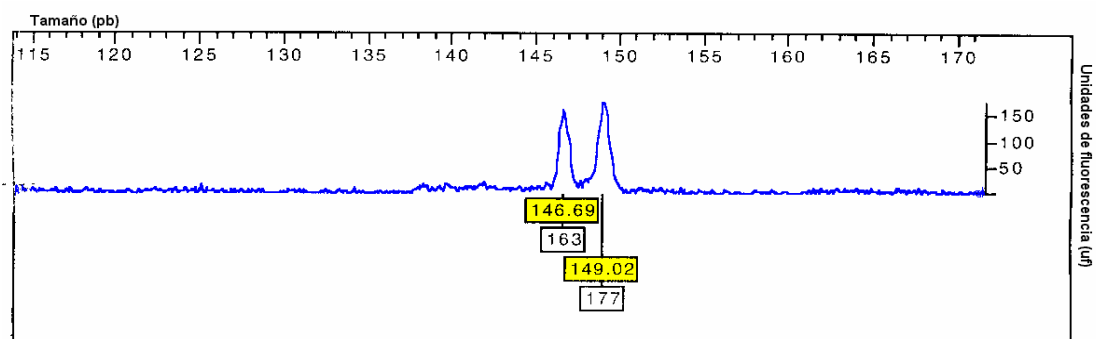


Figura 37. Electroferograma de microsatélite NP94F. En el electroferograma se observa el producto de PCR de la muestra 2, amplificada con el microsatélite NP94F marcado con 6-FAM. En los rectángulos amarillos se muestra el tamaño de el pico no esperado (146.69 pb) y el del alelo real (149.02 pb). En los rectángulos blancos se muestra la altura de cada pico que es indicador de la señal de fluorescencia (163 y 177 uf).

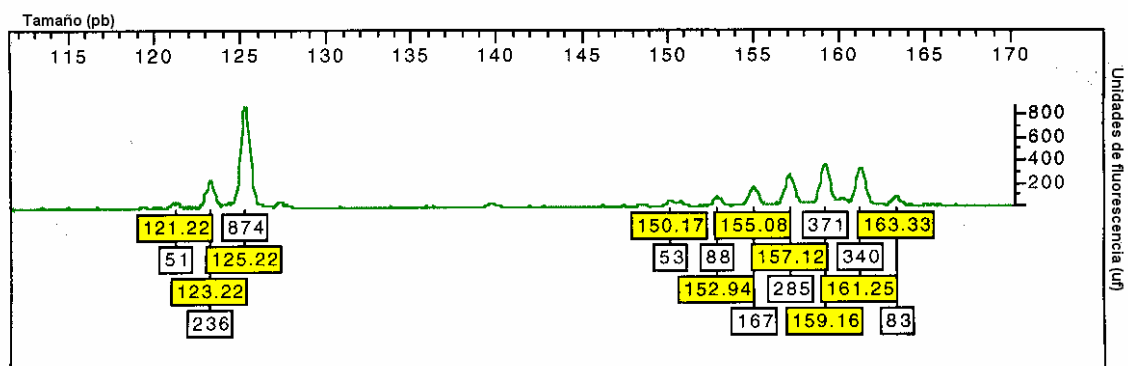


Figura 38. Electroferograma de microsatélite NP128F. En el electroferograma se observa el producto de PCR de la muestra 54, amplificada con el microsatélite NP128F marcado con HEX. En los rectángulos amarillos se muestra el tamaño de los picos no esperados (121.22, 123.22, 150.17, 152.94, 155.08, 157.12, 161.25 y 163.33 pb) el de los alelos reales (125.22 y 159.16 pb). En los rectángulos blancos se muestra la altura de cada pico que indicador de la señal de fluorescencia.

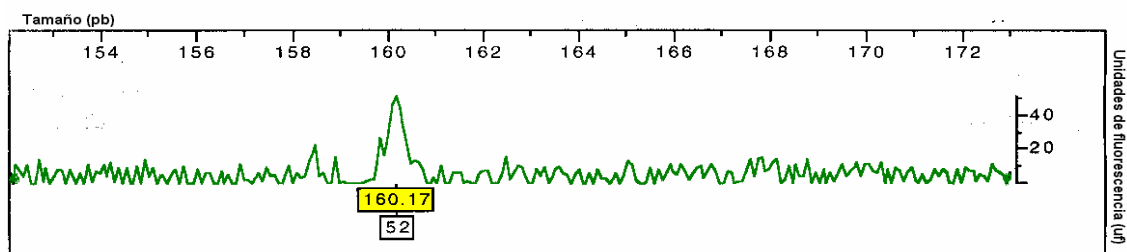


Figura 39. Electroferograma de microsatélite NP128F. En el electroferograma se observa el producto de PCR de la muestra 56, amplificada con el microsatélite NP128F marcado con HEX. En el rectángulo amarillo se muestra el tamaño de el pico del alelo esperados (160.17 pb). En el rectángulo blanco se muestra la altura del pico que es indicador de la señal de fluorescencia (52 uf).

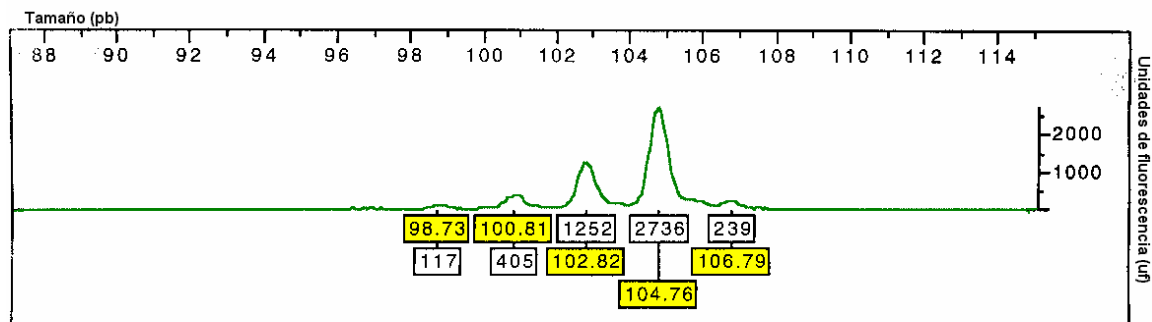


Figura 40. Electroferograma de microsatélite NP81R. En el electroferograma se observa el producto de PCR de la muestra 45, amplificada con el microsatélite NP81R marcado con HEX. En los rectángulos amarillos se muestra el tamaño de los picos no esperados (98.73, 100.81, 102.82, 106.79 pb) y el del alelo real (104.76 pb). En los rectángulos blancos se muestra la altura de los picos, que es indicador de la señal de fluorescencia, no esperados (117, 405, 1252 y 239 uf) y la del alelo real (2736 uf).

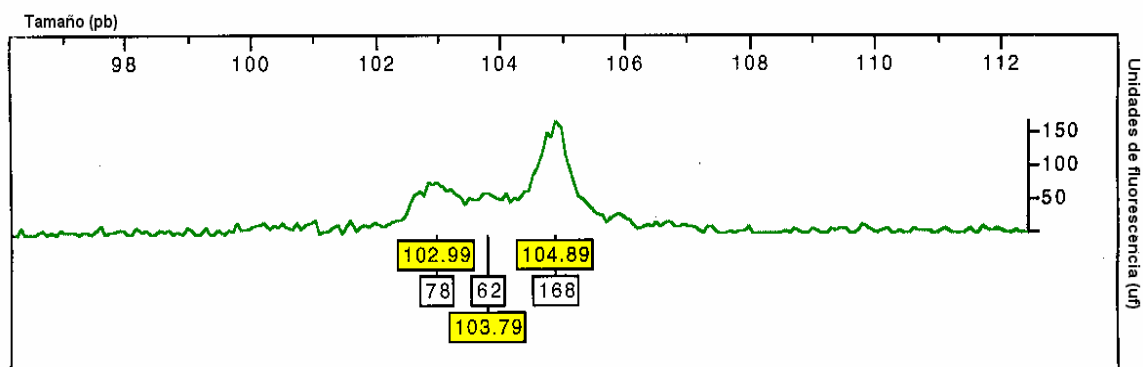


Figura 41. Electroferograma de microsatélite NP81R. En el electroferograma se observa el producto de PCR de la muestra 200, amplificada con el microsatélite NP81R marcado con HEX. En los rectángulos amarillos se muestra el tamaño de los picos no esperados (102.99 y 103.79 pb) y el del posible alelo real (104.89 pb). En los rectángulos blancos se muestra la altura de los picos, que es indicador de la señal de fluorescencia, no esperados (78, 62 uf) y la del posible alelo real (168 uf).

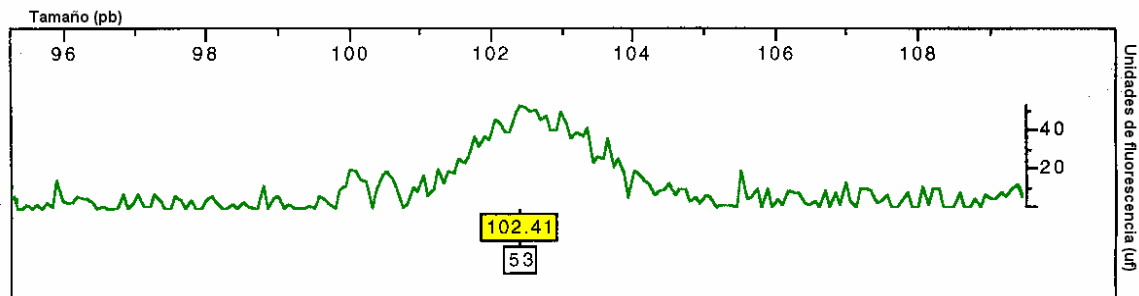


Figura 42. Electroferograma de microsatélite NP81R. En el electroferograma se observa el producto de PCR de la muestra 205, amplificada con el microsatélite NP81R marcado con HEX. En el rectángulo amarillo se muestra el tamaño del posible alelo real (102.41 pb). En el rectángulo blanco se muestra la altura del pico que es indicador de la señal de fluorescencia (53 uf).