

Universidad de Zaragoza
Facultad de Medicina

Departamento de Anatomía Patológica,
Medicina Legal y Forense y Toxicología

**Análisis molecular de variación de
polimorfismos STR autosómicos y de
cromosoma «Y» en grupos étnicos de
Ecuador con aplicación médico - forense**

Memoria presentada para optar al grado de Doctor en Medicina por

Jorge Fabricio González Andrade

Zaragoza, junio del 2006



**Análisis molecular de variación de
polimorfismos STR autosómicos y de
cromosoma «Y» en grupos étnicos de
Ecuador con aplicación médico - forense**

Análisis molecular de variación de polimorfismos STR autosómicos y de cromosoma «Y» en grupos étnicos de Ecuador con aplicación médico – forense

Ficha de Catalogación

GONZÁLEZ ANDRADE, Fabricio,

Tesis Doctoral. Análisis molecular de variación de polimorfismos STR autosómicos y de cromosoma «Y» en grupos étnicos de Ecuador con aplicación médico–forense / Fabricio González-Andrade - Zaragoza: 2006; ilus; tab.

1. Genética molecular; 2. Genética forense; 3. Microsatélites; 4. Ensayos; 5. Etnias ecuatorianas; 6. Tesis Doctoral (PhD)

© Derechos reservados de acuerdo a la ley



Impreso en España – Unión Europea



UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA
Departamento de Anatomía Patológica,
Medicina Legal y Forense y
Toxicología

—
C/ Domingo Miral, s/n
Teléfono 976 17 33
976 10 00 Ext. 4424
50009 ZARAGOZA

Dra. D^a M^a Begoña Martínez Jarreta, Catedrática habilitada de Medicina Legal y Forense, del Departamento de Anatomía Patológica, Medicina Legal y Forense y Toxicología, de la Universidad de Zaragoza

HACE CONSTAR QUE:

La Tesis Doctoral titulada «*Análisis molecular de variación de polimorfismos STR autosómicos y de cromosoma-Y en grupos étnicos de Ecuador con aplicación médico-forense*», que presenta el Licenciado en Medicina *D. FABRICIO GONZÁLEZ ANDRADE*, ha sido realizada bajo su dirección en el Departamento de Anatomía Patológica, Medicina Legal y Forense y Toxicología de la Universidad de Zaragoza y cumple con las condiciones exigidas para optar al grado de *Doctor en Medicina*, por lo que autoriza su presentación para que sea juzgada por el Tribunal correspondiente

Y para que conste, firmo el presente certificado en Zaragoza a 14 de marzo de 2006

*A Dora, por todo lo vivido
y por lo que nos falta por vivir*

*A Anabelita, mi pajarita,
por enseñarme a ser padre*

*A la memoria de Judith,
por aferrarse a la vida
hasta cuando pudo*

Agradecimientos

La estancia final en la Universidad de Zaragoza y la escritura de esta memoria de tesis se realizó gracias a una beca financiada con el apoyo del *Programa Alban, Programa de Becas de Alto Nivel de la Unión Europea para América Latina, beca No. E05DO59978EC*, para el año 2006.

Los reactivos para las pruebas de laboratorio realizados en el contexto de esta tesis fueron financiados por el Laboratorio de Genética Forense de la Universidad de Zaragoza, así como por DIAGEN, Diagnóstico e Identificación Genética Cía. Ltda. y por su Laboratorio de ADN ubicado dentro del Hospital Metropolitano de Quito.

El trabajo descrito en este manuscrito fue realizado bajo la dirección y tutela de la Catedrática Dra. Begoña Martínez-Jarreta, jefa, maestra y amiga, a quien agradezco por creer en mí y brindarme su confianza, respeto y amistad, así como por estar siempre dispuesta a escuchar mis ideas y abrirme la puerta de la medicina científica.

A Dora y Anabelita...mi gran familia, para quienes me faltan palabras de amor, cariño y gratitud por todo lo vivido y por lo que nos falta por vivir, por todos los meses de ausencia y separación.

Un agradecimiento para todos los que pasaron por el Laboratorio de Genética Forense de la Universidad de Zaragoza, aunque sea fugazmente pero que fueron compañeros pacientes y buenos colegas. A Pilar Nievas, Manuela Lanzuela, Isabel Lacasa, Fabiola Peiró, Roberto Hernández, Marisa Garde, Santiago Gascón.

A Miguel Bolea, Carmen Gil, Asunción Yoldi, Matilde Serrano, Lola Perales, Rosa Gómez por el apoyo administrativo durante todos este proceso, un abrazo afectuoso para cada uno.

A Francesc Calafell por su valiosísima ayuda en diferentes etapas del análisis estadístico de este trabajo y en los comentarios críticos a este documento.

A Emilio Abecia por su tiempo en aprender y enseñar programas estadísticos, aún cuando su tiempo era limitado.

Agradezco a mi padre Jorge González Solórzano, por la enorme ayuda en la recolección de las muestras del pueblo Waorani, en largos meses de trabajo y paciencia con los indígenas.

En el Laboratorio de ADN del Hospital Metropolitano en Quito un agradecimiento especial a Guisella Fiallos, Wilson Paredes, Verónica Villegas por su trabajo técnico en el laboratorio y su esfuerzo diario. A Roberto Arteaga, nuestro incansable secretario y tolerante colaborador.

A mis padres y mis hermanos, por su apoyo en importantes momentos de mi vida.

Un agradecimiento especial a la comunidad de Aragón y a sus maños, quienes me hicieron sentir siempre en casa, con sus jotas y sus setas...

A todos aquellos que por descuido he omitido pero que han contribuido directa o indirectamente en la consecución de este trabajo en estos largos años de ir y venir, a través del *charco*.

Fabricio González-Andrade
Zaragoza, Junio del 2006

Tabla de Contenidos

Resumen	1
Lista de publicaciones originales	5
Tribunal de tesis	6
Abreviaturas	7
<i>Introducción y revisión de la Literatura</i>	9
Objetivos	11
Biodiversidad étnica del Ecuador	12
La población mestiza	14
Los pueblos amerindios	15
Los Kichwa	20
Los Waorani	22
Los pueblos negros descendientes de africanos	24
El poblamiento de América	26
Origen de los ecuatorianos actuales	28
Restos humanos antiguos	29
Comprendiendo el mestizaje: raíces de la diversidad étnica	31
Una mirada actual a la Genética Forense	34
Organización del Genoma Humano	36
Polimorfismos del ADN en Medicina Forense	50
Microsatélites	51
Características de los STRs	51
Clasificación	52
Mutación en STRs autosómicos	53
Mutación y diversidad genética de cromosoma Y	55
Nomenclatura	56
Recomendaciones sobre los láderes alélicos	57
Análisis multiplex	59
Microstélites autosómicos objetos de este estudio	64
Microsatélites del cromosoma Y	66
Evolución del cromosoma Y	71
Microsatélites del cromosoma-Y incluidos en este estudio	72

Marcadores genéticos potenciales y nuevas tecnologías	77
Miniplexes con mini-STRs	77
Microsatélites del cromosoma “X”	89
SNPs	92
Low Copy Number profile	97
Investigación genética de la paternidad	98
Criminalística	100
Una mirada al futuro	101
<i>El presente estudio</i>	
Material y métodos	103
Sujetos de estudio	105
Extracción del ADN	106
Cuantificación del ADN por espectrofotometría	108
Amplificación del ADN in vitro y análisis de productos de la PCR	109
STRs autosómicos con electroforesis capilar	114
STRs del cromosoma Y con electroforesis capilar	120
Método estadístico	123
Parámetros genético poblacionales	123
Parámetros estadísticos de interés médico legal	127
Resultados	133
Discusión	187
Conclusiones	200
Referencias y fuentes de información	205
Anexos	231

Resumen

La Genética Forense es una de las ramas de la biomedicina que ha mostrado un vertiginoso desarrollo científico. A raíz de este crecimiento, numerosas organizaciones internacionales oficiales han adoptado sistemas de análisis de ADN que pudieran ser transferidos y equiparados en distintos países, para favorecer el intercambio de información científica, técnica y pericial, sobre todo en la resolución de caso judiciales como estudios de paternidad y de criminalística forense. Dicho trabajo no podría ser ejecutado sin contar con Bases de Datos poblacionales amplias y adecuadamente estudiadas.

En este trabajo se analizaró un total de 1438 muestras de 4 grupos étnicos de Ecuador, entre ellos mestizos, amerindios kichwas, amerindios waorani y negros afroamericanos; se analizó por técnicas manuales y electroforesis capilar 20 microsatélites autonómicos D3S1358, HumFGA, D21S11, Penta E, Penta D, HumVWA, D8S1179, D7S820, D13S317, D5S818, D16S539, HumTH01, HumCSF1PO, HumTPOX, HumF13A01, HumF13B, HumLPL, HumHPRTB, HumFES/FPS y amelogenina; se analizaron también por electroforesis capilar 12 microsatélites del cromosoma Y como DYS19, DYS385 a/b, DYS 389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS392, DYS393, DYS437, DYS438 y DYS439.

Todos los grupos étnicos analizados mostraron estar en equilibrio de Hardy-Weinberg para todos los STRs autosómicos analizados. La utilización en forma conjunta de 15 STRs autosómicos (en formato multiplex) ha demostrado poseer una elevada variabilidad y ofrece un Poder de Discriminación (PD) conjunto superior a 0,99999999 y de Poder de Exclusión *a priori* (MEC) siempre por encima de 0,99999925, la Probabilidad de Matching combinado encontrado es de 1 en 1.27×10^{17} para mestizos.

Se ha confirmado y cuantificado que mestizos y afroecuatorianos son poblaciones trihíbridas, con proporciones variables de contribución de amerindios, europeos y africanos. Como se observa a partir de cromosoma «Y», la contribución de los varones europeos (claramente los españoles en el caso de los mestizos) fue mucho mayor que cuando las estimaciones de mezcla se calcularon a partir de los STRs autosómicos.

Se ha confirmado y cuantificado con los marcadores STRs autosómicos que mestizos y afroecuatorianos son poblaciones trihíbridas. Los mestizos contienen ~73% de cromosomas autosómicos de origen amerindio, un ~19% europeo putativo y ~8% origen africano. Los afroecuatorianos se pueden estimar en el ~57% africanos, ~28% europeos y ~15% nativos americanos.

En mestizos, amerindios kichwas y negros afroamericanos, la diversidad haplotípica del cromosoma «Y» es alta y bastante próxima a uno; se debe observar que este parámetro, en los sistemas haploides como ADN mitocondial y el cromosoma «Y», es numéricamente idéntico a los parámetros forenses de información *a priori* como el poder de discriminación o el poder de exclusión en los casos de paternidad. Se confirma que los mestizos tienen una corta distancia genética con los españoles y con las poblaciones caucasoides de la península ibérica, mientras que los kichwas claramente nativos del nuevo continente se aproximan a la mayoría de poblaciones urbanas de centroamérica y del área andina, en aquellos sitios donde existe una clara presencia indígena.

Siete haplotipos diferentes fueron compartidos entre kichwas y mestizos, uno entre mestizos y afroecuatorianos y uno entre kichwas, afroecuatorianos y mestizos. Este último resulta ser el haplotipo más frecuente en los europeos y, particularmente, en los españoles. El número total de haplotipos diferentes es 276 en toda la muestra analizada. Los mestizos muestran una distancia corta a los kichwas, pero su distancia a los españoles es claramente más corta que entre los kichwas y los españoles. También es este el caso para su respectiva distancia a los guineanos.

Esto es consistente con un triple origen genético para los mestizos: amerindios, europeos y africanos, como se demuestra por los STRs en el cromosoma «Y». Los afroecuatorianos son los más próximos a los guineanos pero están más próximos a los kichwas y a los españoles que lo que lo están los guineanos. Con diferentes proporciones de mezcla, el modelo de triple origen propuesto para los mestizos también aplica a los afroecuatorianos.

La herencia haplotípica y la gran posibilidad de combinaciones que ofrecen estos marcadores advierte de la posible existencia de composiciones alélicas todavía sin analizar, y de aquellas en las que se desconoce la frecuencia real. La colaboración de todos los laboratorios forenses permitirá seguir ampliando la base de datos para el cromosoma Y, de este modo se podrá aumentar la precisión estadística a la hora de interpretar los resultados de la investigación de la individualidad biológica en la rutina forense. Los datos obtenidos son de enorme valor antropológico y permitirán trazar mejor la historia de Ecuador en busca de los orígenes de los actuales pobladores del Nuevo Mundo.

Lista de publicaciones originales

Esta memoria se escribe sobre la base de las siguientes publicaciones originales, cuyos resultados se presentan dentro del texto. Estas son:

- I. Sánchez D, **González-Andrade F**, Martínez-Jarreta B (2003). Population genetics of 12 STR loci in a sample of Mestizos from Ecuador (South America). *J Forensic Sci. Mar*; 48(2): 453-4.
- II. **González-Andrade F.**, Sánchez D., Martínez-Jarreta B. (2003) Genetic profile of the Ecuadorian Mestizo population (Ecuador-South America) by using the Power Plex 16 System kit. *Forensic Sci Int. Jul 29*;135 (1): 64-6.
- III. **González-Andrade F.**, Sánchez D (2004) Genetic profile of the Kichwas (Quichuas) from Ecuador by analysis of STR loci. *Hum Biol. Oct*;76(5):23-30.
- IV. **González-Andrade F.**, Sánchez D., Martínez-Jarreta B. (2005) Genetic analysis of the Amerindian Kichwas and Afroamerican descendents populations from Ecuador characterised by 15 STR-PCR polymorphisms. *Forensic Sci Int*, 4581. doi: 10.1016/j.forscint.2005.08.002.
- V. **González-Andrade F**, Bolea M., Martínez-Jarreta B., Sánchez D. (2005) Genetic Analysis of Autosomic and Y Chromosome STR-PCR Polymorphisms of the Huaorani, the last nomad tribe in Ecuador. *Progress in Forensic Genetics 11*, ICS-06423. doi: 10.1016/j.ics.2005.12.045.
- VI. **González-Andrade F**, Sánchez D., Martínez-Jarreta B. (2006) Sex-specific Genetic Admixture of Mestizos, Amerindian Kichwas and Afroecuatorians from Ecuador. Enviado para su consideración en *Human Biology*.
- VII. **González-Andrade F.**, Sánchez D., Budowle B., Martínez-Jarreta B. (2006) Y-chromosome STR haplotypes: genetic data from Mestizos, Amerindian Kichwas and Afroamericans Blacks from Ecuador. Enviado para su consideración en *Forensic Science International*.

Tribunal de Tesis

Dr. Ángel Carracedo Álvarez

Catedrático de Medicina Legal, Director del Instituto de Medicina Legal de Santiago, Universidad de Santiago, Facultad de Medicina, Instituto de Medicina Legal, Sección de Genética Forense, Santiago de Compostela

Dra. Marian Martínez de Pancorbo

Catedrática de Biología Celular, Directora del Servicio de Genómica y Banco de ADN, Universidad del País Vasco, Facultad de Farmacia, Servicio de Genómica: Banco de ADN, Vitoria – Gasteiz.

Dra. M^a de Fátima Terra Pinheiro

Profesora Asociada de Genética Forense, Jefe del Laboratorio de Biología y Genética Forense, Instituto de Medicina Legal de Portugal, Porto.

Dra. Blanca Bell

Profesora Asociada de Medicina Legal y Facultativa de MAZ, Universidad de Zaragoza, Departamento de Medicina Legal, Zaragoza.

Dr. Emilio Abecia Martínez

Facultativo Hospital Miguel Servet, Investigador Asociado, Universidad de Zaragoza, Departamento de Medicina Legal, Zaragoza.

Dra. Pilar Nievas

Facultativo Hospital Miguel Servet, Investigadora Asociada, Universidad de Zaragoza, Departamento de Medicina Legal, Zaragoza.

Dr. Ignacio de Blas

Profesor de Epidemiología, Investigador Asociado, Departamento de Epidemiología, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Zaragoza.

Abreviaturas

A	Adenina
ADN	Ácido Desoxirribo Nucleico
ADNmt	ADN mitocondrial
C	Citosina
CGH	Internacional Human Genome Sequencing Consortium
CODENPE	Consejo de Desarrollo de los Pueblos Indígenas
CODIS	Combinated DNA Index System
EC	Electroforesis capilar
EDNAP	European DNA Profiling Group
ENFSI	European Network of Forensic Science Institutes
ESWG	English Speaking Working Group (ISFG)
Fq	frecuencia
G	Guanina
Gb	gigabases
GEP-ISFG	Grupo español y portugués de la ISFG
H	haplotipo
Interpol	Internacional Police
ISFG	International Society for Forensic genetics
LCN	low copy number profile
LINEs	long nuclear interspersed elements
LTR	retrovirus-like elements
MVR	minisatellite varian repeat
nuSNP	nuclear single nucleotidic polymorphisms
Pb	par de bases
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PGH	Proyecto Genoma Humano
PTC	Paternity Testing Comission (ISFG)
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphic
SIISE	Sistema integrado de indicadores sociales
SINEs	short nuclear interspersed elements
SNP	single nucleotide polymorphism
STR	Short Tandem Repeat, microsateélite
STS	sequence tagged sites
T	Timina
TWGDAM	Technical Work Group for DNA Analysis Methods
UR	unidad de repetición
VNTR	Variable number tandem repeat

Introducción



En este trabajo se plantearon los siguientes objetivos:

1. Generar una base de datos de microsatélites en los grupos étnicos mestizo, amerindio kichwa, amerindio waorani y negro afroamericano de Ecuador, que sirva como referencia para los cálculos estadísticos utilizados en la resolución de casos forenses tanto en investigación de paternidad como en criminalística.
2. Estimar dentro de los grupo étnicos mestizo, amerindio kichwa, amerindio wuaorani y negro afroamericano los principales parámetros estadísticos de interés médico forense de microsatélites autosómicos, que demuestren la utilidad y rendimiento de dichos marcadores en la resolución de casos judiciales; así como comprobar el equilibrio de Hardy-Weinberg y otros parámetros estadísticos de aplicación genético-poblacional.
3. Determinar dentro de cada grupo étnico mestizo, amerindio kichwa, amerindio waorani y negro afroamericano. los estadísticos de interés médico forense y genético poblacionales de los microsatélites de cromosoma “Y”, así como la frecuencia haplotípica y la diversidad genética de cada marcador analizado, que demuestren la utilidad y rendimiento de estos marcadores en la resolución de casos judiciales.
4. Determinar el grado de mestizaje existente entre grupos étnicos mestizo, amerindio kichwa, amerindio waorani y negro afroamericano y determinar diferencias intra e inter poblacionales en cada grupo estudiado.

Biodiversidad étnica en el Ecuador

Ecuador: un país megadiverso

El Ecuador es uno de los 17 países mega diversos del mundo, es decir de los más ricos en biodiversidad y endemismo, en cuanto a flora y fauna. País megadiverso es la denominación que se le da a cualquiera de los 17 países con mayor índice de biodiversidad de la Tierra (Semarnat, 2002).

Se trata mayormente de países tropicales, como los del sureste asiático y de Latinoamérica. Albergan en conjunto más del 70% de la biodiversidad del planeta, suponiendo sus territorios el 10% de la superficie del planeta (Semarnat, Declaración de Cancún, 2002). Entre estos países Ecuador posee el área más pequeña con tan solo 256.370 Km², esto es, el 0.17% de la superficie terrestre del planeta, por lo tanto, es el país con la mayor biodiversidad del planeta en comparación con su área. Esto también se aplica a la diversidad étnica humana que existe al interior del país.

La variedad de rostros, rasgos y colores de piel es, probablemente, la mejor expresión de la diversidad en el Ecuador. Los negros, indios, blancos y mestizos que hoy viven en dicho país son de una u otra manera, el resultado de un complejo y largo proceso de fusión de varios grupos humanos (Ecuador Terra Incógnita, 2000). Aunque no existen estadísticas actualizadas, aproximadamente uno de cada cuatro ecuatorianos pertenece a las nacionalidades o pueblos indios actuales. La mayoría, además de una de las trece o más lenguas indígenas, habla español. De acuerdo con este dato, ocho de cada doce ecuatorianos es mestizo y habla español.

Ecuador está ubicado al noroccidente de Sur América y tiene cerca de 13 millones de habitantes. Está compuesto por tres grupos étnicos principales, clasificados así no por importancia sino por número de habitantes y por su propio autoconocimiento, a saber: (a) las poblaciones urbanas, mestizas, (b) los amerindios nativos, que son más de 100 grupos multiétnicos y pluriculturales, y (c) las poblaciones negras afroamericanas que son descendientes de esclavos y que habitan en regiones específicas del país, mayoritariamente en la provincia de Esmeraldas, Imbabura y pequeños grupos distribuidos a lo largo de la costa ecuatoriana. Algunos autores, describen a la población negra actual como un grupo dihíbrido producto de la mezcla ancestral entre africanos y amerindios (Rickards, 1995; Martínez-Labarga y cols, 1999).

En los actuales momentos hay un creciente interés en los estudios genéticos poblacionales en Latinoamérica, particularmente por nuestra riqueza etnográfica. Esto se basa en la historia única, nueva «con apenas cinco siglos de mestizaje» y relativamente homogénea de la región, especialmente después del descubrimiento del continente. En los últimos cinco siglos, varias poblaciones originales entraron en contacto, interactuaron entre sí y se mezclaron, produciendo el mestizaje. Ellos son, en orden cronológico, los Amerindios, un grupo cercano derivado del Asia Central; los Europeos, mayoritariamente Españoles; y los Africanos, quienes fueron traídos como esclavos a Latinoamérica desde Guinea Ecuatorial (Benítez y Garcés, 1989).

Por otro lado, en los últimos dos siglos se han producido varios flujos genéticos desde Europa a Latinoamérica. Uno de los más numerosos tomó lugar en los años posteriores a la Guerra Civil Española y después de la Segunda Guerra Mundial, donde los europeos migraron por la violencia y la depresión económica de la posguerra (Rosenblat, 1954). Este movimiento se centralizó en los países de la Costa Atlántica y en la región subcontinental (Rosenblat, 1954); pero fue diferente en la región andina y en la costa del Pacífico, donde se localiza el Ecuador. Por ello, se considera que las etnias que se mezclaron y hoy conforman Ecuador son mucho más antiguas.

Además, después de los primeros contactos entre colonizadores y nativos, hubo nuevos mestizajes entre los mestizos resultantes de la unión previa y los amerindios nativos, y así sucesivamente. Como resultado de estas múltiples mezclas, *aparentemente* la carga genética caucásica se ha ido perdiendo parcial y progresivamente a través de los años.

Por otro lado, ahora en sentido inverso, más de un millón de ecuatorianos ha emigrado en los últimos 10 años a Estados Unidos y España principalmente. Sólo en el 2003 se registró una salida de 613.106 personas con una tasa de migración internacional de 47,7 por cada 1.000 habitantes (INEC, 2003a) constituyendo un nuevo flujo genético importante sobre todo para los países mencionados. En ese mismo año se registraron 130.000 personas que viajaron a España (INEC, 2003 a). Se calcula que hoy viven en España más de 600.000 ecuatorianos.

La Población Mestiza

Los *Mestizos* son el grupo más grande y representativo del país. Son descendientes de Españoles (caucásicos) e indígenas nativos amerindios. Actualmente los mestizos viven en las regiones urbanas, que engloban al 60% del total de la población (INEC, 2003b). Este grupo híbrido lleva tan solo 500 años, así como también existen otros grupos menores, tales como los *Mulatos* que provienen de una mezcla entre caucásicos y negros, o los *Zambos*, una mezcla entre amerindios y negros (Benítez y Garcés, 1989). Estos tres subgrupos parecen no diferenciarse en la actualidad pero en el pasado tuvieron un distinto estatus social y económico. Los nativos amerindios fueron asimilados fácilmente dentro de estos otros subgrupos.



Gráfico 1. En la imagen derecha se observa un mapa de Ecuador y su geografía irregular, que ha marcado una separación entre los pueblos y etnias primitivos, sobretodo con los pueblos de la zona amazónica. En la imagen izquierda se observa las niñas de la ciudad: el rostro del mestizo actual en las áreas urbanas

Las causas que influyeron poderosamente en el fenómeno del mestizaje en América entre otras fueron: la baja extracción social de los españoles emigrantes, sus escasos prejuicios raciales y las pocas mujeres españolas existentes en el nuevo mundo, estas tan sólo representaban un 10 al 20% del total de españoles (Castrillo F, 1992; Bernand C, 1994).

Por otra parte, el emigrante español tenía en promedio entre 18 a 25 años e iba solo, por lo que formaba su familia en América, esto alimentó el mestizaje sin lugar a dudas. Por lo que toca a los escasos prejuicios raciales del español, éstos se derivan de la misma formación de la etnia hispana, integrada por numerosas oleadas de pueblos europeos y norteafricanos. El español estaba lleno de prejuicios sociales y religiosos, lo que le planteaba serios problemas a la hora de casarse, pero carecía de prejuicios para unirse sexualmente con mujeres de otras razas (Castrillo F, 1992)

En otras ocasiones, la unión entre un conquistador y una indígena tenía razones políticas o religiosas como la dominación de un territorio o la conversión al Catolicismo (Bernard C, 1994). Esto parece ser la explicación de la fuerte carga genética indígena y caucásica que se observa en los habitantes actuales.

Los Pueblos Amerindios

El Estado Ecuatoriano reconoció hace varios años la multiétnicidad y pluriculturalidad del Ecuador. Este reconocimiento se basó en la existencia de una realidad indígena que presenta diferentes nacionalidades, con prácticas culturales comunes, un lenguaje propio y una cosmovisión única y auténtica apropiada a las condiciones naturales e históricas, que los diferencia de entre los otros grupos indígenas existentes en la región.

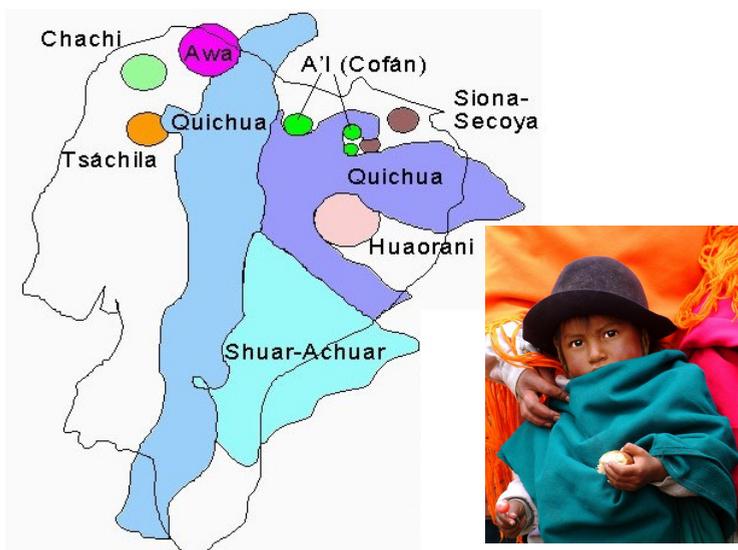


Gráfico 2. Ubicación geográfica de algunos pueblos indios. Los kichwas como el de la fotografía son el grupo étnico más numeroso y son la cara más dura de la pobreza.

Los individuos de una misma comunidad se conciben diferentes de los demás grupos nativos. Este concepto comprende dos dimensiones: las características culturales y sociales como el idioma, la religión, la fe, la ubicación geográfica y además, un sentido de identidad y tradición única. Los propios pueblos indígenas han definido a la «nacionalidad indígena» como una entidad histórica y política, que tiene en común identidad, historia, idioma, cultura propia; que vive en un territorio determinado, mediante sus propias instituciones y formas tradicionales de organización social, económica, jurídica, política y ejercicio de autoridad propia. También definen «pueblo indígena» como una colectividad originaria, conformada por comunidades o centros con identidades culturales que les distinguen de otros sectores de la sociedad ecuatoriana; está regido por sistemas propios de organización social, económica, política y legal.

En la Tabla 1 se muestran las diferentes nacionalidades existentes en nuestros días y reconocidas como grupos étnicos diferentes. Se observa que el idioma de cada grupo es distinto y que en algunos casos existen grupos similares en los países vecinos. Hay que resaltar, que muchos de estos grupos viven condiciones de aislamiento y de extrema pobreza. El grupo indígena mayoritario lo constituyen los Kichwas (quichuas).

Tabla 1. Nacionalidades indígenas, pueblos indios y etnias del Ecuador.

Nombre	Idioma	Población estimada	Localización en Ecuador	País vecino con grupo similar
Awá	Awapít	~ 3.082	Costa: provincia de Esmeraldas, cantón San Lorenzo, parroquias Tululbí, Mataje (Santa Rita) y Alto Tambo. Sierra: (estribaciones occidentales andinas) provincia del Carchi: cantón Tulcán, parroquias Tobar Donoso y El Chical (Maldonado); provincia de Imbabura: cantón San Miguel de Urququí, parroquia La Merced de Buenos Aires y cantón Ibarra, parroquia Lita.	Colombia
Secoya	Paicoca	~ 380	Viven a lo largo de los ríos Shushufindi, Aguarico y Cuyabeno. Viven en tres comunidades: San Pablo de Catëtsiaya y Siecoya Remolino Ñe'ñena, ubicadas en la parroquia San Roque, cantón Shushufindi; Eno, ubicada en la parroquia Tarapoa, cantón Cuyabeno.	Perú
Waoroani	Wao	~ 2.000	Provincia de Orellana, cantón	Ninguno

(Auca)	Tiriro		Orellana, parroquia Dayuma; y cantón Aguarico, parroquias Tiputini, Yasuní y Sta. María de Huiririma. Provincia de Pastaza, cantón Arajuno, parroquia Curaray. Provincia del Napo, cantón Tena, parroquia Chontapunta	
Epera	Sia Pedee (Wamuna o Epena)	~ 250	En la Costa Norte, Provincia de Esmeraldas, Cantón Eloy Alfaro, parroquias Borbón y La Concepción.	Colombia
Siona	Paicoca	~ 400 secoyas (Ankuteres y Piojes)	Viven a lo largo de los ríos Shushufindi, Aguarico y Cuyabeno. La ocupación es dispersa. La población está asentada en las comunidades de Puerto Bolívar, Bi'aña y Orahuéaya'. La población Siona original fue diezmada por enfermedades introducidas por agentes foráneos y por la explotación del caucho en la cual fueron involucrados directamente.	Colombia
A'i Cofan	A'ingae	~ 1.000	Sobre el río Aguarico, el Guanúes y San Miguel y en la forontera entre Colombia y Ecuador. Cerca de 1.000 habitantes conservan su lengua y cultura, mientras otros 500 reclaman descendencia en sitios dispersos; de ellos, al menos 800 radican en Ecuador. Se encuentran organizados en las comunidades: Sinangüé, Zábalo, Chandía Na'en, Tayosu Conque, Dovuno y Dureno	Colombia
Shiwar	Shiwar Chicham	~ 697	En el Ecuador, en el sureste de la provincia de Pastaza, cantón Pastaza, parroquia Río Corrientes. Los Shiwar han sido los habitantes tradicionales de los territorios ubicados en la cuenca alta del Río Corrientes y la cuenca alta del Río Tigre. Dentro de su patrimonio territorial, la nacionalidad Shiwar se distribuye en nueve comunidades dispersas: Kurintsa, Tunguintsa, Cambantsa, Panintza, Chuintza, Tanguntza, Juyuintza, Pientza y Bufeo.	Perú
Zápara	Zapara	~ 150	A lo largo de los ríos Conambo, Pindoyaco y Curaray. Existen 10 comunidades Zápara; en la parroquia Río Tigre: Cuyacocha, Conambo, Pindoyacu, Balsaura, Wiririma, Torimbo, Shiona; en la parroquia Sarayacu: Jandiayacu, Llanchama Cocha, Mazaramu.	Perú
Kichwa	Kichwa	~ 3 millones en región Andina ~ 70.000	En la sierra desde la provincia del Carchi al norte, hasta Loja al Sur. En la región amazónica en las provincias de Pastaza, Napo, Sucumbíos y Orellana	Perú

en
Amazonia.

Chachi (Cayapa)	Cha'palaa	~ 8.040	Zona Norte: cantón San Lorenzo, parroquia Tululbí; cantón Eloy Alfaro, parroquias San José de Cayapas, Telembí, Santo Domingo de Onzole, San Francisco de Onzole, Borbón y Atahualpa. Zona Centro: cantón Río Verde, parroquia Chumundé; cantón Quinindé, parroquias Cube y Malimpia. Zona Sur: cantón Muisne, parroquias San José de Chamanga y San Gregorio.	Ninguno
Tsa'Chila (Colorado)	Tsa'fiqui	~2.000	Provincia Pichincha, cantón Santo Domingo de los Colorados, parroquias Puerto Limón y periferia de la cabecera cantonal de Santo Domingo de los Colorados (La Aurora)	Ninguno
Shuar	Shuar Chicham	~ 110.000	Provincias de Zamora Chinchipe y Morona Santiago, en 668 comunidades. Al interior de la nacionalidad se adoptan otras auto denominaciones así encontramos a los Muraya Shuar (gente de la montaña) que están asentados en el Valle del río Upano; los Untsuri Shuar (gente numerosa) situados entre las cordilleras del Cóndor y Cutucú; los Pakanmaya Shuar que viven en la zona del Transcutucú.	Perú
Achuar	Achuar Chicham	~ 5.500	Ubicados los ríos Macuma y Huasaga, que conforman 56 centros con alrededor de 830 familias, provincias de Pastaza y Morona Santiago	Perú
Negro afroecuatoriano	Español	~ 500.000	En Esmeraldas y Carchi	Ninguno

Fuentes: Disponible en: <http://www.codenpe.gov.ec> (CODENPE-SIDENPE-SIISE[®], 2002). CODENPE es Consejo de Nacionalidades y Pueblos indígenas del Ecuador. SIDENPE es Sistema de Indicadores de Nacionalidades y Pueblos indígenas del Ecuador.

SIISE es Sistema integrado de indicadores sociales del Ecuador (Disponible también en: <http://www.frentesocial.gov.ec/siise.htm>). Base de datos de las comunidades de las Nacionalidades y Pueblos, según la DPA, construida sobre la información del CODENPE, PRODEPINE, DINEIB y validada en los Talleres Regionales de Consulta.

Elaboración: autor

Existen muy pocos estudios genético-poblacionales realizados sobre las poblaciones de Ecuador, y en especial sobre las indígenas y negras. Los pocos que existen se han enfocado en dos grupos principales los Chachi y los negros afroamericanos que viven en la provincia de Esmeraldas. Esto demuestra la poca investigación realizada sobre este tema, como lo muestra el cuadro siguiente.

Tabla 2. Estudios genéticos publicados sobre poblaciones ecuatorianas (no se incluyen las publicaciones derivadas de este trabajo)

Grupo étnico	Marcador genético analizado	N =	Fuente	Año
Chachi (Cayapa)	Marcadores séricos eritrocitarios F13A, F13B, ORM1, AHSG, C6, C7 and APOC2	139	Scacchi y cols.	1994
Chachi (Cayapa)	Marcadores séricos eritrocitarios subtipos ACP1, ADA, AK1, CA2, ESD, GLO1, G6PD, PGD, PGM1, PGM2, SODA, y HB	164	Rickards y cols.	1994
Chachi (Cayapa)	HLA clase II	100	Titus-Trachtenberg y cols.	1994
Chachi (Cayapas) Negro afroamericano	RFLPs del gen COL1A2		Pepe y cols.	1994
Chachi (Cayapa)	Alotipos GM y KM	65	Kron y cols.	1994
Chachi (Cayapa)	HLA clase II	100	Trachtenberg y cols.	1995
Chachi (Cayapa)	HLA DQA1*	40	Zimmerman y cols.	1995
Chachi (Cayapa)	HLA clase I (B)	13	Garber y cols.	1995
Chachi (Cayapa)	Región V marcador mitocondrial		Rickards O.	1995
Waorani	HLA DRB1	6	Blagitko y cols.	1997
Chachi (Cayapa) Negro afroamericano	Factor V Leiden mutaciones	111	Pepe G y cols.	1997
Chachi (Cayapa)	Polimorfismos Apo E y B	96	Scacchi y cols.	1997
Chachi (Cayapa)	ADN mitocondrial	204	Rickards y cols.	1999
Negro afroamericano	Marcadores séricos ACP1, ADA, AK1, CA2, ESD, GLO1, G6PD, PGD, PGM1, PGM2, HBbeta, F13A, F13B, ORM1, AHSG, C6, C7 y APOC2	255	Martínez-Labarga y cols.	1999
Mestizo y mulato	RFLPs del gen COL1A2	286	Rickards y cols.	2005
Tsa'chila (Colorado)	RFLPs del gen COL1A2	80	Babalini y cols.	2005

Fuente: ver referencias Elaboración: autor

Los Kichwas amerindios

Las poblaciones amerindias nativas de los Andes se han clasificado en dos grupos de acuerdo al lenguaje que practican: los que hablan Quechua y los que hablan Aymara (Rodríguez-Delfín et al, 2001). Quechua, con «e», es el lenguaje que se habla hoy en día por los descendientes de los incas, especialmente en Perú y Bolivia (Gené M et al, 1998 and 2000; Benítez y Garcés, 1989). Esto no es una realidad en Ecuador porque la mayoría de los indígenas hablan Quichua (Kichwa), con «i», que es una variación antropológica del lenguaje, derivada del proceso de mezcla inter-indígena después del período Inca. En los actuales momentos el Estado patrocina una programa nacional para unificar el lenguaje Kichwa ecuatoriano (de *qhiswa* «zona templada»), también *runa shimi*, o *kuri shimi* (Conejo A, 2005; CODENPE-SIDENPE-SIISE, 2002).

Los Kichwas, nombre ancestral, o los Quichuas, un nombre derivado y adaptado por el mestizaje, comprenden una población de ~3.000.000 de habitantes «20% de la población ecuatoriana» (CODENPE-SIDENPE-SIISE, 2002). Son el grupo más representativo de los amerindios de nuestro país. La mayoría viven en la región andina, desde el Carchi al norte hasta la provincia de Loja al sur.

Existen otros grupos que habitan en las provincias de Pastaza, Napo, Sucumbíos y Orellana, que llegan a ~70.000 habitantes y, se caracterizan por hablar una variedad de Kichwa distinguible del de la sierra, están organizados 438 comunidades distribuidas asociaciones, cooperativas, centros, federaciones y organizaciones provinciales (Brito M, 1992). Los incas impusieron el «Quechua» como idioma de dominación y alianza, los conquistadores y misioneros españoles se apropiaron de esta expansión lingüística para imponer el español, por ello, la mayoría de los indígenas kichwas hablan español como segundo idioma.

La nacionalidad Kichwa es producto de la unión de varios grupos con el mismo idioma pero con diferencias culturales pequeñas, entre ellos están los Karanki, Natabuela, Otavalo, Kayambi, Kitu-kara, Panzaleo, Chibuleo, Kichwa del Tungurahua, Salasaka, Puruhá, Kañari y Saraguro. La nacionalidad Kichwa de Ecuador aparece luego de un proceso de «quichuisación» de múltiples grupos diferentes, que tuvieron contacto durante el período preincásico y, adaptaron el «quichua» como un segundo lenguaje. El «Quechua» fue el idioma de los Incas (Moya A, 2000).



Gráfico 3. Mujeres kichwas actuales

El *quechua* procedente de los descendientes de los Incas es el cuarto idioma más hablado en América y la lengua nativa más extendida del continente, seguida del guaraní y luego el aymara. Se habla en la zona occidental de Sudamérica, y es junto al español, el idioma oficial en Bolivia, Perú (en las zonas donde predomine) y Colombia (en su territorio). Es de tipo sintética aglutinante por lo que ni el acento ni el tono de voz afectan el significado de la palabra.

Muchos estudiosos niegan que se trate de una sola lengua. Si bien el mayor consenso la identifica como un continuo dialectal algunos la consideran más bien una familia de lenguas, como el chino; y otros, como el Instituto Lingüístico de Verano, la consideran un macroidioma (<http://es.wikipedia.org/wiki/Quechua>).

En Ecuador el *quichua*, *kichwa* o *kuri shimi*, es el segundo idioma más utilizado en el país, especialmente donde se asientan comunidades indígenas en las zonas de la sierra.

Los Waorani

Son el último pueblo nómada de cazadores-recolectores que existe en Ecuador. Conocidos tradicionalmente como «aucas» ó «jibaros» han sido popularizados por considerarlos capaces de «reducir cabezas», proceso denominado «tzantza». Hablan el idioma «Wao Tiro» que según estudios lingüísticos han demostrado que carece de congéneres para esta lengua. Actualmente, los waorani viven en pequeños grupos aislados de la Amazonía ecuatoriana, algunos de ellos a expensas de las compañías petroleras que deforestan y destruyen su entorno natural (Wray N, 1999), otros individuos viven aislados sin ningún contacto con el mundo occidental como son los «Tagaeri», los «Taromenane» y los «Oñamenane» que viven dentro del territorio legalizado (CODENPE-SIDENPE-SIISE, 2002).

Según el Diagnóstico de la Nacionalidad Waorani realizado en 1999, la población supera las 2.200 personas. Actualmente, se encuentran organizados en alrededor de 28 comunidades que agrupan a la población en contacto (CODENPE - SIDENPE - SIISE, 2002).

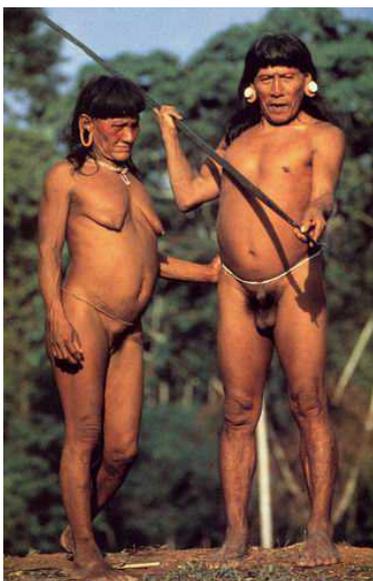


Gráfico 4. Foto de una pareja Waorani y ubicación geográfica de la reserva. Se los considera un pueblo en extinción.

La unidad básica tradicional o grupo doméstico es el «nabicabo», constituido por familias ampliadas o múltiples compuestas por un número de seis a diez familias que habitan bajo un mismo techo o «maloca»; estos grupos domésticos son autosuficientes, autónomos y están organizados alrededor de un anciano o anciana de cuyo nombre se deriva el nombre del grupo doméstico.

La unidad territorial o grupo local se denomina «waomoni», que es la unión de varios «nabicabos». Los «waomoni» son de carácter endogámico, al interior del cual deben darse los matrimonios entre primos cruzados y las relaciones de alianza. Existe una combinación de formas tradicionales con criterios nuevos de asentamiento semi-nuclear. Gran parte de las comunidades están formadas por dos o tres «waomoni» de diverso origen. Una minoría vive ya sea en malocas agrupadas” o en grupos domésticos aislados.

Su máximo organismo es el Consejo Bile Waorani, que es la Asamblea de toda la nacionalidad. La Organización mayor de representación externa es la Organización de la Nacionalidad Waorani de la Amazonia Ecuatoriana, ONHAE, conformada a partir de los años 90. La ONHAE es miembro de la CONFENIAE y de la CONAIE (Wray N, 1999). Se encuentran ubicados en tres provincias de la Amazonia: Provincia de Orellana, cantón Orellana, parroquia Dayuma; y cantón Aguarico, parroquias Tiputini, Yasuní y Sta. María de Huiririma. Provincia de Pastaza, cantón Arajuno, parroquia Curaray. Provincia del Napo, cantón Tena, parroquia Chontapunta (Brito M, 1992).

En cuanto al territorio de los waorani podemos decir que su territorio tradicional se extendía sobre un área aproximada de 2'000.000 ha, entre la margen derecha del río Napo y la izquierda del Curaray (ver gráfico 4). Este pueblo mantuvo su independencia y defensa de su territorio por medio de acciones guerreras. A partir de 1958, con la presencia permanente del ILV (Instituto Lingüístico de Verano), se inicia la época de contacto con el exterior (PRODEPINE: Proyecto de Desarrollo de los Pueblos Indígenas y Negros del Ecuador, 1.999).

Los pueblos negros descendientes de africanos

El tráfico de esclavos del Atlántico promovido por los imperios occidentales entre los siglos XV y XIX, movió por la fuerza al menos 11 millones de personas desde África, siendo un tercio de los mismos procedentes de África central y occidental (Salas y cols, 2005).

La población negra de Ecuador descende de los esclavos africanos traídos desde la costa atlántica de África a América. Es posible que originalmente hayan sido traídos primero desde Guinea Ecuatorial a Panamá, y desde allí a Ecuador en barcos de esclavos alrededor del año 1553, año donde se registran los mayores cargamentos de esclavos (Estupiñán-Bass, 2006).

Los primeros negros que llegaron a Esmeraldas fueron náufragos que se salvaron de un barco que encalló en las costas de Esmeraldas y ganaron la tierra a nado (Estupiñán-Bass, 2006). Al internarse en el continente se convirtieron en «los señores de la comarca» (González-Suárez F, 2004).

El principal de estos negros había vivido en Sevilla y hablaba castellano. Los negros sometieron a las tribus indígenas entre las que se encontraban los cayapas. Estos indígenas han consagrado el nombre «malaba», malo, diablo o «juyungo» para designar a los negros.

Durante la colonia, en la Real Audiencia de Quito, la provincia de Esmeraldas fue conocida como la «República de Zambos», por lo que las autoridades siempre han tratado de relacionarse con jefes negros debido a su gran influencia local (González-Suárez F, 2004). La población de la provincia de Esmeraldas es mayoritariamente negra y existen estudios antropológicos que han determinado un gran aporte de «lo negro» a la cultura ecuatoriana.

Hoy en día habitan principalmente en dos regiones del Ecuador, en el Valle del Chota ubicado en la Provincia del Carchi dentro de la zona andina y, en la provincia de Esmeraldas en la parte costera del país. Tienen una población de ~500.000 individuos dispersos en todo el país.

Hablan español y tienen una rica cultura de tradiciones afroamericanas entre las que se cuenta la música, la danza y las prácticas religiosas ancestrales (Benítez y Garcés, 1989). Viven de las actividades agrícolas en las zonas rurales y en las ciudades han sido asimilado a la cultura urbana (Vásquez L, Saltos N, 2003).

Escritores esmeraldeños como Julio Estupiñán Tello y Antonio Preciado (Estupiñán-Bass, 2006) han revalorizado la aportación negra al desarrollo cultural y han afianzado los valores propios de su etnia (rebeldía, sentido de independencia) y sus manifestaciones culturales.

Aunque se han dispersado por todo el territorio ecuatoriano debido a su situación socio-económica, se los puede reconocer por sus manifestaciones culturales, muy ricas en música, fiestas y costumbres que todavía no han perdido el esplendor de las tierras lejanas de un continente ancestral.

A inicios del tercer milenio los pueblos negros afroecuatorianos aún luchan por desprenderse del legado de la esclavitud más antigua que la conquista. Probablemente sabemos menos de este pueblo como seres humanos y de sus necesidades que de ningún otro.



Gráfico 5. Mujer negra de Esmeraldas, la provincia con mayor número de pobladores negros del Ecuador.

El poblamiento de América

La historia América y de su poblamiento ha sido objeto de un gran número de estudios en los últimos años, que no han sido los primeros pero sí los más científicos. En realidad existieron ya desde los primeros años de la conquista diversos trabajos y especulaciones sobre este tema. Para los europeos les resultaba incomprensible que los americanos hubieran vivido casi 500 años separados del mundo cristiano (Borja G, 2006).

Algunos creían que los americanos eran descendientes de una tribu de Israel, otros decían que venían desde el Asia y que se habían expandido desde el norte al sur. Esta teoría se hizo más popular con el descubrimiento del estrecho de Beering y que luego se ha confirmado parcialmente en la actualidad (Borja G, 2006).

Para nuestro trabajo basta decir que el camino epistemológico comienza a partir del estudio de un determinado polimorfismo genético y contando con la información aportada por otras disciplinas como la lingüística y la arqueología, se intenta reconstruir la historia de una población.

En cuanto al continente americano, hay controversias abiertas en varios frentes. En el campo arqueológico existen dos hipótesis. La primera hipótesis sitúa el primer poblamiento de América hace unos 10-14.000 años, y la segunda lo sitúa hace 30.000 años (Bahn PG, 1993).



Gráfico 6. Probables rutas de migración humana desde África. Aún no se ha completado los estudios genéticos que expliquen la población de América.

En el campo lingüístico, la clasificación tradicional es muy prudente a la hora de reconocer grandes agrupaciones o familias lingüísticas, lo que hace que se hayan propuesto hasta 200 lenguas para el continente americano, lo que representa más del doble del conjunto del resto del mundo (Ruhlen M, 1991).

Joseph Greenberg (Greeberg, 1987), con su metodología innovadora y controvertida, propuso que las lenguas del continente americano se pueden agrupar en tres grandes familias: esquimo-aleutiana, na-dené, que comprende 34 idiomas hablados en dos territorios: el noroeste de Canadá y el suroeste de los Estados Unidos, y amerindia, que engloba los 583 idiomas restantes hablados por los nativos en América central y del sur (Ruhlen M, 1991).

Aunque muy pocos especialistas en filología de las lenguas americanas aceptan esta clasificación, ésta ha sido acogida muy favorablemente por los genetistas, ya que permite formular hipótesis más sencillas sobre el poblamiento de América.

Los genetistas han estudiado el ADN mitocondrial, en las formas presentes en nativos americanos y lo han clasificado en cuatro grandes grupos o haplogrupos: A, B, C y D (Torroni y cols, 1993). Otros autores (Torroni y cols, 1992) propusieron que sólo un haplotipo por haplogrupo entró en América proveniente de Asia y que esto ocurrió en tres oleadas migratorias correspondientes a los tres grupos lingüísticos.

En cambio, otros científicos (Merriwether y cols, 1995; Merriwether y cols. 1996) estiman que múltiples variantes de cada linaje entraron en América, probablemente en una sola oleada de migración.

La solución a este dilema exige seguramente por un conocimiento más detallado de la molécula de ADN mitocondrial, además de mejores herramientas numéricas para la datación de la variabilidad y la detección de *cuellos de botella* (reducciones del tamaño de una población con una recuperación posterior), y quizás una reflexión más profunda sobre las relaciones entre los orígenes de la variabilidad en un gen y la variabilidad en una población.

Origen de los ecuatorianos actuales

La evidencia arqueológica hoy disponible permite afirmar que nuestra historia comienza hace unos 11.000 años (Ayala y Fernández, 2003). Hacia esta fecha el país ha salido ya de una de las épocas más frías de la glaciación Wisconsin y se instaura un proceso de mejoramiento climático, el mismo que tardó algunos milenios en alcanzar las condiciones actuales (Ayala E, 1988; Ardila y Politis, 1989).

La caza-recolección como estrategia adaptativa perduró, en términos generales, hasta el tercer milenio antes de Cristo, cuando surgieron las primeras manifestaciones de la agricultura como medio básico de subsistencia. Este lapso de aproximadamente 6.000 años ha sido denominado por los arqueólogos período *lítico o precerámico* (Ardila y Politis, 1989).

Para el caso de América del Norte ha sido subdividido en *paleoindio* y *arcaico*, en razón de la diversidad de recursos explotados y de las estrategias de supervivencia. Las escasas investigaciones sobre las sociedades tempranas en el actual territorio del Ecuador no ha permitido a la arqueología ecuatoriana proponer divisiones similares. (Ardila G, 1992)

El problema del poblamiento inicial del país es bastante complejo, en vista de que poco se conoce la dinámica de las migraciones tempranas (Ayala y Fernández, 2003). Los registros arqueológicos existentes nos permiten, sin embargo, afirmar que el poblamiento de nuestro país se hizo por el callejón interandino, acaso con migraciones menores por la Costa y el Oriente (región amazónica).

Los seres humanos parecen haber ocupado rápidamente el callejón interandino. La Costa, en cambio habría permanecido largamente deshabitada, a juzgar por la relativa escasez de asentamiento precerámicos descubiertos, excepto los numerosos sitios de la península de Santa Elena, en una región que, comparativamente, es una de las más estudiadas del país.

El Oriente habría sido objeto de incursiones esporádicas desde la Sierra, que apenas rozaban la selva tropical. Si hubo alguna migración por la selva, las evidencias no han sido aún descubiertas, por falta de exploraciones sistemáticas de la región (Salazar E, 1984).

Restos humanos antiguos

Los vestigios arqueológicos se reducen en su mayoría a conjuntos de artefactos de piedra abandonados en los campamentos prehistóricos. Las investigaciones han fallado sistemáticamente en encontrar restos humanos en los niveles de ocupación temprana del país. Por otro lado, los pocos especímenes hallados, cuya existencia se creyó muy antigua, resultaron, para desilusión de los científicos, demasiado recientes: el famoso cráneo de Punín (Sullivan y Herman, 1938) datado en 4.950 a C.; los cráneos de Paltacalo, atribuidos una edad reciente (tal vez el período de Integración), y en el cráneo de Otavalo (Vásquez C, 1976), ubicado en el primer milenio antes de Cristo (Holm O, 1981).

De mayor trascendencia para el conocimiento de la población paleo ecuatoriana es el hallazgo de los restos de al menos 192 individuos en las excavaciones del sitio OGSE-80 de la cultura Las Vegas, en la península de Santa Elena (Stohtert J, 1988). Dataciones radiocarbónicas ubican estos restos entre 6.300 y 4.600 a C., constituyendo, por tanto, los vestigios humanos más antiguos del Ecuador.

La evidencia arqueológica

Las teorías sobre la presencia de cazadores-recolectores tempranos se apoyan en la evidencia de cultura material en los sitios excavados y por hallazgos superficiales aislados.

Desde una perspectiva global, estos descubrimientos aislados proveen poca información cultural, pero la procedencia de los artefactos permite registrar su distribución espacial, dato que puede ser relevante para la interpretación arqueológica. Desde este punto de vista, los hallazgos arriba mencionados confirman la presencia de cazadores tempranos a lo largo de casi todo el callejón interandino del Ecuador (Santiana A, 1966; Ayala y Fernández, 2003).

Entre los sitios excavados merecen citarse El Inga y San José en la provincia de Pichincha, la cueva de Chobshi en la provincia del Azuay, los sitios de Cubilán en la provincia de Loja, y el sitio de OGSE-80, en la provincia de Guayas).

El Inga se encuentra a 2.500 m. de altura, en la base del cerro Ilaló por su lado oriental. Las excavaciones de Robert Bell permitieron recuperar una ingente cantidad de material lítico de obsidiana y rocas basálticas pertenecientes a tres períodos sucesivos de ocupación (Bell R, 1965).

Lamentablemente, las dataciones radiocarbónicas no han dado una cronología consistente, debido a que las muestras provenían de un terreno disturbado por labores agrícolas. En todo caso, la fecha más antigua que se posee para este sitio es de 7.800 a. C.

Del análisis del material recuperado se infiere que El Inga fue un campamento paleoindio donde se llevaban a cabo diversas actividades, incluyendo la manufactura de artefactos.

Cabe destacar entre los utensilios encontrados, la presencia de cuchillos, raspadores, buriles y puntas de proyectil de diversas formas y tamaños, particularmente la punta de cola de pescado, característica del horizonte paleoindio mejor conocido de Sudamérica (Bonifaz E, 1978). El sitio se encuentra ubicado en una zona rica en vestigios tempranos que yace entre el Ilaló y la cordillera Oriental.

Los yacimientos paleoindios que le son más afines por sus rasgos generales y su industria lítica se encuentran hacia la base oriental del cerro, por lo común bajo la cota de 2.600 m. Al respecto vale citar Lazón, San Cayetano, San Juan, San José, este último datado en 9.350 a.C., por el método de la hidratación de la obsidiana.

Fuera de este sector hay numerosos sitios precerámicos de filiación aún desconocida, cuya densidad va disminuyendo a medida que se accede a los páramos de la cordillera Oriental.

En el sur del país hay que mencionar la cueva de Chobshi, ubicada a 2.400 m. de altura en el cantón Sigsig, provincia del Azuay. Depredada por largos años, la cueva fue finalmente excavada (Lynch y Pollock, 1985) donde se logró recuperar una importante muestra de artefactos de piedra y restos de fauna que parecen guardar relación con la tradición tecnológica de los utilajes del Ilaló.

En el límite entre las provincias del Azuay y Loja se excavó los sitios de Cubilán (Cu-26 y Cu-27), ubicados en la cordillera Oriental a 3.100 m de altura, en una zona ecológica calificada como subpáramo (Temme M, 1982). Cu-26 es un campamento que ha dado evidencia de al menos siete fogones, aparentemente contemporáneos, dataciones radiocarbónicas indican una edad entre 7.110 y 7.150 años antes de Cristo.

Hay en Cu-27 predominio de actividades de taller, a juzgar por la presencia de núcleos y restos de talla. Muestras de carbón vegetal indican una antigüedad de 8.550 a. C. y 8.380 a. C., por el método de análisis radiocarbónico.

El complejo Las Vegas comprende alrededor de 31 sitios ubicados a lo largo de drenajes antiguos, playas y lagunas secas, en la parte occidental de la península de Santa Elena. El registro arqueológico incluye restos de fauna marina y litoral, así como del interior, una industria lítica de *horsteno* en la que no hay instrumentos bien definidos, y la serie de esqueletos humanos señalados anteriormente. Fechas de radiocarbono ubican el complejo Las Vegas entre 9.050 a. C. y 4.650 a. C., con tres fases: Pre-Vegas (9.050 8.050 a. C.), Las Vegas temprano (7.850 6.050 a.C.), y las Vegas tardío (6.050 4.650 a.C.)

Comprendiendo el mestizaje, raíces de la diversidad étnica

El Ecuador se presenta como una comunidad histórica dueña de una gran riqueza cultural. El proceso histórico en el cual los pueblos en el actual territorio ecuatoriano han convivido y desarrollado en un medio ambiente diverso, como la Costa, la Sierra andina, la Amazonía y Región Insular, ha dado lugar a una variedad de prácticas sociales, culturales y económicas y ha permitido el fortalecimiento de las identidades y experiencias como pueblos.

En los estados de América Latina coexiste la diversidad de pueblos y culturales propias, la diversidad étnica es por lo tanto, la característica de las sociedades latinoamericanas.

La presencia de pueblos nativos en el territorio ecuatoriano data ya de hace unos 11.000 años a.C. Durante la época preincásica habitaban en la Costa se registran culturas ampliamente desarrolladas como la cultura Valdivia, que poseía conocimientos amplios en la agricultura, la cerámica, la pesca y la comunicación comercial.

En Bahía, Jama Coaque y en otros centros existió una organización urbana importante. En la Tolita crecieron culturas a base del conocimiento de técnicas de la metalurgia en platino, cobre y oro. La presencia de otros pueblos costños como los mantas, huancavilcas, chonos y punáes completa la visión de culturas regionales con un carácter propio.

En la Sierra encontramos pueblos con una compleja organización social como los de narrío challuabamba, tuncahuan, quillasinga y posteriormente la presencia de otros como los pastos, caranquis, cayambis, cochasquis, otavalos, quitus, panzaleos, puruhaes, cañaris, paltas, etc.

Estos pueblos se distinguen por un dominio tecnológico de los distintos pisos ecológicos y el oportuno aprovechamiento de los recursos naturales, así como un buen conocimiento de la astronomía, que les permitió diseñar un calendario agrícola.

En la región amazónica se puede citar a otros pueblos como los napos, secoyas, quijos, shuar y otros, en los que se aprecia un alto grado de dominio del medio, un aprovechamiento de la diversidad ecológica, el conocimiento curativo de las plantas, las técnicas de cerámica, etc.

Durante el siglo XV los incas conquistaron la parte sur de lo que hoy es el territorio ecuatoriano, su presencia no duró sin embargo, más de 80 años. La expansión incásica encontró resistencia en territorio ecuatoriano, y su dominio se concentró a lo largo de la Sierra.

Los territorios de la Costa no fueron integrados políticamente al Tahuantinsuyo, sin embargo, existieron diversas prácticas de intercambio comercial entre las dos regiones. Dentro del Tahuantinsuyo hubo diversos conflictos de poder, el mismo que estuvo dividido entre la familia quiteña de los incas, hoy Ecuador, y la familia de cajamarca en Perú.

En el norte de los Andes la realeza inca se había ligado con los cacicazgos locales y competía con la familia real del sur. En este contexto se hizo posible la conquista española que tomó ventaja de las divisiones de poder existentes entre los incas. Los incas provocaron una repoblación obligada al llevar y traer poblaciones entre los distintos territorios, traían poblaciones leales del sur del imperio y las radicaban en las regiones conquistadas en el norte. Un ejemplo, son los actuales zaraguros que tienen vínculos étnicos con algunos pueblos del Perú (Borja G, 2006)

La conquista europea en el siglo XVI se produjo en circunstancia en el que Tahuantinsuyo se encontraba fragmentado, y un apreciable sector de la población india apoyaba la acción de los invasores facilitando de esta manera el proceso de dominación y posteriormente la instauración del sistema colonial.

Esta colonización estuvo caracterizada por la imposición de un sistema social que negaba y excluía a la cultura aborígen. La irrupción hispánica en tierras americanas y la conformación de la sociedad colonial son las experiencias históricas, sobre cuya base emergió la cultura ecuatoriana.

La monarquía española y la Iglesia católica fueron ejes a partir de los cuales se construyó la nueva sociedad fundada en relaciones asimétricas de conquista y, por lo tanto, de dominación política, económica y cultural.

Esta situación de conflictividad en las que se desarrolló la conquista y la colonia exigió alianzas y negociaciones entre los diferentes grupos étnicos. Esta relación promovió el surgimiento de un mestizaje con características físicas y culturales peculiares. Existió una dinámica de negociación y de conflicto del mestizo, a veces era más conveniente declararse indígena, por ejemplo para librarse de ciertos impuestos y en otros caso era mejor ser mestizo para evadir por ejemplo la obligación de la mita.

A esto se agrega que las identidades no son algo concluido sino algo que se encuentra en permanente construcción, en negociación con las otras identidades. Gracias a este mecanismo social de adaptación la cultura mestiza se caracteriza hasta nuestros días por ese sincronismo mediante el cual, es capaz de aprovechar diferentes recursos culturales y prácticas sociales para construir identidades según las necesidades y estrategias del momento histórico (Borja G, 2006).

Otro grupo étnico que forma parte de la diversidad cultural ecuatoriana son los afroecuatorianos. Durante la Colonia el mundo europeo impuso en América la esclavitud del negro. A partir del siglo XVI llegaron al territorio de lo que hoy es el Ecuador los primeros grupos de esclavos africanos, los mismos que inicialmente fueron destinados al trabajo en plantaciones de las zonas tropicales de la Costa y algunos valles cálidos de la Sierra.

No hay duda que la población de origen africano, si bien no fue numéricamente considerable, comparada con otros países de América, ha marcado una huella imborrable en el acervo de la cultura ecuatoriana de hoy.

En el proceso de dominación social y político, las culturas aborígenes amerindias y la cultura negra ha persistido a lo largo de la República, lo que ha traído como consecuencia movimientos de permanente reivindicación de estos pueblos y cuya respuesta ha sido el fortalecimiento de sus identidades y la integración en una nueva sociedad intercultural y urbana.

Una mirada actual a la Genética Forense

El estudio de la variabilidad genética como medio de identificación humana se inició con el análisis de los grupos sanguíneos (antígenos eritrocitarios) (Hirschfield y Hirschfiel, 1919). Posteriormente se continuó a través del análisis de proteínas séricas, enzimas leucocitarias y eritrocitarias y del sistema HLA (antígenos leucocitarios humanos).

En 1985 Alec Jeffreys y cols. (Jeffreys y Pena, 1993) describían un método de identificación individual que denominaron *DNA fingerprinting* o huella genética. Este prometía ser la solución definitiva al análisis de la diversidad humana desde la Medicina Legal, tanto en Investigación Biológica de la Paternidad como en Criminalística.

En ese primer momento se pensó que la incorporación de esta metodología a la práctica forense se retrasaría debido a problemas estrictamente legales (Jeffreys y Pena, 1993), sin embargo, la historia demostraría que esta predicción era extremadamente pesimista.

En abril de ese mismo año, se resolvía satisfactoriamente un problema de inmigración por medio esta tecnología (Jeffrey y cols, 1985) y precisamente en el país donde esa técnica vio la luz, Inglaterra. Muy poco tiempo después, se admitiría también en un tribunal británico la investigación biológica de la paternidad basada en la prueba del ADN (Gill y Werret, 1987).

En 1987, el uso de la denominada *huella genética* o *DNA fingerprinting* había sido ya admitido en los procesos penales, tanto en Inglaterra como en USA, y en 1988 el Ministerio del Interior Británico, así como el de Asuntos Exteriores y Commonwealth ratificaron el uso de esta técnica para la resolución de casos de inmigración en los que hubiera que dilucidar la existencia o no de relaciones familiares (Home Office, Londres, 1988).

Actualmente se puede afirmar que la prueba de ADN está consolidada científicamente y su valor ante los tribunales no deja lugar a dudas. Para estudiar los problemas de aplicación forense de nuevos polimorfismos ADN, con el ánimo de estandarizar metodologías y establecer un riguroso control de calidad surgieron

hace ya varios años la TWGDAM (Technical Work Group for DNA Analysis Methods) en EEUU y en Europa la EDNAP (European DNA Profiling Group) con representantes de cada uno de los países miembros de la UE.

El avance tecnológico y el conocimiento de la transmisión hereditaria de marcadores genético-moleculares han permitido el desarrollo de la Genética Forense particularmente en todo lo referente a la identificación de personas y restos cadavéricos, el análisis de vestigios biológicos de interés criminal y la investigación de la paternidad (Edwards y cols., 1991; Sprecher y cols., 1996).

En los últimos años, el análisis de los polimorfismos de ADN por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se ha convertido en el procedimiento idóneo en la práctica forense (Martínez-Jarreta y cols., 1996), para la resolución de este tipo de muestras.

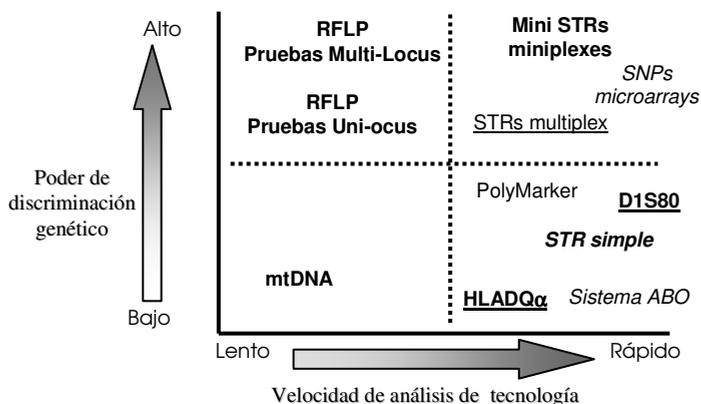


Gráfico 7. Comparación de las tecnologías de tipificación de ADN. Se contrasta de forma arbitraria la velocidad de análisis versus el poder de discriminación del sistema genético. Se ubican en el cuadrante de acuerdo a su poder de discriminación. Las flechas indican los ejes utilizados.

En España, los estudios de ADN están presentes desde mediados de los años 80. Para 1986, nace el Grupo Español de Hemogenética Forense de la ISFG. Dicho grupo constituye el referente para todos los países de Iberoamérica en lo que a Genética Forense se refiere. A lo largo de estos años, el GEP ha propuesto una serie de recomendaciones destinadas a consensuar la información de los laboratorios de este campo y, lleva a cabo un Test de Proeficiencia anual para paternidades y criminalística (Gómez J y cols, 2004; Martínez B, 2003b).

En Ecuador los estudios de paternidad están presentes desde 1997 (Sánchez D, 1997 y 1998). Desde entonces nuestro equipo de trabajo ha resuelto más de 3000 casos de filiación disputada (González F y cols., 2005a), una variedad de delitos sexuales (González F y cols., 2004) y de identificación de restos óseos por técnicas de ADN (González F y cols., 2005b).

Organización del Genoma Humano

Dos hechos trascendentes en la historia marcaron el desarrollo y crecimiento de la Genética Molecular. El primero, sucedido hace sólo 50 años, donde James Watson y Francis Crick mostraron al mundo el modelo de estructura en doble hélice del ADN (Watson y Crick, 1953) y abrieron la puerta a esta nueva disciplina científica, la Genética Molecular, que en su corta existencia ha contribuido decisivamente a cambiar nuestra manera de entender la vida constituyendo una verdadera revolución en el mundo científico.

En los actuales momentos aún no entendemos a cabalidad el real alcance y significado que tienen las aplicaciones de esta nueva área de la ciencia. El segundo hecho, lo constituyó Kary Mullis, quien inventó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), herramienta fundamental en el estudio del ADN, ya que se logró amplificar un millón de veces una sola molécula de ADN (Mullis y Faloona, 1987).

Estos dos grandes descubrimientos han tenido un gran impacto en la medicina contemporánea, que ha visto el desarrollo de un sinnúmero de aplicaciones en la práctica médica actual (Futreal y cols., 2001; Jiménez-Sánchez y cols., 2001).

El estudio del genoma humano se ha beneficiado enormemente del desarrollo de tecnologías que han permitido el estudio de su secuencia, la asociación de regiones delimitadas con caracteres específicos y la comparación del genoma humano con el de otras especies. Ahora se requiere la misma habilidad para interpretar correctamente esos datos uniéndolos al proteoma y comprendiendo como el conjunto determina una estructura y una función (Baltimore D, 2005).

El estudio de la genética y genómica humanas ya ha proporcionado un marco de comprensión de los aspectos básicos de la herencia humana. Todos los hombres somos similares genéticamente, lo que sugiere una igualdad impresionante entre todos los seres humanos y que el desarrollo humano tiene una base genética.

El genoma además de explicarnos porque somos tan parecidos, también puede aclararnos porque somos tan diferentes. Aunque los hallazgos del Genoma son trascendentales, para muchos la búsqueda de los orígenes mismos de la vida y del universo, seguirá siendo un misterio y una continua búsqueda.

Aunque el verdadero origen de la palabra *genoma* es desconocido, algunos autores piensan que procede de la contracción de dos términos *gen* y *cromosoma*, dando como resultado *genoma*, que no viene a ser sino el conjunto total de ADN de una determinada especie. Todas las células nucleadas del organismo poseen dos genomas el *nuclear* y el *mitocondrial*. En este apartado nos centraremos en el ADN nuclear.

El Proyecto Genoma Humano (PGH) es un esfuerzo internacional de investigación para trazar y caracterizar el genoma del ser humano. Luego de muchos años de trabajo, dos grupos independientes de investigadores completaron el primer borrador del genoma del ser humano.

El primer grupo, Internacional Human Genome Sequencing Consortium (CGH), estuvo formado por equipos procedentes de USA, China, Francia, Alemania, Italia, Japón, Rusia, Suiza y el Reino Unido. El segundo grupo, es una compañía privada llamada Celera Genomics, liderada por Craig Venter.

A pesar de las diferencias políticas, sociales y empresariales de los dos grupos, es notable la similitud de los resultados encontrados, lo cual se debe al origen común del material genético utilizado y, a la extraordinaria tecnología utilizada por ambos equipos. El presente documento describirá los hallazgos más importantes de los dos grupos de científicos, publicados en Nature y Science en el 2001 (CGH, 2001; Venter y cols., 2001).

Destaca el hecho de que la diferencia de ADN entre dos individuos es de unas 1000 a 1500 pares de bases, lo que significa que el ADN de dos individuos cualesquiera es igual en un 99.9%, sin importar su grupo étnico o su lugar de procedencia.

Tan sólo un 0,1% del genoma es responsable de toda nuestra diversidad humana, la misma que está dada no sólo por la secuencia de los genes en sí mismo, sino también por el procesamiento diferente en la formación de proteínas (*splicing* alternativo).

El segundo hallazgo trascendente, es que tenemos aproximadamente unos 20 a 25.000 genes en todo el genoma descifrado (Bork y Copley, 2001). La tabla 1 muestra los resultados generales descritos en el primer borrador.

Tabla 3. Resultados del Borrador del Genoma Humano (CGH, 2001; Venter y cols., 2001)

Hallazgo	Consorcio Internacional para el Genoma Humano	Celera Genomics
Tamaño del genoma incluyendo espacios en blanco	2,916 Gb	2,91 Gb
Tamaño sin espacios en blanco	2,69 Gb	2,66 Gb
Bases secuenciadas en millones	2.693	2.654
Total de cobertura analizada (%)	84	83
Cobertura de eucromatina (%)	90	88 – 93
Porcentaje de bases indeterminadas	12	9
Porcentaje de G + C	41	38
Porcentaje de unidades de repetición (variabilidad)	45 - 50	35
Número de genes confirmados	24.500	26.383
Número de genes confirmados e hipotéticos	31.780	39.114
Tasa de variación de SNPs	1/1910 pb	1/1250 pb

Gb = gigabases; G = Guanina; C = citosina;
SNPs = single nucleotide polymorphisms

El *gen* se define como la unidad hereditaria, es decir, el menor fragmento de material hereditario que puede transmitir información a través de su secuencia. El ADN se encuentra condensado en forma de 23 pares cromosomas, que pueden ser observados durante la mitosis, mediante citogenética convencional.

La secuencia del ADN no es *per se* el determinante único para la vida humana, pero sí comprende las instrucciones para producir un conjunto de proteínas y otros productos no proteicos que, actuando complementariamente, proporcionan el entorno adecuado para el desarrollo y función de la vida humana. En la tabla precedente se muestran algunos datos de interés para el lector que pueden ilustrar los detalles específicos (Bork y Copley, 2001).

La secuencia del genoma humano codifica las instrucciones genéticas de la fisiología humana, así como también su información evolutiva. En el año 2004, el CGH reportó la secuencia completa del genoma estableciendo que el genoma tiene 2,85 billones de nucleótidos (2,85 Gbp), interrumpidos por tan sólo 341 espacios o *gaps*.

Se analizó el 99% de toda la eucromatina con una tasa de error de ~1 evento/100.000 pb (CGH, 2004). Muchos de los *gaps* remanentes se asocian con duplicaciones segmentales que se describen más adelante y que por su condición requerirán nuevas metodologías de análisis. Se confirma que existen entre 20 a 25.000 genes codificantes para proteínas (CGH, 2004).

La división del ADN en el genoma se muestra en el siguiente gráfico.

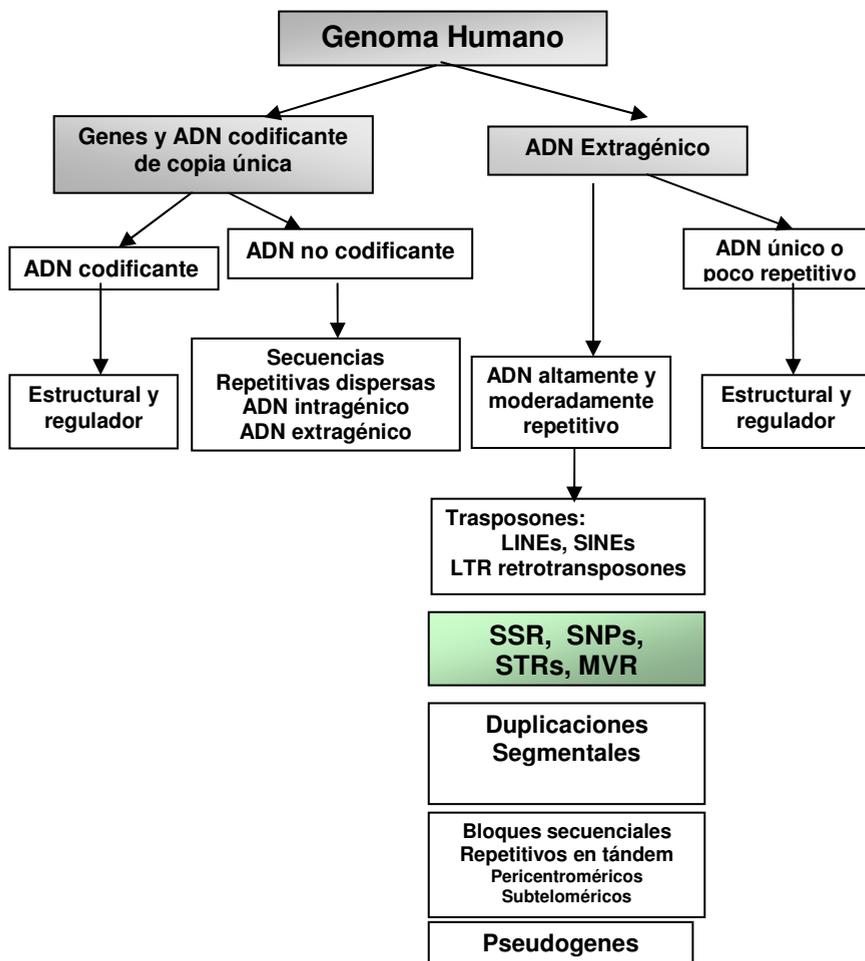


Gráfico 8. Organización del genoma humano (CGH, 2001; Venter y cols., 2001)

Para estudiar la complejidad del genoma humano éste puede dividirse en función de su carácter repetitivo y de su carácter codificante. Las secuencias que forman parte del genoma pueden clasificarse en tres grupos: las secuencias no repetitivas que son únicas; las moderadamente repetitivas, que están en forma de copias relacionadas pero no idénticas, que se repiten de forma dispersa un escaso número de veces; y las altamente repetitivas, que son cortas y suelen repetirse como alineamientos en tándem. La mayoría de los genes estructurales están en el ADN no repetitivo.

Tabla 4. El Genoma Humano en números

Tamaño promedio de un gen	27 Kbp
Cromosoma con más genes	Cromosoma 19 (23 genes / Mb)
Cromosoma con menos genes	Cromosoma 13 (5 genes / Mb) Cromosoma Y (5 genes / Mb)
Gen con más exones (gen más grande)	Gen titín (234 exones)
Genes conocidos sin función determinada	42%
Genes conocidos e hipotéticos sin función determinada	59%
Cromosoma más rico en GC	Cromosoma 2 (66%)
Cromosoma con menos GC	Cromosoma X (22%)
Tamaño total de genes desiertos	605 Mbp
Cromosoma con la mayor cantidad de ADN en los exones	Cromosoma 19 (9,33%)
Cromosoma con la menor cantidad de ADN en los exones	Cromosoma Y (0,35%)
Cromosoma con región intergénica más larga.	Cromosoma 13 (3`038.416 pb)

Kbp = kilobases; Mb = megabases

Sólo una parte del ADN del genoma es codificante, es decir, que está relacionado de forma directa con la producción de proteínas a través del ARN. Por lo tanto el ADN restante no tiene función conocida o está relacionado con la regulación de la actividad del ADN codificante. Para el ADN repetitivo no se conoce una función clara, posiblemente contribuya a mantener la estructura de los cromosomas, mientras que se ha llegado a proponer que una parte sea ADN basura, un vestigio evolutivo sin función actual.

Algunos hallazgos sugieren que las secuencias de ADN de áreas no codificantes como el denominado *junk-DNA* (ADN basura), puede recombinarse y moverse a través del genoma, probablemente como respuesta a agresiones celulares o medio ambientales. Esto significa que el propio genoma humano podría ser un tipo de organela que reacciona a los posibles cambios de su entorno (Bork y Copley, 2001).

Genes y ADN codificante de copia única. Llamado también *ADN funcional*, denominado así ya que está constituido por genes o secuencias que se traducen en términos de producción de proteínas. Su tamaño representa un porcentaje mínimo del genoma. Aparece en forma de «familia de genes» cuyos miembros se caracterizan por su homología, al haberse originado mediante duplicaciones y variaciones de un gen ancestral (Landers y cols, 1996). En los próximos años, se pretende completar toda la lista de genes y sus proteínas codificantes, simulando una «tabla periódica» que sea una herramienta para la investigación biomédica (Landers y cols., 1996).

Se lo clasifica en ADN Agrupado: familias génicas clásicas: genes de histonas, genes de RNA ribosómico; y familias multigénicas de genes: familia de genes humanos de cadenas α y β de la globina. ADN disperso: los genes que forman la familia se localizan en forma dispersa por el genoma, a menudo en cromosomas distintos.

Entre estas familias se encuentran genes que codifican proteínas de funciones diversas: enzimáticas, reguladoras, de almacenamiento, estructurales, etc. Por ejemplo: familia de aldolasas, genes de la actina.

ADN repetitivo extragénico. Las secuencias de ADN que aparecen en copias múltiples, o ADN repetitivo. Las secuencias repetidas, llamadas *unidades de repetición* o simplemente repeticiones, tienen tamaños diversos y cada uno se encuentra de forma idéntica o casi idéntica muchas veces en el genoma.

Esta distribución puede ser en forma dispersa por todo el genoma entre mezcladas con las secuencias de copia única, o bien en forma agrupada localizadas en regiones concretas de un cromosoma.

En ambos casos, el número de copias de la unidad de repetición varía desde unos cientos o miles (ADN moderadamente repetitivo) hasta cientos de miles (ADN altamente repetitivo). Una parte del ADN repetitivo tiene carácter codificante, es decir, contiene la información para expresar un producto funcional (ARN o proteína). La tabla siguiente muestra los componentes del ADN repetitivo.

Tabla 5. Contenido de ADN repetitivo

ADN repetitivo	Variedad	ADN No codificante	Tamaño
Trasposones y elementos derivados (repeticiones entremezcladas)	Total	44,83% ~ 45%	
	SINEs	13,14 %	6 – 8 Kb 100 – 300 pb
	LINEs	20,42 %	6 – 11 Kb autosómico
	LTR retrotrasposon	8,29 %	1,5 – 3 Kb no autónómicos
	ADN trasposon (fósil)	2,84 %	2 – 3 Kb autosómicos
	Sin clasificar	0,14 %	80 – 3000 pb no autónómico
Pseudogenes (copias de genes inactivos)	Pseudogenes	3 %	Variable
Repeticiones secuenciales simples (SSR)	Total	3%	1 – 2 bases
	SNPs		2 – 13 bases
	STRs		14 – 500 bases
	MVRs		
Duplicaciones segmentales	Total	3,6 – 5%	1 – 200 Kb
	Inter cromosómica	1,5 %	
	Intra cromosómica	2 %	
Bloques de secuencias repetidas en tándem (centrómeros, telómeros, brazos cortos de cromosomas acrocéntricos, grupos de genes ribosomales; varían de acuerdo a cada cromosoma)	Pericentroméricas	Cromosoma 22	1, 5 Mb
		Cromosoma 21	1 Mb
		Cromosoma 2	160 Kb
		Cromosoma 10	400 Kb
		Cromosoma 16	300 Kb
	Subteloméricas	Cromosoma 22	50 Kb
		Cromosoma 21	30 Kb

ADN repetitivo extragénico no codificante. Esta es la fracción del genoma a la que el término ADN repetitivo se refiere de forma habitual; se divide en:

ADN altamente repetitivo y agrupado, constituido por el ADN satélite que supone entre un 10 al 30% del genoma (Frommer y cols, 1982; Schmid, 1996; Smith 1999). Este tipo de ADN está formado por unidades de pequeño tamaño (2-50 pb) repetidas en tándem entre miles y 1 millón de veces, con lo que el bloque de repetición abarca cientos de Kb o incluso varias Mb. Es característica su localización agrupada en lugares específicos de varios cromosomas, correspondientes a las regiones heterocromáticas, principalmente en torno al centrómero y en los telómeros. Sólo se conoce el papel de este ADN satélite en las regiones teloméricas (Frommer y cols, 1982; Schmid, 1996; Smith 1999) .

ADN moderadamente repetitivo y disperso. Este tipo de ADN se distribuye a lo largo de todos los cromosomas con un número de repeticiones no muy elevado (entre 102 y 104).

Repeticiones secuenciales simples (SSR). Son un tipo diferente de estructura repetitiva que es común en el genoma, casi perfectas repeticiones en tándem de un particular *k-mer*. Algunas secuencias se repiten formando bloques, los cuales aparecen de forma dispersa por el genoma y éstos constituyen los grupos minisatélites y microsatélites.

Estos dos subgrupos se distinguen en función del tamaño de la unidad de repetición como detallamos a continuación (ver gráfico siguiente). Con excepción de las colas poli (A) de los mensajeros reversos transcritos, los SSRs se piensan que se forman durante la replicación del ADN por el *slippage* (patinaje de la polimerasa).

Los SSRs comprenden cerca del 3% de todo el genoma, del cual el 0,5% corresponde a las repeticiones dinucleotídicas. Hay un SSR por cada 2 kb, el número de repeticiones en tándem no sobrepuestas es de 437 por MB. La más frecuente repetición dinucleotídica es AC (50%) y AT (35%), siendo la menos frecuente GC (0.1%). Los más frecuentes trinucleótidos son AAT (33%) y AAC (21%), y el menos frecuente ACG (0.1%)

ADN minisatélite (MVR). Está formado por repeticiones de 10 a 65 pb, ricas en G+C, agrupadas en tándem formando bloques relativamente grandes de cientos o miles de repeticiones; esos bloques se encuentran repartidos por todo el genoma. Las secuencias de ADN minisatélites tienen un tamaño aproximado de 0,5 a 40 Kb, con una unidad de repetición entre 14 a 500 pb (Owerbach y Aagaard, 1984; Wong y cols, 1987).

Algunas de estas repeticiones, denominadas ADN minisatélite hipervariable, se caracterizan por su elevado polimorfismo (diferencias en secuencia y número de repeticiones) no sólo entre individuos de una especie, sino incluso entre los dos cromosomas homólogos de un individuo.

ADN microsatélites (STR). Debido a su tamaño se les conoce como *Repeticiones Cortas en Tándem* (Short Tandem Repeats), en estos marcadores también se observan variaciones en la secuencia de la repetición. Los STRs constituyen elementos extraordinariamente útiles en la identificación humana y en el mapeo genético debido a su elevado polimorfismo (gran variabilidad entre

personas), tasa de mutación relativamente bajas, pequeño tamaño que optimiza su amplificación y ubicación cromosómica establecida.

Están conformados por secuencias muy cortas de ADN repetitivo, con unidades de repetición que van entre 2 a 13 pares de bases (pb), se encuentran distribuidos ampliamente en el genoma en bloques de longitud menores a 400 pb. Su tamaño va entre 80 y 550 pb.

Polimorfismos nucleotídicos simples (SNPs). Son polimorfismos de posición (cambio de una base) en el ADN genómico en el que un nucleótido tiene una diferente secuencia alternativa, que está presente en individuos normales en una población dada, y en la cual el alelo más frecuente tiene una abundancia igual o mayor al 1%. (Internacional SNP Working Group, 2001).

La mayoría de variaciones son los SNPs que involucran simples sustituciones de bases, el resto de ellas son inserciones o deleciones. Un SNP se detecta por secuenciación de una región particular de diferentes individuos, quienes pueden ser idénticos (homocigotos: T/T o C/C) o diferentes (heterocigotos T/C) en el mismo sitio polimórfico (Stoneking y Chakravarti, 2001).

Un SNP puede ser bi, tri o tetralélicos. En el ser humano tan sólo se observan los dialélicos (binarios). Los SNP no son los únicos marcadores bialélicos en el genoma humano. En la práctica, las variaciones en el ADNc se clasifican como SNP complementarios (SNPc). Los SNP bialélicos (o binarios) pueden ser de varios tipos:

Polimorfismos de transición: C - T (g - A),

dos subtipos: C - T (g - A) y C - A (g - T)

Por transversión: C - A (g - T); C - g (g - C); T - A (A - T).

Los 2/3 son del tipo C-T (g-A) y se llaman CpG.

Una secuencia de ADN es una combinación lineal de 4 nucleótidos, al comparar 2 secuencias posición por posición, donde se entrecruzan diferentes nucleótidos en la misma posición encontraremos un SNP. Esto puede significar diferencias en la susceptibilidad a, en la protección de, o en la respuesta a...de allí nace el potencial en medicina. Algunos datos importantes sobre los SNPs se describen a continuación (Internacional SNP Working Group, 2001).

- ≈ Hay descubiertos 1'419.190 snips en 2,7 Gb del genoma
- ≈ Hay 1 SNP por cada 1.91 kb de secuencia génica
- ≈ 60.000 de ellos se encuentran en las regiones codificantes (exones)
- ≈ El 90% de una secuencia de 20 kb tendrá 1 o más SNPs.
- ≈ El 93% de los genes contienen un snip, de ellos el 98% está distribuidos en fragmentos de 5 kb.
- ≈ En los exones hay 7,51 SNPs por cada 10 kb
- ≈ En los cromosomas autosómicos la variación va entre 5,19 SNPs (en cromosoma 21) a 8,79 (en cromosoma 15) por cada 10 kb
- ≈ En el cromosoma X es de 4,69 SNPs por cada 10 kb
- ≈ En el cromosoma Y es de 1,51 SNPs por cada 10 kb

Otro grupo consiste en repeticiones igualmente dispersas por todo el genoma, llamados *trasposones o elementos trasponibles*, pero que no se agrupan en bloques y se subdivide en varias familias de acuerdo a su tamaño en pares de bases. Son secuencias discretas del genoma que son móviles, son capaces de transportarse por sí mismas a otras localizaciones al interior del genoma (Smith y cols., 1999; Prak y cols., 2000).

La característica de un trasposón es que no utiliza vectores (tales como los ADN de plásmidos o fagos), sino que se mueve directamente desde un punto del genoma a otro. A diferencia de la mayoría de los demás procesos que participan en la reestructuración del genoma, la transposición no se basa en ninguna relación entre las secuencias de los puntos donante y receptor.

Los trasposones se ven restringidos a moverse a sí mismos, y a veces a algunas secuencias adicionales, a otros puntos nuevos en otra parte del mismo genoma; por tanto son la contrapartida interna a los vectores que pueden transportar secuencias de un genoma a otro. Son la principal fuente de mutaciones. La mayoría de las secuencias de repetición humanas se derivan de elementos transponibles. Se puede reconocer que cerca de la mitad del genoma pertenece a este grupo (Esnault y cols., 2000).

El *trasposón* solo se puede identificar como un elemento al interior del genoma; su movilidad no supone una forma independiente. El trasposón podría ser un ADN preocupado solamente por perpetuarse a sí mismo dentro del genoma residente; si esto proporciona alguna ventaja selectiva sobre el genoma debe ser indirecta.

Todos estos elementos tienen sistemas para limitar el grado de transposición, de tal manera que no se vuelva nociva. Habitualmente la transposición se produce en el lugar diana que se rompe en puntos escalonados en cada cadena de ADN a una distancia fija, con frecuencia 5 o 9 pares de bases (Smith y cols., 1996).

El trasposón se inserta en efecto entre los extremos de las cadenas sencillas protruyentes generados por los cortes escalonados. Las repeticiones en el sitio diana se generan por llenado en las regiones de cadena única. Mucho de este ADN remanente único puede también derivarse de elementos trasponibles antiguos. Es necesario revisar estos elementos según su clasificación, como lo muestra la tabla siguiente.

ADN trasposones. El genoma humano contiene al menos 7 clases distintas de trasposones de ADN, los cuales pueden subdividirse en muchas familias con diferentes orígenes. Tienden a tener una vida corta dentro de cada especie, y se los asocia a fragmentos de ADN en fósiles.

Tabla 6. Clasificación de los Trasposones

Trasposon	No. copias (x1000)	No. Bases	% del Genoma
LINEs	868	558,8	~ 21
SINEs	1.558	359,6	13
LTR retrotrasposones	443	227	8
DNA trasposones (fossils)	294	77.6	3
Sin clasificar	3	3.8	0,14
Total de repeticiones	-	1.226,8	~ 45

(Hsiung y cols, 2001; Smith y cols, 1999; Gu y cols, 2000)

Secuencias LINE (Long Interspersed Nuclear Elements)

Son secuencias de ADN que codifican proteínas que son capaces directamente de manipular el ADN con el fin de propagarse ellos mismos dentro del genoma. Son uno de los más antiguos y exitosos inventos de los genomas eucarióticos. En humanos, tienen 6 kb de longitud, albergan un promotor interno de la Polimerasa II y codifican dos de los marcos abiertos de lectura (ORF) (Smith y cols, 1996, 1999)

De hecho, la mayoría de las repeticiones derivadas de las secuencias LINE son cortas, con un tamaño promedio de 900 pb para todas las copias LINE-1, y un tamaño medio de 1,070 pb para copias de elementos LINE-1 activos (L1Hs). Se describen tres familias distantes: LINE1, LINE2 y LINE3. La principal familia LINE en humanos la constituyen las secuencias Kpn (L1 ó LINE-1) es la única que continua activa, y la longitud de estos elementos L1 es aproximadamente 6Kb.

Se cree que son responsables de la mayoría de los procesos de transcripción reversa en el genoma, incluyendo la retrotransposición de los SINEs no autosómicos y la creación de los pseudogenes procesados.

Secuencias SINE (Short Interspersed Nuclear Elements)

Se trata de elementos nucleares dispersos cortos que van entre 100 a 400 pb, albergan un promotor interno de polimerasa III y no codifican proteínas. Estos no son traspososnes autónomos y se piensa que usan la maquinaria de LINE para la transposición.

La mayoría de los SINEs comparten el extremo 3' con un elemento residente LINE. Fueron originalmente descritos hace alrededor de 30 años, y su nombre se debe a que contienen un sitio diana para la enzima de restricción Alu-I. El genoma humano tiene tres distintas familias monofiléticas de los SINEs: los *Alu* reactivos, y los inactivos MIR y Ther2/MIR3.

Inserción *Alu* (YAP)

La familia *Alu* representa la familia más grande de elementos repetitivos cortos dispersos (SINEs) en el genoma humano, existiendo más de 500.000 copias por genoma haploide (Kinehart y cols., 1981). La transcripción de elementos *Alu* se inicia con ARN polimerasa III corriente arriba del promotor interno. La familia *Alu* es la más abundante y mejor caracterizada familia SINE. La repetición está flanqueada por repeticiones directas derivadas por duplicación de las secuencias diana en lugar de integración.

Los elementos son derivados del gen ancestral ARN 7SL (Ullu y Ischudi, 1984). El ARN 7SL es un pequeño constituyente de la molécula de la señal de reconocimiento implicada en el transporte de proteínas a la luz del retículo endoplásmico en el citoplasma celular. Aunque las secuencias *Alu* han divergido

mantiene el 90% de similitud con el gen ARN 7SL. Después de la inserción del elemento Alu este puede ser metilado. Esta mutilación resulta en una tasa de mutación diez veces más alta que lo normal (Batzler y cols., 1990).

La inserción YAP también conocida como DYS287, es un polimorfismo resultante de la reciente inserción de un elemento *Alu* en el brazo largo del cromosoma Y. Esta inserción ha probado ser un buen marcador en el estudio de poblaciones humanas (Persichetti y cols., 1992; Hammer, 1994; Spurdle y cols., 1994). El marcador YAP es útil en estudios sobre el origen y migración de poblaciones humanas porque representa un vanto único con un estado ancestral conocido, alelo-YAP (Hammer, 1994).

LTR retroposones (retrovirus-like elements). La transcripción inversa es el mecanismo unificador para la reproducción de los retrovirus y la perpetuación de los retrotrasposones. El ciclo de cada tipo de elemento es similar en principio, aunque algunos retrovirus se consideran desde la perspectiva de la forma viral libre (ARN) mientras que los retrotrasposones se consideran desde la forma genómica (ADN dúplex) (Malik y cols., 2000).

Los retrovirus tienen genomas de ARN de cadena sencilla que se replican a través de un intermediario de cadena doble. Un retrovirus individual contiene dos copias de su genoma. El genoma contiene los genes gag, pol y env que se traducen como lipoproteínas, cada una de las cuales se rompen en proteínas funcionales de menor tamaño.

Los genes gag y env están relacionados con el empaquetamiento del ARN y la generación del virión; los genes pol están relacionados con la síntesis de ácidos nucleicos. Los retrotransposones son elementos autónomos que codifican una proteasa, una transcriptasa reversa, una RNAasa H y una integrasa.

Duplicaciones segmentales. Las duplicaciones involucran la transferencia de bloques de 1 a 200 kb de secuencias genómicas de una o más localizaciones del genoma, que no se producen frecuentemente en tándem, y se ha sugerido que son causados por otros mecanismos como el crossing-over desigual en su origen (She y cols., 2004).

Se han descrito en forma reciente y se observan tanto en exones como en intrones, en contraste con las duplicaciones antiguas caracterizadas por regiones similares en zonas codificantes. Pueden dividirse en dos categorías: *duplicaciones intercromosómicas* y que se definen como ADN duplicado de cromosomas no homólogos; y *duplicaciones intracromosómicas*, que ocurren entre un brazo y otro del mismo cromosoma.

Esta categoría incluye las secuencias repetitivas de bajas copias (low copy repeat sequence), que median los rearrreglos estructurales cromosómicos recurrentes asociados con enfermedades genéticas.

ADN pericentromérico y subtelo mérico. Los telómeros están al final de los cromosomas eucarióticos lineares. Son esenciales para la estabilidad del genoma y la replicación cromosómica. Las estructuras asociadas con el ADN telomérico median muchas actividades biológicas vinculadas a la regulación del ciclo celular, al envejecimiento celular y a la regulación de la transcripción de los genes teloméricos (Riethman y cols., 2001).

Estas regiones están conformadas casi totalmente por duplicaciones segmentales intercromosómicas y, con una pequeña secuencia única. Las regiones pericentroméricas son estructuralmente muy complejas y, su análisis que no es total, no ha sido plenamente descifrado. Parecen estar conformadas por inserciones o duplicaciones sucesivas, asociadas a secuencias conservadas. Existe evidencia también, de que polimorfismos estructurales codificantes en poblaciones humanas se localicen en las regiones teloméricas de algunos cromosomas, como es el caso de la presencia o ausencia de receptores olfatorios, localizados en los telómeros.

Polimorfismos del ADN en Medicina Forense

Ya que la diversidad o variabilidad genética se debe a variaciones en la secuencia del genoma, podríamos decir en un sentido que el término diversidad sin llegar a ser sinónimo está estrechamente ligado al de polimorfismo (Luque y Herráez, 2001).

Con la introducción de la PCR (Mullis y Faloona, 1987) se logró el análisis de los minisatélites (AMP-FLPs) y microsatélites (STRs) a partir de vestigios biológicos que hasta entonces no podían ser analizados; esto era factores como una cantidad insuficiente de ADN o bien la presencia de material degradado.

Con el transcurso del tiempo se ha trabajado mucho con los loci hipervariables autosómicos, pero es de notar el interés surgido en el análisis de los cromosomas sexuales. Así, por ejemplo, el análisis del cromosoma Y, que es importante no sólo desde la perspectiva forense sino también desde el punto de vista antropológico ya que permite estudiar el linaje paterno de un individuo debido al tipo de herencia «en bloque» de polimorfismos de la región no combinante.

Su importancia en Genética Forense deriva de sus numerosas aplicaciones, en particular en la investigación biológica de la paternidad y en los delitos sexuales dentro de criminalística.

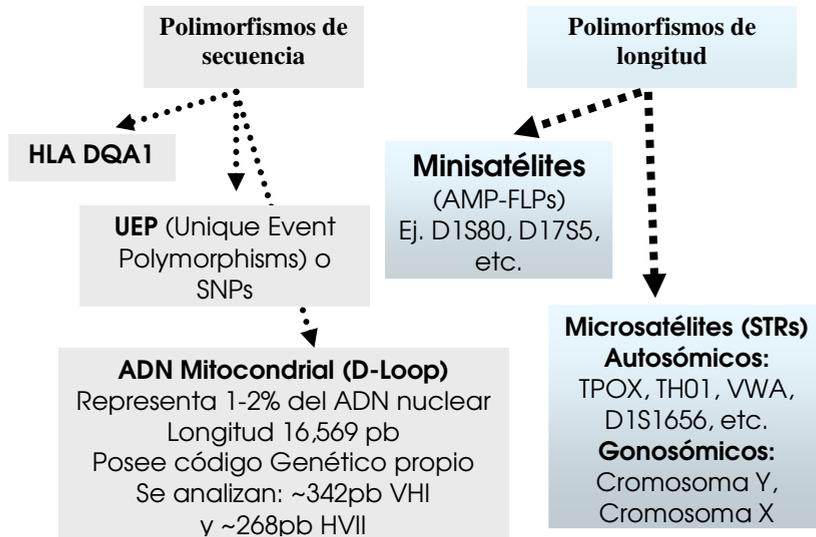


Gráfico 9. Distribución de polimorfismos usados en genética forense

Microsatélites

La aplicación en el campo forense de los polimorfismos en ADN microsatélite comenzó a principios de la década de los noventa (Weber y May, 1989; Litt y Lut, 1989; Polymeropoulos y cols, 1990; Edward y cols, 1991; Tautz, 1993). Debido a su tamaño se les conoce como *Short Tandem Repeats* (STRs), en estos marcadores también se observan variaciones en la secuencia de la repetición (Brinkmann y cols, 1998).

Los STRs constituyen elementos extraordinariamente útiles en la identificación humana y en el mapeo genético debido a su elevado polimorfismo (gran variabilidad entre personas), tasa de mutación relativamente baja, tamaño pequeño que optimiza su amplificación y finalmente, una ubicación cromosómica establecida (Brinkmann, 1996; Martínez-Jarreta, 1999).

Características de los STRs

En la última década un número importante de STRs tetranucleotídicos ha encontrado aplicación en el campo de la identificación humana. Dentro de éstos se han incluido STRs cortos para tipado de muestras con ADN degradado, además STRs con poca capacidad para la formación de *stutter* o bandas tartamudas (descritas más adelante) que es característico en el análisis de mezclas y STRs específicos de cromosoma Y para el análisis de muestras producto de agresiones sexuales en las cuales hay un perfil mezcla de ADN hombre-mujer (Carracedo y cols, 1998a).

Se describen a continuación los criterios para la selección de los loci STRs a aplicar en la identificación de humanos (Gill y cols, 1996):

- Elevado poder de discriminación, siendo deseable que la heterocigosidad observada sea superior a un 90%.
- Ubicación cromosómica diferente, de tal manera que se evite la selección de loci cercanos que puedan segregarse conjuntamente como un grupo de ligamiento.
- Facilidad de análisis y elevada reproducibilidad de los métodos de análisis y de los resultados, en particular para análisis múltiples de varios marcadores simultáneamente.
- Escasa o nula tendencia a la producción de bandas tartamudas.
- Bajo índice de mutación.

- Rango de longitud alélica entre 90-500 pb, ya que aquellos loci con alelos de longitud no muy elevada son los que proporcionan en el análisis de ADN degradado mejores resultados.

Clasificación de los STRs

Las secuencias de los STRs se denominan de acuerdo a la longitud de la unidad de repetición. Las repeticiones dinucleotídicas poseen dos nucleótidos repetidos uno junto al otro que aparecen una y otra vez.

Los trinucleótidos poseen tres nucleótidos en la unidad de repetición, los tetranucleótidos poseen cuatro, los pentanucleótidos tienen cinco y los hexanucleótidos tienen seis unidades de repetición *core* o nuclear.

- Repeticiones mononucleotídicas (2): A C
- Repeticiones dinucleotídicas (4): AC AG AT CG
- Repeticiones trinucleotídicas (10): ACC AAG AAT ACC ACG ACT
AGC AGG ATC CCG
- Repeticiones tetranucleotídicas (33):
AAAC AAAG AAAT AACC AACG AACT AAGC AAGG AAGT AATC
AATG AATT ACAG ACAT ACCC ACCG ACCT ACGC ACGG ACGT
ACTC ACTG AGAT AGCC AGCG AGCT AGGC AGGG ATCC ATCG
ATGC CCCG CCGG

La unidad AGAT o GATA es la más común para los loci STRs usados en Ciencia Forense.

Las secuencias STRs no sólo varían en la longitud de la unidad de repetición y el número de repeticiones, sino también en el rigor con el cual se ajustan a un patrón de repetición. De esta manera se pueden clasificar de acuerdo al patrón de repetición:

- *Repeticiones simples*, contienen unidades de repetición idénticas en longitud y secuencia.
- *Repeticiones compuestas*, constan de dos o más repeticiones simples adyacentes.

- *Repeticiones complejas* éstas pueden contener varios bloques de repeticiones de longitud variable además de secuencias variables intermedias (Urquhart y cols, 1994).
- *Repeticiones hipervariables complejas*, poseen numerosos alelos no consensos que difieren tanto en tamaño, como en secuencia y su genotipado y la reproducibilidad de los resultados en el mismo constituyen un desafío (Urquhart y cols, 1993; Gill y cols, 1994). Esta última categoría no es comúnmente usada en el tipado del ADN forense en criminalística debido a las dificultades de la nomenclatura de los alelos y porque en Medicina Forense el objetivo de reducir hasta anular la variabilidad entre laboratorios se considera prioritario (Butler, 2001).

Mutación en microsatélites autosómicos

La tasa de mutación de una secuencia o un fragmento de ADN es la frecuencia en la que se producen nuevas mutaciones de dicha secuencia en cada generación. Una tasa alta de mutaciones implica un mayor potencial de adaptación en el caso de un cambio ambiental, pues permite explorar más variantes genéticas aumentando la probabilidad de obtener la variante adecuada para adaptarse al reto ambiental.

La variabilidad alélica de los microsatélites se genera mediante un peculiar patrón de mutación por deslizamiento de la enzima (*replication slippage*) (Levinson y Gutaman, 1987) en el cual el alelo gana o pierde una o varias unidades, siendo las ganancias o pérdidas de un solo tándem las más habituales (Weber y Wong, 1993).

De los últimos estudios sobre la tasa de mutación de los microsatélites autosómicos mencionamos a Brinkmann y cols. (1998b) quienes refieren una tasa de mutación de $2,1 \cdot 10^{-3}$ por locus, por gameto y por generación; por su parte Henke y Henke (1999) han estimado un índice de mutación de $2,7 \cdot 10^{-3}$ y Sajantila y cols. (1999) en $0,6 \cdot 10^{-3}$.

Las mutaciones se relacionan con la longitud y estructura de las repeticiones (Brinkmann y cols, 1998b; Henke y Henke, 1999; Kayser y cols, 2000). Las repeticiones irregulares intercaladas inhiben la mutación, siendo más susceptibles los tramos homogéneos con idénticas unidades de repetición. La tendencia a la mutación en alelos largos (más de 10 repeticiones) ha encontrado una aplicación fundamental a la hora de orientar estudios antropológicos (Shriver y cols, 1997).

La tasa de mutación de los STRs a nivel general es de $4,1 \cdot 10^{-4}$ a $6,7 \cdot 10^{-3}$ por base y por año, esto hace que exista la probabilidad de que un único STR haya sobrevivido sin cambios durante 1000 generaciones con una probabilidad del 95%.

Estadísticamente se ha encontrado una correlación con el sexo y la edad de los progenitores, siendo más frecuente las mutaciones en varones de mayor edad; posiblemente debido al número de divisiones mitóticas de las células germinales (Brinkmann y cols, 1998b). Los STRs utilizados en el diagnóstico molecular de enfermedades de base genética revelan que son los errores en la replicación y la falta de reparación de los mismos las causas principales de estos cambios genéticos (Krawczak y Cooper, 1991; Sturzneker y cols, 2000).

A través de un estudio colaborativo el grupo anglo parlante (ESWG) de la ISFG (Hallenberg y Morling, 2002), se realizó un análisis acerca de la tasa de mutación de los STRs de uso más común comparando el índice de mutación paterno y materno. De su estudio se desprendía que la tasa de mutación paterna era más elevada que la materna, asimismo se compararon los sistemas VNTRs y STRs en cuanto a la tasa de mutación. Para todos los sistemas de STRs el índice de mutación fue menor de 0,5%, a diferencia de los sistemas VNTRs en los que se encontró una tasa mayor del 1%.

Tabla 7. Tasa de mutación para STRs de uso más frecuente en Medicina Forense

Sistema STR	Paterno n° Meiosis	Tasa de Mutación (%)	Materno n° Meiosis	Tasa de Mutación (%)
Amelogenina	5753	0,05	5418	0,02
CSF1PO	4596	0,13	5038	0,02
D2S1338	1755	0,23	2295	0,09
D3S1358	5762	0,21	6837	0,04
D5S818	5113	0,16	5634	0,07
D7S820	5031	0,10	5933	0,03
D8S1179	2613	0,34	3295	0,03
D13S317	5545	0,20	5603	0,04
D16S539	1544	0,19	2088	0,05
D18S51	3346	0,30	3043	0,03
D19S433	2582	0,12	2167	0,09
D21S11	4200	0,19	4029	0,15
F13A01	723	0,14	760	(0)
FIBRA(FGA)	6926	0,46	7504	0,01
Penta D	233	(0)	325	(0)
Penta E	415	0,24	384	(0)
TH01	6242	0,02	7112	(0)
TPOX	4579	0,04	5098	(0)
VWA	17717	0,30	19116	0,02

Fuente: Hallenberg y Morling, 2002

Tasa de mutación y diversidad genética del cromosoma Y

En cuanto a los microsatélites del cromosoma Y se ha referido una tasa de mutación moderadamente baja (~2%) por generación (Heyer y cols, 1997) y en su conjunto se estima para STRs del cromosoma Y (Kayser y cols, 2000; Gusmão y cols, 2005) una tasa similar a la de los STRs autosómicos (Brinkmann y cols, 1998b; Sajantila y cols, 1999).

Kayser y cols. (2000) demostraban recientemente que las mutaciones identificadas suponían frecuentemente la ganancia de una unidad de repetición y que mayoritariamente se observaban en microsatélites compuestos (DYS19, DYS385a/b, DYS389I, DYS389II, DYS390 y DYS391), además se presentaban siempre en el tracto más largo de la repetición homogénea.

Tabla 8. Tasa de mutación para microsatélites del cromosoma Y

Marcador	Nº de mutaciones	Nº de meiosis	Tasa de Mutación [95% IC] ($\mu \cdot 10^{-3}$)
DYS19	2	996	2,01 [0,26-6,82]
DYS385a/b	2	952	2,1 [0,27-7,15]
DYS389I	1	425	2,35 [0,06-12,5]
DYS389II	2 ^a	425 ^a	4,71 [0,6-16,0]
DYS390	4	466	8,58 [2,54-20,3]
DYS391	2	415	4,82 [0,61-16,4]
DYS392	0	415	0 [7,15]
DYS393	0	415	0 [7,15]
YCAIa/b	0	150	-
YCAIIa/b	0	240	2,04 [0,06-10,93]
Total		2,80	[1,72-4,27]

^a Se excluye DYS389I

Fuente: Kayser y cols, 2000

También se ha descrito más de una mutación en un mismo individuo, tanto en cromosoma Y (Kayser y cols, 2000), como en STRs autosómicos (Jun y cols, 1997); incluso duplicaciones y triplicaciones de alelos (Santos y cols, 199667), lo que indica que se ha de ser cauto en la interpretación de perfiles y tener en cuenta la posibilidad de mutación para no incurrir en falsas exclusiones (Kayser y cols, 2001).

El cromosoma Y es considerado pobre en genes y por ello, parece que debiera ser más libre para acumular mutaciones que otros componentes del genoma. Así

mismo la peculiar gametogénesis del varón en este cromosoma conduce a la predicción de que la tasa de mutación debiera ser más elevada que la del resto del genoma nuclear.

Sin embargo, la diversidad del cromosoma Y es reducida. Esto se debe al pequeño tamaño de la población de cromosomas Y en la gemetogénesis. Otro factor de importancia es el sistema de apareamiento, ya que la transmisión del cromosoma Y por un restringido número de varones en ciertos grupos humanos ha determinado que en muchos casos un reducido tamaño efectivo de la población y por tanto una disminución de la diversidad genética (Mathias y cols., 1994).

Otra explicación alternativa invoca la falta de recombinación en el cromosoma Y, cuando surge una mutación ventajosa en un gen Y específico, ésta se expande por la población transportada en su cromosoma Y, acompañada de las demás variantes alélicas de los genes que este cromosoma contiene; pero las variantes alélicas contenidas en los genes de otros cromosomas Y no pueden recombinar con el cromosoma Y selectivamente ventajosos y consecuentemente se pierden.

De esta manera, la diversidad genética de la población disminuye porque la mayor parte de los cromosoma Y de la población son los portadores de la mutación ventajosa y por tanto, iguales entre sí (Jobling y Tyler-Smith, 1995).

Nomenclatura de los STRs

De acuerdo a la Comisión de DNA de la ISFG (International Society of Forensic Genetics) se recomienda que la denominación de los alelos STRs se realice según el número de unidades de repetición (UR) completas de tal manera que cuando alguno tuviera una UR incompleta se designará el número de UR completas y a continuación separándolas por un punto el número de pares de bases (pb) de la UR incompleta (Gill y cols, 2001). Otras de las recomendaciones de la ISFG con respecto a los STRs son las siguientes:

- La secuencia es siempre leída en dirección 5'-3' y la cadena de ADN a tener en cuenta es la que ha sido originalmente descrita en la literatura o la primera publicada en una base de datos, preferentemente GenBank.

- En los STRs que están dentro de la región que codifica proteínas (así como el intrón de los genes) se debe usar la hebra codificante, esto se puede aplicar a STRs tales como VWA (GenBank M25716), TPOX (GenBank M68651) y CSF1PO (GenBank X14720)
- Para secuencias repetitivas sin ninguna conexión a genes que codifican proteínas como muchos de los loci D#S###, la secuencia original descrita en la literatura de la primera base de datos publicada será convertida en la referencia estándar de nomenclatura. Como ejemplo se incluyen D18S351 (GenBank 18333) y D21S11 (GenBank M84567)
- Si la nomenclatura está ya establecida en el campo forense pero no conforme con lo ya mencionado, la nomenclatura será mantenida para evitar confusiones innecesarias. Esta recomendación se aplica al uso continuado de algunos laboratorios en la hebra de repetición AATG para el marcador STR TH01. La secuencia del GenBank para TH01 usa la hebra codificante y por tanto contiene en su lugar la repetición completa.

Recomendaciones respecto a los láderes alélicos

Un *ladder* alélico es una mezcla artificial de los alelos comunes presentes en las poblaciones humanas para un marcador STR en particular (Sajantila y cols, 1992). Son generados con el mismo primer de las muestras analizadas y así proporcionan una muestra de ADN de referencia para cada alelo incluido en el líder.

- Los láderes alélicos son usados como referencia para la designación alélica.
- Los láderes de referencia deben estar secuenciados y nominados de acuerdo a las reglas usadas para STRs.
- Deben contener todos los alelos comunes.
- Pueden ser obtenidos comercialmente o preparados en cada laboratorio.

Métodos de análisis de los STRs

En los últimos años gracias a los avances en Biotecnología, las posibilidades en cuanto a métodos y procedimientos de tipado de los microsatélites se han incrementado de forma beneficiosa para la comunidad científica.

En la década de los setenta los laboratorios iniciaron la secuenciación del ADN con metodología manual en geles de acrilamida, ya en los noventa se generalizaron las

técnicas semiautomatizadas de secuenciación, aportando importantes ventajas al tipado de estos marcadores.

Los productos de la PCR marcados con fluorocromos pueden ser detectados en tiempo real mediante electroforesis en geles de poliacrilamida y lectura de los resultados con escáner de fluorescencia (Schum y cols, 1994).

Aunque la electroforesis capilar es el sistema que ofrece mayor precisión en la lectura (Mansfield y cols, 1998), algunos prefieren utilizar secuenciadores semiautomáticos (Gill y cols, 1995; Moscetti y cols, 1995) que facilitan al investigador la interpretación de un mayor número de muestras en cada prueba. Las ventajas de este tipo de análisis frente a los sistemas de tipado manual son las siguientes:

1. Los sistemas semiautomáticos detectan solamente una de las dos cadenas del fragmento de ADN amplificado, ya que solo uno de los cebadores está marcado.
2. El marcador externo de peso molecular permite medir de manera automática el tamaño de los alelos. Con la incorporación de un estándar o marcador interno de peso molecular junto a cada muestra se eliminan las diferencias de movilidad electroforética que pueden existir en las diferentes calles de un gel (ISFG, 1994; Gill y cols, 1995).
3. La posible utilización de distintos fluorocromos permite el análisis simultáneo de varios loci marcados con distintos colores, aunque dichos loci se solapen por el tamaño de sus alelos. Esta ventaja solo está presente en algunos secuenciadores que existen en el mercado (Perkin Elmer[®]) (Mansfield y cols, 1998).
4. Por último, el tamaño de los fragmentos y la designación alélica se obtiene de forma informatizada evitando errores de transcripción y reduciendo el tiempo de análisis. Los resultados pueden ser interpretados con distintos programas que determinan la longitud de los fragmentos y realizan la designación automática de los alelos (ALFwin Fragment Analyser, Amersham Pharmacia Biotech; GeneScan Software, GenoTyper, GeneMapper, Applied Biosystems); obteniendo así el perfil genético de cada muestra (Gill y cols, 1995; Schum, 1997).

El análisis de secuencias o fragmentos de ADN por medio de chips se basa en la síntesis de distintas sondas de oligonucleótidos, su alineación en disposiciones ordenadas (*arrays*) y su unión a un soporte consistente en una fina pastilla de nylon o vidrio. El chip se prueba frente a un ADN marcado fluorescentemente, de modo que el patrón y cantidad de fluorescencia suministra información sobre la secuencia del ADN en estudio.

La última generación de este enfoque es la combinación de técnicas fotolitográficas (como la de los chips de silicio para computadores) con síntesis química en fase sólida, que logra chips con ordenaciones de decenas e incluso centenares de miles de oligonucleótidos distintos, que pueden identificar secuencias marcadas fluorescentemente en pocos minutos, por medio de un microscopio con focal de fluorescencia totalmente automatizado que registra los datos (Syvanen, 1999).

Previsiblemente, el análisis forense de ADN nuclear y mitocondrial también podrá efectuarse dentro de muy poco utilizando esta técnica. En el momento actual se está trabajando en el diseño de chips de uso médico-legal y en la validación de los mismos desde una perspectiva forense (Marshall y Hodgson, 1998; Sapolsky y cols, 1999).

Análisis Multiplex

Consiste en combinar en una única reacción todos los pares de primers de los sistemas que queremos amplificar simultáneamente, junto con el resto de los reactivos de la reacción en cantidades suficientes, ver tabla siguiente.

Ventajas de la PCR Multiplex (Lins y cols, 1996)

- Se obtiene la información de varios loci en una sola reacción.
- Menor cantidad de templado para el análisis.
- Disminución del tiempo de análisis.
- Menor cantidad de reactivos.
- Rápida construcción de bases de datos.

Tabla 9. Multiplexes de tipo comercial más utilizados por los laboratorios forenses

(Butler y cols, 2003; Reid TM y cols, 2003; Levadokou y cols, 2001)

Nombre comercial del kit	Loci STR que incluye cada multiplex	Poder de discriminación
Applied Biosystems		
AmpFISTR® Blue	D3S1358, vWA, FGA	1.0×10^{-3}
AmpFISTR® Green I	Amelogenina, TH01, TPOX, CSF1PO	7.8×10^{-4}
AmpFISTR® COfiler	D3S1358, D16S539, Amelogenina, TH01, TPOX, CSF1PO, D7S820	2.0×10^{-7}
AmpFISTR® Profiler Plus (Pro)	D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, Amelogenina	2.4×10^{-11}
AmpFISTR® Profiler Plus ID	D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, Amelogenina	2.4×10^{-11}
AmpFISTR® Profiler	D3S1358, vWA, FGA, Amelogenina, TH01, TPOX, CSF1PO, D5S818, D13S317, D7S820	9.0×10^{-11}
AmpFISTR® SGM Plus	D3S1358, vWA, D16S539, D2S1338, Amelogenina, D8S1179, D21S11, D18S51, D19S433, TH01, FGA	4.5×10^{-13}
AmpFISTR® Sefiler (SE)	FGA, TH01, vWA, D3S1358, D16S539, D2S1338, D8S1179, D19S433, D21S11, D18S51, SE 33, Amelogenina	5.1×10^{-15}
AmpFISTR® Identifiler	D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818, FGA, Amelogenina	7.2×10^{-19}
Promega Corporation		
PowerPlex® 1.1, 1.2	D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, vWA, TH01, TPOX, CSF1PO	7.4×10^{-10}
PowerPlex® 2.1 (para usuarios de Hitachi FMBIO)	D3S1358, TH01, D21S11, D18S51, VWA, D8S1179, TPOX, FGA, Penta E	3.4×10^{-11}
PowerPlex® ES	FGA, TH01, vWA, D3S1358, D8S1179, D18S51, D21S11, SE33, Amelogenina	1.3×10^{-10}
PowerPlex® 16 System	D3S1358, TH01, D21S11, D18S51, Penta E, D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, CSF1PO, Penta D, vWA, D8S1179, TPOX FGA, Amelogenina	1.2×10^{-18}
PowerPlex® 16 BIO (para usuarios de Hitachi FMBIO)	D3S1358, TH01, D21S11, D18S51, Penta E, D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, CSF1PO, Penta D, vWA, D8S1179, TPOX FGA, Amelogenina	1.2×10^{-18}

Problemas que se observan con los Multiplexes

Durante la amplificación de los alelos STRs por medio de la técnica PCR, puede surgir también un número de artefactos que interfieren en la clara interpretación de los resultados y, por lo tanto, en el genotipado de los alelos presentes en el ADN molde.

En una reacción multiplex la probabilidad de formación de dichos artefactos es mayor, por lo que debe tenerse en cuenta la necesidad de variación y optimización de algunos de los parámetros, como las condiciones cíclicas de la reacción y los componentes de la misma, con el fin de conseguir un rendimiento equilibrado en la amplificación simultánea de los loci escogidos.

A continuación mencionaremos algunos artefactos que podríamos encontrar en las reacciones multiplex, pero es necesario aclarar que algunos de ellos pueden estar presentes también en condiciones uniplex:

1. Amplificaciones inespecíficas como:

- Bandas tartamudas o *stutter*
- Artefactos inespecíficos.
- *Pull up*
- Bandas N y N+1

Bandas tartamudas o stutter

Mientras que por simple lógica la gran mayoría de los artefactos pueden ser excluidos y calificados como productos no alélicos, no resulta posible excluir de esta manera a las bandas tartamudas, puesto que sí son productos alélicos que se diferencian estructuralmente del alelo asociado tan solo por una unidad de repetición (Gill, 2003).

Los productos *stutter* han sido descritos en la literatura desde que los primeros microsatélites fueron descritos. Es la presencia en un electroferograma de picos más pequeños que el pico del alelo STR.

Este artefacto ha sido referido al deslizamiento de la enzima polimerasa durante la amplificación de la cadena molde (Hauge y Litt, 1993; Walsh y cols, 1996). Aunque habitualmente los *stutters* aparecen en parejas, este dato no es necesariamente diagnóstico. Si un alelo tiene secuencias no consenso o parciales, entonces será más proclive a generar bandas tartamudas que el alelo que consista de repeticiones completas (Walsh y cols, 1996).

El análisis de la secuencia de un producto *stutter* de la repetición tetranucleotídica del locus VWA demostró que contienen una unidad de repetición menos que la correspondiente al pico del alelo principal (Walsh y cols, 1996). Otras características más son descritas por Butler (2001):

- Representa menos del 10% del peso del pico del alelo principal.
- La cantidad de *stutter* depende tanto de las condiciones PCR como de la polimerasa utilizada.
- La propensión para formar *stutter* disminuye con las unidades de repeticiones más largas (repeticiones pentanucleótidos < tetra < tri < dinucleótidos).
- La cantidad de *stutter* es mayor para los alelos más grandes dentro del locus.
- La cantidad de *stutter* es menor si la secuencia de repeticiones es imperfecta.

Artefactos no específicos

Estos se generan como resultado de la hibridación de fragmentos de ADN degradado o bacteriano (Gill, 2003). Cuando los artefactos no específicos se encuentran en la región alélica, resulta particularmente útil el test de «deriva» de las bandas descrito Gill y cols. (1996) a fin de excluir los artefactos no específicos, ya que éstos tienen una secuencia diferente a la de los STRs, suelen migrar de forma atípica en el gel. Corresponden a picos de pequeño tamaño, mencionamos a continuación características descritas para estos artefactos (Whitaker y cols, 1995; Clayton y cols, 1998):

- Tienen el área del pico baja y su morfología es aberrante.
- La mayoría no están dentro del rango alélico del locus.
- Están relacionados con hibridación del primer en otro sitio del genoma.
- Han sido observados también en muestras de ADN degradadas.

Pull up

Son picos artefactuales debido a interacciones hardware/matriz, que se definen como un pico menor en un color diferente y directamente por debajo de un pico alélico mayor (Gill, 2003) ó picos pequeños en las calles adyacentes a un pico grande exactamente en la misma posición.

Se han observado habitualmente en muestras sobre amplificadas, y necesitan ser diferenciados de los alelos verdaderos por medio de posición y morfología del pico y/o con nuevo análisis monoplex del locus de interés.

Bandas N y N+1

La señal del alelo verdadero es conocida como pico «N». La adición de una base extra por la enzima polimerasa al final del paso de elongación puede producir un producto PCR una base más larga que la longitud del alelo verdadero y esto es llamado pico «N+1» (Sparkes y cols, 1996; Clayton y cols, 1998).

2. *Amplificación preferencial de algunos loci.* En general, dentro de cualquier locus

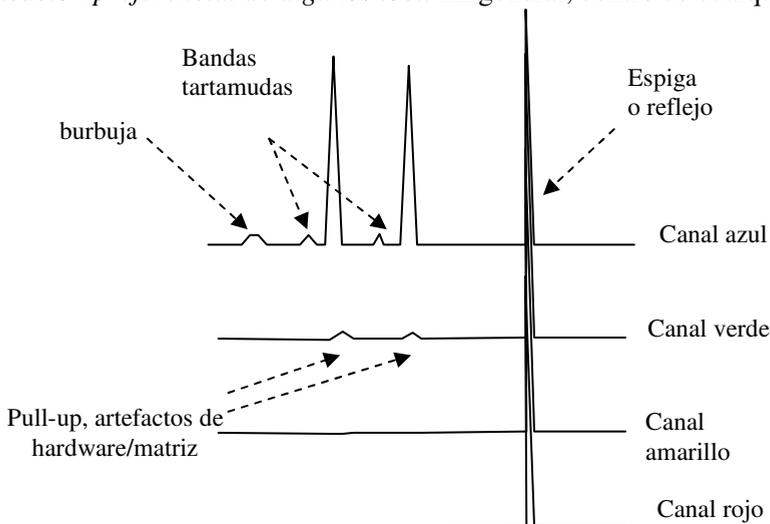


Gráfico 10. Artefactos más frecuentes dentro del análisis automatizado en multiplex

STR, un alelo de bajo peso molecular amplificará con más eficiencia que uno de mayor peso molecular (Whitaker y cols, 1995; Clayton y cols, 1998; Gill 2003).

3. *Inhibición de la amplificación por formación de dímeros de primers, ya que en una reacción multiplex el número de primers aumenta y con ello el número de interacciones posibles, disminuyendo así el rendimiento de la amplificación y aumenta la probabilidad de artefactos inespecíficos (Whitaker y cols, 1995; Clayton y cols, 1998; Gill, 2003).*

Microsatélites autosómicos objetos de este estudio

En este estudio se han analizado los marcadores que se describen en detalle en las tablas siguientes.

Tabla 10. Características de los STRs analizados, localización genómica, acceso la base de datos, STS ó sequeunce tagged sites (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=unists>)

Locus (STS)	Localización cromosómica	Unidad de repetición 5' – 3'	Definición del locus en el GenBank	Acceso GenBank
CSF1PO (156169)	5q33.3-34	AGAT	HUMCSF1PO, Human c-fms proto-oncogene	X14720
FGA (240635)	4q28	CTTT complex	HUMFIBRA, Human fibrinogen alpha chain gene	M64982
THO1 (240639)	11p15.5	AATG	HUMTH01, Human tyrosine hidroxilase gene	D00269
TPOX (240638)	2p23-pter	AATG	HUMTPOX, Human thyroid peroxidases gene	M68651
VWA (240638)	12p12-pter	[TCTG][TCTA] complejo	HUMVWFA, Human von Willebrand factor gene	M25858
D3S1358 (148226)	3p	[TCTG][TCTA] complejo	D3S1358	AC099539
D5S818 (54700)	5q21-31	AGAT	D5S818	G08446
D7S820 (74895)	7q11.21-22	GATA	D7S820	G08616
D8S1179 (83408)	8q	[TCTA][TCTG]	D8S1179	G08710
D13S317 (7734)	13q22-q31	TATC	D13S317	G09017
D16S539 (45590)	16q24-qter	GATA	D16S539	G07925
D18S51 (44409)	18q21.3	AGAA	HUMUT574	L18333
D21S11 (240642)	21q11-21q21	[TCTA][TCTG]	HUMD21LOC	AP000433
Penta E	15q	AAAGA	Penta E	AC027004
Penta D	21q	AAAGA	Penta D	AP001753
F13A01	6p24-25	AAAG	FXIIIA01	M21986
F13B	1q31-q32.1	AAAT	HUMBFXIII, human blood coagulation factor XIII b subunit gene	M64554
HPRTB	Xq26	AGAT	HPRT	M26434
LPL	8p22	AAAT	HUMLIPOL, intron 6 of the lipoprotein lipase gene	D83550
Amelogenin (no es STR)	Xq22.1-22.3	No aplicable	HUMAMEL, Human Y chromosomal gene for Amelogenina-like protein	M55418 y M55419

Todos los accesos al Gene bank que comienzan con la letra A, corresponden a la base de datos de secuencias del Genoma Humano, los restantes son de la secuencia original descrita.

Tabla 11. Características de los STRs más utilizados en la comunidad forense y en este trabajo. Variantes alélicas o alelos descritos fuera del líder que han sido vistos por más de una ocasión. Nótese que algunos de esos alelos pueden estar dentro de los kits comerciales pero no son descritos por los laboratorios que los utilizan. Variantes trialélicas descritas (<http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase>).

Locus	Tamaño del líder en pb	No. repeats	Variantes alélicas reportadas y alelos intermedios	Patrones trialélicos reportados
CSF1PO	321-357	20	5, 7.3, 8.3, 9.1, 9.3, 10.1, 10.2, 10.3, 11.1, 12.1, 16 12.2, 13.2, 14, 14.3, 15, 15.3, 16, 16.1, 16.2, < 17, 17, 17.2, 18.2, 19.1, 19.2, 19.3, 20.1, 20.2, 20.3, 21.1, 21.2, 21.3, 22.1, 22.2, 22.3, 23.1, 23.2, 23.3, 24.1, 24.2, 24.3, 25.1, 25.2, 25.3, 26.1, 26.2, 26.3, 27.3, 29.2, 30.2, 31, 31.2, 32.1, 32.2, 33.1, 34.1, 34.2, 35.2, 41.1, 41.2, 42.1, 42.2, 43.1, 43.2, 44, 44.1, 44.2, 44.3, 45.1, 45.2, 46.1, 46.2, 47.2, 48.2, 49, 49.1, 49.2, 50.2, 50.3	9/11/12; 10/11/12 19/20/21; 19/22/23; 19/24/25; 20/21/22; 20/21/24; 20/23/24; 21/22/23; 21/25/26; 22/24/25; 22.2/23/23.2
FGA	322-444	80		
THO1	156-195	20	4, 7.3, 8.3, 9.1, 10.3, 11, 13.3	7/8/9 6/8/10; 6/9/10; 6/10/11; 6/10/12; 7/9/10; 7/10/11; 8/9/10; 8/10/11; 8/10/12; 8/11/12; 9/10/11; 9/10/12; 10/11/12 11/16/17; 12/18/19; 14/15/17; 14/15/18; 14/16/18; 14/17/18; 15/16/17; 18/19/20
TPOX	262-290	15	4, 5, 7.3, 13.1, 14, 15, 16	15/16/17; 15/17/18; 16/17/19; 17/18/19
VWA	123-171	29	16.1, 18.3, 22, 23, 24, 25	10/11/12; 11/12/13
D3S1358	115-147	26	8, 8.3, 9, 10, 11, 15.1, 15.2, 15.3, 16.2, 17.1, 17.2, 18.1, 18.2, 18.3, ">19", 20, 20.1, 21.1	8/9/12; 8/10/11
D5S818	119-155	15	10.1, 11.1, 12.3, 17, 18	10/12/13; 10/12/15; 12/13/14; 12/13/15; 13/15/16
D7S820	215-247	30	5, 5.2, 6.3, 7.1, 7.3, 8.1, 8.2, 8.3, 9.1, 9.2, 9.3, 10.1, 10.3, 11.1, 11.3, 12.1, 12.2, 12.3, 13.1, 14.1, 15, 16	8/11/12; 10/11/12; 10/12/13
D8S1179	203-247	15	7, 15.3, 18, 20	12/13/15; 12/14/15; 12/16/17; 14/15/22; 15/16/20; 16/17/20; 19/22.2/23.2
D13S317	169-201	17	5, 6, 7, 7.1, 8.1, 11.1, 11.3, 13.3, 14.3, 16	12/13/14
D16S539	264-304	19	6, 7, 9.3, 11.3, 12.1, 12.2, 13.1, 13.3, 14.3, 16	
D18S51	290-366	51	7, 8, 9, 11.2, 12.2, 12.3, 13.1, 13.3, 14.2, 15.1, 15.2, 16.1, 16.2, 16.3, 17.2, 17.3, 18.1, 18.2, 19.2, 20.1, 20.2, 21.2, 22.1, 22.2, 23.2, 24.2, 27, 28.1, 28.3, 40	
D21S11	203-259	89	24.3, 25.1, 25.2, 25.3, 26.2, 27.1, 27.2, 28.1, 28.3, 29.1, 29.3, 30.3,	28/29/30; 28/30.2/31.2;

			31.1, 31.3, 32.1, 33.1, 34.1, 34.3, 35.1, 36.1, 36.2, 37, 37.2, 39	29/31/32; 30/30.2/31
Penta E	379-474	29	9.4, 11.4, 12.1, 12.2, 13.2, 14.4, 15.2, 15.4, 16.4, 17.4, 18.4, 19.4, 23.4	n/d
Penta D	376-449	33	6, 6.4, 7.1, 7.4, 9.4, 10.3, 11.1, 11.2, 12.2, 12.4, 13.2, 13.4, 14.1, 14.4	n/d
F13A01	281-331	13	4-16	n/d
F13B	169-189	5	6-10	n/d
HPRTB	259-303	11	6, 7, 8, 9, 10, 10M, 11, 11M, 12-17	n/d
LPL	105-133	7	7-14	n/d
Amelog.	106, 112	2	X,Y	No se aplica

Microsatélites del Cromosoma «Y»

EL cromosoma Y muestra una cantidad y variedad extraordinaria de ADN repetitivo cuando lo comparamos con otros cromosomas. Se asume que surge como resultado de la carencia de recombinación intercromosómica a través del tiempo.

Sin embargo, los reagrupamientos durante la evolución de los primates como las duplicaciones en tándem e inversiones, pueden haber jugado un papel importante y adicional en el diseño o configuración de la estructura molecular del cromosoma Y (Kittler y cols, 2003).

El descubrimiento de la existencia de regiones STRs tetraméricas en el cromosoma Y con una variabilidad comparable a la de los STRs autosómicos, ha permitido disponer de una nueva gama de marcadores genéticos de gran interés, no solamente en el campo de la identificación genética humana, sino también en el campo de la genética de poblaciones humanas y en estudios evolutivos.

La herencia exclusivamente paterna de la región no recombinante del cromosoma Y se traduce en el mantenimiento a través de las generaciones de polimorfismos ligados que pueden ser utilizados para trazar la evolución de los linajes paternos. Por otro lado, los STRs localizados en el cromosoma Y se están convirtiendo en una herramienta de gran valor en una gran variedad de situaciones forenses.

Los STRs del cromosoma Y, por ejemplo, pueden ser de gran interés para detectar específicamente los restos celulares de un varón en casos en los que sea necesario realizar una identificación genética de una mezcla de fluidos biológicos de varón y de mujer en los que la fracción de células procedentes del varón sea minoritaria con respecto a la fracción de células de la mujer.

Tal es la situación que ocurre en una proporción de casos de violación en los que, en la toma vaginal, por las circunstancias de los hechos o de la toma de muestras, se detecta una muy pequeña cantidad de espermatozoides del agresor que se encuentran mezclados con una gran cantidad de células de descamación del epitelio vaginal de la víctima.

Por otro lado, los STRs del cromosoma Y son de gran interés en la investigación biológica de la paternidad de hijos varones, cuando el presunto padre haya fallecido y no se pueda disponer de una muestra biológica del mismo, ya que permite investigar a cualquier pariente del padre presunto y comprobar si su haplotipo de marcadores STRs es coincidente. Además la investigación de la identidad y sexo en desastres en masa, también constituyen algunos de los campos de aplicación forense de los marcadores de microsatélite del cromosoma Y.

Estructura y características del cromosoma «Y»

El cromosoma Y es un elemento acrocéntrico pequeño que solo representa el 2% del complemento cromosómico. Contiene alrededor de $6 \cdot 10^7$ pares de bases. El 60% de este ADN está constituido por secuencias polimórficas, altamente repetidas, y está confinado principalmente a la porción heterocromática del brazo largo, desde Yq13 a Yqter (Roewer y cols, 1996), y a la región pericentromérica, sugiriendo que estas regiones tendrían una funcionalidad limitada.

Sin embargo, recientes investigaciones demuestran la existencia de genes y familias génicas localizadas en las regiones supuestamente no codificantes presentes en este cromosoma (Lahn y cols, 1997).

Debido a la falta de un elemento homólogo (lo que determina una haploidía parcial), la mayor parte del cromosoma Y no se recombina durante la meiosis. Sólo se produce recombinación con el cromosoma X en dos pequeñas regiones pseudoautosómicas denominadas PAR1 y PAR2 (Jobling y cols, 1997). La falta de recombinación determina que todas las secuencias ubicadas en esta zona se heredan como un bloque constituyendo un grupo de ligamiento (Quintana-Murci y cols, 2001).

Por otro lado, dado que en este grupo de ligamiento se localizan regiones polimórficas, éstas serán cedidas de padres a hijos en forma obligada. Las mutación es constituyen las fuentes fundamentales de la variación que puede producirse en estas regiones.

Hace pocos años se describe la secuencia completa de 23 Mb del segmento de eucromatina del cromosoma Y (Skaletsky y cols, 2003), a la que designan como región específica masculina del Y, ó MSY (*male-specific region of the Y*).

Antecedentes del empleo de marcadores hipervariables del cromosoma «Y»

Los primeros polimorfismos del cromosoma Y se descubrieron en 1985 (Casanova y cols.; Lucotte y Ngo, 1985). Los estudios iniciales se centraban en el análisis de la región denominada *Y27H39* (conocida actualmente como *DYS19*), y demostraron su utilidad tanto en estudios antropológicos (Roewer y cols, 1993), como en análisis de paternidad en ausencia de progenitor masculino (Santos y cols, 1993).

Si bien la aplicabilidad resultaba limitada por no disponer de marcadores adicionales, tal restricción pudo ser posteriormente superada. La detección y validación de un gran número de secuencias polimórficas presentes en el cromosoma Y, hizo posible la realización de estudios poblacionales más completos y su aplicación inmediata tanto en estudios de filiación deficientes como en casos forenses (Kayser y cols, 1997; Prinz y cols, 1997).

Para realizar el análisis de los marcadores STR, las regiones flanqueantes alrededor de la unidad de repetición debe ser determinada. Una vez que las regiones flanqueantes son conocidas entonces los primers pueden ser diseñados y la región de repetición amplificada para el análisis (Butler, 2001).

Los nuevos STR son usualmente identificados de una de las siguientes formas:

- Buscando secuencias de DNA en bases de datos Ejemplo: GenBank, de regiones con 6 o más unidades de repeticiones contiguas (Weber y May, 1989).
- Realizando aislamiento con métodos de biología molecular (Edward y cols, 1991).

Los STRs del cromosoma Y se han descubierto en el siguiente orden cronológico, de esta forma: *DYS19* Roewer y cols. (Roewer y cols, 1992); *YCAI a/b*, *YCAII a/b*, *DXYS156* (Mathias y cols, 1994); *DYS389I/II*, *DYS390*, *DYS391*, *DYS392*, *DYS393* (Roewer y cols, 1996); *DYS288*, *DYS388* (Kayser y cols, 1997); *DYS385 a/b* (Schneider y cols, 1998); *A7.1*, *A7.2*, *A10*, *C4*, *H4* (White y cols,

1999); 2000 DYS434, DYS435, DYS436, DYS437, DYS438, DYS439 (Ayub y cols, 2000); G09411, G10123 (De Knijff , 2000, sin publicar); DYS441, DYS442 (Iida y cols, 2001); DYS446, DYS447, DYS448, DYS449, DYS450, DYS452, DYS453, YS454, DYS455, DYS456, DYS458, DYS459, DYS463, DYS464 (Redd y cols, 2002).

Butler y cols (2006a) analizaron 27 Y-STRs para ser aplicados en el campo forense, algunos de ellos descritos pero en su mayoría nuevos marcadores, entre ellos el DYS444, DYS446, DYS449, DYS463, DYS485, DYS490, DYS495, DYS504, DYS505, DYS508, DYS520, DYS522, DYS525, DYS532, DYS533, DYS534, DYS540, DYS556, DYS557, DYS570, DYS575, DYS576, DYS594, DYS632, DYS635, DYS641, y DYS643.

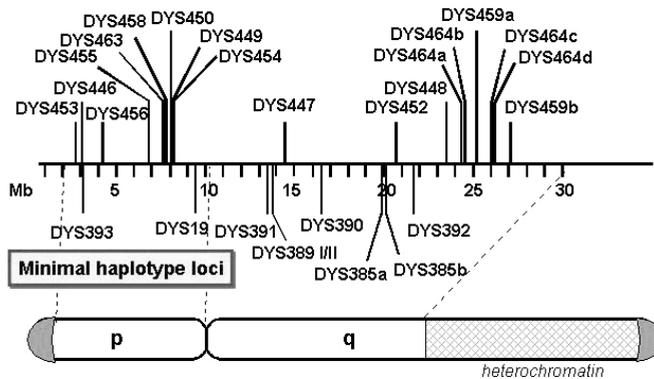


Gráfico 11. Nuevos STRs del cromosoma Y descritos por los investigadores de la Universidad de Arizona, USA (Hammer y Redd, 2006)

La herencia en bloque de estos marcadores exige un análisis estadístico global, donde el conjunto de frecuencias genéticas obtenidas constituye un haplotipo (Kayser y cols, 1997; Pestoni y cols, 1998).

El tipado de un mayor número de marcadores polimórficos por muestra aumenta de forma notoria el poder discriminativo y el potencial informativo de estos microsatélites (White y cols, 1999; Ayub y cols, 2000).

La primera reunión de trabajo sobre aplicaciones forenses del cromosoma Y, celebrada en Berlín en 1996, permitió la recopilación de datos sobre la distribución de frecuencias haplotípicas e informó de los estudios genotípicos padre/hijo hasta entonces realizados, para estimar tasas de mutación específicas en los locus de estos marcadores. En definitiva, se establecieron las condiciones necesarias para su aplicación en la práctica médico legal (Kayser y cols, 1997; De kniff y cols, 1997).

El proyecto se consolidó en 1998 con la creación de una base de datos para microsatélites del cromosoma Y, disponible vía Internet (<http://ystr.charite.de>), que busca la consecución cuatro objetivos fundamentales (Roewer y cols, 2000):

- Estandarizar el análisis de un haplotipo común de marcadores STRs, altamente informativo y de fácil detección electroforética.
- Garantizar la estandarización en los resultados emitidos por los distintos laboratorios mediante controles de calidad periódicos.
- Determinar la estratificación de la población caucasoide en Europa.
- Recopilar una amplia base de datos que permita la estimación real de frecuencias haplotípicas para su aplicación en la práctica forense.

La amplificación simultánea de varios sistemas (PCR multiplex) (Redd y cols, 1997; Gusmão y cols, 1999; Ayub y cols, 2000; Corach y cols, 2001; Butler y cols, 2002; Bosch y cols, 2002) permite optimizar el análisis en casos de extrema complejidad (Corach y cols, 1997; Prinz y cols, 1997).

Se han realizado muchos estudios colaborativos para caracterizar los STRs del cromosoma Y (Kayser y cols, 1997; Pestoni y cols, 1998; White y cols, 1999; Schneider y cols, 1999; Ayub y cols, 2000; Hoy cols, 2001; González-Neira y cols, 2001), por lo cual hay una lista de los loci analizados en la página web de Knijff (<http://ruly70.medfac.leidenuniv.nl/~fldo>); existe también otra página que puede consultarse para obtener información tanto de los STRs autosómicos como del cromosoma Y (Ruitberg y cols, 2001).

Los diferentes alelos de múltiples polimorfismos del cromosoma Y pueden ser combinados para obtener haplotipos compuestos. Los polimorfismos más variables pueden llegar a discriminar cromosomas de linajes paternos diferentes, mientras que los menos variables permiten definir grupos de cromosomas emparentados. En este sentido, ha sido posible observar que varios haplotipos están confinados a

poblaciones específicas. Cada población tiene una combinación única de haplotipos Y. Esto contrasta con la falta de especificidad de la gran mayoría de cromosomas.

Evolución del Cromosoma Y

Los grupos de ligamiento ancestrales que reflejan el origen del cromosoma Y han sido largamente conservados a lo largo de la evolución, si bien, este cromosoma ha adquirido numerosas secuencias procedentes de diversos orígenes. Por tanto, este cromosoma es un cromosoma moderno que ha alcanzado su conformación actual a lo largo de la evolución desde los grandes monos hasta el hombre. Es probable que los estudios del cromosoma Y contribuyan a una mayor comprensión de los orígenes de los humanos modernos (Jobling y Tyler-Smith, 1995).

La función que determina el sexo del cromosoma Y implica que es heredado de manera patrilineal y haploide. A causa de esta haploidía, la mayor parte de este cromosoma no recombina con ningún otro durante la meiosis. Estas propiedades tienen importantes consecuencias para la historia evolutiva de las poblaciones, ya que el cromosoma Y pasa de padre a hijo sin cambios, excepto por la acumulación gradual de mutaciones; por ello, el retroceso en los linajes patrilineales hacia el pasado depende de la tasa de mutación de los marcadores del cromosoma Y analizados.

El estudio de los polimorfismos del cromosoma Y con fines evolutivos pretende esclarecer en último término, algunos de los problemas todavía pendientes en lo que respecta al origen y la dispersión de los humanos modernos. Estos polimorfismos son de gran ayuda, ya que mientras los cromosomas autónomos y el X tienen múltiples ancestros a causa de la recombinación, todos los cromosomas Y tienen un único ancestro paterno, aunque no es posible predecir a priori si el ancestro fue un humano reciente o un pre-humano (Jobling y Tyler-Smith, 1995). Esto supone ventajas en el estudio de la evolución humana, la ausencia de la recombinación simplifica la historia contenida en la molécula del ADN del cromosoma Y (Jobling y cols., 2000).

Microsatélites del cromosoma «Y» incluidos en este estudio

La siguiente tabla reúne algunas características de los microsatélites que se han analizado en el presente trabajo.

Tabla 12 . Características de los loci STR de cromosoma Y analizados. Posición en megabases a lo largo del cromosoma Y (Butler, 2006).

Locus	Posición (Mb)	Unidad de repetición	Repeticiones	Tamaño alelos en pb	No. de alelos observados	Referencia
DYS19	10.12	(GATA) _n	10-19	174-210	10	Roewer y cols, 1992
DYS385 a/b	19.19, 19.23	(GAAA)	10-22	252-300	13	Schneider y cols, 1998
DYS389I	13.05	(GATA) _n (GACA) _n	9-17	235-267	9	Kayser y cols, 1997
DYS389II	13.05	(GATA) _n (GACA) _n	26-34	355-387	9	Kayser y cols, 1997
DYS390	15.71	(GATA) _n (GACA) _n	18-28	191-231	11	Kayser y cols, 1997
DYS391	12.54	(TCTA)	6,8-14	267/275-295	11	Kayser y cols, 1997
DYS392	20.97	(ATT) _n	7/10-17	236/245-266	9	Kayser y cols, 1997
DYS393	3.17	(GATA) _n	9-15	108-132	7	Kayser y cols, 1997
DYS437	n/d	(TCTA) _m (TCTG) _n (TCTA) ₄	13-17	180-196	5	White y cols, 1999 Ayub y cols, 1999
DYS438	13.38	(TTTTTC) ₁ (TTTTTA) _{0,1} (TTTTc) _n	6-13	201-236	8	White y cols, 1999 Ayub y cols, 1999
DYS439	12.95	(GATA) _n	9-14	236-256	6	White y cols, 1999 Ayub y cols, 1999

a. *DYS 319* (Roewer y cols, 1992)

Este microsatélite se identificó por la repetición del tetranucleótido (GATA) (Arneman y cols, 1986; Roewer y cols, 1992), posteriormente el estudio de la secuencia permitió definir la estructura se este STR (CTTA7C)_n. Se localiza en el brazo corto del cromosoma Y, el tamaño del locus *DYS 19* oscila entre 174 y 210 pb en función del número de repeticiones del tándem entre 10 y 19 veces (de Kniff y col, 1997).

b. DYS385 (Schneider y cols, 1998)

Este presenta dos productos de amplificación específicos tras la PCR in vitro por una duplicación de este loci en el cromosoma Y, al igual que ocurre con los dinucleótidos YCAI, YCAII, YCAIII (Kayser y cols, 1997), las dos variantes alélicas aumentan notablemente el poder de discriminación de este marcador al aportar dos fragmentos en una única reacción de PCR.

La secuencia originalmente descrita (GAAA)_n aparece entre 10 y 22 veces con un rango de 364 a 412 pb. Se describen fragmentos más pequeños de entre 252 a 300 pb, al realizar una modificación en la secuencia del cebador no marcado (Schneider y cols, 1998). Su baja tasa de mutación y la escasa ambigüedad que presenta en la signación alélica lo convierten en marcador de lección respecto al resto de STRs con una doble localización en el cromosoma Y (Schneider y cols, 1998 y 1999).

Kittler y cols. (2003) llevaron a cabo la alineación a gran escala de la secuencia flanqueante identificada del DYS385 y detectaron un fragmento de ~190Kb, el cual existe en dos copias separadas por ~40Kb de secuencia única en la región Yq11.223. Las dos copias están localizadas en orientación opuesta, de este modo contienen el STR DYS385 en su parte más proximal.

En este estudio realizaron la amplificación de los dos fragmentos del DYS385 por separado y confirmaron que cuando se presenta un patrón de una sola banda es el reflejo de dos alelos de idéntica longitud, en dos loci como se asumía previamente y no la existencia de un solo locus (Kitter y cols, 2003).

c. DYS389 (Kayser y cols, 1997)

La duplicación en el sitio de unión de uno de los cebadores del DYS389 permite el análisis de dos fragmentos de ADN diferentes, según el número de repeticiones de cuatro bloques de tetranucleótidos (TCTG) y (TCTA). El fragmento I es un STR simple de 239 a 263 pb, y se engloba dentro del DYS389II que tiene la estructura de un STR compuesto (Junge y Madea 1999).

La nomenclatura utilizada está descrita por Roewer y cols. (2000); a diferencia del DYS385, el desigual rango de pares de bases permite en este caso una asignación alélica independiente. El estudio de este marcador muestra diferencias significativas entre poblaciones (Rolf y cols, 1998) y prueba su utilidad en medicina forense.

d. *DYS390* (Kayser y cols, 1997)

La secuencia de las variantes alélicas ha puesto de manifiesto diferencias de la estructura de estas repeticiones (CTG/AT) con alelos del mismo tamaño y distinta secuencia nucleotídica, se trata por tanto de un STR compuesto (Pestoni y cols, 1998; Junge y medea, 1999).

Las secuencias tetranucleotídicas del *DYS390* se repiten entre 18 y 27 veces, formando al menos 10 alelos cuyos tamaños oscilan entre 191 y 227 pb (de Kniff y cols, 1997). El marcador *DYS390* presenta un patrón mutacional distinto al resto de STRs del cromosoma Y (Forster y cols, 1998). Esto es un hecho fundamneal no sólo con fines antropológicos sino también en peritajes forenses de identificación de paternidad (Lessig y Edelman, 1998).

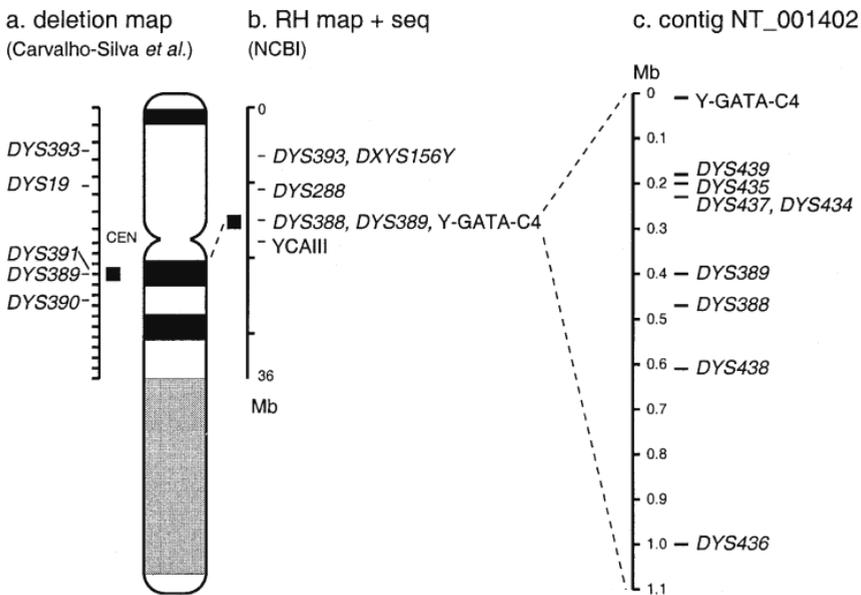


Gráfico 12. Mapa de los marcadores STRs del cromosoma Y (Nucleic Acids Res. 28(2), e8, 2000)

e. *DYS391* (Kayser y cols, 1997)

Es un locus tetranucleótido simple que posee un tamaño de alelos de 275 a 296 pb con los cebadores descritos inicialmente (GDB-ID G00-376-966). Se han encontrado seis alelos diferentes que constan de 8 a 13 repeticiones (TCTA).

Además de esta amplificación específica en el cromosoma Y, estos cebadores generan una banda adicional de 26 pb menos que los alelos que los alelos del locus *DYS391*, también con carácter polimórfico. En un trabajo llevado a cabo en diferentes grupos poblacionales se encontraron hasta 5 alelos diferentes (Gusmão y cols, 2000) y estudios en familias demostraron que este locus estaba ligado a la herencia del cromosoma X.

f. *DYS392* (Kayser y cols, 1997)

La repetición del trinucleótido (ATT) entre 7 y 16 veces y los nucleótidos flanqueantes forman fragmentos PCR con un rango de 236 a 263 pb. Se han descrito 8 variantes alélicas para este STR simple, con una diversidad genética poblacional moderada (de Kniff y cols, 1997; Kayser y cols, 1997).

g. *DYS393* (Kayser y cols, 1997)

Este STR presenta al menos 6 alelos por la repetición del tándem (GATA)_n de 9 a 15 veces, creando fragmentos de tamaño pequeño de entre 108 a 132 pb (de Kniff y cols, 1997). La realización de estudios poblacionales identifica alelos nuevos como es el caso del alelo 16 (Pawlowsky y cols, 1999). La estructura sencilla de este STR y fácil lectura lo convierte en un marcador interesante para estudios de identificación (Roewer y cols, 2000).

h. *DYS437* (Ayub y cols, 2000)

Es una repetición tetranucleotídica compleja con un alto grado de polimorfismo y elevado poder discriminativo. El tamaño de los alelos está comprendido entre 180 y 196 pb, con 13 a 17 alelos. Recientemente, se encontraron dos subtipos distintos de secuencia (González-Neira y cols, 2001).

El tipo A tiene la estructura (TCTA)_n (TCTG)₁ (TCTA)₄... (TCTA)₂ la cual está recogida en el GenBank y descrita en todos los grupos poblacionales. Los alelos tipo B muestran la estructura consenso (TCTA)_n (TCTG)₁ (TCTA)₄... (TCTA)₂ y solo fue encontrada en muestras de poblaciones asiáticas, un 50% de los alelos descritos. Varios autores han descrito variaciones adicionales para *DYS437* y *DYS438* (Gusmão y cols, 2001 y Hou y cols, 2001).

i. DYS438 (Ayub y cols, 2000)

Muestra una repetición penta nucleotídica altamente variable por lo que es de los más útiles en el campo forense. La repetición TTTTC parece ser derivada de la cola poli A de un elemento Alu (Ayub y cols, 2000). Tiene de 6 a 13 repeticiones y el tamaño está entre 201 y 236 pb. Este locus junto con DYS437 y DYS439 han demostrado una alta diversidad en la Península Ibñérica equivalente a los loci utilizados comúnmente en el área forense (Bosch y cols, 2002).

j. DYS439 (Ayub y cols, 2000).

Se trata de una repetición compleja altamente variable. Se representa como (GATA)₂ N₄ (GATA)₃ N₁₄ (GATA) N₃ (GATA) N₇ (GATA)₁₃. Los alelos secuenciados demostraron variación en sólo los bloques de repetición más largos, pero pueden encontrarse variaciones en otros bloques en estudios más extensos. El tamaño de los alelos está entre 238-258 pb, 9-14 alelos.

Marcadores genéticos potenciales y nuevas tecnologías

Miniplexes de mini STRs de nueva generación

En los últimos años se han desarrollado nuevas presentaciones de STRs caracterizados porque se han reducido de tamaño y de esta forma producir amplicones más pequeños menores a 125 pb. La reducción del tamaño de los amplicones puede facilitar el análisis del ADN degradado y mejorar la eficiencia de la amplificación, así como mejorar la interpretación de mezclas (Butler y cols, 2003).

Como se ha descrito, los STRs son la principal herramienta de la Genética Forense (Lygo y cols, 1994; Budowle y cols, 1999; Butler JM, 2001), ya que son marcadores altamente polimórficos y capaces de tipar muestras con muy poco material biológico a través de sistemas de PCR multiplex.

No es la primera vez que se ha disminuido el tamaño de los microsatélites para obtener mejores resultados. Otros autores ya han utilizado estos métodos para mejorar la tipificación en muestras degradadas, utilizando diferentes microsatélites (Yoshida y cols, 1997; Grubweiser y cols, 2003; Holland y cols, 2003; Schum y cols, 2004; Szibor y cols, 2001; Tsukada y cols, 2002; Wiegand y Kleiber 2001).

Por otro lado, en criminalística partimos de la premisa que la mayoría de las muestras forenses son difíciles de analizar, si este ADN se expone al fuego o al medio ambiente por largos periodos de tiempo puede ocurrir degradación del material genético debido a procesos bacteriales, bioquímicos u oxidativos (Bar y cols, 1998). Adicionalmente, pueden haber contaminantes ambientales que vengan dentro de las mismas muestras forenses.

En dichos especímenes se observa típicamente una pérdida de la señal de amplificación con productos de STRs de gran tamaño. Esta pérdida de señal puede deberse a inhibidores presentes en la muestra, como señalamos, o en el amplicón de ADN que ha sido fragmentado en pequeños pedazos de menor tamaño.

De cualquier forma, ya sea por los inhibidores o por el ADN degradado se pueden encontrar perfiles genéticos parciales con uno o varios alelos marginados o fuera de su locus (Whitaker JP, 1995; Coble y Butler, 2005; Butler y cols, 2003).

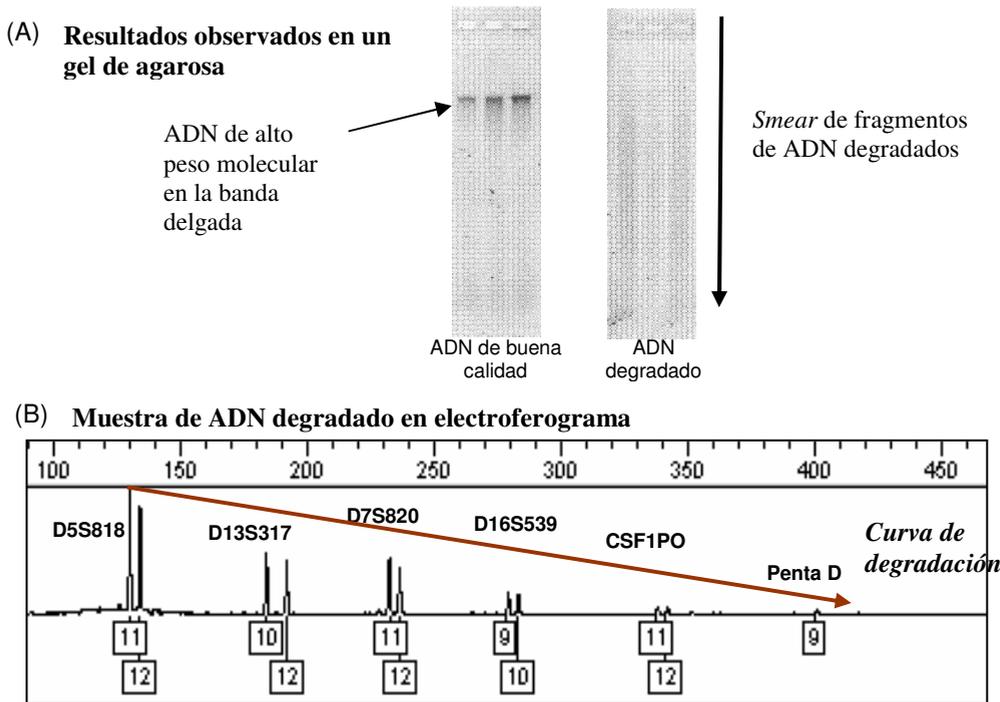


Gráfico 13. Impacto del ADN degradado en un gel de agarosa y en un electroferograma, el ADN degradado se rompe en pequeñas piezas que parecen como una mancha corrida (smear) en el gel. En la parte inferior se observa como la fuerza de la señal se pierde cuando existen menos ADN. Adaptado de: J.M. Butler (2005) *Forensic DNA Typing*, 2nd Edition © 2005 Elsevier Academic Press

También se puede observar una «curva de degradación» (ver gráfico anterior), en la cual el tamaño del pico es inversamente proporcional al tamaño en longitud del amplicón (Lygo JE, 1994; Cotton y cols., 2000, Wallen JM, 1998). En estos casos, los productos más largos tienen una más baja sensibilidad y caen debajo de la curva de detección resultando en perfiles genéticos parciales, como se citó antes. Este problema se exagera cuanto más grande es el tamaño del producto de la PCR. El gráfico siguiente muestra la degradación de una muestra de ADN.

Los sistemas multiplex de tipo comercial actuales pueden generar amplicones de entre 100 a 450 pb de tamaño (Krenke BE, 2002; Coble y Butler, 2005), otros autores señalan que los locus más grandes están entre 300 y 500 pb y se encuentran dentro de los sistemas más conocidos (Chung y cols., 2004).

En esas condiciones, cuando no se puede amplificar una muestra degradada, los laboratorios forenses recurren al ADN mitocondrial como una alternativa de rescate al estudio de la muestra (Butler JM, 1998).

Lamentablemente, el ADNmt por ser de naturaleza no mendeliana y haploide, no puede reemplazar a los STRs que se han consensuado dentro de los estándares internacionales (sistema CODIS o Interpol).

Una solución propuesta es reducir el tamaño de los productos de la PCR moviendo los cebadores internos lo más cercano posible a la región de repetición del STR (Wiegand y Kleiber, 2001; Tsukuda y cols., 2002).

Este proceso ha sido probado con éxito en muchos casos y confirmado por numerosos autores (Wiegand y Kleiber, 2001; Tsukuda y cols., 2002; Sparkes y cols., 1996; Yoshida y cols., 1997; Szibor y cols., 2000; Hellman A y cols, 2001). La posición de los cebadores define el tamaño del producto de la PCR, la información del polimorfismo es independiente del tamaño del amplicón.

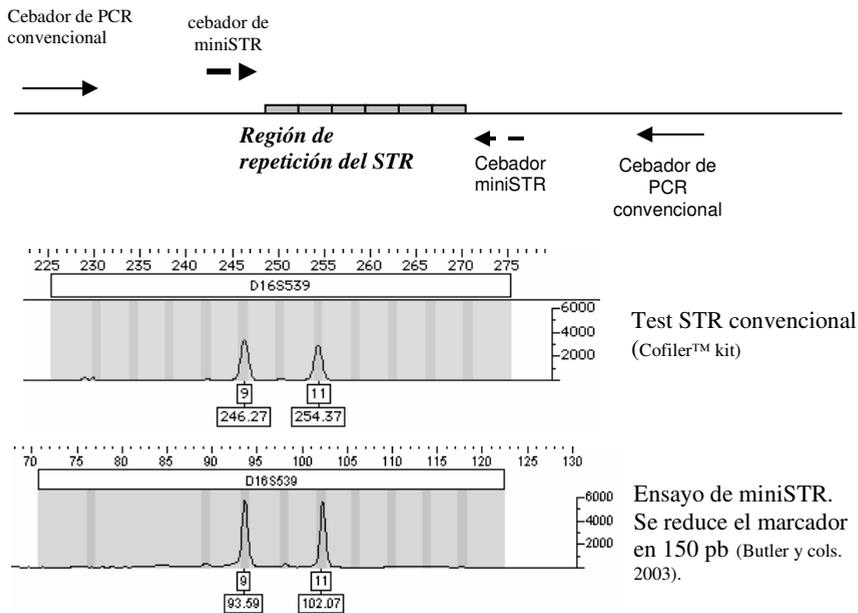


Gráfico 14. Metodología usada para reducir amplicones

Los ensayos realizados con mini-STRs han demostrado dar mejores resultados cuando se ha comparado con perfiles estándar como el SGMPlus™ y el kit Foren-SNPs™.

El método LCN ha probado ser el sistema más exitoso de amplificación en todos los casos, al aumentar el número de ciclos de 28 a 34, con los cuales mejora la probabilidad de unas pocas moléculas presentes del ADN extraído. Sin embargo, en este método el balance alélico se deteriora y se produce desplazamientos de alelos (drop-out) lo que dificulta la interpretación de resultados.

En estos casos una ventaja de los mini-STRs es que parece que sobreviven mejor a la degradación del ADN por lo que es más probable encontrar perfiles completos usando un número estándar de ciclos, algunos estudios (Dixon y cols, 2005) se utilizó 32 ciclos para obtener buenos resultados, siendo este un método intermedio entre el LCN y el estándar.

Con el aumento del número de ciclos a 34 o más podría haber un aumento del porcentaje de perfiles completos que se obtengan (Whitaker y cols, 2001). La comunidad forense ha desarrollado nuevos multiplex con estos mini STRs denominados «mini-plexes», sobre la base de marcadores genéticos estandarizados y consensuados. La tabla siguiente muestra los miniplexes descritos hasta la fecha.

Tabla 14 . Sistemas mini-plex descritos

Autor	Nombre	Marcadores incluidos en miniplex
Schumm y cols. 2004	BodePlex 1:	D13S317, D21S11, D7S820, D16S539, CSF1PO
Bode Plexes, se utilizaron en el estudio del WTC 2002, por el Instituto Forense de NYC	BodePlex 2:	TPOX, FGA, D7S820, D18S51
Butler JM y cols., 2003 En los marcadores D3S317, D5S818 y VWA no existe concordancia con los sistemas comerciales por la presencia de deleciones y formación de dímeros de uno de los alelos o unión del alelo al sitio de mutación (Drábek y cols, 2004)	Miniplex 1	CSF1PO, TH01, TPOX
	Miniplex 2	D5S818, D8S1179, D16S539
	Miniplex 3	FGA, D7S820, D21S11
	Miniplex 4	VWA, D13S317, D18
	Miniplex 5	Penta D, Penta E, D2S1338
	Big Mini	CSF1PO, FGA, TH01, TPOX, D7S820, D21S11
Chung y cols, 2004	Miniplex 2	D5S818, D8S1179, D16S539
	Miniplex 4	VWA, D18S51, D13S317
	Miniplex 5	Penta D, Penta E, D2S1338
	Big Mini	Multiplex 1: TH01, TPOX, CSF1PO Multiplex 2: FGA, D21S11, D7S820
Coble y Butler, 2005	Miniplex 1	D10S1248, D14S1434, D22S1045

Desarrollo de potenciales mini STRs, candidatos de mayor heterocigosidad que produzcan amplicones diana de < 125 pb Gill P y cols, 2004 Gill P y cols. 2006	Miniplex 2	D1S1677, D2S441, D4S2364
Recomendaciones de la EDNAP y de la ENFSI para desarrollo de nuevos minis STRs	Miniplex 1	D10S1248, D14S1434, D22S1045
	Miniplex 2	D12S391, D1S1656, TPOX
Wiegand y cols. 2005	Pentaplex	Amelogenina, TH01, D3S1358, VWA, FGA
	Multiplex 2	TH01, D3S1358, VWA, FGA
	Blue kit	D3S1358, VWA, FGA
Butler y Coble, 2005	Mini SGM	TH01, Amelogenina, FGA, D18S51, D16S539, D21S1138
	Mini NC01	D10S1248, D14S1434, D22S1045
Hill C, Coble D, Butler JM, 2006. Development of 27 new MiniSTR loci for improved analysis of degraded DNA samples. Poster B105 at AAFS Congress, Seattle, 2006.	NC01	D10S1248, D14S1434, D22S1045
	NC02	D4S2364, D2S441, D1S1677
	NC03	D3S3053, D6S474, D20S482
	NC04	D1GATA113, D2S1776, D4S2408
	NC05	D1S1627, D5S2500, D8S1115,
	NC06	D3S4529, D6S1017, D9S2157
	NC07	D9S1122, D10S1435, D12ATA63
	NC08	D17S1301, D18S853, D20S1082
	NC09	D6S1027, D17S974, D11S4463
Hill C, Coble D, Butler JM, 2006 Loci rechazados y las razones de no considerarlos dentro de los miniplex		D9S324: desplazamiento alélico, presencia de repeticiones complejas D10S1430: presencia de repeticiones complejas D10S2327: perfiles con tres y cuatro alelos D14S297: heterocigosidad pobre D15S817: perfiles con tres y cuatro alelos

Fuentes: varios Elaboración: autor

Presencia de alelos nulos en los mini-STRs

En algunos individuos se puede observar una variante alélica que no amplifica durante la PCR, conocida como alelo nulo, el mismo que se debe a la desestabilización del cebador durante la hibridación.

El alelo está presente en la muestra de ADN pero falta al ser amplificado debido a un cambio de nucleótido en el sitio de unión con el cebador. Este alelo que no se observa constituye un problema porque una muestra heterocigoto parece

falsamente como homocigoto. Dos cebadores diferentes pueden producir iguales resultados durante la interpretación.

Este fenómeno impacta fuertemente sobre las bases de datos nacionales ya que la información obtenida de las muestras no es correcta. En algunas ocasiones se soluciona el problema con un aumento de la astringencia (Butler JM, 2002). También se puede mejorar la amplificación en muestras degradadas con el uso de filtros de columna. Adicionalmente, disminuye el tiempo de corrido durante la electroforesis capilar a menos de 15 minutos por muestra y se puede observar una alta resolución.

Estos alelos nulos pueden complicar el estudio forense y / o reducir las razones de verosimilitud en los cálculos estadísticos de asociación entre víctimas y familiares. Estas variantes alélicas no se pueden predecir a prior, por ello se requieren ampliar los estudios poblacionales para comparar la designación alélica de estos miniplexes con los multiplexes estándares (Budowle y cols, 2005).

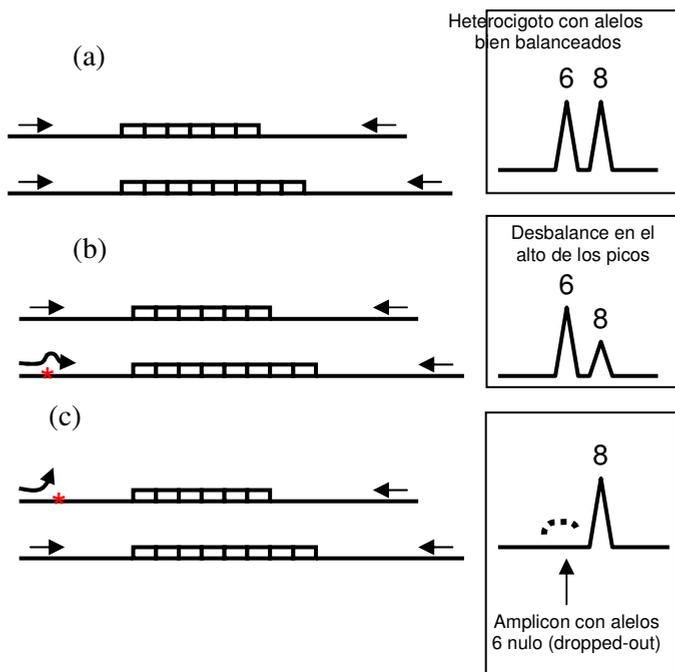


Gráfico 15. Impacto de una secuencia polimórfica unida al sitio de unión del cebador ilustrado con individuo heterocigoto hipotético. Los picos de los alelos pueden estar bien balanceados (a), inbalanceados (b) o fuera del sistema, nulo (c)

Estrategias para desarrollar miniSTRs

(Hill C, Coble D, Butler JM, 2006; Butler JM, 2005)

1. Diseñar nuevos cebadores lo más próximos a la repetición.
2. Elaborar y cuantificar los nuevos cebadores
3. Desarrollar y estandarizar las condiciones de la PCR
4. Crear nuevas escaleras alélicas
5. Desarrollar nuevos macros para el Genotyper (desarrollo en multicolor con fluorescencia capilar).
6. Probar el producto desarrollado con muestras reales y comparar los resultados con los sistemas comerciales existentes.
7. Trabajar en dos laboratorios distintos de forma paralela
8. Escribir y publicar los protocolos.
9. Realizar nuevos estudios poblacionales para validar la información.

Ventajas de los miniSTRs sobre los STRs estándar

1. Constituyen una herramienta valiosa y útil para aquellas muestras que generan perfiles parciales e incompletos que se observan cuando hay ADN degradado (Gill P y cols, 2006 a; Schum y cols, 2004).
2. Aumentan la robustez del análisis forense actual y aumentan la probabilidad de que una muestra degradada sea tipada mediante el uso de mini STRs (Coble M, 2005).
3. Son una opción rápida, reproducible y fácil al comparar estos sistemas con el análisis de ADN mitocondrial como método alternativo en muestras degradadas (Coble y Butler, 2005; Budowle B, 2005)
4. No requieren equipamiento o entrenamiento adicional a lo ya disponible en los actuales laboratorios forenses que trabajan con STRs estándar. Esto hace que sea un método económico y accesible a todos los laboratorios (Budowle B, 2005).
5. Son un sistema muy sensitivo equivalente a los perfiles de LCN, es decir ADN en bajo número de copias, en condiciones controladas son capaces de amplificar ADN en concentraciones de 100 pg/μL (Gill y cols, 2001)
6. Son capaces de aumentar la razón de verosimilitud en casos de identificación de restos cadavéricos, cuando se dispone de un perfil parcial y cuando la

- víctima no tiene suficientes familiares disponibles para alcanzar una alta probabilidad de coincidencia en la razón de verosimilitud, como es el caso de desastres (Gill y cols, 2004).
7. En estudios de filiación, hay algunos casos que requieren un mayor número de marcadores para poder mejorar el poder de exclusión; también son útiles en los casos de paternidades complejas como el incesto, por ejemplo. (Goodwin J, 2004).
 8. Han sido validados con muestras forenses como bulbos de pelo, por lo que son de aplicación directa en criminalística (Hellmann y cols, 2001)
 9. Pueden ser analizados mediante otras tecnologías como son la espectrometría de masas y los sistemas de microfluidos de alta velocidad (Butler y cols, 1998; Butler JM, 1999)
 10. Complementan la batería de STRs sobre todo en análisis de muestras procedentes de un desastre. Son un soporte en los cálculos estadísticos entre la muestra problema y sus familiares. (Gill y cols, 2004)
 11. Al ser compatibles con los marcadores del sistema CODIS o con la base de datos de Interpol, los mini-STRs no afectan las Bases de Datos existentes en algunos países, son compatibles con dichos marcadores y pueden ser utilizados para comparar individuos tipados previamente mediante los caminos habituales (Gill P, 2006 a, 2006 b).
 12. Desde el punto de vista legal, social y político no afectan las bases de datos, por lo cual los laboratorios oficiales no tienen que cambiar su tecnología para adaptarse a estos nuevos marcadores (Schneider y Martin, 2001; Schuller y cols, 2001).

Desventajas de los mini-STRs

1. No son aplicables a todos los marcadores consensuados. Algunos STRs consensuados no han podido ser acortados con este método debido a que sus regiones flanqueantes no se pueden rediseñar o porque existen demasiados alelos que impiden disminuir el tamaño del marcador, como ocurre en el marcador D7S820 (Coble y Butler, 2005).
2. Requieren un mayor número de ciclos de amplificación, entre 28 y 35, lo que disminuye su capacidad de análisis en muestras mínimas o muy pequeñas (Coble M, 2005).
3. Algunos de ellos tienen un bajo poder de discriminación comparado con el poder de discriminación acumulativo de los STRs, 13 en el caso del

sistema CODIS y 7 en el sistema de INTERPOL. Además, existen demasiados STRs candidatos con bajo poder de discriminación (Hill C y cols, 2006)

4. Se requieren mayores estudios poblacionales que validen los resultados y se requiere también mayor información genética para poder estandarizarlos y luego generalizar su uso dentro de la comunidad forense (Hill C y cols, 2006; Budowle B y cols, 2005)
5. La presencia de alelos nulos pueden dificultar el análisis de filiación o linaje, y reducir los valores acumulativos de la razón de verosimilitud (Budowle y cols, 2005).

Consideraciones de la ENFSI y el EDNAP sobre la incorporación de nuevos miniSTRs (Gill y cols, 2006 a y 2006 b)

1. La EDNAP/ENFSI trabajan en colaboración para estandarizar los perfiles de ADN en Europa y así facilitar las comparaciones entre laboratorios (Schneider y Martin 2001; Martin y cols, 2001). Actualmente, la INTERPOL tiene 7 loci consensuados en toda Europa (Schuller y cols, 2001), aunque muchos laboratorios trabajan con el AmpFISTR[®] SGMPlus o sus equivalentes que tiene 13 loci, AmpFISTR[®] Identifiler; PowerPlex 16[®] System (Schneider y Martin, 2001; Dixon y cols, 2005).
2. Existe un alto nivel de estandarización científica y técnica en los laboratorios forenses, lo cual ha permitido la rápida implementación de nuevos loci en las bases de datos de cada país. Sin embargo, es necesario alterar los multiplexes existentes para mejorar las tasas de éxito cuando se analiza ADN degradado (Schneider y cols, 2004).
3. Cada país tiene la posibilidad de adoptar nuevos loci que crea necesario y acomodarlos a sus requerimientos propios. Sin embargo es poco factible que los laboratorios abandonen los loci existentes y en aplicación frente a nuevos marcadores, por ello es preferible incorporar nuevos multiplexes que incorporen estos nuevos loci propuestos.
4. Existen consideraciones legislativas y políticas que se deben resolver, y en algunos países esto significaría cambiar la legislación vigente para poder incorporar estos nuevos marcadores, hecho muy improbable.
5. Se ha propuesto crear una «*red virtual*» de intercambio de perfiles genéticos en contraposición de crear una base de datos centralizada que contenga físicamente los perfiles genéticos que constan en cada base de

datos nacional. Con la «*red virtual*» cada país podría tener el control de su propia información y acceder a la información de otras bases de datos de acuerdo a la normativa que se establezca. Esto además, permitiría que las búsquedas no se limiten a los loci consensuados por INTERPOL sino que se podría tener acceso a otros marcadores propuestos (Schuller y cols, 2001).

6. Las bases de datos deben ser dinámicas y deben guardar armonía con el desarrollo científico de la genética Forense. Por ello, se podrá cambiar o incorporar un nuevo marcador genético siempre que exista una de las siguientes razones:
 - i. Para mejorar el poder de discriminación del sistema
 - ii. Para mejorar la sensibilidad analítica en el análisis de pequeñas cantidades de ADN (low copy number)
 - iii. Para mejorar la robustez o la calidad de los resultados.

7. Dado que las bases de datos nacionales de ADN han sido construidas usando diferentes multiplexes, no es realista sugerir que se abandonen los loci ya existentes. Por ello, se ha propuesto que se investiguen nuevos loci y así adoptar nuevos multiplexes para expandir la información existente. Luego de un tiempo prudencial, algunos loci de menor valor podrían ser abandonados, aunque la información derivada de su análisis quede remanente en las bases de datos.

Recomendaciones de ENFSI/EDNAP sobre la incorporación de nuevos miniSTRs

1. Se adoptaran los miniSTRs como la mejor manera para aumentar la robustez y la sensibilidad del análisis de ADN.
2. Los SNPs serán utilizados a criterios de cada laboratorio y de cada país, pero su información será almacenada en una base de datos independiente. Su uso será destinado al estudio de muestras discretas como los huesos en caso de desastres (Gill y cols, 2004).
3. Los loci consensuados en las bases de datos nacionales serán retenidos y convertidos en miniSTRs por re-ingeniería, de tal manera que los cebadores sean construidos cerca de la región de repetición (Drábek y cols, 2004; Hellman y cols, 2001).

- Se recomienda adoptar un nuevo multiplex denominado Multiplex 1, con los marcadores **D12S1248**, **D22S1045**, **D2S441**, de entre 70 a 125 pb. En una enmienda posterior (Gill y cols, 2006) se recomienda adoptar el DS441 en lugar del D14S1434, debido a que el segundo tiene un bajo poder de discriminación en comparación a los demás loci existentes (D2S441, PD = 1/2500; D14S1434, PD = 1/7).

Se observa en la siguiente tabla sus características. Este miniplex es derivado del miniplex NC01 desarrollado por el NIST y que se encuentra en etapa de validación (Coble y Butler, 2005; Butler y cols, 2003).

Tabla 15. Nuevo miniplex recomendado por el EDNAP/ENFSI

Miniplex I

Nombre del STR	Tipo de repetición	Motif	Posición cromosómica	Tamaño observado pb	Heterocigosidad observada
D22S1045	Tri	TAA	Crom 22, 35.78 Mb	76 - 109	0,784
D2S441	Tetra	TCTA	Crom 6, 68.21 Mb	78 - 110	0,774
D10S1248	Tetra	GGA A	Crom 10, 130.57 Mb	83 - 123	0,792

- Se ha compilado una lista secundaria de loci que pueden ser convertidos en miniSTRs. Este multiplex 2 comprende al **D12S391**, **D1S1656**, **TPOX**. Los dos primeros son midiSTRs de entre 120 a 180 pb. Estos loci no están consensuados pero se los recomienda como loci adicionales y aumentar el tamaño del multiplex (Hellman y cols, 2001; Gill y cols, 1998; Shigeta y cols, 2002).
- Los nuevos multiplexes deberían ser equivalentes en sensibilidad a los ya existentes, lo cual significa que deberían ser capaces de detectar ADN en cantidades menores a 250 pg, usando métodos de amplificación de PCR estándares. El propósito principal es facilitar parcialmente la detección del ADN degradado, tomando en cuenta el balance adecuado del tamaño del multiplex versus su eficiencia.
- Se propone que los grupos ENFSI/EDNAP evalúen los nuevos multiplexes siguiendo las recomendaciones propuestas.

Nuevas estrategias de investigación con mini STRs para el futuro

Se han propuesto dos diferentes estrategias para el desarrollo de esta nueva generación de STRs, que deberán ser realizadas en forma paralela. La primera estrategia emplea el multiplex de 13 loci (AmpFISTR® Identifier™; PowerPlex 16™ System) que incorpora los tres nuevos mini-STRs (D12S1248, D22S1045, D2S441) dentro del actual multiplex, sistemas que usa el CODIS del FBI.

La segunda estrategia emplea un multiplex de 6 STRs de alto peso molecular en actual uso (AmpFISTR® SGMPlus; AmpFISTR® SEfiler), modificados para obtener amplicones más pequeños y combinarlos con dos loci de alto poder discriminativo (D12S391 y D1S1656), sistemas usados por la Interpol.

Adicionalmente, se propone que el TPOX sea reducido de tamaño. Eventualmente las dos estrategias convergerán en un nuevo multiplex de 15 loci STRs consensuado a nivel internacional (Gill y cols, 2006a).

Estos nuevos mini STRs no deberían suplementar la actual batería de STRs forenses, sino al contrario complementarla sobre todo en casos de desastres donde existe ADN altamente degradado (Gill P y cols., 2004).

Algunos autores (Butler JM, 2002) han propuesto el desarrollo por re-ingeniería de un miniplex que comprenda los 13 STRs del sistema CODIS, al cual han denominado «autoplex», el cual debería tener rangos alélicos más pequeños, disminución de las bandas tartamudas «stutters», que abarquen los 22 cromosomas autonómicos y los gonosomas, así como características más robustas.

También se ha propuesto el desarrollo de un multiplex con loci menores a 150 pb de ADN mitocondrial (Butler JM, 2002), que cubra la región control y la región codificante; esta multiplex utiliza 10 SNPs que son marcados con ddNTPs fluorescentes y se lo ha denominado «10 Plex mtSNP». Aún esta en estudio pero se espera buenos resultados en los próximos años.

Microsatélites del Cromosoma X

Hasta hace poco tiempo el uso de los marcadores del cromosoma X en la medicina forense era muy limitado. El año 2002 ha supuesto un punto de inflexión al respecto y se ha observado un incremento sin precedentes en el número de marcadores específicos del cromosoma X que los laboratorios están incorporando en la práctica pericial (Zarrabeitia y cols, 2006; Pérez-Miranda y cols, 2005), además han surgido propuestas de técnicas de análisis multiplex que vienen a facilitar dicha incorporación (Athanasiadou y cols, 2002; Son y cols, 2002).

El cromosoma X constituye cerca del 5% del ADN genómico humano (164 Mb) y contiene pocos genes, sin embargo, está relacionado con varias enfermedades genéticas principalmente en hombres. Esto es debido a que los hombres son homocigotos para la mayoría de genes del cromosoma X, en consecuencia de la degradación sustancial del cromosoma Y durante la evolución del cromosoma sexual.

Un hecho relevante de la hemicigosidad, importante en el campo forense, es el hecho de que el padre transmita su único cromosoma X a la descendencia femenina, de esta manera todas las hermanas comparten el mismo cromosoma X de su padre y los hermanos tienen el mismo cromosoma Y del padre (Parson, 2003).

En algunos casos de mezclas de muestras, como en los delitos sexuales, los STRs del cromosoma X pueden volverse útiles ya que la porción femenina contribuye con dos alelos a la mezcla mientras que la porción masculina está representada por un solo alelo, sin embargo la interpretación del perfil del STR-X en mezclas con una pequeña cantidad de células femeninas requiere algunas precauciones debido a que los alelos dominantes X son derivados de las células masculinas y pueden enmascarar uno de los alelos del X femenino, reduciendo el poder de discriminación de la prueba.

Mayor importancia tiene su aplicación en los estudios de parentesco, en la identificación post-mortem y también en algunos casos de paternidad. De particular interés es su uso en casos de paternidad en los que no se puede contar con el padre alegado y cuya resolución puede verse facilitada por el análisis de los STRs-X en sus hijas.

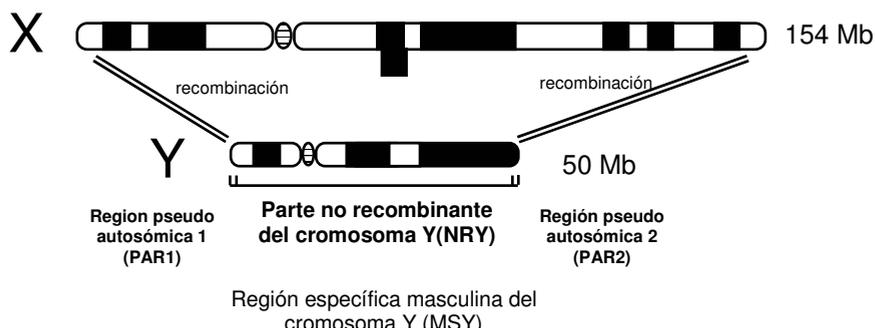


Gráfico 16. Esquema de los cromosomas sexuales X-Y. Los dos segmentos del cromosoma Y, PAR-1 y PAR2 recombinan con los dos segmentos del cromosoma X. El 95% remanente del cromosoma Y es conocido como región no recombinante (NRY) o región específica masculina (MSY).

Otros posibles ejemplos de casos en los que resulta extremadamente útil son:

- Investigación de relación biológica de la fraternidad entre dos hermanas
- Investigación de abuelidad, en casos de abuela-nieta cuando no se cuenta con muestras de los padres.

En estas situaciones de parentesco complicado los STR-X son más informativos que los autosómicos debido a que la probabilidad de exclusión (Mean Exclusion Chance-MEC) es mayor que la de los marcadores STRs diploides autosómicos aunque tengan un contenido de información polimórfica comparable. Se han propuesto algunos protocolos de multiplexes de STRs-X como lo demuestra la siguiente tabla.

Tabla 13. Sistemas multiplex de STRs-X

Multiplex	Marcadores incluidos	Referencia
Duplex	HPRTB, STRX1	Tun y cols, 1999
Pentaplex	HPRTB, DXS101, ARA, DXS7423, DXS8377	Zarrabeitia y cols, 2002
Cuádruples	DXS101, DXS8377, HPRTB, STRX1	Athanasiadou y cols, 2002
Cuádruples	DXS6803, DXS8378, GATA 164A09, DXS7132	Son y cols, 2002
Triplex	DXS7133, DXS9895, DXS9898	Son y cols, 2002
Duplex	DXS6789, DXS6795	Son y cols, 2002
Triplex	DXS101, DXS6800, DXS8377	Wiegand y cols, 2003

El marcador DXYS156, ejemplo de STR de cromosoma X.

Es un marcador STR específico de sexo y población en el cromosoma X e Y. El marcador DXS156 pentamérico consta de dos regiones homólogas en el brazo corto del cromosoma Y (Yp) y en el brazo largo del cromosom X (Xq).

Esta homología se basa en la trasposición de X-Y seguida ppor una inversión Yp y data desde alrededor de unos 3 a 4 millones de años. Como estas dos regiones no recombina, el homólogo específico de Y está sujeto solo a una mutación específica masculina.

La distribución del alelo DXYS156 varía significativamente entre poblaciones y toma en cuenta la determinación del sexo de una muestra, además del origen paterno y materno de la misma (Cali y cols, 2002; Chen y cols, 1994; Kersting y cols, 2001). Esto puede ser útil para obtener información específica de una muestra desconocida y en el campo de la criminalística, para reducir el campo a la búsqueda del posible sospechoso.

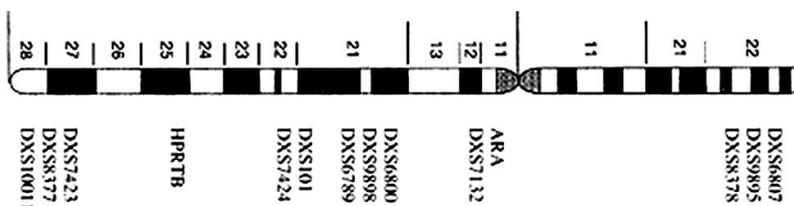


Gráfico 17. Ubicación de los marcadores descritos de Cromosoma X

SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms)

Los SNPs son marcadores moleculares bialélicos cuya variabilidad interindividual surge por el cambio (sustitución, inserción o delección) de un único nucleótido en el genoma humano (Budowle, 2002; Sobrino y cols., 2005a) y proporcionan una valiosa información acerca de la historia evolutiva de las poblaciones humanas (Underhill y cols., 2001; Jobling y Tyler-Smith, 2003).

Sus ventajas e importantes aplicaciones derivan de su simplicidad, de su elevado polimorfismo, así como de su frecuente distribución a lo largo de todo el genoma (Sobrino y cols., 2005a; 2005b; Amorim y Pereira, 2005). Estos marcadores son en algunas ocasiones denominados como Polimorfismos de Evento Único (UEPs) porque tienen una tasa de mutación más baja que los STRs, de $\sim 10^{-8}$ por mutación y por generación (Underhill y cols, 2001; Bultler JM, 2003; Brión y cols, 2005a).

```
A G A G T T C T G C T C G
A G G G T T A T G C G C G
C G T T C G G G A A T C C
C G T T A G G A A A T C T
T C T T T G A C G A C T C
T C T T A G A G G A C T C
```

Gráfico 18. Marcadores bialélicos en una secuencia de ADN

Los SNPs constituyen la fuente más común de variación genética y representan la clase más abundante de polimorfismos humanos, ya que aproximadamente el 85% del genoma se basa en ellos. Se estima que hay tres billones de nucleótidos en el genoma aproximadamente, y que cerca del 99,9% de los mismos son idénticos entre los seres humanos (Budowle, 2002; Butler, 2003).

Aunque esta estimación no es del todo precisa, en las bases de datos existentes tanto a nivel público como privado, se han reunido más de 5 millones de SNPs y alrededor de 4 millones han sido validados, esto significa que se han confirmado que son polimórficos en una o varias poblaciones de magnitud (Sobrino y cols; 2005a; 2005b).

Comparando los resultados de las dos versiones de la secuencia del genoma humano, se estima que existe un SNP cada 1.000 pb (Wang y cols, 1998; Venter y cols, 2001; Kruglyak y cols, 2001). El SNP Consortium ha creado una base de datos que contiene alrededor de 1,8 millones de SNPs (The SNP Consortium, 2005, disponible en: <http://snp.cshl.org/>), por su parte el National Center for Biotechnology Information (NCBI) mantiene también una base de datos con más de 4 millones de SNPs (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

SNPs Forenses

En el campo forense hay un incremento progresivo del interés en los SNPs, debido a sus características que los hacen muy apropiados para el análisis forense (Carracedo A, 2005; Brión y cols., 2005a; 2005b). Esto es primero que poseen una muy baja tasa de mutación y esto los hace interesantes para los estudios de paternidad. Segundo, que son muy fáciles de adaptar a las tecnologías de alto rendimiento, lo que los vuelve útiles en la elaboración de bases de datos, en la automatización de procesos y en la estandarización; además, pueden ser analizados como amplicones cortos, y en general en tamaños cortos, muy útiles para obtener resultados exitosos con muestras degradadas (Sobrino y cols., 2005b; Brenner y Weir, 2003).

Los SNPs también tienen limitaciones. Primero, el número de SNPs requerido es cuatro veces el número de STRs disponibles, así que cerca de 60 SNPs bien balanceados son necesarios para tener un poder de discriminación similar que los nuevos multiplexes en el campo forense. Segundo, el costo de su análisis aún no se ha establecido, aunque parecen ser mucho más baratos que los kits comerciales de STRs; sin embargo, en los actuales momentos, para los test de paternidad el costo comercial es relativamente bajo con los STRs por lo que su uso en este campo no sería el mejor (Amorim y Perieira, 2005, Carracedo A, 2005).

Tercero, se ha acumulado más de 10 años de experiencia de trabajo forense con los STRs, por lo que reemplazarlo por SNPs significaría un esfuerzo muy significativo. Cuarto, parece ser que las mutaciones o polimorfismos en las regiones flanqueantes de los STRs más conocidos se ha incrementado y esto puede ser con los SNPs por lo que se requiere su validación en grandes y variados grupos poblacionales (Sobrino y cols., 2005b; Salas y cols., 2006).

Existen por lo menos cuatro bases de datos online que se pueden usar para seleccionar SNPs candidatos para aplicaciones forenses (Phillips y cols., 2004a):

1. Celera Discovery Systems database (CDS) contiene 4'802.233 SNPs descubiertos en la iniciativa privada para secuenciar el genoma más los SNPs de las bases de datos públicas mejor validados (www.celeradiscoverysystem.com).
2. Applied Biosystems Assays-on-Demand (ABI) database contiene 146.636 SNPs con la mejor selección alélica disponible actualmente, derivado de 46 poblaciones africanas y europeas (<http://www.appliedbiosystems.com/products/assays>) .
3. NCBI dbSNP database comprende 2'243.761 SNPs únicos descubiertos en los centros colaboradores del PGH (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/>).
4. The SNP Consortium (TSC) database contiene 1'255.326 SNPs tomados de la dbSNP pero con altos niveles de validación en tres grandes grupos poblacionales (<http://snp.cshl.org/>).

Potenciales aplicaciones forenses de los SNPs

Existen disponibles varias aplicaciones sobre SNPs en el campo forense, que se centran en tres áreas específicas: estimar el origen étnico y geográfico de una muestra, predecir rasgos físicos y recuperar mayor información de una muestra de ADN degradado.

No existen dudas sobre la utilidad de los SNPs para algunas aplicaciones forenses especializadas , en particular, el estudio del ADN mitocondrial en huesos, dientes y cabellos con bulbo; análisis del cromosoma Y, utilizado para la búsqueda del componente masculino en perfiles mezcla y posiblemente, para elucidar el origen geográfico de la muestra; y para ubicar las características físicas de los imputados como el color de la piel, de los ojos y del cabello, que podría desarrollarse en el futuro con fines de investigación (Salas y cols., 2006; Parra y cols., 2004; Tishkoff y Kidd, 2004; Bamshad y cols., 2004)

Estimación del origen étnico de una muestra

Una compañía denominada DNAPrint (Sarasota, Florida) está tratando de predecir el origen étnico/racial de individuos utilizando un panel de 56 SNPs (Frudakis y cols., 2003). Dichos estudios se dirigen a la búsqueda de genes del metabolismo xenobiótico y de la pigmentación de la piel que permitan encontrar SNPs informativos ancestrales, y marcadores informativos ancestrales (AIMs), que tengan alelos específicos para cada población (Shriver y cols., 2003).

Estimación del origen geográfico de una muestra

El Consorcio Europeo para la identificación forense de personas, *SNPforID* (<http://www.snpforid.org/>), ha desarrollado un sistema para realizar inferencias del origen geográfico de una muestra forense con 29 SNPs de cromosoma Y, desarrollando un kit de tipificación de haplogrupos de cromosoma Y llamado *Major Y-chromosome haplogroup typing kit* (Brión y cols., 2005a; 2005c). Los marcadores analizados en este kit son M2, M9, M17, M33, M35, M38, M45, Tat, M75, M81, M96, M119, M122, M123, M128, M168, M170, M173, M174, M175, M201, M207, M216, M217, M304, P2, P25, P31, SRY₁₀₈₃₁.

Se han desarrollado también sistemas de uso general de identificación humana, con sistemas multiplex con 21 SNPs autosómicos (Dixon y cols., 2005b), al que han llamado kit *Foren-SNPsTM* y que contiene SNPs en los loci D, U6, B6, N4, Y3, P5, A4, O6, Z2, K3, J2, Y6, P7, J8, X, F, G, L2, W3, H8. Otros grupos de investigación también ha desarrollado un sistema multiplex con 52 SNPs para autosomas (Sánchez JJ y cols., 2006), así como para análisis de perfiles mezcla con marcadores no-binarios, trialélicos con 9 SNPs (Phillips y cols., 2004b).

También se han utilizado SNPs de cromosoma Y en estudios poblacionales, sobre todo para establecer patrones geográficos específicos en busca de diferencias microgeográficas a nivel genético (Beleza y cols., 2006; Brión y cols., 2003; 2004b; 2004a) y subestructuras de poblaciones (Hammer y cols., 2005). En este campo los SNPs alcanzan una de sus mayores aplicaciones, estableciendo los orígenes de los linajes paternos con el análisis de los haplogrupos del cromosoma Y (Brión y cols., 2004a, 2004b).

Identificación de rasgos físicos o evaluación fenotípica

Con el entendimiento del Genoma Humano, existe la probabilidad de identificar variantes genéticas que codifican para características fenotípicas, como el color ojo del pelo o los ojos azules. Un ejemplo, es que el Forensic Science Service ha

desarrollado un SNP que tipifica las mutaciones en el gen del *receptor de melanocortina 1 humana* y que codifica para el genotipo del cabello rojo (Grimes y cols., 2001). DNAPrint está desarrollando un test genético para inferir el color de los ojos (Frudakis y cols., 2003).

Quizás los SNPs puedan servir en un futuro para correlacionar los rasgos faciales con la posible apariencia del perpetrador de un delito. Sin embargo, debido a la complejidad de los rasgos multigénicos y a los factores externos como el ambiente y el envejecimiento, la investigación en esta área debe ser llevada con mucho cuidado y se deberían escoger cuidadosamente los SNPs que sirvan como prueba en las pericias forenses.

Tipificación de muestras de ADN degradado

Considerando la abundancia de los SNPs y la introducción de una tecnología que facilite el análisis de un amplio número de los mismos de forma rápida y automatizada, podría ser una alternativa futura en Genética Forense, sobre todo en el estudio de muestras óseas o de ADN degradado, llegando a complementar el trabajo de los STRs actuales (Budowle y cols, 1998; Brión y cols., 2005, Dixon y cols., 2005a).

Por ello, es importante estimar el número de SNPs que se necesitan para alcanzar el poder de discriminación de los 13 STRs del sistema CODIS o de los 7 de INTERPOL. Se se asume la independencia de cada locus de SNP y cada locus es bialélico. Por ejemplo, un SNP contiene dos formas alélicas y resulta en tres posibles genotipos, entonces el número de SNPs que se necesitan para alcanzar el mismo poder de discriminación, se estima que con 25 a 45 SNPs con frecuencias alélicas de 0,3 y 0,7; o 62 SNPs con frecuencias alélicas de 0,9 y 0,1 se podría obtener una probabilidad de coincidencia al azar de entre 1 en 1 billón hasta 1 en 10 billones (Chakraborty y cols, 1999). Desde luego, no se consideran parámetros como desequilibrio de ligamiento o subestructura poblacional.

Dado que los SNPs son más proclives a tener una tasa de mutación más baja que la mayoría de los STRs usados rutinariamente en la práctica forense, los efectos de la subestructura poblacional pueden ser más pronunciados. Se necesitan por lo tanto, datos poblacionales extensos para realizar un análisis riguroso del número de loci SNP que serían necesarios para reemplazar la actual batería de STRs (Brión y cols. 2005a; 2005b).

Low Copy Number Profile (LCN)

La reciente innovación que surge de la incorporación de perfiles STRs procedentes de muestras de ADN de bajo número, supone la ampliación del número de evidencias que pueden analizarse en criminalística. El científico forense siempre busca incrementar la sensibilidad de sus métodos (Gill y cols, 2000).

El LCN consiste en analizar ADN en bajo número de copias mediante el aumento de la astringencia de la PCR mediante el aumento del número de ciclos de la misma, a 34 ciclos (Findlay y cols, 1997). Al aumentar la sensibilidad también aumentan la variedad de muestras a ser analizadas (Wiegand y Kleiber, 1997; Wiegand y cols, 2000).

Gill y cols. (2000) compararon diferentes métodos para el análisis de muestras de ADN degradado, en cantidades menores a 100 pg / μ L variando el número de ciclos entre 20 a 60 ciclos, concluyendo que lo óptimos son 34 ciclos en el caso de los multiplex de segunda generación y particularmente AmpFISTR[®] SGM Plus. La sensibilidad extrema del método sugiere que el análisis debería ser realizado sólo en un ambiente estéril con el fin de reducir la contaminación externa.

El LCN presenta varios problemas básicos. El primero es la amplificación preferencial de una molécula de ADN al azar durante los primeros ciclos de la PCR ; el segundo es la pérdida alélica, drop out, resultado de la amplificación preferencial y que da bandas tartamudas ; el tercero, es que es un método proclive a la contaminación externa esporádica y a la amplificación de perfiles ajenos a la muestra, que producen artefactos. En la práctica, la interpretación de perfiles de ADN de muestras de criminalística requieren experiencia y conocimiento técnico específico.

Investigación genética de la paternidad

La prueba de paternidad se basa en el análisis del perfil genético de las distintas personas que acuden para investigar sus vínculos de filiación y se realiza un estudio comparativo entre ellos (González F, y cols, 2005). Se utilizan sistemas STR multiplex ya estandarizados por la comunidad forense, tanto para gonosomas como para cromosoma Y.

Entre las situaciones que hoy en día se pueden investigar estarían aquellas en las que el análisis se realiza: con ambos progenitores e hijo /s, en ausencia de la madre pero con presencia del padre (paternidad), en ausencia del padre pero con presencia de la madre (maternidad).

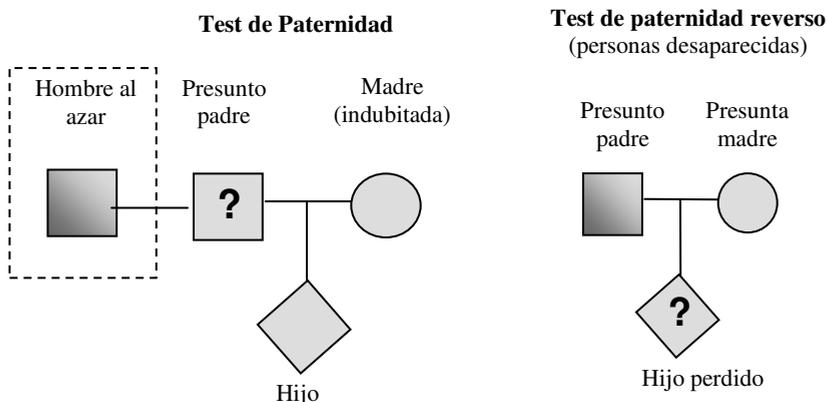


Gráfico 19. Esquema de investigación de paternidad

Adaptado de: J.M. Butler (2005) *Forensic DNA Typing*, 2nd Edition © 2005 Elsevier Academic Press

Cuando no podemos contar con el progenitor en estudio, ya sea por ausencia o fallecimiento, se puede recurrir a: el estudio de restos óseos o piezas dentales procedente de la exhumación del cadáver; el estudio de muestras o vestigios biológicos de cuando vivía (biopsias clínicas, objetos con restos de células); el estudio de familiares directos de donde se deduce el perfil genético del progenitor, por ejemplo, en el caso de una investigación de paternidad con el padre fallecido, la información podría ser deducida de: la madre e hijos legales (dos o más), los abuelos paternos, los hermanos legales y madre respectiva.

La investigación de la maternidad es superponible a una investigación biológica de paternidad y puede ser requerida en distintas situaciones como en casos de sustitución de niños, cambio de niños en centros sanitarios y en casos de abortos.

Debido a la amplia disponibilidad de las pruebas de paternidad se hace necesario el establecimiento de recomendaciones internacionales para su estandarización. La mayoría de ellas son formuladas por organizaciones locales, como la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB; Maryland, USA, 2001); así como la Federación Europea de Inmunogenética (EFI) ha incluido algunos estándares dentro de los referentes de histocompatibilidad (Versión 4.0, EFI, 2.000).

Por su parte, la Comisión de ADN de la ISFG ha publicado varias recomendaciones sobre el tipado del ADN en el campo forense (Olaisen y cols, 1998; Carracedo y cols, 2000). La ISFG estableció la Paternity Testing Comisión (PTC) en el año 2001 para empezar a trabajar sobre el tema. Esta comisión recomendó adoptar la norma ISO 17025 para los estudios de paternidad, la norma habla sobre *General requirements for the competent of testing and calibration laboratories* (Geneva, Switzerland, 1999). Desde el año 2003, se promulgó la norma ISO 15189, la cual ajusta los requisitos para los laboratorios y los adapta a las necesidades locales.

La ISFG a través de la PTC recomienda incluir algunos parámetros dentro de la norma 17025 (Morling y cols, 2002), estos son:

- ≈ En casos de duda debe existir la posibilidad de contrapericias o segundas opiniones (inciso 4.8).
- ≈ Deben adoptarse especificaciones técnicas a nivel local (incisos 5.1 y 5.2).
- ≈ En el uso de la PCR se debe recalcar las precauciones para evitar la contaminación (5.3 y 5.5).
- ≈ La elección de métodos y sistemas genéticos debe realizarse sobre la base de un acuerdo entre el usuario y el laboratorio, especificando claramente la calidad de la prueba (5.4)
- ≈ Los resultados del análisis de paternidad serán presentados de forma objetiva utilizando métodos estadísticos consensuados y mediante el uso de la razón de verosimilitud (5.10).

Criminalística

El desarrollo de la técnica PCR fue la razón de un incremento drástico en la sensibilidad de las técnicas de perfiles de ADN, y ello vino a facilitar la investigación del ADN a partir de cantidades mucho más pequeñas que las que anteriormente se necesitaban. De esta manera, la cantidad que actualmente se requiere (entre 250 pg / μ L a 1000 pg / μ L) para un análisis de ADN es 1.000 veces menor al anteriormente exigido (Gill, 2003).

Al aumentar la sensibilidad también se incrementó el número y la variedad de evidencias que se pueden analizar, así como aumentaron las tasas de éxito sobre muestras o vestigios biológicos difíciles, como es el caso del estudio de saliva en restos de boquillas de cigarrillos (Hochmeister y cols., 1991), cierre de sobres de cartas y estampillas, saliva en lesiones por mordeduras (Swwet y cols, 1997, y células que están por debajo de las uñas (Wiegand y cols, 1993).

La PCR también ha permitido con muestras que contienen ADN antiguo (Frank y Llewelin, 1999) y muestras de ADN degradado (Olsen y cols, 1999), aunque se debe anotar que el éxito del análisis es mayor cuanto más cortos son los fragmentos de ADN que se utilizan para el estudio y que citamos previamente.

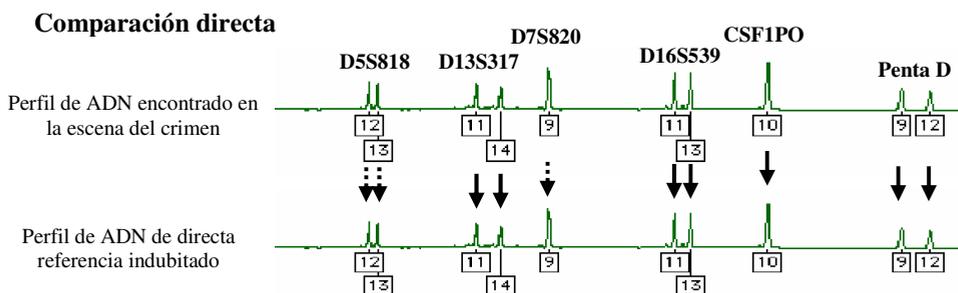


Gráfico 20. Coincidencia de perfiles de ADN mediante comparación directa

Un área que ha recibido mucha atención es el uso de sustancias químicas para la observación de huellas dactilares sobre manchas de sangre. Estas sustancias no tienen efecto adverso sobre la PCR, siempre y cuando sean menores a 54 días (Fregeau y cols, 2000). También se ha demostrado que las fuentes de luz ultravioleta de onda corta, utilizadas para evidenciar huellas dactilares sobre sangre no afectan el éxito de la PCR (Andersen y Bramble, 1997).

La recuperación de perfiles de ADN sobre huellas dactilares de manos o dedos de sangre, cuando no existe fluido corporal aparente, ha empezado a ser una nueva área de investigación (Van Oorschot y Jones, 1997).

Mirando hacia el futuro

Existen numerosos esfuerzos de universidades y compañías de biotecnología para desarrollar sistemas que revolucionen la genómica, proteómica y el estudio del ADN en general. Se espera que en los próximos años hayan dramáticos cambios en los laboratorios clínicos y, en especial, en los de genética molecular, con la aplicación de tecnologías nuevas.

Hay varias de ellas en desarrollo, con un alto potencial analítico, entre ellas están: la espectrometría de masas, en tres formatos Matrix-assisted laser desorption-ionization (MALDI), time-of-flight (TOF) y Electrospray Ionization (ESI); y los biochips, que utilizan sistemas fluídicos miniaturizados. Todas estas tecnologías tienen como propósito incrementar la velocidad de separación, detección, y proceso de obtención de datos para el análisis de secuencias de ADN sobre las metodologías actuales de electroforesis y, ofrecer formatos simples para el estudio del ADN. Podemos esperar en el futuro que todas estas tecnologías incluyan:

- ≈ Capacidad mejorada para reacciones multiplex de PCR, es decir, capacidad para amplificar más regiones de ADN simultáneamente en orden y obtener un mayor poder de discriminación
- ≈ Sistemas más rápidos de separación y detección
- ≈ Procesamiento automatizado de muestras, de análisis de datos e interpretación
- ≈ Costos más baratos en equipos, insumos y reactivos
- ≈ Métodos más seguros y robustos
- ≈ Generalización de las metodologías

Material y Métodos



Sujetos de estudio

Se seleccionó individuos sanos no relacionados nacidos y residentes en el Ecuador, pertenecientes a los grupos étnicos mestizo, amerindio kichwa, amerindio waorani y negro afroamericano. En todos los casos se confirmó el origen del individuo mediante el apellido y el lugar de nacimiento.

Las muestras de mestizos fueron tomadas del banco de ADN de paternidades del Laboratorio de Genética Molecular de DIAGEN, Diagnóstico e Identificación Genética. Para los otros grupos étnicos se realizó una toma específica en diferentes ciudades y lugares del Ecuador, a lo largo de varios meses. Todas las muestras fueron colectadas por venopunción en tubos vacutainer con anticoagulante EDTA y se guardó además, una muestra para el archivo en papel FTA (Wathman). Todas las muestras fueron obtenidas con el respectivo *Consentimiento Informado*.

En números en este estudio se analizaron:

STRs autosómicos analizados por tinción con plata de mestizos	n = 400
STRs autosómicos analizados por tinción con plata de kichwas	n = 104
STRs autosómicos analizados por electroforesis capilar de mestizos	n = 317
STRs autosómicos analizados por electroforesis capilar de kichwas	n = 115
STRs autosómicos analizados por electroforesis capilar de negros	n = 104
STRs autosómicos analizados por electroforesis capilar de huoranis	n = 40
STRs de cromosoma Y analizados por electroforesis capilar de mestizos	n = 102
STRs de cromosoma Y analizados por electroforesis capilar de kichwas	n = 102
STRs de cromosoma Y analizados por electroforesis capilar de negros	n = 102
STRs de cromosoma Y analizados por electroforesis capilar de waoranis	n = 40
Total de muestras analizadas en el presente trabajo:	n = 1438

Grupos étnicos estudiados: 4

STRs autosómicos estudiados: 20

STRs del cromosoma Y: 12

Extracción del ADN (purificación de ADN genómico)

Se utilizó el kit Wizard[®] (*Promega Corporation*), siguiendo las recomendaciones del fabricante (basado en las técnicas de Miller y cols., 1988). El tiempo de extracción tarda aproximadamente 45 minutos. Se obtienen de 5 a 15 μg de ADN a partir de 300 μL de sangre, mayor o igual a 50 Kb. y la cantidad se estimó por la absorbancia al UV (*Gene Quant Calculator*[®], *Pharmacia, Uppsala, Suecia*). La extracción de DNA de doble cadena a partir de leucocitos se realiza en 4 pasos:

Paso A: Lisis de eritrocitos con Solución de Lisis Celular (SLC), los leucocitos quedan intactos

Paso B: Lisis de leucocitos y sus núcleos con Solución de Lisis Nuclear (SLN). Opcional podemos tener otro paso para destruir el RNA con una RNasa.

Paso C: Precipitación en sales que atraen a las proteínas celulares y deja el ADN de mayor PM en solución, con Solución de Precipitación Proteica (SPP).

Paso D y E: El ADN genómico es desalinizado, y concentrado al precipitar con Isopropanol. Luego se lo hidrata con la Solución de Hidratación (SH).

Paso A:

1. Añadir 900 μL de SLC. a un tubo Eppendorf de 1.5 ml, estéril.
2. Balancear el tubo de sangre hasta que esté totalmente mezclado y transferir 300 μL de sangre al tubo con la SLC. Invertir el tubo 5 o 6 veces para mezclar.
3. Incubar la mezcla 10 minutos a temperatura ambiente, invertir 2 o 3 veces durante la incubación para lisar los eritrocitos. Centrifugar 20 segundos a 13.000 - 16.000 rpm. Poner los tubos con la bisagra de la tapa hacia fuera siempre en la microcentrífuga.
4. Retirar tanto sobrenadante como sea posible sin mover el pellet blanco visible. Deben guardar unos 10 a 20 μL del líquido residual. Pueden quedar visibles algunas células rojas o restos de éstas. Añadir 300 μL de SLS y repetir los pasos 3 y 4.
5. Vórtex el tubo enérgicamente hasta que los leucocitos estén suspendidos (10 a 15 segundos), Para que la lisis sea eficiente es esencial que los eritrocitos estén suspendidos.

Paso B:

Añadir 300 μL de SLN al tubo con células suspendidas. Pipetear la solución 5 o 6 veces para lisar los leucocitos. La solución se volverá muy viscosa. Si tras la mezcla son visibles grupos celulares, incubar a 37° C hasta que se deshagan. Si aún son visibles tras una hora añadir 100 μL de SLN y repetir la incubación.

Paso Opcional:

Añadir 1.5 μL de Solución RNAsa al lisado nuclear y mezclar por inversión 25 veces. Incubar la mezcla a 37° C por 15 minutos. Enfriar la mezcla a temperatura ambiente para continuar.

Paso C:

1. Añadir 100 μL de SSP al lisado nuclear. Vórtex enérgicamente 10 a 20 segundos. Pequeños grumos de proteínas pueden ser visibles después del vórtex. Si fuese necesario usar más SLN en el paso 6, agregar 130 μL de SPP.
2. Centrifugar 3 minutos a 13.000-16.000 RPM a temperatura ambiente. Debe hacerse visible un "pozo proteico" marrón oscuro.

Paso D:

1. Transferir el sobrenadante a un tubo Eppendorf limpio de 1.5 ml con 300 μL de Isopropanolol (desaliniza y concentra). Puede quedar algo de sobrenadante en el tubo original con el pellet proteico. Dejar este líquido residual en el tubo para evitar contaminar la solución de ADN con el precipitado proteico.
2. Mezclar la solución por inversión hasta que las hebras blancas de ADN formen una masa visible.
3. Centrifugar 1 minuto a 13.000-16.000 RPM a temperatura ambiente. El ADN se hará visible como un pequeño pozo blanco.

Paso E:

1. Descartar el sobrenadante. Agregar 300 μL de Etanol al 70% a temperatura ambiente. Invertir varias veces al tubo para limpiar el paso de ADN a las paredes del tubo. Centrifugar un minuto a 14.500 rpm (13.000 a 16.000) a temperatura ambiente.

2. Con cuidado aspirar el Etanol usando una pipeta Pasteur o una pipeta de precisión. El pozo de ADN está muy suelto en este punto y se debe tener cuidado, evitando aspirar el pellet con la pipeta. Invertir el tubo sobre papel secante limpio y secar al aire 10 o 15 minutos.
3. Añadir 100 μL de SH de ADN (10 mM Tris HCL/ 1mM EDTA, pH: 7.4). Incubar 1 hora a 65° C o toda la noche a temperatura ambiente. Periódicamente mezclar la solución dando golpecitos al tubo.
4. Guardar a 4° C (2 a 8° C).

Cuantificación del ADN por espectrofotometría

La cantidad y la pureza del ADN han sido calculadas con un espectrofotómetro Gene Quant II DNA/RNA calculador® (Pharmacia, Uppsala, Sweden). Las bases púricas y pirimidínicas absorben fuertemente la luz UV a 260 nm, de modo que una solución de ADN de doble cadena con una concentración de 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ presentan una densidad óptica (OD) de 1 cuando se mide su absorbancia a 260 nm.

El cociente entre las absorbancias a 260 nm y 280 nm proporciona una estimación de la pureza del ADN obtenido.

La valoración se lleva a cabo analizando el espectro de absorción a 260 nm y 289 nm de la dilución que contiene el ADN en estudio. Para estimar la concentración de ADN se prepara una dilución de 1/50 de la muestra depositando 30 μL de la muestra en 1.740 μL de agua di destilada autoclavada.

El valor de absorción a 260 nm indicará la concentración de la muestra analizada, ya que una unidad de absorbancia a 260 nm indicará la concentración de la muestra analizada, ya que una unidad de absorbancia a 260 nm equivale a una concentración de ADN de doble cadena de 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

La concentración de la muestra se calcula según la siguiente relación:

$$[\text{ADN } \mu\text{g}/\text{mL}] = (\text{Abs } 260\text{nm}) \times (50 \mu\text{g}/\text{mL}) \times (50/1) \times (1 \text{ ml } /1.000\mu\text{L})$$

$$[\text{ADN } \mu\text{g}/\text{mL}] = (\text{Abs } 260\text{nm}) \times (2.5 \mu\text{g}/\text{mL})$$

La cantidad de ADN analizado se obtiene mediante el producto de la concentración por el volumen total de la muestra cuantificada y a partir de ese dato, se puede calcular la concentración de ADN en la muestra problema.

Para reconocer la pureza del ADN extraído se calcula la relación:

$$R = (\text{Abs } 260 \text{ nm}) / (\text{Abs } 280 \text{ nm})$$

Este valor indica si el ADN de la muestra está bien purificado, ya que la absorbancia a 280 nm corresponde a la cantidad de restos proteínicos presentes. Un ADN de cadena doble de gran pureza proporciona valores R de entre 1,8 a 2,0. Si la solución está contaminada con proteínas este valor disminuye.

Amplificación del ADN in vitro por PCR y análisis de productos PCR

Los STRs autosómicos analizados por tinción con plata son: CSF1PO, TPOX, TH01, VWA, D13S317, D16S539, D5S818, D7S820, HPRTB, F13A01, F13B, LPL, y los STRs del cromosoma Y analizados son: DYS19, DYS389I y II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS437, DYS438, DYS439.

Microsatélites autosómicos por tinción con plata

Se utilizó el multiplex CTT con los marcadores CSF1PO, TPOX y TH01; multiplex Gamma STR D13S317, D5S818, D16S539 y D7S820. Los microsatélites F13A01, LPL, F13B, VWA, HPRTB fueron analizados en modo uniplex. La amplificación fue realizado en un termociclador Techne, modelo Genius[®].

Los productos de la PCR fueron tipados por electroforesis vertical en geles denaturantes de poliacrilamida al 4% de 0.40 mm de espesor (19:1 acrilamida: bisacrilamide, 7M urea) y tinción con Nitrato de Plata. La electroforesis se llevo a cabo en un equipo Gibco BRL Sequencing System, model SA, (Gibco[®], USA) a 1.200V al inicio, hasta 2.00V al final, con una temperatura fija de 50° C.

El tamaño de los fragmentos y la designación alélica de los diferentes marcadores se lo realizó comparando con escaleras alélicas comerciales (Promega Corporation, Madison, WI, USA).

Preparación del Master Mix

5 µL	ADN [25 ng].
2.5 µL	Tampón STR 10 X
2.5 µL	Cebador locus específico 10x
0.15 µL	Taq DNA polimerasa [5 U/µL].
17.35 µL	Agua estéril
22.5 L	Volumen de reacción total

Cada componente se multiplica por el número de muestras a procesar (n), se suma lo equivalente a una muestra adicional del tubo control – blanco (b), y una muestra adicional para equilibrar los errores de pipeteo al tomar cantidades tan pequeñas (e); así: *Master Mix* $n + b + e = \text{volumen total a preparar}$

Termociclado utilizado para cada sistema:

CTT Triplex

Incubación inicial	No.Ciclos	Desnaturalización	Acoplamiento	Extensión
96° C por 2 minutos	10	94° C por 1 minuto	64° C por 1 minuto	70° C por 90 segundos
	20	90° C por 1 minuto	64° C por 1 minuto	70° C por 90 segundos

Monoplexes

Incubación inicial	No.Ciclos	Desnaturalización	Acoplamiento	Extensión
96° C por 2 minutos	10	94° C por 1 minuto	64° C por 1 minuto	70° C por 90 segundos
	20	90° C por 1 minuto	64° C por 1 minuto	70° C por 90 segundos

Gamma STR Triplex

96° C por 2 minutos	10	default ramp 94°C por 30 segundos	68 seg a 60°C 30 seg	50 seg a 70°C 90 seg
	20	default ramp 90°C por 30 segundos	60 seg a 60°C 30 seg	50 seg a 70°C 45 seg

En todos los sistemas, extensión final 60° C por 30 minutos, luego 4° C hasta siguiente paso

Preparación de geles de poliacrilamida

La *Poliacrilamida* es un polímero de monómeros de acrilamida. Este es un gel desnaturante (ssDNA). La migración de partículas dependerá del tamaño del poro, el cual a su vez está en relación a la concentración de acrilamida y a la relación entre acrilamida:bisacrilamida.

1. La separación de fragmentos se realiza mediante electroforesis en geles submarinos. Utilizar de preferencia cubetas verticales. Usamos 2 placas de vidrio templado que sirven de soporte al gel, la una tendrá solución adherente y la otra repelente.
2. Tratar una de las placas de cristal con *Silicona* (*SigmaCote*[®], *Gel Slick*[®] u otros), utilizando toallas de papel (*Kinwipes*[®]). Secar cuidadosamente. Se puede usar también *Bind Silane* y *Repel Silane* (Pharmacia[®]). Sobre la segunda superficie no se adhiere el gel de poliacrilamida lo que permite la separación de los cristales.
3. Preparar el gel con: *Úrea 7M* 25,2 gs (*Promega*) + agua destilada 32 mL + *TBE 10X Buffer* 3 mL. Se debe disolver con calentamiento suave y colocar en una probeta de 100 mL. Añadir luego 6 mL de *Acrilamida:bisacrilamida*(19:1) al 40%. Concentración final al 4%.
4. Se puede filtrar la solución de acrilamida a través de un filtro de 0.2 micrones (opcional).
5. Agregar los catalizadores: 360 uL de *Persulfato de Amonio* al 10% (usar alícuotas de 1 g de Persulfato en 10 ml de agua) + 36 uL de *TEMED* (tetrametilendiamida) y mezclar suavemente.
6. Volcar en los cristales antes de los 2 minutos, de forma inclinada, usar una punta delgada. Gelifica a los 30 minutos.
7. Retirar el celofan, el peine y luego limpiar los pocillos con agua destilada.
8. Hacer un precorrido a 200 voltios por 10 minutos.
9. Limpiar los pocillos y rellenar 2 mm con agua hasta que todos estén a la misma altura.
10. Preparar las muestras: nombrar los tubos, poner 2.5 µL de muestras + 1 gota de *Aceite mineral*, desnaturizar 5 minutos a 95°C, poner en gradillas refrigerantes y añadir 2.5 µL de solución de carga (*STR 2X Loading solution*).

11. Preparar los láders: nombrar los tubos, poner 2,5 μL de láder + 2.5 μL de *STR 2X Loading Solution* + 1 gota de *Aceite mineral*, Agregar a cada muestra con 4 μL de ADN amplificado y 4 μL de colorante de siembra (*Xilencianol* + *Azul de bromofenol*, 1 mg de cada uno en 10 ml de *Formamida* al 95% y agua al 5%).
12. Introducir el gel en la cubeta de electroforesis que tiene como tampón una solución 0,5X TBE, la solución debe cubrir al gel.
13. Sembrar las muestras. Cada peine de 20 pocillos sirve para 15 muestras y 5 láders. Se intercala un láder alélido cada 3 o 4 muestras. Colocar 3 μL de cada muestra en el canal respectivo. Correr hasta que el colorante celeste llegue a unos centímetros del borde inferior del gel (el tiempo de corrida dependerá del tamaño de fragmentos amplificados).
14. Establecer las condiciones de electroforesis, estas son: voltaje 1000 voltios (V), intensidad a 42 miliamperios (mA), potencia 45 vatios (W), tiempo 4 horas.

Este método nos permite:

1. La purificación de oligonucleótidos de síntesis y eliminación de nucleótidos libres tras su marcaje radioactivo.
2. Determinación de secuencias de ADN.
3. Separación de fragmentos de ADN menores a 500 pb.

Revelado y tinción con plata (Basado en el Método de Bassam y cols., 1991)

1. Después de la electroforesis, vaciar las cámaras del buffer y cuidadosamente retirar las placas de vidrio del aparato.
2. Colocar la placa con el gel en una superficie seca. Remover con cuidado las dos tapas y sepárelas, puede usar una espátula de plástico. El gel debería estar muy unido a la placa de vidrio más pequeña (la tratada con *Bind Silane*).
3. Colocar la placa con el gel adherido en un agitador mecánico 100 rpm.
4. Añadir sobre las placas *Metanol* al 40% por 10 minutos, mantener agitación suave.
5. Lavar con agua desionizada, por lo menos 2 litros en cada paso.
6. Colocar *Ácido Nítrico* 0,16 M por 6 minutos.
7. Lavar con agua desionizada

8. Colocar la placa en agua destilada 5 minutos.
9. Añadir **Nitrato de Plata** 12 mM por 20 a 25 minutos.
10. Lavar con agua desionizada.
11. Poner en agua destilada por 5 minutos.
12. Añadir **Bicarbonato sódico** 0,28 M + **Formaldehído** (500 μ L al 37%) por 30 minutos.
13. Poner **Solución Stop** (Ácido Cítrico 0.1M) por 5 minutos y agua desionizada por 2 minutos.
14. Para reutilizar las placas se las debe limpiar el gel y dejarlas por 1 hora en una solución de **Hidróxido de Sodio** 2.5M al 10%, luego lavarlas con abundante agua desionizada y secarlas con papel.
15. Proceder a la lectura de la placa

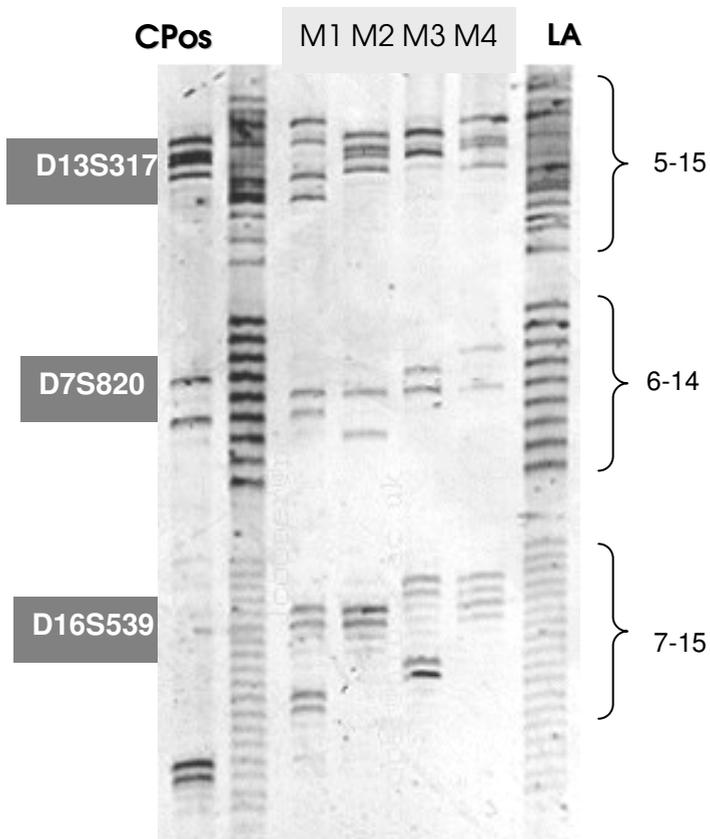


Gráfico 21. Ejemplo de visualización de un sistema multiplex en gel de plata. M= muestra, C Pos = control de amplificación positivo, LA= escalera alélica

Lectura de las placas

- ≈ Tras el revelado se observan un conjunto de dobles bandas correspondientes a los láderes alélicos y a las muestras analizadas.
- ≈ La lectura de los alelos en las muestras amplificadas se realiza por comparación visual con los láderes alélicos.
- ≈ Las muestras pueden expresar una doble banda (homocigotos para ese marcador) o 2 bandas dobles (heterocigotos).
- ≈ Comprobar que el control negativo no ha amplificado y por lo tanto, no aparece en su calle de migración ningún tipo de banda, caso contrario, se tratará de contaminación.
- ≈ Verificar que el control positivo se corresponda con el esperado.
- ≈ Recordar que en cada placa existirán carriles con las muestras de estudio, con los láderes alélicos (escaleras de alelos), con los marcadores de peso molecular y con los controles internos y externos.
- ≈ Fotocopiar con láser color, fotografiar o tomar un scanner para almacenar los resultados.

Microsatélites STRs autosómicos con electroforesis capilar

Se utilizó una plataforma policromática mediante un secuenciador ABI 310 (ABI sequencers, Applied Biosystems). Utilizamos el sistema PowerPlex[®] 16 (Promega) de acuerdo a las indicaciones del fabricante.

El tamaño de los fragmentos y la designación alélica se lo realizó comparando con escaleras alélicas proporcionadas junto al kit.

El sistema PowerPlex[®] 16 permite la coamplificación y la detección en tres colores de dieciséis loci (quince loci STR y Amelogenina). El sistema contiene los loci Penta E, D18S51, D21S11, TH01, D3S1358, FGA, TPOX, D8S1179, vWA, Amelogenin, Penta D, CSF1PO, D16S539, D7S820, D13S317 y D5S818.

Un primer específico para Penta E, D18S51, D21S11, TH01 and D3S1358 is marcado con fluoresceína (FL); otro primer específico para FGA, TPOX, D8S1179, vWA y Amelogenin es marcado con carboxy-tetrametil-rodamine (TMR); y un tercero específico para Penta D, CSF1PO, D16S539, D7S820, D13S317 y D5S818 es marcado con 6-carboxi-4',5'-dicloro-2',7'-dimetoxi-fluoresceína (JOE).

Todos los dieciséis loci son amplificados simultáneamente en un tubo simple. El sistema PowerPlex[®] 16 está diseñado específicamente para el uso con el secuenciador ABI PRISM[®] 310 Genetic Analyzer, aunque es compatible con los secuenciadores ABI PRISM[®] 377 DNA y ABI PRISM[®] 3100 Genetic Analyzer.

Master Mix de amplificación para el sistema PowerPlex[®]16

Agua para PCR	16.7µl
Gold STR 10X Buffer	2.5µl
10X Primers	2.5µl
AmpliTaq Gold [®] DNA polymerase I	0.8µl (4u) [5u/µl]
Master mix volumen	22.5µl
Templado de ADN	2.5µl
Volúmen total	25µl

Termociclado utilizado:

Incubación inicial	No. Ciclos	Desnaturalización	Acoplamiento	Extensión
95° C por 11 minutos, luego 96° C por 2 minutos	10	94° C por 1 minuto	60° C por 1 minuto	70° C por 90 segundos
	18-22	90° C por 1 minuto	58° C por 1 minuto	70° C por 90 segundos
Extensión final 60° C por 30 minutos, luego 4° C hasta siguiente paso				

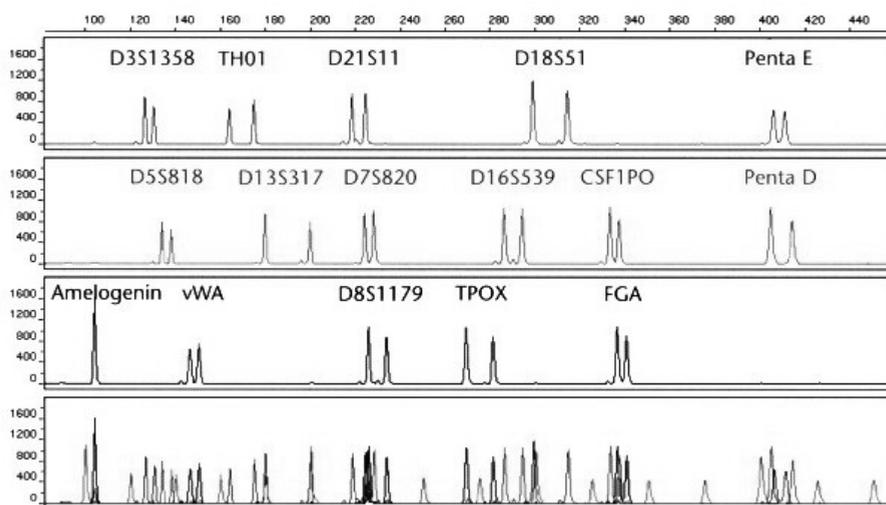


Gráfico 22. Perfil genético de una muestra con sistema Power Plex 16

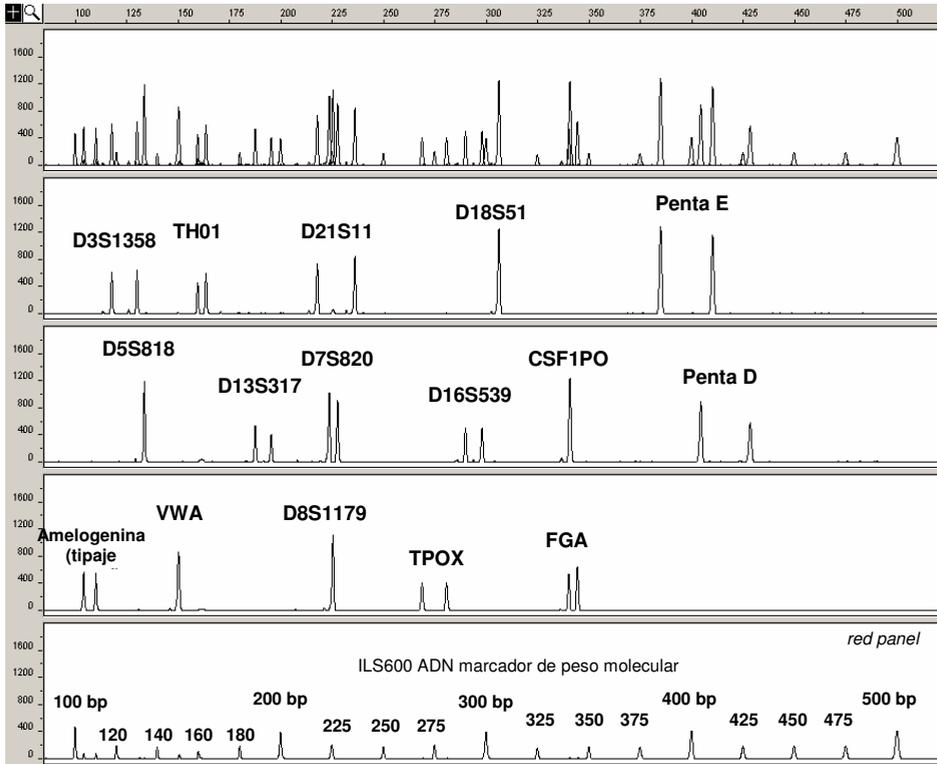


Gráfico 23. Comparación de los locus amplificados con el marcador de peso molecular

Asignación alélica para el sistema Power Plex 16[®] con Internal Lane Standard (ILS) 600 en ABI 310. Línea celular 9947A.

D3S1358	Alelo
12	109.3
13	113.7
14	117.9
15	122.1
16	126.2
17	130.5
18	134.6
19	138.7
20	142.5
TH01	Alelos
4	151.9
5	155.9
6	160.0
7	163.9
8	168.0
9	171.9
9.3	174.9
10	175.9
11	179.8
D21S11	Alelos
24	198.1
24.2	200.1
25	202.0
25.2	204.1
26	206.0
27	210.2
28	214.2
28.2	216.2
29	218.1
29.2	220.2
30	222.2
30.2	224.2
31	226.2
31.2	228.8
32	230.4
32.2	232.3
33	234.4
33.2	236.3
34	238.4
34.2	240.4
35	242.4
35.2	244.4
36	246.5
37	250.5

38	254.6
D18S51	Alelos
8	283.6
9	287.3
10	291.2
10.2	293.2
11	295.0
12	298.9
13	302.6
13.2	304.7
14	306.4
15	310.6
16	314.3
17	318.1
18	322.1
19	325.9
20	329.8
21	333.6
22	337.5
23	341.4
24	345.3
25	349.2
26	353.1
27	357.0
PENTA E	Alelos
5	375.0
6	380.2
7	385.3
8	390.4
9	395.5
10	400.7
11	405.5
12	410.6
13	415.5
14	420.5
15	425.7
16	431.1
17	436.4
18	441.6
19	447.0
20	452.0
21	457.1
22	462.0
23	466.9
24	471.8

D5S818	Alelos
7	113
8	117
9	121
10	126
11	130
12	134
13	138
14	142
15	146
16	150
D13S317	Alelos
7	171.8
8	175.7
9	179.8
10	183.6
11	187.7
12	191.7
13	195.7
14	199.7
15	203.7
D7S820	Alelos
6	211.9
7	216.0
8	220.1
9	224.0
10	228.0
11	232.0
12	236.1
13	240.1
14	244.2
D16S539	Alelos
5	261.9
8	274.1
9	278.2
10	282.2
11	286.1
12	290.2
13	294.2
14	298.1
15	302.3
CSF1PO	Alelos
6	316.7
7	320.8
8	324.7

9	328.9
10	332.9
11	336.9
12	341.0
13	345.1
14	349.1
15	353.1
PENTA D	Alelos
2.2	367.9
3.2	372.6
5	380.4
7	390.2
8	395.0
9	399.9
10	404.6
11	409.4
12	414.1
13	418.9
14	423.6
15	428.6
16	433.6
17	438.7

Amelogenina	ABI 310
X	104
Y	110
vWA	ABI 310
10	122
11	127
12	131
13	135

14	139
15	143
16	147
17	151
18	155
19	158
20	162
21	166
22	170
D8S1179	ABI 310
7	201.77
8	205.69
9	209.74
10	213.68
11	217.64
12	221.74
13	225.73
14	229.74
15	233.77
16	237.81
17	241.86
18	245.92
TPOX	ABI 310
6	260.9
7	264.9
8	268.8
9	272.9
10	277.0
11	280.9
12	284.9
13	288.8
FGA	Alelos

16	320.1
17	324.1
18	328.2
18.2	330.3
19	332.4
19.2	334.4
20	336.5
20.2	338.4
21	340.5
21.2	342.6
22	344.7
22.2	346.6
23	348.7
23.2	350.9
24	352.8
24.2	354.8
25	356.9
25.2	358.9
26	360.9
27	364.9
28	369.0
29	373.0
30	377.1
31.2	383.2
43.2	432.5
44.2	436.7
45.2	441.0
46.2	445.2

Microsatélites STRs de cromosoma «Y» con electroforesis capilar

Utilizamos el sistema PowerPlex[®] Y (Promega), en un analizador automático ABI 310. Los 12 STRs en el cromosoma «Y» en el kit Power Plex «Y» fueron tipados con un secuenciador automático ABI Prism 310. El tamaño del fragmento y la designación de los alelos de los diferentes *locus* se determinaron por comparación con los marcadores de peso molecular y escaleras alélicas distribuidos con el kit.

El sistema PowerPlex[®] Y es un multiplex de STRs que co-amplifica y detecta con tres colores doce loci. El sistema contiene los marcadores DYS19, DYS385a/b, DYS389I/II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS437, DYS438 and DYS439.

El marcaje se realiza con fluoresceína (FL) para DYS389I/II, DYS391 y DYS439; carboxi-tetrametil-rodamina (TMR) para DYS19, DYS392, DYS437 and DYS438, y 6-carboxi-4',5'-dicloro-2',7'-dimetoxi-fluoresceína (JOE) para los loci DYS385a/b, DYS390 and DYS393.

El sistema PowerPlex[®] Y está diseñado específicamente para el uso con el secuenciador ABI PRISM[®] 310 Genetic Analyzer, aunque es compatible con los secuenciadores ABI PRISM[®] 377 DNA y ABI PRISM[®] 3100 Genetic Analyzer.

Master Mix de amplificación para el sistema PowerPlex[®] Y

Agua para PCR	16.7µl
Gold STR 10X Buffer	2.5µl
10X Primers	2.5µl
AmpliTaq Gold [®] DNA polymerase I	0.8µl (4u) [5u/µl]
Master mix volumen	22.5µl
Templado de ADN	2.5µl
Volúmen total	25µl

Termociclado utilizado:

Incubación inicial	No. Ciclos	Desnaturalización	Acoplamiento	Extensión
95° C por 11 minutos, luego 96° C por 2 minutos	10	94° C por 1 minuto	60° C por 1 minuto	70° C por 90 segundos
	18-22	90° C por 1 minuto	58° C por 1 minuto	70° C por 90 segundos
Extensión final 60° C por 30 minutos, luego 4° C hasta siguiente paso				

**Asignación alélica para el sistema Power Plex Y[®] con ILS 600 en ABI 310
(línea celular 9947A)**

DYS 391	Pb
6	90
7	94
8	98
9	102
10	106
11	110
12	114
13	118
DYS 389 I	Pb
10	148
11	152
12	156
13	160
14	164
15	168
DYS 439	Pb
8	203
9	207
10	211
11	215
12	219
13	224
14	227
15	231
DYS 393	Pb
8	104
9	108
10	112
11	116
12	120
13	124
14	128
15	132
16	136
7	385.3
8	390.4
9	395.5
10	400.7
11	405.5
12	410.6
13	415.5
14	420.5
15	425.7

16	431.1
17	436.4
18	441.6
19	447.0
20	452.0
21	457.1
22	462.0
DYS 438	Pb
8	101
9	105
10	109
11	113
12	117
13	121
DYS 437	Pb
13	183
14	187
15	191
16	195
17	199
DYS 19	Pb
10	232
11	236
12	240
13	244
14	248
15	252
16	256
17	260
18	264
19	268
DYS 392	Pb
7	294
8	297
9	300
10	303
11	306
12	309
13	312
14	315
15	318
16	321
17	324
18	327

DYS 393	Pb
8	104
9	108
10	112
11	116
12	120
13	124
14	128
15	132
16	136
DYS 390	pb
18	191
19	195
20	199
21	203
22	207
23	211
24	215
25	219
26	223
27	227
DYS 385	pb
7	243
8	247
9	251
10	255
11	259
12	263
13	267
14	271
15	275
16	279
17	283
18	287
19	291
20	295
21	299
22	303
23	307
24	311
25	315

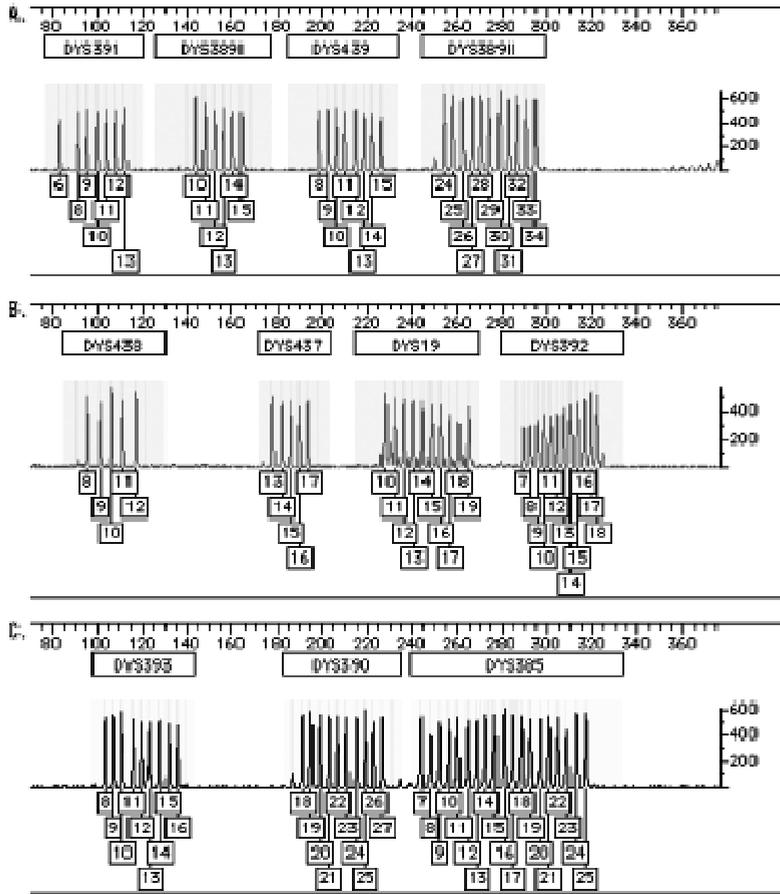


Gráfico 24. Escalera alélica del sistema Power Plex-Y

Control de calidad

Nuestro laboratorio participa anualmente en el Test de Proeficencia del Grupo de Trabajo GEP-ISFG (<http://www.gep-isfg.org>). Se siguieron las recomendaciones de la DNA Commission of the International Society of Forensic Haemogenetics para el análisis de sistemas STRs (Bär y col., 1997; ISFG, 1992). También utilizamos en el análisis la experiencia previa de nuestro equipo de investigación (Bell B y col., 2000; Martínez-Jarreta B, 1999; González F, 2001).

Método estadístico

El estudio de las poblaciones y su acervo genético tiene un gran interés desde el punto de vista antropológico y forense. Dentro del rango de variabilidad en la distribución de los polimorfismos de ADN se suelen observar características específicas para cada grupo poblacional. En Medicina Forense es imprescindible conocer esas diferencias dado que los datos de frecuencias de perfiles genéticos son los que sustentan los cálculos de probabilidades en las pericias forenses.

Parámetros genético-poblacionales

Frecuencia génica: es la medida de la proporción relativa de alelos de una población dada. Estas frecuencias se expresan en tantos por ciento o en tantos por uno, y se calculan mediante el recuento de cada alelo y dividiendo este número por el número total de alelos analizados (Cavalli-Sforza y Bodmer, 1981).

Mutación: es un cambio en el material genético en un locus determinado, que en algunos casos puede ser detectado a causa de un cambio asociado a su acción (Moreno y Gené, 1999).

Selección natural: proceso en la naturaleza por el que un genotipo deja más descendencia que otro debido a sus características superiores de la historia de la vida como supervivencia o fecundidad (Tamarín, 1996).

Deriva génica: es un fenómeno por el cual la frecuencia de cualquier alelo puede experimentar fluctuaciones debidas al azar de una generación a la siguiente

Equilibrio de Hardy-Weinberg

Un principio básico en la genética de poblaciones es la Ley del equilibrio de Hardy-Weinberg, que debe su nombre al matemático inglés George Hardy y al físico alemán Wilhem Weinberg quienes de forma independiente y en el mismo año formulaban esta ley (Hardy, 1908; Weiberg, 1908).

Según esta ley en una población de gran tamaño y en panmixia, las frecuencias génicas y genotípicas permaneces constantes de generación en generación. Esta ley contiene tres principios fundamentales

1. En una población las frecuencias alélicas en un locus autosómico no cambian de una generación a la siguiente (equilibrio de las frecuencias alélicas).
2. Las frecuencias genotípicas de la población están determinadas de una manera predecible por las frecuencias génicas (equilibrio de las frecuencias genotípicas).
3. El equilibrio es neutro, es decir, si se perturba la población el equilibrio se restablecerá en una sola generación de apareamiento al azar, pero con las nuevas frecuencias alélicas y si todos los restantes requisitos se mantienen (Tamarín, 1996).

Como las poblaciones naturales difícilmente se encuentran en equilibrio estricto, hay que determinar si las desviaciones observadas en la muestra pueden atribuirse simplemente al azar o si por el contrario, son tan grandes que permiten afirmar la existencia de algún proceso que esté desviando la población de la situación de equilibrio (mutación, selección, migración, deriva génica, apareamientos preferentes, etc.).

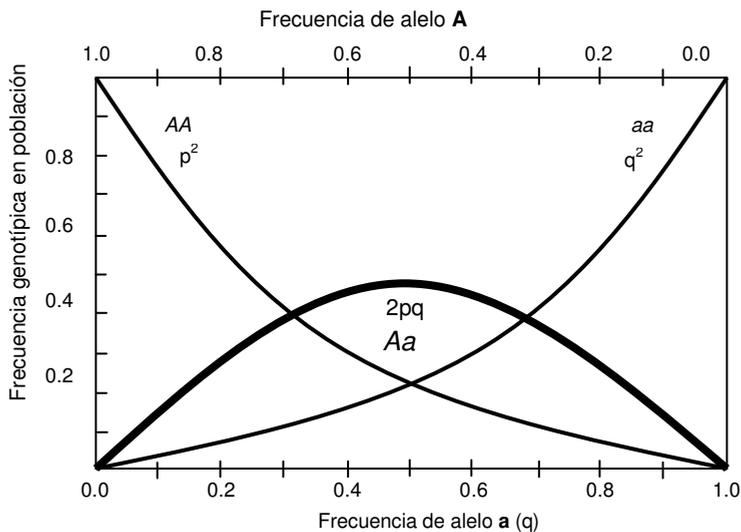


Gráfico 25. Muestra las frecuencias genotípicas para AA, Aa y aa cuando una población está en equilibrio de HW. La mayoría de heterocigotos Aa son observados cuando las frecuencias alélicas para ambos alelos A y a son 0.5.

Un exceso de homocigotos en la población objeto de estudio podría ser explicado por un proceso de aislamiento y endogamia. Debe considerarse que este hecho afectaría a todo el genoma y no solo a un locus concreto, por lo que sería lógico encontrar que la tendencia a la disminución del número de heterocigotos es un proceso general o al menos extendido (Jin y Chahraborty, 1995).

La deficiencia de heterocigotos puede ser considerada como un indicador de subestructuración poblacional, fenómeno que debería afectar también a todo el genoma (Morton y cols, 1993).

La estimación de frecuencias génicas en una población de referencia, si es adecuada, debe reflejar que se cumple este equilibrio. La comprobación del mismo puede efectuarse por numerosos métodos que pueden agruparse fundamentalmente en dos categorías que a continuación se exponen.

Test de bondad de ajuste de grandes muestras; χ^2 de Pearson

Si tenemos una larga serie de individuos agrupados en cierto número de categorías o fenotipos y deseamos comprobar si esa distribución fenotípica se ajusta a una distribución teórica esperada podemos adoptar un test de bondad de ajuste para grandes muestras.

En esencia, se trata de calibrar las diferencias entre el número de individuos observados y esperados para cada clase genotípica y contrastar dos hipótesis mutuamente excluyentes:

H_0 : Las cantidades observadas (f_1, f_2, f_3, \dots) son función de las frecuencias génicas ($P_1 + P_2 + P_3, \dots, P_m$)²

H_1 : al menos una de tales cantidades no se ajusta a tal función.

Se establece una comparación entre los valores de las frecuencias génicas observadas y los valores esperados en una población en equilibrio de Hardy-Weinberg. Lo que se pretende es contrastar dos hipótesis (H_0 y H_1) mutuamente excluyentes. Una manera de contrastar esas hipótesis es observando la distribución de tales diferencias, para lo cual se recurre al estadístico X^2 :

$$\chi^2 = \sum \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

donde: O_i = número de genotipos observados, E_i = número de genotipos esperados

Empleando una tabla de χ^2 podemos saber si la suma de las desviaciones es lo suficientemente grande para considerarla significativa con un margen prefijado de error.

La dificultad que plantea este enfoque es que el número de individuos de la muestra ha de ser grande y en especial, el de las clases menos frecuentes, lo que constituye un problema importante con los nuevos sistemas de uso forense, ya que presentan un elevado polimorfismo y como consecuencia resulta obligado recurrir a otro tipo de sistemas de información estadística como son los test exactos.

Test Exactos

Estos test determinan la probabilidad de una muestra y la comparan con la de todos los restantes muestreos posibles, y de esta manera determinar cuan improbable es en la práctica. En general la probabilidad de que en un ensayo el resultado s_1 ocurra k_1 veces (siendo $k_1 + k_2 + k_j = n$) viene dada según la ley de probabilidades multinomial, por la expresión:

$$\frac{n!}{k_1! k_2! \dots k_j!} p_1^{k_1} \cdot p_2^{k_2} \cdot \dots p_j^{k_j}$$

El test exacto es la base para la prueba no sesgada más poderosa, siendo así el estándar obvio contra el que todas las demás pruebas deben ser comparadas (Haldane, 1954; Lestón y Forthofer, 1977).

El principal problema de la utilización de este sistema es que al aumentar el número de alelos y de individuos de la muestra los cálculos se hacen extremadamente complejos y se hace necesario recurrir al uso de sofisticados programas informáticos basados en el método de Guo y Thompson (1992), como es el programa *HWE-analysis versión 3.0*, utilizado en este trabajo (Christoph Puers, Institute for Legal Medicine, University of Münster).

Parámetros estadísticos de interés médico legal

Probabilidad de exclusión a priori (PE)

La validez de un sistema genético se puede cuantificar calculando la *Probabilidad de exclusión a priori (PE)* que se define como la probabilidad de que un sistema genético específico muestre evidencias que conduzcan a la exclusión de un sospechoso (Boyd, 1954). Este parámetro nos permite establecer la proporción de individuos falsamente implicados en una peritación.

Es un valor estadístico porcentual función directa del polimorfismo de un marcador, de forma que cuanto más polimórfico es un sistema y más equilibradas están las funciones de sus alelos, tanto mayor será su probabilidad de exclusión *a priori* y por tanto su eficiencia en la investigación de paternidad.

El cálculo de este valor estadístico es muy simple cuando se trata de sistemas bialélicos o tralélicos. En sistemas genéticos codominantes de dos alelos, el valor de *PE* se obtiene por la siguiente fórmula (Essen-Möller, 1938):

$$PE = pq(1-pq)$$

donde:

p es la probabilidad de que un individuo sea transmisor del gen 1

q es la probabilidad de que un individuo sea transmisor del gen 2.

En sistemas de marcadores genéticos trialélicos y con 6 genotipos, la *PE* viene dada por la siguiente fórmula (Silver, 1982):

$$PE = (p^2 + q^2 + r^2) - (p^5 + q^5 + r^5) + 6 pqr + 4 pqr (p^2 + q^2 + r^2)$$

donde:

p es la probabilidad de que un individuo sea transmisor del alelo 1

q es la probabilidad de que un individuo sea transmisor del alelo 2

r es la probabilidad de que un individuo sea transmisor del alelo 3

En el caso de marcadores genéticos con n alelos, Ohno y cols. En 1982 desarrollaron una fórmula que puede implementarse en un programa de ordenador y permite realizar estos cálculos de forma sencilla y rápida (Carracedo y Barros, 1996).

$$PE = \sum p_i(1-p_i)^2(1-p_i+p_j)^2 + \sum \sum p_i p_j (p_i+p_j)(1-p_i-p_j)^2$$

Donde p_i son las frecuencias génicas respectivas de los n alelos.

Probabilidad de exclusión acumulativa (PE_{cum})

La eficacia en la exclusión que se consigue mediante el uso conjunto de varios marcadores genético moleculares se denomina *probabilidad acumulativa de exclusión (PE_{cum})* y se calcula a partir de la siguiente fórmula (Henningesen, 1968):

$$PE_{cum} = 1(1 - P_1)(1 - P_2)(1 - P_3)\dots(1 - P_n)$$

Donde $P_1, P_2, P_3, \dots, P_n$ son las probabilidades de exclusión individuales de cada uno de los sistemas estudiados.

La probabilidad de exclusión acumulativa es un valor que se suele utilizar para determinar la eficacia a priori de un laboratorio. El GEP-ISFG considera que un laboratorio está capacitado para realizar pruebas de paternidad cuando alcanza al menos un 99% de probabilidad de exclusión a priori.

Índice de heterocigosidad. Diversidad génica

El *Índice de heterocigosidad* representa la probabilidad de que dos alelos del mismo locus tomados al azar de la población sean distintos. La *diversidad génica* de una población se mide como heterocigosidad media por locus.

Esta es la mejor estima de la variabilidad de una población si el estudio se realiza sobre un número elevado de loci escogidos al azar, ya que entre dichos marcadores existirán unos caracteres monomórficos y otros polimórficos con altas o bajas frecuencias de los alelos raros, al igual que en el genoma (García Fernández, 1999).

La heterocigosidad observada para un locus se define como el número de individuos heterocigotos observados respecto al total analizado, y guarda relación con el grado de polimorfismo del sistema estudiado y su eficacia como marcador genético.

La heterocigosidad esperada es la proporción de heterocigotos que se esperarían encontrar si la población se encontrara en equilibrio de Hardy-Weinberg (Nei y Roychoudhury, 1974).

$$He = 1 - \sum p_i^2$$

siendo p_i la frecuencia génica del alelo i en un locus m para varios alelos

Cuando el número de loci no es elevado ni están elegidos al azar, la heterocigosidad no indica mucho acerca de la variabilidad real, pero sigue teniendo validez para conocer la estructura de una población y realizar comparaciones con otras poblaciones.

Hay situaciones como en poblaciones endogámicas donde la variación resulta de la continua presencia de diferentes homocigotos y la diversidad génica es entonces una medida más apropiada (Cariacedo y Barros, 1996). Una estimación no sesgada de la heterocigosidad puede obtenerse multiplicando el valor antes obtenido por $2N/2N-1$ (Nei, 1978).

La probabilidad de match o coincidencia

Es la probabilidad de que dos individuos elegidos al azar tengan idénticos genotipos en uno o varios sistemas genéticos dados y puede simplificarse en la siguiente fórmula (Jones, 1972; Smalldon y Moffat, 1973)

$$Pm = \sum p_i^2$$

siendo p_i la frecuencia del genotipo i

Poder de discriminación

Se define como la probabilidad de que dos individuos no relacionados y tomados al azar puedan ser diferenciados genéticamente mediante el análisis de un marcador o conjunto de marcadores. El *poder de discriminación (PD)* se calcula de la siguiente manera:

$$PD = 1 - \text{probabilidad de match o coincidencia}$$

Frecuencia alélica mínima

Algunos loci altamente polimórficos contienen un gran número de alelos muchos de ellos pueden ser raros o estar en una frecuencia muy baja en la población en estudio.

En estos casos, las frecuencias génicas calculadas según el método tradicional pueden ser una estimación errónea de su valor real, sobre todo en bases de datos con bajo tamaño muestral (García Fernández, 1999).

Algunas de las soluciones a este problema consisten en asignar una frecuencia alélica mínima arbitraria de 0,05 (National Research Council, 1992; Clayton y cols, 1995). Otros autores (Budowe y cols, 1996) determinan la frecuencia alélica mínima de un marcador genético, a partir del tamaño muestral y de la heterocigosidad observada en la muestra analizada por medio de la siguiente fórmula:

$$P_{min} = 1 - [1 - (1 - \alpha)^{1/c}]^{1/2n}$$

donde P_{min} es frecuencia alélica mínima, α es el nivel de significancia (0,05) y c es el número de alelos comunes estimados a partir del nivel de heterocigosidad observada, n es el tamaño muestral.

Este método es adecuado para marcadores VNTR y STR y parece el más apropiado para compensar la posible deficiencia en el muestreo de alelos raros. En este caso, cuanto mayor sea el tamaño muestral analizado mayor será la fiabilidad en la estimación de las frecuencias alélicas realizadas, por tanto, la frecuencia mínima será más pequeña. Si el tamaño muestral permanece constante, las frecuencias alélicas mínimas aumentarán la heterocigosidad, es decir, tendrán la tendencia a ser mayores en los loci menos polimórficos.

Parámetros estadísticos utilizados en STRs del Cromosoma «Y»

AMOVA (Analysis of Molecular Variance)

Debido al tipo de herencia en bloque del cromosoma-Y, los haplotipos, es decir, el genotipo haploide definido por distintos polimorfismos ligados entre sí, son más propensos a la deriva génica que los loci autonómicos (Jobling y cols, 1997).

Por ello, dentro de los datos genéticos poblacionales del cromosoma-Y hay un alto grado de diferenciación. Para valorar esta variabilidad entre poblaciones se aplica el estadístico AMOVA (Excoffier y cols, 1992).

Los datos obtenidos (Pairwise Φ) son similares al valor F_{st} de Wright, e informan del porcentaje de variabilidad entre dos grupos atribuible a las diferencias entre poblaciones y no tanto a la variación entre individuos (Roewer y cols, 2000).

Comparación de poblaciones

La confrontación de las frecuencias alélicas obtenidas en este trabajo y en distintos grupos poblacionales y étnicos son de enorme interés en el estudio de la genética de poblaciones y, constituyen una herramienta para la interpretación de los hallazgos genéticos dentro de una investigación pericial. Se utiliza el estadístico χ^2 y tablas de contingencia

Otros parámetros estadísticos estimados en este trabajo con STRs autosómicos y de Cromosoma-Y

Se calculó el número de haplotipos diferentes, la diversidad haplotípica, las diferencias pareadas de haplotipos y la varianza del tamaño de los alelos en las STRs en el cromosoma “Y”, con Arlequin 2.000 (Schneider y col., 2000). Se generaron *median-joining networks* (Bandelt y col., 1999) con el programa Network 4.1.0.8 (disponible en www.fluxus-engineering.com).

A los STRs se les asignaron ponderaciones que fueron inversamente proporcionales a las varianzas en el tamaño de sus alelos. Las proporciones de mezcla en los STRs autosómicos se calcularon con el programa Admix 2.0 (Dupanloup y Bertorelle, 2001).

Resultados



Para los cuadros siguientes utilizaremos las siguientes siglas:

Para el test del equilibrio de Hardy-Weinberg

χ^2 = test de chi cuadrado

G-test = razón de verosimilitud

Exact-test = Test exacto

HW = equilibrio de Hardy-Weinberg

Para los parámetros estadísticos forenses más habituales.

P_{min} = Frecuencia alélica mínima

Obs H = heterocigosidad observada

Exp H = heterocigosidad esperada

MEC (PE) = probabilidad de exclusión *a priori*

PE_{cum} = probabilidad de exclusión acumulativa

MEP = probabilidad de exclusión paterna

PIC = contenido de información polimórfica

PM = probabilidad de emparejamiento, coincidencia (match), probabilidad de no discriminación *a priori*

PD = poder de discriminación

PD_{cum} = poder de discriminación acumulativo

Tabla 16. Distribución genética de 7 STRs de la población kichwa (n=150), mediante análisis manual

Alelo	CSF1PO (n= 150)	TPOX (n=150)	TH01 (n=150)	D13S317 (n= 102)	D16S539 (n= 104)	D5S818 (n= 95)	D7S820 (n= 104)
6	---	---	0.4800	---	---	---	---
7	---	---	0.3200	---	---	0.1110	---
8	0.0030	0.5130	0.0070	0.0690	0.0140	---	0.0050
9	0.0070	---	0.0230	0.2450	0.1920	0.1160	0.0029
9.3	---	---	0.1330	---	---	---	---
10	0.3130	0.0030	0.1230	0.1570	0.2930	0.0420	0.2600
11	0.2930	0.3600	0.0370	0.0930	0.2640	0.5740	0.3700
12	0.3130	0.1230	---	0.1720	0.1830	0.1320	0.2880
13	0.0570	0.0030	---	0.1760	0.0480	0.0260	0.0480
14	0.0130	---	---	0.0880	0.0050	---	---

Tabla 17. Equilibrio HW y parámetros estadísticos de interés forense de población kichwa (análisis manual)

Alelo	CSF1PO (n= 150)	TPOX (n=150)	TH01 (n=150)	D13S317 (n= 102)	D16S539 (n= 104)	D5S818 (n= 95)	D7S820 (n= 104)
X ²	0.3744	0.8728	0.2032	0.9518	0.6680	0.8948	0.7000
G-test	0.3408	0.9080	0.5280	0.9366	0.5464	0.9486	0.1956
Exact-test	0.4956	0.8192	0.3928	0.8956	0.4214	0.9548	0.1090
Obs H	0.7333	0.5800	0.6400	0.8235	0.7308	0.6421	0.6442
Exp H	0.7165	0.5936	0.6497	0.8377	0.7749	0.6288	0.7126
MEC	0.4552	0.3065	0.3876	0.6666	0.5515	0.4138	0.4522
MEP	0.4543	0.2833	0.3547	0.6707	0.5533	0.3268	0.4480
PIC	0.6591	0.5114	0.5871	0.8120	0.7335	0.5941	0.6548
PM	0.1401	0.2462	0.1906	0.0549	0.0957	0.1742	0.1412
PD	0.8599	0.7538	0.8094	0.9450	0.9042	0.8257	0.8587
P _{min}	0.0184	0.0167	0.0173	0.0284	0.0260	0.0268	0.0254

Tabla 18. Distribución genética de 12 STRs de la población Mestiza (n=400) – análisis manual

Alelo	CSF1PO	TPOX	TH01	F13A01	VWA	D13S317
n =	400	400	410	336	400	389
3.2			0.001	0.011		
4			0.002	0.224		
5			0.339	0.193		
6		0.001	0.330	0.170		
7	0.004	0.003	0.066	0.241		
8	0.003	0.523	0.107	0.026		0.082
9	0.021	0.046	0.072	0.003		0.213
9.3			0.075			
10	0.270	0.031	0.001	0.002		0.107
11	0.308	0.271	0.002	0.009		0.149
12	0.291	0.120		0.002		0.221
13	0.940	0.004		0.006	0.003	0.134
14	0.100			0.0014	0.028	0.093
15					0.065	0.001
16					0.398	
17					0.308	
18					0.146	
19					0.040	
20					0.014	

Continuación...

Alelo	D5S818	D7S820	LPL	HPRTB	F13B
n =	389	393	320	121	216
6					0.058
7	0.110	0.005	0.002	0.012	0.037
8	0.023	0.070	0.005	0.004	0.178
9	0.092	0.080	0.036	0.025	0.280
10	0.052	0.247	0.544	0.033	0.424
11	0.433	0.296	0.202	0.107	0.021
12	0.193	0.251	0.1910	0.264	0.002
13	0.095	0.041	0.013	0.236	
14	0.043	0.090	0.009	0.202	
15		0.001		0.099	
16				0.017	

Tabla 19. Equilibrio de HW y parámetros estadísticos de interés forense de mestizos (formato manual)

Alelo	CSF1PO	TPOX	TH01	F13A01	VWA	D13S317
X²	0.2200	0.6560	0.0200	0.7200	0.9370	0.1302
G test	0.5000	0.1120	0.2000	0.6000	0.9504	0.2238
Exact test	0.4800	0.4220	0.6000	0.4000	0.8980	0.2110
Obs H	0.7575	0.5825	0.7568	0.8223	0.7250	0.8509
Exp H	0.7393	0.6367	0.7510	0.8133	0.7202	0.8399
MEC	0.4966	0.3883	0.5328	0.6253	0.4872	0.6760
MEP	0.4916	0.3372	0.5115	0.6239	0.4602	0.6750
PIC	0.6914	0.5835	0.7129	0.7850	0.6749	0.8183
PM	0.1237	0.1842	0.1012	0.6748	0.1296	0.0496
PD	0.8763	0.8152	0.8988	0.9325	0.8707	0.9504
P_{min}	0.0075	0.0075	0.0081	0.0021	0.0075	0.0037

Continuación...

Alelo	D16S539	D5S818	D7S820	LPL	HPRTB	F13B
X²	0.5726	0.6142	0.9510	0.2400	0.2000	0.1960
G test	0.4414	0.7178	0.9242	0.9400	0.6000	0.2000
Exact test	0.4688	0.5768	0.9222	0.3200	0.1800	0.8000
Obs H	0.8046	0.7370	0.7557	0.6688	0.7851	0.8333
Exp H	0.7951	0.7440	0.7763	0.6268	0.8134	0.7068
MEC	0.5915	0.5423	0.5446	0.3814	0.6267	0.4644
MEP	0.5899	0.4996	0.5558	0.3243	0.6242	0.4388
PIC	0.7623	0.7135	0.7403	0.5762	0.7839	0.6576
PM	0.0755	0.0961	0.0831	0.1984	0.7739	0.1636
PD	0.9245	0.9039	0.9169	0.8016	0.9226	0.8364
P_{min}	0.0037	0.0046	0.0038	0.0093	0.0244	0.0137

Tabla 20. Distribución alélica de 15 STRs autosómicos y amelogenina in Mestizos
(n = 317) análisis automatizado

Alelo	D3S1358	TH01	D21S11	D18S51	Penta E	D5S818	D13S317	D7S820
2.2	-	-	-	-	-	-	-	-
3.2	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	0.0330	-	-	-
6	-	0.3310	-	-	-	-	-	-
7	-	0.2920	-	-	0.0710	0.1250	-	0.0020
8	-	0.0760	-	-	0.0270	0.0020	0.0800	0.0670
9	-	0.0920	-	-	0.0060	0.0860	0.1880	0.0540
9.3	-	0.1960	-	-	-	-	-	-
10	-	0.0140	-	0.0040	0.0350	0.0280	0.0780	0.2780
11	-	-	-	0.0180	0.0610	0.4330	0.2020	0.3010
12	0.0080	-	-	0.0730	0.1880	0.2410	0.2370	0.2640
13	0.0040	-	-	0.0980	0.0690	0.0730	0.1100	0.0230
14	0.0570	-	-	0.2490	0.0490	0.0090	0.1040	0.0010
15	0.4570	-	-	0.1610	0.1220	-	0.0020	-
16	0.2700	-	-	0.1100	0.0900	-	-	-
17	0.1460	-	-	0.1390	0.0630	-	-	-
18	0.0490	-	-	0.0710	0.0510	-	-	-
19	0.0100	-	-	0.0270	0.0310	-	-	-
19.2	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	0.0200	0.0430	-	-	-
20.2	-	-	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	0.0200	0.0370	-	-	-
22	-	-	-	0.0060	0.0160	-	-	-
22.2	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	0.0040	0.0060	-	-	-
23.2	-	-	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	0.0020	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-
25.2	-	-	-	-	-	-	-	-
26	-	-	0.0020	-	-	-	-	-
27	-	-	0.0140	-	-	-	-	-
28	-	-	0.0690	-	-	-	-	-
29	-	-	0.1960	-	-	-	-	-
29.2	-	-	0.0040	-	-	-	-	-
30	-	-	0.2460	-	-	-	-	-
30.2	-	-	0.0260	-	-	-	-	-
31	-	-	0.0770	-	-	-	-	-
31.2	-	-	0.1490	-	-	-	-	-
32	-	-	0.0060	-	-	-	-	-
32.2	-	-	0.1490	-	-	-	-	-
33.2	-	-	0.0520	-	-	-	-	-
34.2	-	-	0.0040	-	-	-	-	-
35	-	-	0.004	-	-	-	-	-

Continuación...

Alelo	D16S539	CSF1PO	Penta D	VWA	D8S1179	TPOX	FGA
2.2	-	-	0.0040	-	-	-	-
3.2	-	-	0.0020	-	-	-	-
5	-	-	0.0020	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-
7	-	0.0040	0.0060	-	-	-	-
8	0.0170	0.0020	0.0160	-	0.0080	0.5580	-
9	0.1770	0.0100	0.2060	-	0.0040	0.0410	-
9.3	-	-	-	-	-	-	-
10	0.2070	0.2610	0.2330	0.0020	0.0650	0.0170	-
11	0.2300	0.2780	0.1210	0.0040	0.0600	0.2730	-
12	0.2620	0.3570	0.1620	0.0020	0.2120	0.1120	-
13	0.0950	0.0810	0.1740	0.0020	0.3190	-	-
14	0.0130	0.0060	0.0670	0.0480	0.2040	-	-
15	-	-	0.0060	0.0790	0.1010	-	-
16	-	-	-	0.3790	0.0260	-	-
17	-	-	-	0.3020	-	-	0.0090
18	-	-	-	0.1430	-	-	0.0020
19	-	-	-	0.0260	-	-	0.0060
19.2	-	-	-	-	-	-	0.0020
20	-	-	-	0.0090	-	-	0.0810
20.2	-	-	-	-	-	-	0.0020
21	-	-	-	0.0020	-	-	0.1030
22	-	-	-	-	-	-	0.1050
22.2	-	-	-	-	-	-	0.0020
23	-	-	-	-	-	-	0.1160
23.2	-	-	-	-	-	-	0.0070
24	-	-	-	-	-	-	0.1890
25	-	-	-	-	-	-	0.1910
25.2	-	-	-	-	-	-	0.0020
26	-	-	-	-	-	-	0.0720
27	-	-	-	-	-	-	0.0370
28	-	-	-	-	-	-	0.0020
29	-	-	-	-	-	-	0.0020

Tabla 21. Equilibrio de HW y parámetros estadísticos de interés forense para mestizos en formato automatizado

Alelo	TPOX	FGA	D3S1358	TH01	D21S11	D18S51	Penta E	D5S818
Exact test	0.3110	0.0278	0.0062	0.4696	0.0916	0.0066	0.1148	0.1422
X²	0.3586	0.0596	0.0374	0.0396	0.1120	0.0312	0.2966	0.2890
G-Test	0.3386	0.0342	0.0092	0.6456	0.0690	0.0090	0.4610	0.2224
MEC	0.3481	0.7509	0.4551	0.5272	0.6871	0.7211	0.8215	0.5048
PIC	0.5425	0.8635	0.6458	0.7125	0.8235	0.8442	0.9054	0.6878
PM	0.2270	0.0306	0.1432	0.1065	0.0469	0.0415	0.1759	0.1103
PD	0.7729	0.9694	0.8568	0.8935	0.9531	0.9585	0.9824	0.8897

Continuación...

Alelo	D13S317	D7S820	D16S539	CSF1PO	Penta D	VWA	D8S1179
Exact test	0.4094	0.0868	0.8828	0.0198	0.8664	0.2828	0.0546
X²	0.2698	0.0458	0.9340	0.0026	0.8172	0.3272	0.1606
G-Test	0.4110	0.1338	0.9090	0.0320	0.8040	0.4940	0.1252
MEC	0.6652	0.5272	0.5928	0.4689	0.6523	0.5118	0.5994
PIC	0.8109	0.7129	0.7634	0.6690	0.8043	0.6948	0.7635
PM	0.0526	0.1042	0.0761	0.1262	0.0524	0.1164	0.0726
PD	0.9473	0.8957	0.9239	0.8737	0.9476	0.8836	0.9274

Tabla 22. Distribución alélica de 15 STRs autosómicos y amelogenina en Negros
(n = 104) análisis automatizado

Alelo	Penta E	D3S1358	FGA	D18S51	D21S11	Penta D	VWA	D8S1179
2.2	-	-	-	-	-	0.0890	-	-
3.2	-	-	-	-	-	0.0050	-	-
5	0.0560	-	-	-	-	0.0330	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-
6.3	-	-	-	-	-	-	-	-
7	0.0930	-	-	-	-	0.0470	-	-
8	0.1360	-	-	-	-	0.1170	-	-
9	0.0370	-	-	-	-	0.1360	-	0.0050
9.3	-	-	-	-	-	-	-	-
10	0.0280	-	-	-	-	0.2010	0.0050	0.0230
11	0.0700	-	-	0.0050	-	0.1450	0.0090	0.0280
12	0.1070	0.0050	-	0.0470	-	0.0750	-	0.1030
13	0.0890	0.0050	-	0.0560	-	0.1030	0.0190	0.3320
13.2	-	-	-	0.0090	-	-	-	-
14	0.0700	0.0610	-	0.1360	-	0.0370	0.0330	0.3040
15	0.1260	0.3640	-	0.1640	-	0.0140	0.1730	0.1820
16	0.0610	0.3360	-	0.1540	-	-	0.2710	0.0190
17	0.0330	0.1680	-	0.1780	-	-	0.2760	-
18	0.0420	0.0510	0.0050	0.1120	-	-	0.1120	-
18.2	-	-	0.0190	-	-	-	-	-
19	0.0140	0.0090	0.0700	0.0700	-	-	0.0840	-
19.2	-	-	0.0050	-	-	-	-	-
20	0.0190	-	0.0890	0.0370	-	-	0.0190	-
21	0.0140	-	0.0980	0.0140	-	-	-	-
22	0.0050	-	0.1590	-	-	-	-	-
23	-	-	0.1400	0.0140	-	-	-	-
24	-	-	0.1070	-	-	-	-	0.0050
24.2	-	-	0.0050	-	-	-	-	-
25	-	-	0.1170	-	-	-	-	-
26	-	-	0.1070	-	-	-	-	-
27	-	-	0.0510	-	0.0370	-	-	-
28	-	-	0.0190	-	0.1590	-	-	-
28.2	-	-	-	-	0.0050	-	-	-
29	-	-	0.0090	-	0.1590	-	-	-
30	-	-	-	-	0.2570	-	-	-
30.2	-	-	-	-	0.0370	-	-	-
31	-	-	-	-	0.0980	-	-	-
31.2	-	-	-	-	0.1070	-	-	-
32	-	-	-	-	0.0140	-	-	-
32.2	-	-	-	-	0.0650	-	-	-
33	-	-	-	-	0.0140	-	-	-
33.2	-	-	-	-	0.0230	-	-	-
34	-	-	-	-	0.0090	-	-	-
34.2	-	-	-	-	0.0050	-	-	-
35	-	-	-	-	0.0090	-	-	-

Continuación...

Alelo	D7S820	D13S317	D5S818	D16S539	TH01	CSF1PO	TPOX
2.2	-	-	-	-	-	-	-
3.2	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	0.0090	-	-	-
6	-	-	-	-	0.2570	-	0.0370
6.3	-	-	-	-	0.0050	-	-
7	-	-	0.0140	0.0050	0.3830	0.0370	0.0050
8	0.1450	0.0370	0.0190	0.0090	0.1450	0.0470	0.4210
9	0.0890	0.1450	0.0610	0.2010	0.0840	0.0420	0.1540
9.3	-	-	-	-	0.1170	-	-
10	0.3040	0.0510	0.0510	0.1260	0.0090	0.2660	0.0700
11	0.2380	0.2710	0.3130	0.3270	-	0.2570	0.2340
12	0.1920	0.2900	0.2940	0.1680	-	0.2990	0.0790
13	0.0330	0.1590	0.2290	0.1310	-	0.0420	-
13.2							
14	0.0010	0.0470	0.0140	0.0230	-	0.0050	-
15	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	0.0050	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	0.0050	-

Tabla 23. Equilibrio de HW y parámetros estadísticos de interés forense en población negra con formato automatizado

Alelo	Penta E	D3S1358	FGA	D18S51	D21S11	Penta D	VWA	D8S1179
Exact test	1.0000	0.4798	0.7260	0.6590	0.4532	0.2368	0.9942	0.6914
X²	0.9976	0.6246	0.1506	0.5794	0.3662	0.1282	0.9790	0.1706
G-Test	0.9998	0.6638	0.7710	0.8184	0.4754	0.2416	0.9800	0.6904
MEC	0.8280	0.4794	0.7815	0.7426	0.7128	0.7538	0.6094	0.5297
MEP	0.8351	0.4640	0.7885	0.7526	0.7108	0.7584	0.6043	0.5195
PIC	0.9088	0.6716	0.8825	0.8620	0.8386	0.8655	0.7710	0.7125
PM	0.0186	0.1221	0.0275	0.0340	0.0453	0.0374	0.0717	0.1050
PD	0.9814	0.8778	0.9724	0.9659	0.9546	0.9625	0.9282	0.8949

Continuación...

Alelo	D7S820	D13S317	D5S818	D16S539	TH01	CSF1PO	TPOX
Exact test	0.7994	0.2482	0.4308	0.5976	0.2900	0.4780	0.5060
X²	0.7551	0.3376	0.2620	0.6930	0.3838	0.2780	0.5408
G-Test	0.9142	0.2728	0.4734	0.5588	0.5026	0.6324	0.3386
MEC	0.5779	0.5923	0.5333	0.5942	0.5240	0.5509	0.5140
MEP	0.5779	0.5877	0.5258	0.5884	0.5077	0.5445	0.4853
PIC	0.7513	0.7596	0.7160	0.7611	0.7070	0.7292	0.6952
PM	0.0820	0.0800	0.1026	0.0783	0.1106	0.0958	0.1131
PD	0.9179	0.9199	0.8973	0.9216	0.8893	0.9041	0.8868

Tabla 24. Distribución alélica de 15 STRs autosómicos y amelogenina en Amerindios Kichwas (n = 115) análisis automatizado

Alelo	TH01	CSF1PO	TPOX	VWA	D13S317	D3S1358	D5S818	D7S820
5	-	-	-	-	-	-	-	-
6	0,3870	-	-	-	-	-	-	-
7	0,3609	-	-	-	-	-	0,1391	0,0043
8	0,0087	-	0,5870	-	0,0522	-	0,0043	0,0217
9	0,0304	0,0087	0,0087	-	0,3304	-	0,1348	0,0217
9,3	0,2043	-	-	-	-	-	-	-
10	0,0043	0,3261	0,0087	-	0,0652	-	0,0522	0,2304
11	0,0043	0,3130	0,2609	0,0087	0,0826	-	0,4957	0,4304
12	-	0,2783	0,1348	0,0043	0,1652	0,0043	0,1348	0,2391
13	-	0,0609	-	0,0087	0,1391	-	0,0348	0,0435
14	-	0,0087	-	0,0174	0,1652	0,0348	-	0,0087
15	-	-	-	0,0304	-	0,5000	-	-
16	-	-	-	0,413	-	0,2783	-	-
17	-	-	-	0,3913	-	0,1522	0,0043	-
18	-	0,0043	-	0,0957	-	0,0261	-	-
19	-	-	-	0,0261	-	-	-	-
20	-	-	-	0,0043	-	0,0043	-	-

Continuación...

Alelo	D21S11	D18S51	PENTA E	D16S539	PENTA D	D8S1179	FGA
7	-	-	0,0130	-	-	-	-
8	-	-	0,0087	-	0,0087	-	-
9	-	-	-	0,2000	0,2304	-	-
9,3	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	0,2652	0,3391	0,0696	-
11	-	-	0,0435	0,2478	0,1348	0,0478	-
12	-	0,0696	0,1739	0,2348	0,0870	0,2217	-
13	-	0,0609	0,0435	0,0478	0,1565	0,3304	-
14	-	0,3435	0,0435	0,0043	0,0348	0,2304	-
15	-	0,1261	0,1913	-	0,0087	0,0826	-
16	-	0,1043	0,1043	-	-	0,0174	-
17	-	0,1652	0,0739	-	-	-	-
18	-	0,0696	0,0739	-	-	-	0,0174
19	-	0,0087	0,0696	-	-	-	0,0783
20	-	0,0261	0,0304	-	-	-	0,0435
21	-	0,0043	0,0783	-	-	-	0,0609
21,2	-	-	-	-	-	-	0,0043
22	-	0,0130	0,0261	-	-	-	0,0739
23	-	0,0087	0,0130	-	-	-	0,0870
23,2	-	-	-	-	-	-	0,0087
24	-	-	-	-	-	-	0,2609
25	-	-	-	-	-	-	0,1739
26	-	-	-	-	-	-	0,1478
27	-	-	-	-	-	-	0,0348
28	0,0783	-	-	-	-	-	0,0087
29	0,1565	-	0,0043	-	-	-	-
30	0,2696	-	-	-	-	-	-
30,2	0,0391	-	-	-	-	-	-
31	0,0609	-	-	-	-	-	-
31,2	0,1304	-	-	-	-	-	-
32	0,0087	-	-	-	-	-	-
32,2	0,1435	-	-	-	-	-	-
33,2	0,1000	-	-	-	-	-	-
34,2	0,0043	-	-	-	-	-	-
35	0,0043	-	-	-	-	-	-
35,2	0,0043	-	-	-	-	-	-

Tabla 25. Equilibrio de HW y parámetros estadísticos de interés forense en población amerindia kichwa en formato automatizado

Alelo	Penta E	D3S1358	FGA	D18S51	D21S11	Penta D	VWA	D8S1179
Exact test	0,1620	0,7500	0,4754	0,2588	0,3316	0,7028	0,3286	0,6300
X²	0,72062	0,98083	0,00009	0,91865	0,82901	0,81171	0,00001	0,74809
G-Test	0,90948	0,94637	0,88274	0,86642	0,97744	0,74093	0,96071	0,56207
MEC	0,78597	0,39433	0,71242	0,64939	0,69172	0,57895	0,41051	0,56679
PIC	0,88357	0,59220	0,83807	0,79384	0,82605	0,74910	0,60550	0,74065
PM	0,02672	0,17675	0,04455	0,06105	0,05225	0,08429	0,17319	0,08703
PD	0,97328	0,82325	0,95545	0,93895	0,94775	0,91571	0,82681	0,91297

Continuación...

Alelo	D7S820	D13S317	D5S818	D16S539	TH01	CSF1PO	TPOX
Exact test	0,9930	0,2088	0,0470	0,2882	0,0662	0,7194	0,5454
X²	0,999939	0,28775	0,161700	0,52169	0,0001	0,9377	0,85807
G-Test	0,99897	0,12168	0,25018	0,59107	0,53939	0,88672	0,79097
MEC	0,45743	0,62112	0,48363	0,54608	0,40617	0,45607	0,31137
PIC	0,65293	0,77818	0,66278	0,73167	0,61416	0,65970	0,50699
PM	0,14026	0,07162	0,13181	0,08841	0,16793	0,13709	0,25939
PD	0,85974	0,92838	0,86819	0,91159	0,83207	0,86291	0,74061

Tabla 26. Distribución alélica de 15 STRs autosómicos y amelogenina en Waoranis (n=37)

Alelo	TH01	CSF1PO	TPOX	VWA	D13S317	D3S1358	D5S818	D7S820
5	-	-	-	-	-	-	-	-
6	0.4459	-	-	0.0135	-	-	-	-
7	0.4865	-	-	-	-	-	0.2973	-
8	-	0.0135	0.0135	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	0.0135	0.0135
9.3	0.0676	-	-	-	-	-	-	-
10	-	0.1486	-	-	0.0811	-	-	-
11	-	0.1622	0.2703	-	0.0135	-	0.2973	0.3919
12	-	0.6351	0.7162	-	0.1351	-	0.2297	0.5541
13	-	0.0135	-	-	0.2703	-	0.1622	-
14	-	0.0270	-	-	0.500	-	-	0.0405
15	-	-	-	0.1351	-	0.6486	-	-
16	-	-	-	0.6486	-	0.3378	-	-
17	-	-	-	0.1892	-	0.0135	-	-
18	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	0.0135	-	-	-	-

Continuación...

Alelo	D21S11	D18S51	Penta E	D16S539	Penta D	D8S1179	FGA
5	-	-	-	-	0.027	-	-
8	-	-	-	0.0135	-	-	-
9	-	-	0.027	0.3784	0.4595	-	-
9.3	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	0.4324	0.3919	0.0135	-
11	-	-	-	0.0676	0.0541	0	-
12	-	0.3243	0.0405	0.027	-	0.0811	-
13	-	0.1622	0.1757	0.0135	0.0676	0.1216	-
14	-	0.0135	-	0.0676	-	0.4865	-
15	-	0.1486	0.4865	-	-	0.0946	-
16	-	0.0135	-	-	-	0.2027	-
17	-	0.1216	-	-	-	-	-
18	-	0.2162	-	-	-	-	-
19	-	-	0.1216	-	-	-	-
20	-	-	0.1486	-	-	-	0.1351
21	-	-	-	-	-	-	0.0135
22	-	-	-	-	-	-	0.0135
23	-	-	-	-	-	-	0.1351
24	-	-	-	-	-	-	0.3514
25	-	-	-	-	-	-	0.1757
26	-	-	-	-	-	-	0.1757
29	0.1351	-	-	-	-	-	-
30	0.2432	-	-	-	-	-	-
31	0.1081	-	-	-	-	-	-
31.2	0.2027	-	-	-	-	-	-
32.2	0.2162	-	-	-	-	-	-
33.2	0.0946	-	-	-	-	-	-

Tabla 27. Equilibrio de HW y parámetros estadísticos de interés forense en población Waorani formato automatizado

Alelo	D7S820	D13S317	D5S818	D16S539	TH01	CSF1PO	TPOX
X²	0.99993	0.28775	0.16170	0.52169	0.0001	0.9377	0.85807
Pmin	0.08926	0.09817	0.09817	0.09488	0.08749	0.08749	0.08393
MEC	0.24871	0.40178	0.50075	0.40407	0.26258	0.32335	0.17544
PIC	0.44157	0.59899	0.69752	0.59992	0.46180	0.50597	0.33863
PM	0.30021	0.22863	0.11617	0.17601	0.27533	0.27093	0.40972
PD	0.69979	0.77137	0.88383	0.82399	0.72467	0.72907	0.59028
Obs H	0.51350	0.75670	0.75680	0.67550	0.45940	0.45930	0.35130
Exp H	0.53756	0.65192	0.74397	0.65961	0.55992	0.54716	0.41381

Continuación...

Alelo	Penta E	D3S1358	FGA	D18S51	D21S11	Penta D	VWA	D8S1179
X²	0.72062	0.98083	0.00009	0.91865	0.82901	0.81171	0.00001	0.74809
Pmin	0.09292	0.09106	0.10785	0.10379	0.10786	0.08926	0.08749	0.09817
MEC	0.47233	0.19117	0.57406	0.58081	0.62797	0.35735	0.29440	0.47039
PIC	0.65676	0.36882	0.74640	0.75277	0.78751	0.55614	0.47777	0.65476
PM	0.14976	0.43898	0.11615	0.10007	0.09863	0.21400	0.29003	0.14095
PD	0.85024	0.56102	0.88385	0.89993	0.90137	0.78600	0.70997	0.85905
Obs H	0.62160	0.56750	0.91890	0.86480	0.91900	0.51360	0.45940	0.75670
Exp H	0.69320	0.46502	0.77790	0.78454	0.81413	0.62704	0.52490	0.69173

Tabla No 28. Distribución de frecuencias genotípicas de la población mestiza de Ecuador, para 12 marcadores STRs de autosomas (técnica manual).

CSF1PO N = 400			TPOX N = 400			TH01 N = 440		
Fenotipo	Contaje	Frecuencia	Fenotipo	Contaje	Frecuencia	Fenotipo	Contaje	Frecuencia
9/9	4	1,000	6/8	1	0,250	4/4	1	0,227
7/10	2	0,500	7/8	1	0,250	4/5	1	0,227
8/10	1	0,250	8/8	121	30,250	6/6	54	12,273
9/10	2	0,500	8/9	18	4,500	4/7	1	0,227
10/10	28	7,000	9/9	1	0,250	6/7	98	22,273
9/11	5	1,250	7/10	1	0,250	7/7	44	10,000
10/11	73	18,250	8/10	11	2,750	6/8	14	3,182
11/11	31	7,750	9/10	1	0,250	7/8	22	5,000
9/12	1	0,250	10/10	1	0,250	5/9	1	0,227
10/12	57	14,250	8/11	102	25,500	6/9	29	6,591
11/12	82	20,500	9/11	7	1,750	7/9	29	6,591
12/12	33	8,250	10/11	10	2,500	8/9	8	1,818
7/13	1	0,250	11/11	34	8,500	9/9	6	1,364
8/13	1	0,250	8/12	41	10,250	6/9.3	22	5,000
9/13	1	0,250	9/12	8	2,000	7/9.3	29	6,591
10/13	22	5,500	11/12	29	7,250	8/9.3	7	1,591
11/13	22	5,500	12/12	9	2,250	9/9.3	4	0,909
12/13	25	6,250	8/13	1	0,250	6/10	25	5,682
13/13	1	0,250	9/13	1	0,250	7/10	22	5,000
10/14	3	0,750	10/13	1	0,250	8/10	7	1,591
11/14	2	0,500	11/13	1	0,250	9/10	11	2,500
12/14	2	0,500				11/10	1	0,227
13/14	1	0,250				6/11	1	0,227
						7/11	1	0,227
						8/11	1	0,227
						10/11	1	0,227

Continuación de tabla anterior...

D16S539			F13A01			F13B		
N = 389			N = 332			N = 216		
Fenotipo	Contaje	Frecuencia	Fenotipo	Contaje	Frecuencia	Fenotipo	Contaje	Frecuencia
8/9	7	1,799	3.2/3.2	1	0,301	6/8	4	1,852
9/9	14	3,599	3.2/4	7	1,799	7/8	4	1,852
7/10	1	0,257	4/4	19	4,884	8/8	1	0,463
8/10	5	1,285	3.2/5	17	4,370	6/9	7	3,241
9/10	33	8,483	4/5	30	7,712	7/9	4	1,852
10/10	13	3,342	5/5	9	2,314	8/9	29	13,426
8/11	7	1,799	3.2/6	24	6,170	9/9	8	3,704
9/11	32	8,226	4/6	30	7,712	6/10	14	6,481
10/11	39	10,026	5/6	20	5,141	7/10	7	3,241
11/11	17	4,370	6/6	8	2,057	8/10	38	17,593
8/12	1	0,257	3.2/7	20	5,141	9/10	65	30,093
9/12	42	10,797	4/7	34	8,740	10/10	26	12,037
10/12	47	12,082	5/7	37	9,512	7/11	1	0,463
11/12	36	9,254	6/7	20	5,141	10/11	6	2,778
12/12	31	7,969	7/7	20	5,141	11/11	1	0,463
8/13	1	0,257	3.2/8	2	0,514	10/12	1	0,463
9/13	10	2,571	4/8	4	1,028		216	100,000
10/13	11	2,828	5/8	5	1,285			
11/13	17	4,370	6/8	1	0,257			
12/13	16	4,113	7/8	3	0,771			
13/13	1	0,257	8/8	1	0,257			
9/14	2	0,514	4/9	1	0,257			
10/14	1	0,257	6/9	1	0,257			
11/14	4	1,028	7/11	2	0,514			
12/14	1	0,257	8/11	1	0,257			
	389	100,000	11/11	1	0,257			
			11/12	1	0,257			
			4/13	2	0,514			
			5/13	2	0,514			
			3.2/14	2	0,514			
			4/14	3	0,771			
			5/14	1	0,257			
			6/14	1	0,257			
			7/14	2	0,514			

Continuación de tabla anterior...

LPL			VWA			HPRTB		
N = 320			N = 400			N = 121		
Fenotipo	Contaje	Frecuencia	Fenotipo	Contaje	Frecuencia	Fenotipo	Contaje	Frecuencia
8/8	1	0,313	14/15	1	0,250	7/7	1	0,826
9/9	1	0,313	15/15	1	0,250	9/9	1	0,826
7/10	1	0,313	13/16	1	0,250	9/10	1	0,826
8/10	1	0,313	14/16	9	2,250	10/10	1	0,826
9/10	14	4,375	15/16	21	5,250	7/11	1	0,826
10/10	87	27,188	16/16	61	15,250	10/11	2	1,653
9/11	3	0,938	13/17	1	0,250	11/11	1	0,826
10/11	80	25,000	14/17	7	1,750	8/12	1	0,826
11/11	8	2,500	15/17	19	4,750	9/12	1	0,826
9/12	4	1,250	16/17	109	27,250	10/12	3	2,479
10/12	72	22,500	17/17	33	8,250	11/12	8	6,612
11/12	28	8,750	14/18	4	1,000	12/12	7	5,785
12/12	8	2,500	15/18	8	2,000	9/13	1	0,826
10/13	4	1,250	16/18	37	9,250	11/13	5	4,132
11/13	1	0,313	17/18	33	8,250	12/13	18	14,876
12/13	2	0,625	18/18	14	3,500	13/13	5	4,132
10/14	2	0,625	14/19	1	0,250	9/14	1	0,826
11/14	1	0,313	15/19	1	0,250	11/14	7	5,785
13/14	1	0,313	16/19	12	3,000	12/14	16	13,223
14/14	1	0,313	17/19	9	2,250	13/14	14	11,570
			18/19	6	1,500	14/14	4	3,306
			19/19	1	0,250	11/15	1	0,826
			16/20	7	1,750	12/15	3	2,479
			17/20	2	0,500	13/15	8	6,612
			18/20	1	0,250	14/15	2	1,653
			19/20	1	0,250	15/15	5	4,132
						13/16	1	0,826
						14/16	1	0,826
						16/16	1	0,826

Continuación de tabla anterior

D13S317			D5S818			D7S820		
N = 300			N = 300			N = 300		
Fenotipo	Contaje	Frecuencia	Fenotipo	Contaje	Frecuencia	Fenotipo	Contaje	Frecuencia
8/8	1	0,300	7/7	2	0,600	8/8	3	0,900
8/9	3	0,900	7/8	3	0,900	7/9	1	0,300
9/9	11	3,300	8/8	1	0,300	8/9	1	0,300
8/10	14	4,200	7/9	9	2,700	9/9	1	0,300
9/10	6	1,800	8/9	2	0,600	8/10	10	3,000
10/10	14	4,200	7/10	2	0,600	9/10	10	3,000
8/11	2	0,600	8/10	1	0,300	10/10	18	5,400
9/11	4	1,200	10/10	1	0,300	7/11	1	0,300
10/11	17	5,100	7/11	33	9,900	8/11	9	2,700
11/11	13	3,900	8/11	4	1,200	9/11	17	5,100
8/12	6	1,800	9/11	26	7,800	10/11	48	14,400
9/12	12	3,600	10/11	13	3,900	11/11	21	6,300
10/12	29	8,700	11/11	59	17,700	7/12	1	0,300
11/12	13	3,900	7/12	11	3,300	8/12	12	3,600
12/12	30	9,000	8/12	3	0,900	9/12	12	3,600
8/13	12	3,600	9/12	9	2,700	10/12	39	11,700
9/13	10	3,000	10/12	11	3,300	11/12	37	11,100
10/13	16	4,800	11/12	45	13,500	12/12	29	8,700
11/13	9	2,700	12/12	9	2,700	10/13	8	2,400
12/13	6	1,800	7/13	4	1,200	11/13	7	2,100
13/13	16	4,800	8/13	1	0,300	12/13	7	2,100
8/14	5	1,500	9/13	6	1,800	13/13	1	0,300
9/14	3	0,900	10/13	2	0,600	11/14	3	0,900
10/14	17	5,100	11/13	22	6,600	12/14	3	0,900
11/14	5	1,500	12/13	15	4,500	13/15	1	0,300
12/14	6	1,800	13/13	4	1,200		300	
13/14	12	3,600	11/14	1	0,300			
14/15	8	2,400	12/14	1	0,300			

Tabla 29. PD y PE acumulativos observados con 7 STRs autonómicos en población kichwa

Alelo	PD _{cum}	PE _{cum}
TPOX	0,753800	0,306500
TH01	0,953074	0,575301
D5S818	0,991821	0,751041
D7S820	0,998844	0,863620
CSF1PO	0,999838	0,925700
D16S539	0,999984	0,966677
D13S317	0,999999	0,988870
Total	0,9999991470	0,9888699900

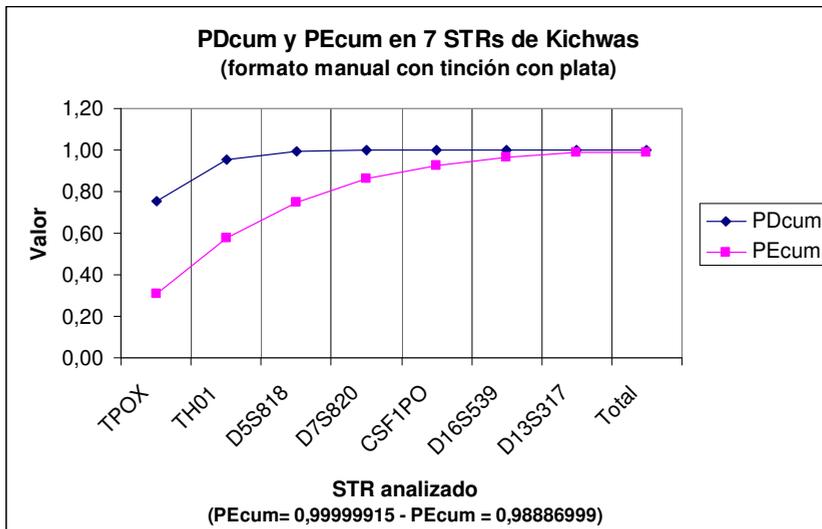


Gráfico 26. Curva acumulativa del PD y PE con 7 STRs

Tabla 30. PD y PE acumulativos observados con 12 STRs autonómicos en población mestiza

Alelo	PE _{cum}	PD _{cum}
LPL	0,38140000	0,80160000
TPOX	0,62160238	0,96333568
F13B	0,79733023	0,99400172
VWA	0,89607094	0,99922442
CSF1PO	0,94768211	0,99990406
TH01	0,97555708	0,99999029
D5S818	0,98881248	0,99999907
D7S820	0,99490520	0,99999992
D16S539	0,99791878	0,99999999
F13A01	0,99922017	0,99999999
HPRTB	0,99970889	0,99999999
D13S317	0,99990568	0,99999999
Total	0,9999056796	0,9999999941

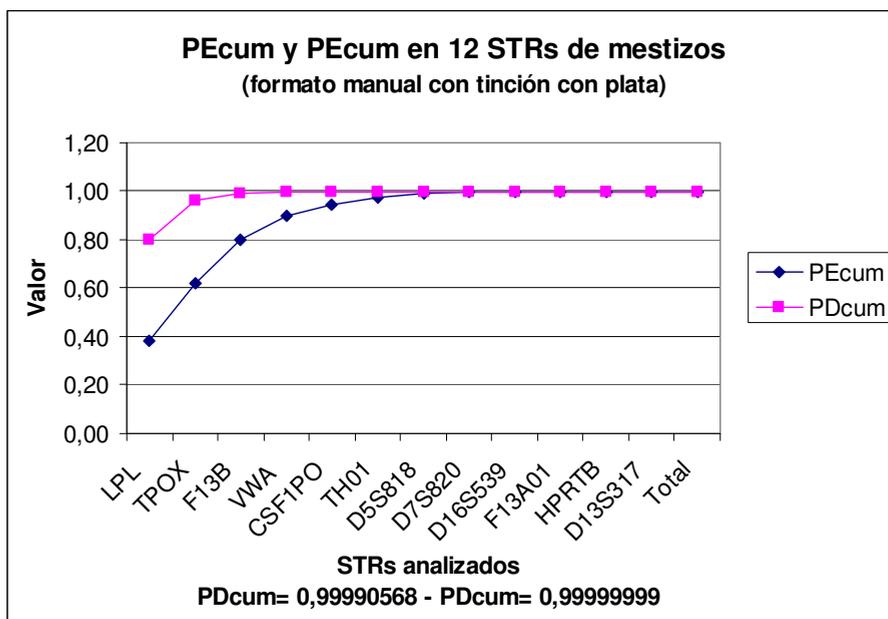


Gráfico 27 Curva acumulativa de PD y PE con 12 STRs

Tabla 31. PD y PE acumulativos observados con 15 STRs autosómicos en población kichwa

Alelo	PE _{cum}	PD _{cum}
Penta E	0,82150000	0,98240000
FGA	0,95553565	0,99946144
D18S51	0,98759889	0,99997765
D21S11	0,99611969	0,99999895
D13S317	0,99870087	0,99999994
Penta D	0,99954829	0,9999999971
D8S1179	0,99981905	0,9999999997
D16S539	0,99992632	0,9999999998
TH01	0,99996516	0,99999999998
D7S820	0,99998353	0,99999999999
VWA	0,99999196	0,99999999999
D5S818	0,99999602	0,99999999999
CSF1PO	0,99999789	0,99999999999
D3S1358	0,99999885	0,99999999999
TPOX	0,99999925	0,99999999999
Total	0,99999925	0,99999999999

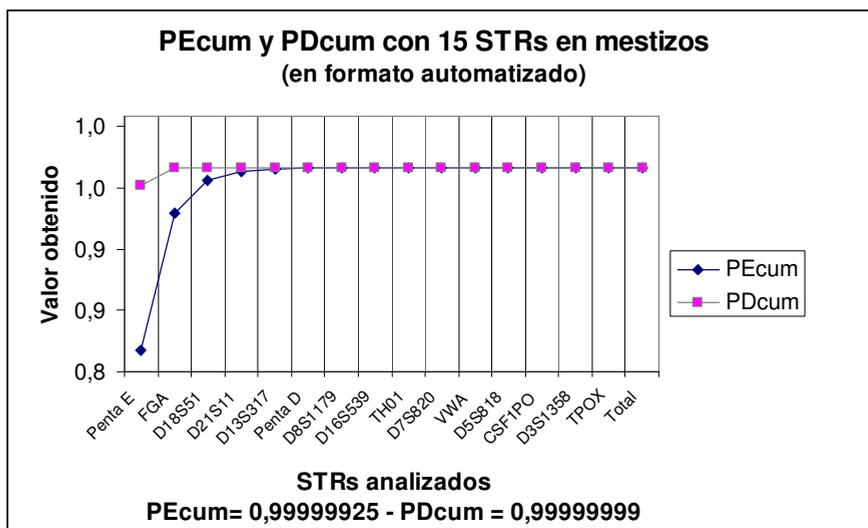


Gráfico 28 Curva acumulativa de PE y PD con 15 STRs

Las frecuencias alélicas de cada STR analizado del Cromosoma “Y”, se muestran en la siguiente tabla, los haplotipos más frecuentes en la subsiguiente. La diversidad haplotípica observada está en el rango entre 0.997 y 0.999.

Tabla 32. Frecuencias alélicas y diversidad genética de marcadores STRs del Cromosoma “Y” según el grupo étnico analizado. GenDiv: diversidad genética

Marcador genético	Mestizos (n= 102)	Kichwas (n=102)	Negros (n = 102)
DYS 19			
12	0,01961	0,02941	0,17647
13	0,32353	0,60784	0,20588
14	0,45098	0,21569	0,31373
15	0,16667	0,09804	0,14706
16	0,03922	0,03922	0,15686
18	-	0,00980	-
GenDiv	0.668802	0,577558	0.789555
DYS 385 a			
9	-	0,00980	-
10	0,00490	-	0,00490
11	0,18137	0,02941	0,07353
12	0,09314	0,07843	0,0341
13	0,10294	0,04902	0,04412
14	0,25980	0,27451	0,13235
15	0,08824	0,20098	0,15686
16	0,06863	0,08824	0,18137
17	0,10784	0,09804	0,18627
18	0,04412	0,05882	0,11765
19	0,03431	0,07843	0,04412
20	0,00980	0,02451	0,01961
21	0,00490	0,00980	0,00490
GenDiv	0.767230	0,860610	0.839643
DYS 385 b			
9		0,00980	
10	0,00490	-	0,00490
11	0,18137	0,02941	0,07353
12	0,09314	0,07843	0,0341
13	0,10294	0,04902	0,04412
14	0,25980	0,27451	0,13235
15	0,08824	0,20098	0,15686
16	0,06863	0,08824	0,18137
17	0,10784	0,09804	0,18627
18	0,04412	0,05882	0,11765
19	0,03431	0,07843	0,04412
20	0,00980	0,02451	0,01961
21	0,00490	0,00980	0,00490
GenDiv	0.767230	0,860610	0.839643

Continuación...

DYS 389 I			
12	0,15686	0,18627	0,12745
13	0,60784	0,60784	0,63725
14	0,22549	0,20588	0,23529
15	0,00980		
GenDiv	0.560474	0,558921	0.527470
DYS 389 II			
27	0,01961	-	-
28	0,78430	0,04902	0,07843
29	0,38235	0,24510	0,16667
30	0,36275	0,35294	0,41176
31	0,10784	0,28431	0,30392
32	0,04902	0,06831	0,03922
GenDiv	0.708600	0,734615	0.709571
DYS 390			
20	-	-	0,00980
21	0,01961	0,00980	0,41176
22	0,05882	0,03922	0,09804
23	0,21569	0,20588	0,12745
24	0,60784	0,57843	0,24510
25	0,0984	0,16667	0,09804
26			0,00980
GenDiv	0.576199	0.599495	0.741992
DYS 437			
13	0,06863	0,00980	0,04902
14	0,57843	0,82353	0,70588
15	0,31373	0,12745	0,18627
16	0,03922	0,03922	0,03922
17			0,01961
GenDiv	0.566298	0,306931	0.467288
DYS 438			
8		0,09800	0,02941
9	0,12745	0,04902	0,19610
10	0,21569	0,09804	0,14706
11	0,19608	0,70588	0,55882
12	0,45098	0,13725	0,24510
18	0,00980		
GenDiv	0.702194	0,475442	0.610755
DYS 439			
9	0,00980	0,02941	
10	0,01961	-	0,03922
11	0,29412	0,31373	0,32353
12	0,49020	0,51961	0,50980
13	0,16667	0,12745	0,12745
14	0,00980	0,00980	
15	0,00980		
GenDiv	0.651136	0,620462	0.623762

Tabla No. 33 Distribución de todos los haplotipos del cromosoma “Y” analizados en el presente trabajo y observados en grupos étnicos ecuatorianos

Código	Haplotipo en Población Mestiza	No. Obser.	Frecuencia
	391/ 389 I/439/389 II/438/437/ 19/392/393/390/ 385a/385b		
M1	10/12/11/28/10/14/15/12/15/23/16/15	2	0,01961
M2	10/13/12/30/11/13/15/11/15/21/16/17	2	0,01961
M3	10/13/12/30/11/14/16/11/14/21/15/18	2	0,01961
M4	10/13/12/31/11/14/15/11/13/21/15/17	2	0,01961
M5	10/13/12/31/11/14/15/11/15/21/17/18	2	0,01961
M6	10/13/13/29/12/15/14/13/13/23/11/18	2	0,01961
M7	10/13/13/30/12/14/17/11/15/21/16/18	2	0,01961
M8	10/14/11/31/11/14/15/11/13/21/15/16	2	0,01961
M9	11/13/12/29/12/15/14/13/13/25/11/14	2	0,01961
M10	11/13/12/31/11/14/15/11/13/21/16/17	2	0,01961
M11	11/14/11/30/11/14/17/11/14/21/17/18	2	0,01961
M12	13/13/12/28/12/15/14/13/13/24/11/14	2	0,01961
M13	9/13/10/30/10/14/13/11/13/24/13/14	2	0,01961
M14	10/12/11/28/11/16/16/11/14/22/14/15	1	0,00980
M15	10/12/12/29/11/14/13/14/13/25/14/17	1	0,00980
M16	10/12/12/29/12/14/13/15/13/23/15/16	1	0,00980
M17	10/12/12/31/12/14/13/14/13/24/13/19	1	0,00980
M18	10/12/13/29/11/13/13/14/13/24/13/18	1	0,00980
M19	10/13/11/29/12/15/14/13/13/22/12/14	1	0,00980
M20	10/13/11/29/12/15/16/13/13/23/11/15	1	0,00980
M21	10/13/11/30/10/14/13/11/13/24/16/17	1	0,00980
M22	10/13/11/30/10/16/15/11/14/23/13/15	1	0,00980
M23	10/13/11/30/11/13/17/11/13/21/17/18	1	0,00980
M24	10/13/11/30/11/14/13/14/14/23/12/16	1	0,00980
M25	10/13/11/30/11/14/13/14/14/24/12/16	1	0,00980
M26	10/13/11/30/11/14/15/11/13/21/15/16	1	0,00980
M27	10/13/11/31/11/13/15/11/14/21/16/17	1	0,00980
M28	10/13/11/31/11/14/15/11/13/21/16/17	1	0,00980
M29	10/13/11/31/11/14/16/11/15/21/17/19	1	0,00980
M30	10/13/11/31/12/14/17/11/15/21/17/18	1	0,00980
M31	10/13/11/32/11/14/16/11/13/21/15/19	1	0,00980
M32	10/13/12/30/10/14/13/11/13/24/16/18	1	0,00980
M33	10/13/12/30/11/14/14/11/14/24/14/18	1	0,00980
M34	10/13/12/30/11/14/14/13/14/24/15/15	1	0,00980
M35	10/13/12/30/11/14/15/11/13/21/16/17	1	0,00980
M36	10/13/12/30/11/14/16/12/15/21/17/20	1	0,00980
M37	10/13/12/30/11/14/17/11/13/22/16/17	1	0,00980

M38	10/13/12/30/11/14/17/11/14/20/15/18	1	0,00980
M39	10/13/12/30/11/14/17/11/14/21/17/15	1	0,00980
M40	10/13/12/30/11/14/17/11/14/21/17/19	1	0,00980
M41	10/13/12/30/11/14/17/11/15/21/15/18	1	0,00980
M42	10/13/12/30/8/16/15/11/12/24/13/14	1	0,00980
M43	10/13/12/31/11/14/15/11/13/21/16/17	1	0,00980
M44	10/13/12/31/11/14/15/11/14/21/15/19	1	0,00980
M45	10/13/12/31/11/14/15/12/13/21/16/17	1	0,00980
M46	10/13/12/32/11/14/15/11/14/21/15/20	1	0,00980
M47	10/13/13/30/10/14/14/11/12/23/13/14	1	0,00980
M48	10/13/13/30/11/14/15/12/13/22/15/17	1	0,00980
M49	10/13/13/30/11/14/17/11/13/22/16/17	1	0,00980
M50	10/13/13/31/11/14/15/11/14/21/16/17	1	0,00980
M51	10/14/10/31/11/14/16/11/14/22/17/14	1	0,00980
M52	10/14/11/31/10/14/13/11/13/24/16/18	1	0,00980
M53	10/14/11/31/11/15/13/14/12/25/14/15	1	0,00980
M54	10/14/12/31/10/16/15/11/11/23/14/16	1	0,00980
M55	10/14/12/31/11/14/15/11/14/24/15/16	1	0,00980
M56	10/14/12/31/11/14/16/11/14/21/16/18	1	0,00980
M57	10/14/12/31/11/14/16/11/14/21/17/19	1	0,00980
M58	10/14/12/31/11/14/17/11/14/21/17/14	1	0,00980
M59	10/14/12/31/11/14/17/11/14/21/17/19	1	0,00980
M60	10/14/12/31/12/14/17/11/15/21/17/18	1	0,00980
M61	10/14/12/31/12/15/13/13/13/24/11/14	1	0,00980
M62	10/14/12/32/11/14/15/11/13/21/16/17	1	0,00980
M63	10/14/13/30/12/14/14/13/14/25/14/16	1	0,00980
M64	10/14/13/31/11/14/14/14/13/24/13/18	1	0,00980
M65	11/12/11/28/11/15/14/11/13/25/14/17	1	0,00980
M66	11/12/11/29/8/17/16/11/13/22/15/16	1	0,00980
M67	11/12/11/30/11/15/16/11/13/25/11/14	1	0,00980
M68	11/12/12/28/11/14/14/11/13/24/15/20	1	0,00980
M69	11/12/12/28/12/15/14/13/13/25/11/15	1	0,00980
M70	11/12/12/29/10/17/15/11/13/22/14/14	1	0,00980
M71	11/13/11/29/12/15/14/13/13/26/12/15	1	0,00980
M72	11/13/11/29/9/15/16/11/12/23/12/16	1	0,00980
M73	11/13/11/30/11/14/15/11/14/21/15/17	1	0,00980
M74	11/13/11/30/12/15/14/13/13/24/22/16	1	0,00980
M75	11/13/11/30/8/14/13/14/15/24/15/16	1	0,00980
M76	11/13/11/30/9/14/14/11/13/22/12/15	1	0,00980
M77	11/13/12/29/12/15/15/13/13/24/11/14	1	0,00980
M78	11/13/12/30/10/14/14/11/13/24/19/20	1	0,00980
M79	11/13/12/30/11/14/13/14/13/23/14/17	1	0,00980
M80	11/13/12/30/12/14/16/11/15/21/17/18	1	0,00980

M81	11/13/12/30/12/14/16/14/13/24/11/15	1	0,00980
M82	11/13/12/30/12/15/15/13/13/25/10/11	1	0,00980
M83	11/13/13/29/12/15/14/13/12/22/11/14	1	0,00980
M84	11/14/11/31/11/14/13/14/13/24/14/19	1	0,00980
M85	11/14/12/29/10/14/15/13/14/25/11/16	1	0,00980
M86	11/14/12/32/11/14/17/11/15/21/17/18	1	0,00980
M87	11/14/13/31/12/14/13/15/13/23/13/16	1	0,00980
M88	9/14/10/30/10/14/13/11/13/24/14/16	1	0,00980
M89	9/14/11/29/10/14/14/11/12/24/12/18	1	0,00980

Continuación...

Código	Haplotipos en Población Kichwa 391/ 389 I/439/389II/438/437/ 19/392 /393/390/ 385a/385b	No. Obser.	Frecuencia
K1	10/13/12/30/11/14/13/13/13/24/14/14	3	0,02941
K2	10/12/11/31/11/16/15/18/13/24/14/14	2	0,01961
K3	10/13/11/29/9/14/15/14/13/23/14/15	2	0,01961
K4	10/13/11/30/10/15/16/13/14/25/19/19	2	0,01961
K5	10/13/12/29/11/14/13/14/13/24/15/16	2	0,01961
K6	10/13/12/29/11/14/14/15/14/25/14/20	2	0,01961
K7	10/13/12/31/11/14/14/14/13/25/15/17	2	0,01961
K8	11/12/11/29/12/15/14/13/13/24/12/14	2	0,01961
K9	11/14/12/31/11/14/13/14/13/24/19/19	2	0,01961
K10	11/14/9/30/11/14/15/12/13/24/9/21	2	0,01961
K11	10/12/11/28/10/16/14/11/13/22/14/14	1	0,00980
K12	10/12/11/28/9/14/13/14/14/24/15/15	1	0,00980
K13	10/12/11/29/10/16/15/11/13/22/12/17	1	0,00980
K14	10/12/11/30/11/14/13/14/13/25/14/17	1	0,00980
K15	10/12/11/31/12/14/13/15/13/24/15/16	1	0,00980
K16	10/12/12/28/11/14/13/14/13/24/14/16	1	0,00980
K17	10/12/12/31/12/14/14/15/13/24/15/15	1	0,00980
K18	10/12/13/30/11/14/13/14/14/24/12/17	1	0,00980
K19	10/12/13/31/11/14/13/13/13/24/16/18	1	0,00980
K20	10/13/11/29/11/14/14/14/13/24/16/19	1	0,00980
K21	10/13/11/29/11/15/13/14/13/23/15/15	1	0,00980
K22	10/13/11/30/11/14/13/14/13/24/14/18	1	0,00980
K23	10/13/11/30/8/14/13/14/15/25/15/18	1	0,00980
K24	10/13/11/31/11/14/13/14/14/24/14/15	1	0,00980
K25	10/13/11/31/12/14/14/14/13/24/15/18	1	0,00980
K26	10/13/12/28/11/14/18/15/13/24/14/14	1	0,00980
K27	10/13/12/29/11/14/13/13/13/24/14/14	1	0,00980
K28	10/13/12/29/11/14/13/14/13/24/14/15	1	0,00980
K29	10/13/12/29/11/14/13/14/15/25/14/16	1	0,00980
K30	10/13/12/29/11/15/13/14/14/24/14/17	1	0,00980

K31	10/13/12/29/9/14/13/14/15/23/14/17	1	0,00980
K32	10/13/12/30/10/13/12/14/13/23/15/17	1	0,00980
K33	10/13/12/30/10/14/13/11/13/23/16/17	1	0,00980
K34	10/13/12/30/11/14/12/14/14/24/12/14	1	0,00980
K35	10/13/12/30/11/14/13/12/13/24/13/17	1	0,00980
K36	10/13/12/30/11/14/13/14/13/23/15/15	1	0,00980
K37	10/13/12/30/11/14/13/14/13/24/15/15	1	0,00980
K38	10/13/12/30/11/14/13/14/13/24/16/16	1	0,00980
K39	10/13/12/30/11/14/13/15/13/23/15/17	1	0,00980
K40	10/13/12/30/11/14/13/17/13/24/14/14	1	0,00980
K41	10/13/12/31/10/14/13/11/13/23/15/17	1	0,00980
K42	10/13/12/31/11/14/13/14/11/24/14/17	1	0,00980
K43	10/13/12/31/11/14/13/14/14/23/12/17	1	0,00980
K44	10/13/12/31/11/14/13/14/14/25/14/18	1	0,00980
K45	10/13/13/30/11/14/13/15/13/24/14/15	1	0,00980
K46	10/13/13/31/11/14/13/13/12/24/13/15	1	0,00980
K47	10/13/14/30/12/14/13/15/14/24/14/18	1	0,00980
K48	10/14/11/30/11/14/13/14/13/24/14/16	1	0,00980
K49	10/14/11/30/11/14/14/14/13/23/14/15	1	0,00980
K50	10/14/11/31/11/14/13/14/13/23/15/18	1	0,00980
K51	10/14/12/30/11/14/13/15/13/24/11/18	1	0,00980
K52	10/14/12/31/11/14/13/14/13/24/14/19	1	0,00980
K53	10/14/12/31/11/14/13/14/13/24/14/20	1	0,00980
K54	10/14/12/32/11/14/14/14/13/23/14/16	1	0,00980
K55	10/14/12/32/9/14/14/14/13/24/13/19	1	0,00980
K56	10/14/13/31/11/14/13/14/13/23/13/17	1	0,00980
K57	10/14/13/31/11/14/13/16/14/23/14/18	1	0,00980
K58	10/14/13/31/11/14/13/16/14/23/15/19	1	0,00980
K59	11/12/12/28/11/15/14/14/13/22/15/17	1	0,00980
K60	11/12/12/29/12/15/15/13/13/24/11/14	1	0,00980
K61	11/12/12/30/11/14/13/14/14/24/16/18	1	0,00980
K62	11/13/11/29/11/15/15/15/13/25/15/15	1	0,00980
K63	11/13/11/30/11/14/13/14/13/24/13/20	1	0,00980
K64	11/13/11/30/11/14/14/14/13/24/15/16	1	0,00980
K65	11/13/11/31/11/14/14/14/13/24/13/20	1	0,00980
K66	11/13/11/32/11/14/13/15/14/24/12/17	1	0,00980
K67	11/13/12/29/11/14/13/14/14/25/14/15	1	0,00980
K68	11/13/12/29/12/14/14/13/13/24/11/14	1	0,00980
K69	11/13/12/29/12/15/14/13/13/25/11/14	1	0,00980
K70	11/13/12/30/11/14/13/14/13/23/14/16	1	0,00980
K71	11/13/12/30/11/14/13/14/13/24/12/16	1	0,00980
K72	11/13/13/29/12/15/14/13/13/24/11/14	1	0,00980
K73	11/13/13/31/11/14/13/14/14/24/12/17	1	0,00980

K74	11/14/11/30/12/15/14/13/13/24/11/14	1	0,00980
K75	11/14/12/30/11/14/13/14/13/25/13/19	1	0,00980
K76	11/14/12/31/11/14/13/14/13/24/13/19	1	0,00980
K77	11/14/13/31/11/14/13/15/13/24/12/17	1	0,00980
K78	11/14/13/32/11/15/13/14/13/24/13/19	1	0,00980
K79	11/14/9/32/11/14/13/14/14/23/14/16	1	0,00980
K80	12/12/12/31/12/14/15/15/13/23/12/15	1	0,00980
K81	9/12/11/29/11/14/13/14/14/23/14/18	1	0,00980
K82	9/12/11/29/12/14/13/15/13/23/15/16	1	0,00980
K83	9/13/11/29/11/14/12/13/14/25/15/15	1	0,00980
K84	9/13/11/30/12/14/14/13/15/24/14/15	1	0,00980
K85	9/13/12/30/10/14/16/11/13/21/12/12	1	0,00980
K86	9/13/12/30/11/14/13/13/13/24/14/14	1	0,00980
K87	9/13/12/31/11/14/14/14/13/25/15/17	1	0,00980
K88	9/13/12/32/10/14/13/11/13/22/13/15	1	0,00980
K89	9/13/12/32/11/14/13/14/14/25/12/19	1	0,00980
K90	9/13/13/30/10/14/16/11/13/24/12/12	1	0,00980
K91	9/13/13/31/11/14/13/13/13/24/14/18	1	0,00980

Continuación...

	Haplotipos en Población Negra	No. Obser.	Frecuencia
	391/ 389 I/439/389 II/438/437/ 19/392/393/390/ 385a/385b		
N1	10/12/11/28/10/14/15/12/15/23/16/15	2	0,01961
N2	10/13/12/30/11/13/15/11/15/21/16/17	2	0,01961
N3	10/13/12/30/11/14/16/11/14/21/15/18	2	0,01961
N4	10/13/12/31/11/14/15/11/13/21/15/17	2	0,01961
N5	10/13/12/31/11/14/15/11/15/21/17/18	2	0,01961
N6	10/13/13/29/12/15/14/13/13/23/11/18	2	0,01961
N7	10/13/13/30/12/14/17/11/15/21/16/18	2	0,01961
N8	10/14/11/31/11/14/15/11/13/21/15/16	2	0,01961
N9	11/13/12/29/12/15/14/13/13/25/11/14	2	0,01961
N10	11/13/12/31/11/14/15/11/13/21/16/17	2	0,01961
N11	11/14/11/30/11/14/17/11/14/21/17/18	2	0,01961
N12	13/13/12/28/12/15/14/13/13/24/11/14	2	0,01961
N13	9/13/10/30/10/14/13/11/13/24/13/14	2	0,01961
N14	10/12/11/28/11/16/16/11/14/22/14/15	1	0,00980
N15	10/12/12/29/11/14/13/14/13/25/14/17	1	0,00980
N16	10/12/12/29/12/14/13/15/13/23/15/16	1	0,00980

N17	10/12/12/31/12/14/13/14/13/24/13/19	1	0,00980
N18	10/12/13/29/11/13/13/14/13/24/13/18	1	0,00980
N19	10/13/11/29/12/15/14/13/13/22/12/14	1	0,00980
N20	10/13/11/29/12/15/16/13/13/23/11/15	1	0,00980
N21	10/13/11/30/10/14/13/11/13/24/16/17	1	0,00980
N22	10/13/11/30/10/16/15/11/14/23/13/15	1	0,00980
N23	10/13/11/30/11/13/17/11/13/21/17/18	1	0,00980
N24	10/13/11/30/11/14/13/14/14/23/12/16	1	0,00980
N25	10/13/11/30/11/14/13/14/14/24/12/16	1	0,00980
N26	10/13/11/30/11/14/15/11/13/21/15/16	1	0,00980
N27	10/13/11/31/11/13/15/11/14/21/16/17	1	0,00980
N28	10/13/11/31/11/14/15/11/13/21/16/17	1	0,00980
N29	10/13/11/31/11/14/16/11/15/21/17/19	1	0,00980
N30	10/13/11/31/12/14/17/11/15/21/17/18	1	0,00980
N31	10/13/11/32/11/14/16/11/13/21/15/19	1	0,00980
N32	10/13/12/30/10/14/13/11/13/24/16/18	1	0,00980
N33	10/13/12/30/11/14/14/11/14/24/14/18	1	0,00980
N34	10/13/12/30/11/14/14/13/14/24/15/15	1	0,00980
N35	10/13/12/30/11/14/15/11/13/21/16/17	1	0,00980
N36	10/13/12/30/11/14/16/12/15/21/17/20	1	0,00980
N37	10/13/12/30/11/14/17/11/13/22/16/17	1	0,00980
N38	10/13/12/30/11/14/17/11/14/20/15/18	1	0,00980
N39	10/13/12/30/11/14/17/11/14/21/17/15	1	0,00980
N40	10/13/12/30/11/14/17/11/14/21/17/19	1	0,00980
N41	10/13/12/30/11/14/17/11/15/21/15/18	1	0,00980
N42	10/13/12/30/8/16/15/11/12/24/13/14	1	0,00980
N43	10/13/12/31/11/14/15/11/13/21/16/17	1	0,00980
N44	10/13/12/31/11/14/15/11/14/21/15/19	1	0,00980
N45	10/13/12/31/11/14/15/12/13/21/16/17	1	0,00980
N46	10/13/12/32/11/14/15/11/14/21/15/20	1	0,00980
N47	10/13/13/30/10/14/14/11/12/23/13/14	1	0,00980
N48	10/13/13/30/11/14/15/12/13/22/15/17	1	0,00980
N49	10/13/13/30/11/14/17/11/13/22/16/17	1	0,00980
N50	10/13/13/31/11/14/15/11/14/21/16/17	1	0,00980
N51	10/14/10/31/11/14/16/11/14/22/17/14	1	0,00980
N52	10/14/11/31/10/14/13/11/13/24/16/18	1	0,00980
N53	10/14/11/31/11/15/13/14/12/25/14/15	1	0,00980

N54	10/14/12/31/10/16/15/11/11/23/14/16	1	0,00980
N55	10/14/12/31/11/14/15/11/14/24/15/16	1	0,00980
N56	10/14/12/31/11/14/16/11/14/21/16/18	1	0,00980
N57	10/14/12/31/11/14/16/11/14/21/17/19	1	0,00980
N58	10/14/12/31/11/14/17/11/14/21/17/14	1	0,00980
N59	10/14/12/31/11/14/17/11/14/21/17/19	1	0,00980
N60	10/14/12/31/12/14/17/11/15/21/17/18	1	0,00980
N61	10/14/12/31/12/15/13/13/13/24/11/14	1	0,00980
N62	10/14/12/32/11/14/15/11/13/21/16/17	1	0,00980
N63	10/14/13/30/12/14/14/13/14/25/14/16	1	0,00980
N64	10/14/13/31/11/14/14/14/13/24/13/18	1	0,00980
N65	11/12/11/28/11/15/14/11/13/25/14/17	1	0,00980
N66	11/12/11/29/8/17/16/11/13/22/15/16	1	0,00980
N67	11/12/11/30/11/15/16/11/13/25/11/14	1	0,00980
N68	11/12/12/28/11/14/14/11/13/24/15/20	1	0,00980
N69	11/12/12/28/12/15/14/13/13/25/11/15	1	0,00980
N70	11/12/12/29/10/17/15/11/13/22/14/14	1	0,00980
N71	11/13/11/29/12/15/14/13/13/26/12/15	1	0,00980
N72	11/13/11/29/9/15/16/11/12/23/12/16	1	0,00980
N73	11/13/11/30/11/14/15/11/14/21/15/17	1	0,00980
N74	11/13/11/30/12/15/14/13/13/24/22/16	1	0,00980
N75	11/13/11/30/8/14/13/14/15/24/15/16	1	0,00980
N76	11/13/11/30/9/14/14/11/13/22/12/15	1	0,00980
N77	11/13/12/29/12/15/15/13/13/24/11/14	1	0,00980
N78	11/13/12/30/10/14/14/11/13/24/19/20	1	0,00980
N79	11/13/12/30/11/14/13/14/13/23/14/17	1	0,00980
N80	11/13/12/30/12/14/16/11/15/21/17/18	1	0,00980
N81	11/13/12/30/12/14/16/14/13/24/11/15	1	0,00980
N82	11/13/12/30/12/15/15/13/13/25/10/11	1	0,00980
N83	11/13/13/29/12/15/14/13/12/22/11/14	1	0,00980
N84	11/14/11/31/11/14/13/14/13/24/14/19	1	0,00980
N85	11/14/12/29/10/14/15/13/14/25/11/16	1	0,00980
N86	11/14/12/32/11/14/17/11/15/21/17/18	1	0,00980
N87	11/14/13/31/12/14/13/15/13/23/13/16	1	0,00980
N88	9/14/10/30/10/14/13/11/13/24/14/16	1	0,00980
N89	9/14/11/29/10/14/14/11/12/24/12/18	1	0,00980

Continuación...

	Haplotipo en Población Waorani	No. Obser.	Frecuencia
	391/ 389 I/439/389 II/438/437/ 19/392/393/390/ 385a/385b		
H1	10/12/12/30/11/15/13/14/14/25/14/19	1	0,16666667
H2	10/12/12/30/12/14/14/15/12/23/14/16	1	0,16666667
H3	10/13/10/28/11/14/13/14/13/23/15/15	1	0,16666667
H4	10/13/11/30/12/14/14/15/13/23/14/16	1	0,16666667
H5	10/13/12/30/12/14/14/15/13/23/14/16	1	0,16666667
H6	10/13/13/30/12/14/14/15/13/23/14/16	1	0,16666667

Tabla 34. Haplotipos encontrados en más de dos individuos. Haplotipos que se observan más de una vez, frecuencia haplotípica más alta (observada 1 vez) = 3 (0.0294),
Fq= frecuencia; H= haplotipo

<i>Mestizos</i>														
H	N	Fq.	DY S 19	DYS 385 a	DYS 385 b	DYS 389 I	DYS 389 II	DYS 390	DYS 391	DYS 392	DYS 393	DYS 437	DYS 438	DYS 439
h1	2	0.0196	16	12	15	13	29	23	10	11	12	9	11	15
h2	2	0.0196	12	15	17	13	30	23	10	14	13	10	12	13
h3	2	0.0196	14	11	14	13	29	24	11	14	13	12	12	14
<i>Amerindios Kichwas</i>														
H	N	Fq.	DY S 19	DYS 385 a	DYS 385 b	DYS 389 I	DYS 389 II	DYS 390	DYS 391	DYS 392	DYS 393	DYS 437	DYS 438	DYS 439
h1	3	0.0196	14	15	17	13	31	25	10	14	13	14	11	12
h2	2	0.0196	15	14	14	12	31	24	10	18	13	16	11	11
h3	2	0.0196	15	14	15	13	29	23	10	14	13	14	9	11
h4	2	0.0196	16	19	19	13	30	25	10	13	14	15	10	11
h5	2	0.0196	13	15	16	13	29	24	10	14	13	14	11	12
h6	2	0.0196	14	14	20	13	29	25	10	15	14	14	11	12
h7	2	0.0294	13	14	14	13	30	24	10	13	13	14	11	12
h8	2	0.0196	14	12	14	12	29	24	11	13	13	15	12	11
h9	2	0.0196	15	9	21	14	30	24	11	12	13	14	11	9
h10	2	0.0196	13	19	19	14	31	24	11	14	13	14	11	12
<i>Negros</i>														
H	N	Fq.	DY S 19	DYS 385 a	DYS 385 b	DYS 389 I	DYS 389 II	DYS 390	DYS 391	DYS 392	DYS 393	DYS 437	DYS 438	DYS 439
h1	2	0.0196	13	13	14	13	30	24	9	11	13	10	10	14
h2	2	0.0196	15	16	15	12	28	23	10	12	15	10	11	14
h3	2	0.0196	15	16	17	13	30	21	10	11	15	11	12	13
h4	2	0.0196	16	15	18	13	30	21	10	11	14	11	12	14
h5	2	0.0196	15	15	17	13	31	21	10	11	13	11	12	14
h6	2	0.0196	15	17	18	13	31	21	10	11	15	11	12	14
h7	2	0.0294	14	11	18	13	29	23	10	13	13	12	13	15
h8	2	0.0196	17	16	18	13	30	21	10	11	15	12	13	14
h9	2	0.0196	15	15	16	14	31	21	10	11	13	11	11	14
h10	2	0.0196	14	11	14	13	29	25	11	13	13	12	12	15
h11	2	0.0294	15	16	17	13	31	21	11	11	13	11	12	14
h12	2	0.0196	17	17	18	14	30	21	11	11	14	11	11	14
h13	2	0.0196	14	11	14	13	28	24	13	13	13	12	12	15
<i>Waoranis</i>														
H	N	Fq.	DY S 19	DYS 385 a	DYS 385 b	DYS 389 I	DYS 389 II	DYS 390	DYS 391	DYS 392	DYS 393	DYS 437	DYS 438	DYS 439
H1	1	0.166667	13	14	19	12	30	25	10	14	14	15	11	12
H2	1	0.166667	14	14	16	13	30	23	10	15	13	14	12	13
H3	1	0.166667	14	14	16	13	30	23	10	15	13	14	12	11
h4	1	0.166667	13	15	15	13	28	23	10	14	13	14	11	10
h5	1	0.166667	14	14	16	12	30	23	10	15	12	14	12	12
h6	1	0.166667	14	14	16	13	30	23	10	15	13	14	12	12

Tabla 35. Información haplotípica de 12 STRs de Cromosoma “Y” en varios grupos étnicos

	Mestizos	Kichwas	Negros	Waoranis
Tamaño de la muestra	102	102	102	6
Número de haplotipos únicos	89	91	90	6
Diversidad haplotípica	0.999418	0.997670	0.997476	0.99999
Probabilidad de match randómica	0.000582	0.002330	0.002524	0.0001

Tabla 36. Diversidad genética intrapoblacional

	N	k	Hd	π	V
Kichwas	102	91	0,9977±0,0015	7,12±3,37	1,14±1,14
Mestizo	102	89	0,9994±0,0015	7,64±3,59	1,21±1,06
Afroecuatoriano	94	90	0,9989±0,0018	7,79±3,66	1,41±1,20
Waorani	6	6	1	5,87±3,26	0,55±0,53

N, tamaño de la muestra; k, número de haplotipos diferentes; Hd, diversidad del haplotipo; π , diferencias medias apareadas entre haplotipos; V, varianza de tamaño de repetición media.

Tabla 37. Coincidencias de haplotipo mínimo Y-STR para poblaciones ecuatorianas en la base de datos YHRD (versión 16).

	Kichwas	Mestizos	Negros	Huaoronies
Coincidencias americanos	5 (4,9%)	1 (1,0%)	0	0
1-s n. americanos	26 (25,5%)	10 (9,8%)	2 (2,1%)	0
Coincidencias europeos	12 (11,8%)	57 (55,9%)	18 (19,1%)	0
1-s n. Europa	2 (2,0%)	11 (10,8%)	7 (7,4%)	0
Coincidencias africanos	1 (1,0%)	1 (1,0%)	29 (30,9%)	0
1-s n. África	0	1 (1,0%)	7 (7,4%)	0
Coincidencias Asia central	1 (1,0%)	0	0	0
1-s n. Central Asia	1 (1,0%)	0	0	0
Coincidencias Pacífico	2 (2,0%)	0	0	0
Coincidencias Asia oriental	0	1 (1,0%)	0	0
1-s n. Asia oriental	0	1 (1,0%)	0	0
1-s n. Asia meridional	0	0	1 (1,1%)	0
Sin coincidencia	52 (51,0%)	19 (18,6%)	30 (31,9%)	6 (100%)

“1-s n.” quiere decir «one-step neighbours», es decir, haplotipos sin coincidencia perfecta pero con cromosomas en la base de datos que son diferentes solamente en una repetición en un *locus*. *Americanos* incluye nativos americanos y poblaciones hispánicas; *África* incluye africanos y poblaciones de descendientes de africanos que viven en América o Europa. El haplotipo mínimo comparado fue DYS19-389I-389II-390-391-392-393-385.

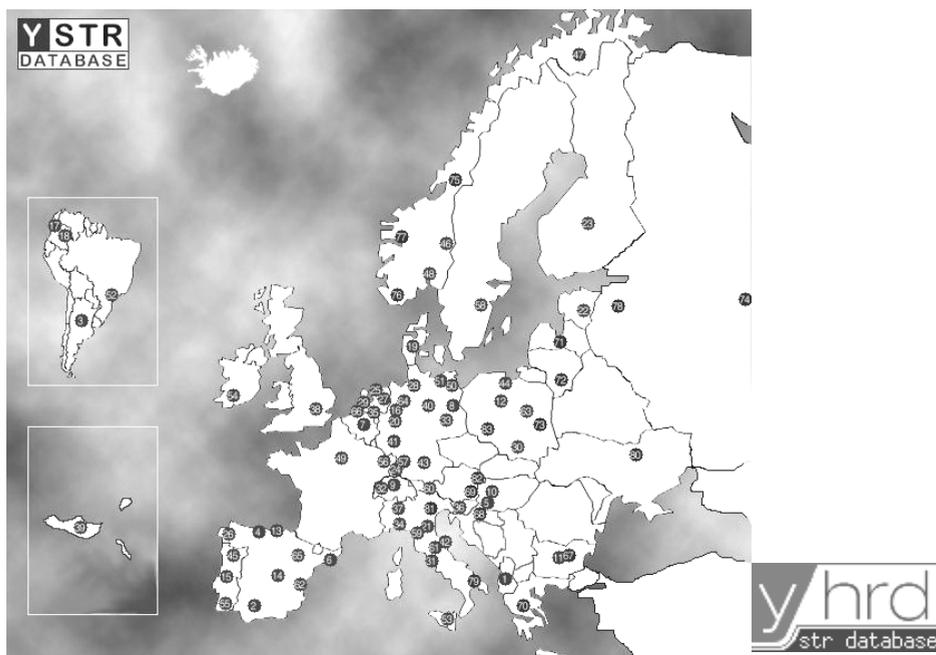


Gráfico 29 Base de datos de referencia de haplotipos del cromosoma Y-STR: a Enero del 2006) hubo registrados 38.761 haplotipos Y-STR en 316 poblaciones, con un promedio de 123 haplotipos por muestra. Los puntos negros representan las poblaciones estudiadas.

Tabla 38. Frecuencias inferidas del grupo haploide en poblaciones de Ecuador, por comparación de haplotipos STR con conjuntos de datos en los que se han tipado tanto los STRs como los polimorfismos bialélicos que definen el grupo haploide.

	Kichwas	Mestizos	Afroecuatorianos
Q	78 (76,5%)*	23 (22,5%)	14 (14,9%)
R1b	7 (6,9%)	48 (47,1%)	11 (11,7%)
Eu, Otros europeos	4 (3,9%)	25 (24,5%)	18 (19,1%)
E3a	0	2 (2,0%)	41 (43,6%)
Des, desconocido	13 (12,7%)	4 (3,9%)	10 (10,6%)

(*) incluye dos cromosomas que llevan haplotipos encontrados en los cromosomas C3b, también de origen nativos americanos.

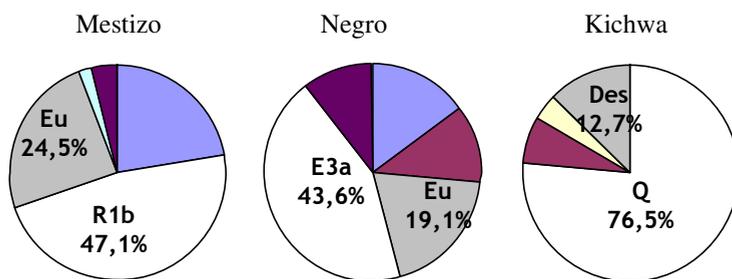


Gráfico 30. Representación gráfica de los grupos estudiados en función del haplogrupo inferido más frecuente. Q (nativos americanos), R1b (europeos), Otros europeos (incluyen E3b, G, I, J, R1a), E3a (africanos).

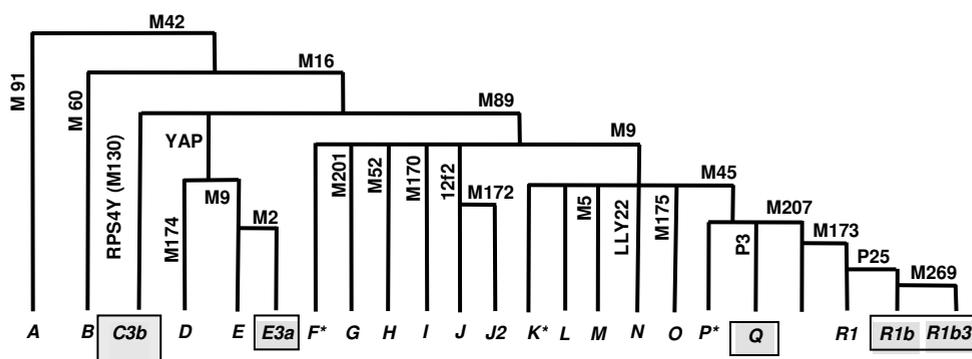


Gráfico 31. Haplogrupos más frecuentes presentes en la población europea, americana y africana, y observados en este estudio. Q (nativos americanos), R1b (europeos), Otros europeos (incluyen E3b, G, I, J, R1a), E3a (africanos).

Tabla 39. Parámetros medios de diversidad intrapoblacional para 15 loci STR autosómicos

Población	2N	K	H
Kichwas ⁽¹⁾	230	8,87±3,08	0,751±0,088
Mestizos ⁽²⁾	634	10,47±4,28	0,781±0,080
Afroecuatorianos ⁽²⁾	208	10,13±3,44	0,808±0,064
Espanoles ⁽³⁾	408	9,87±3,72	0,794±0,067
Guineanos ⁽⁴⁾	268	10,40±3,62	0,802±0,059

2N, tamaño de la muestra en número de cromosomas;
k, número medio de alelos; H, heterozigosidad media esperada.

Tabla 40. F_{ST} distancias genéticas basadas en 15 STR *loci* autosómicos

	Kichwas	Mestizos	Afroecuatorianos	Españoles	Guineanos
Kichwas	0				
Mestizos	0,0075	0			
Afroecuatorianos	0,0278	0,0137	0		
Españoles	0,0437	0,0204	0,0163	0	
Guineanos	0,0651	0,0417	0,0096	0,0274	0

Tabla 41. Proporciones de mezcla para varias poblaciones urbanas americanas mezcla basadas en *loci* autosómicos. NA: No disponible

Población	Tipo	Referencia	Nativos	Europeos	Africanos
Mestizos, Ecuador	Urbano general	Nuestros datos	73	19,3	7,8
Afroecuatorianos	Urbano general	Nuestros datos	15,8	27,9	56,4
La Plata (Argentina)	Urbano general	Martínez-Marignac y col., 2004	25,9	67,6	6,5
Churuguara (Venezuela)	Urbano general	Loyo y col., 2004	19,9	52,5	27,6
Santiago (Chile)	Estatus bajo	Cifuentes y col., 2004	34,7	65,3	NA
Santiago (Chile)	Estatus alto	Cifuentes y col., 2004	20,9	79,1	NA
Puerto Rico	Viviendo en Ciudad de New York	Bonilla y col., 2004a	17,6	53,3	29,1
San Luis Valley (EE.UU.)	Hispanos	Bonilla y col., 2004b	34,1	62,7	3,2
Costa da Lagoa, Santa Catarina Island (Brazil)	Urbano general	De Souza y col., 2003	7,7	75	17,3
Sao Joao do Rio Vermelho, Catarina Island (Brasil)	Urbano general	De Souza y col., 2003	18,7	53,3	28
California (EE.UU.)	Hispanos	Bertoni y col., 2003	43	46,3	10,7
California (EE.UU.)	Hispanos	Bertoni y col., 2003	38,2	48,4	13,4
Nevada (EE.UU.)	Hispanos	Bertoni y col., 2003	57,9	34	8,1
SO EE.UU.	Hispanos	Bertoni y col., 2003	35,6	64,4	0
Florida (EE.UU.)	Hispanos	Bertoni y col., 2003	19,9	72	8,1
Nueva Jersey (EE.UU.)	Hispanos	Bertoni y col., 2003	9,1	84,5	6,4
Pennsylvania (EE.UU.)	Hispanos	Bertoni y col., 2003	0,2	82,9	16,9
SE EE.UU.	Hispanos	Bertoni y col., 2003	0	93,3	6,7
Virginia (EE.UU.)	Hispanos	Bertoni y col., 2003	21,3	63,8	14,9

Tabla 42. Frecuencias alélicas STRs cromosoma-Y de Kichwas. N =102 para todos los loci

Alelo	19	389I	389II	390	391	392	393	437	438	439
8									0,010	
9					0,108				0,049	0,029
10					0,618				0,098	
11					0,265	0,069	0,010		0,706	0,314
12	0,029	0,186			0,010	0,029	0,010		0,137	0,520
13	0,608	0,608				0,186	0,725	0,010		0,127
14	0,216	0,206				0,529	0,216	0,824		0,010
15	0,098					0,137	0,039	0,127		
16	0,039					0,020		0,039		
17						0,010				
18	0,010					0,020				
21				0,010						
22				0,039						
23				0,206						
24				0,578						
25				0,167						
28			0,049							
29			0,245							
30			0,353							
31			0,284							
32			0,069							

Tabla 43. Frecuencias alélicas STRs cromosoma-Y de mestizos. N =102 para todos los loci

Alelo	19	389I	389II	390	391	392	393	437	438	439
9					0,029				0,127	0,010
10					0,539	0,020			0,216	0,020
11					0,373	0,245	0,010		0,196	0,294
12	0,020	0,157			0,049	0,020	0,118		0,451	0,490
13	0,324	0,608			0,010	0,471	0,716	0,069		0,167
14	0,451	0,225				0,206	0,137	0,578		0,010
15	0,167					0,039	0,020	0,314		0,010
16	0,039							0,039		
18									0,010	
21				0,020						
22				0,059						
23				0,216						
24				0,608						
25				0,098						
27			0,020							
28			0,078							
29			0,382							
30			0,363							
31			0,108							
32			0,049							

Tabla 44. Frecuencias alélicas STRs Cromosoma-Y de afroecuatorianos. N = 94 para todos los loci

Alelo	19	389I	389II	390	391	392	393	437	438	439
8									0,032	
9					0,032				0,021	
10					0,660				0,149	0,032
11					0,298	0,638	0,011		0,553	0,340
12		0,138				0,053	0,064		0,245	0,500
13	0,181	0,617			0,011	0,170	0,500	0,043		0,128
14	0,202	0,245				0,117	0,266	0,713		
15	0,298					0,021	0,160	0,181		
16	0,149							0,043		
17	0,170							0,021		
20				0,011						
21				0,394						
22				0,106						
23				0,128						
24				0,245						
25				0,106						
26				0,011						
28		0,074								
29		0,170								
30		0,415								
31		0,298								
32		0,043								

Tabla 45. Frecuencias de los fenotipos en los *locus* DYS385 duplicados.

Fenotipo	Kichwas (N=102)	Mestizos (N=102)	Afroecuatorianos (N=94)
9,21	0,020		
10,11			0,011
10,17		0,010	
11,13		0,029	
11,14	0,049	0,304	0,074
11,15		0,029	0,032
11,16			0,011
11,18	0,010		0,011
12,12	0,020		
12,13		0,010	
12,14	0,029	0,078	0,011
12,15	0,010	0,029	0,021
12,16	0,010		0,032
12,17	0,059	0,049	
12,18			0,011
12,19	0,010	0,010	
12,20		0,020	
13,14		0,020	0,032
13,15	0,020	0,020	0,011
13,16		0,020	0,010
13,17	0,020	0,049	
13,18		0,029	0,021
13,19	0,039	0,010	0,011
13,20	0,020	0,010	
13,21		0,010	
14,14	0,098	0,010	0,011
14,15	0,078	0,010	0,021
14,16	0,059	0,020	0,032
14,17	0,039	0,029	0,053
14,18	0,059	0,020	0,011
14,19	0,010	0,020	0,011
14,20	0,029		

Continuación....

Fenotipo	Kichwas (N=102)	Mestizos (N=102)	Afroecuatorianos (N=94)
15,15	0,069		0,011
15,16	0,049	0,039	0,085
15,17	0,069	0,029	0,043
15,18	0,029	0,010	0,032
15,19	0,010	0,010	0,021
15,20			0,021
16,16	0,010	0,020	
16,17	0,010	0,020	0,128
16,18	0,020		0,053
16,19	0,010		
16,22			0,011
17,18		0,020	0,096
17,19		0,010	0,043
17,20			0,011
18,19		0,010	
19,19	0,039		
19,20			0,011

Tabla 46. Haplotipos STR del cromosoma «Y» en poblaciones ecuatorianas.
 Kic.: Frecuencia absoluta del haplotipo en los kichwas; Mest.: Mestizos; Afrec.: Afroecuatorianos. HG: grupo haploide inferido (OE: Otros europeos; UA: Sin asignar). Q (nativos americanos), R1b (europeos), Otros europeos (incluyen E3b, G, I, J, R1a), E3a (africanos).

Hap	19	389I	389II	390	391	392	393	385 ^a	385b	437	438	439	Kic.	Mest.	Afrec.	HG
K28	12	13	29	25	9	13	14	15	15	14	11	11	1			Q
M83	12	13	30	23	10	14	13	15	17	13	10	12	1	2		Q
K57	12	13	30	24	10	14	14	12	14	14	11	12	1			Q
K67	13	12	28	24	10	14	13	14	16	14	11	12	1			Q
K1	13	12	28	24	10	14	14	15	15	14	9	11	1			Q
K91	13	12	29	23	9	14	14	14	18	14	11	11	1			Q
K24	13	12	29	23	9	15	13	15	16	14	12	11	1			Q
N47	13	12	29	23	10	15	13	15	16	14	12	12			1	Q
M31	13	12	29	24	10	11	13	17	18	14	10	10		1		OE
N70	13	12	29	24	10	14	13	13	18	13	11	13			1	Q
M67	13	12	29	25	10	11	13	17	18	14	10	11		1		OE
N50	13	12	29	25	10	14	13	14	17	14	11	12			1	Q
M28	13	12	30	24	10	11	14	15	18	15	10	11		1		OE
M90	13	12	30	24	10	14	13	14	18	14	11	13		1		Q
K20	13	12	30	24	10	14	14	12	17	14	11	13	1			Q
M88	13	12	30	24	10	14	14	12	17	14	12	12		1		Q
K88	13	12	30	24	11	14	14	16	18	14	11	12	1			Q
M101	13	12	30	25	10	10	13	18	19	14	9	10		1		OE
K8	13	12	30	25	10	14	13	14	17	14	11	11	1			Q
K21	13	12	31	24	10	13	13	16	18	14	11	13	1			Q
N67	13	12	31	24	10	14	13	13	19	14	12	12			1	Q
K35	13	12	31	24	10	15	13	15	16	14	12	11	1			Q
K64	13	13	29	23	10	14	13	15	15	15	11	11	1			Q
M84	13	13	29	23	10	14	15	14	17	14	9	12	1	1		Q
M63	13	13	29	24	10	13	12	14	15	14	11	12		1		Q
K59	13	13	29	24	10	13	13	14	14	14	11	12	1			Q
K16	13	13	29	24	10	14	13	14	15	14	11	12	1			Q
K83	13	13	29	24	10	14	13	15	16	14	11	12	2			Q
K54	13	13	29	24	10	14	14	14	17	15	11	12	1			Q
M82	13	13	29	24	10	15	13	15	16	14	11	12		1		A
M51	13	13	29	24	11	12	13	12	17	14	11	12		1		UA
M77	13	13	29	24	11	13	13	13	21	14	11	12		1		R1b
K58	13	13	29	25	10	14	15	14	16	14	11	12	1			Q
K95	13	13	29	25	11	14	14	14	15	14	11	12	1			Q
M8	13	13	30	23	10	11	13	16	17	14	10	12	1	1		OE
K26	13	13	30	23	10	14	13	15	15	14	11	12	1			Q

N18	13	13	30	23	10	14	14	12	16	14	11	11		1	Q
M1	13	13	30	23	10	14	14	14	14	14	10	12	1		Q
M15	13	13	30	23	10	15	13	13	17	14	11	9	1		Q
K66	13	13	30	23	10	15	13	15	17	14	11	12	1		Q
K46	13	13	30	23	11	14	13	14	16	14	11	12	1		Q
N11	13	13	30	23	11	14	13	14	17	14	11	12		1	Q
N79	13	13	30	24	9	11	13	13	14	14	10	10		1	OE
K25	13	13	30	24	9	13	13	14	14	14	11	12	1		Q
N4	13	13	30	24	10	11	13	16	17	14	10	11		1	OE
N65	13	13	30	24	10	11	13	16	18	14	10	12		1	OE
M41	13	13	30	24	10	11	14	13	17	14	10	13	1		OE
K6	13	13	30	24	10	12	13	13	17	14	11	12	1		UA
K65	13	13	30	24	10	13	13	14	14	14	11	12	3		Q
M97	13	13	30	24	10	14	11	15	17	14	11	12		1	Q
M47	13	13	30	24	10	14	13	13	20	14	11	11		1	Q
K7	13	13	30	24	10	14	13	14	18	14	11	11	1		Q
K61	13	13	30	24	10	14	13	15	15	14	11	12	1		Q
K12	13	13	30	24	10	14	13	16	16	14	11	12	1		Q
N61	13	13	30	24	10	14	14	12	16	14	11	11		1	Q
K42	13	13	30	24	10	15	13	14	15	14	11	13	1		Q
K15	13	13	30	24	10	15	14	14	18	14	12	14	1		Q
K9	13	13	30	24	10	17	13	14	14	14	11	12	1		Q
M18	13	13	30	24	11	13	13	12	14	15	12	11		1	RIb
K50	13	13	30	24	11	14	13	12	16	14	11	12	1		Q
M87	13	13	30	24	11	14	13	12	20	14	10	12		1	Q
K31	13	13	30	24	11	14	13	13	20	14	11	11	1		Q
N66	13	13	30	24	11	14	15	15	16	14	8	11		1	Q
M22	13	13	30	25	10	14	13	15	16	14	11	12		1	Q
K2	13	13	30	25	10	14	15	15	18	14	8	11	1		Q
K14	13	13	31	23	10	11	13	15	17	14	10	12	1		OE
K32	13	13	31	23	10	14	14	12	17	14	11	12	1		Q
K84	13	13	31	24	9	13	13	14	18	14	11	13	1		Q
M46	13	13	31	24	10	11	13	15	19	14	10	13		1	OE
K13	13	13	31	24	10	13	12	13	15	14	11	13	1		Q
K47	13	13	31	24	10	14	11	14	17	14	11	12	1		Q
M49	13	13	31	24	10	14	14	12	17	14	11	13		1	Q
K52	13	13	31	24	10	14	14	14	15	14	11	11	1		Q
M27	13	13	31	24	11	11	13	16	17	14	10	13		1	OE
K49	13	13	31	24	11	14	14	12	17	14	11	13	1		Q
K72	13	13	31	25	10	14	14	14	18	14	11	12	1		Q
K19	13	13	32	22	9	11	13	13	15	14	10	12	1		UA
M72	13	13	32	24	11	14	14	12	17	14	11	12		1	Q
K37	13	13	32	24	11	15	14	12	17	14	11	11	1		Q

K93	13	13	32	25	9	14	14	12	19	14	11	12	1		UA
M74	13	13	32	25	10	13	13	14	17	15	12	12		1	UA
N93	13	14	30	24	9	11	13	14	16	14	10	10			1 OE
K86	13	14	30	24	10	14	13	14	16	14	11	11	1		Q
K74	13	14	30	24	10	15	13	11	18	14	11	12	1		Q
M50	13	14	30	25	10	14	13	14	19	13	11	12		1	Q
K39	13	14	30	25	11	14	13	13	19	14	11	12	1		Q
M60	13	14	31	23	10	14	13	13	17	14	11	12		1	Q
K18	13	14	31	23	10	14	13	13	17	14	11	13	1		Q
M53	13	14	31	23	10	14	13	13	18	14	9	12		1	Q
K53	13	14	31	23	10	14	13	15	18	14	11	11	1		Q
K85	13	14	31	23	10	16	14	14	18	14	11	13	1		Q
K76	13	14	31	23	10	16	14	15	19	14	11	13	1		Q
N26	13	14	31	23	11	15	13	13	16	14	12	13			1 R1b
N13	13	14	31	24	10	11	13	16	18	14	10	11			1 OE
N56	13	14	31	24	10	13	13	11	14	15	12	12			1 R1b
M54	13	14	31	24	10	14	13	13	18	14	11	12		1	Q
M62	13	14	31	24	10	14	13	13	19	14	11	12		1	Q
K56	13	14	31	24	10	14	13	14	19	14	11	12	1		Q
K41	13	14	31	24	10	14	13	14	20	14	11	12	1		Q
M44	13	14	31	24	10	14	14	15	16	14	11	13		1	Q
K10	13	14	31	24	11	14	13	13	19	14	11	12	1		Q
N72	13	14	31	24	11	14	13	14	19	14	11	11			1 Q
K78	13	14	31	24	11	14	13	19	19	14	11	12	2		Q
M5	13	14	31	24	11	14	14	13	17	14	11	11		1	Q
K27	13	14	31	24	11	15	13	12	17	14	11	13	1		Q
N81	13	14	31	25	10	14	12	14	15	15	11	11			1 Q
K43	13	14	32	23	11	14	14	14	16	14	11	9	1		Q
K87	13	14	32	24	11	14	13	13	19	15	11	13	1		Q
M80	13	15	32	24	10	11	13	16	16	14	10	11		1	OE
M71	14	12	28	22	10	11	13	13	15	16	10	11		1	OE
K94	14	12	28	22	10	11	13	14	14	16	10	11	1		OE
K45	14	12	28	22	11	14	13	15	17	15	11	12	1		Q
N15	14	12	28	24	11	11	13	15	20	14	11	12			1 UA
M11	14	12	28	24	11	13	13	11	14	15	12	15		1	R1b
N23	14	12	28	25	11	11	13	14	17	15	11	11			1 UA
N37	14	12	28	25	11	13	13	11	15	15	12	12			1 R1b
K4	14	12	29	24	11	13	13	12	14	15	12	11	2		R1b
K44	14	12	31	24	10	15	13	15	15	14	12	12	1		Q
M76	14	13	28	24	11	13	13	11	14	15	12	11		1	R1b
M96	14	13	28	24	12	13	13	11	14	15	12	12		1	R1b
N80	14	13	28	24	13	13	13	11	14	15	12	12			1 R1b
M59	14	13	29	22	10	13	13	12	14	15	12	11		1	1 R1b

N89	14	13	29	22	11	13	12	11	14	15	12	13		1	R1b
M64	14	13	29	23	10	11	12	14	17	14	10	12	1		OE
N76	14	13	29	23	10	13	13	11	18	15	12	13		1	OE
M65	14	13	29	24	10	12	13	11	14	15	12	13	1		R1b
M98	14	13	29	24	10	13	13	11	13	15	12	11	1		R1b
M92	14	13	29	24	10	13	13	12	13	15	12	11	1		R1b
M17	14	13	29	24	10	13	13	12	14	14	12	11	1		R1b
M24	14	13	29	24	10	13	13	12	14	14	12	12	1		R1b
M69	14	13	29	24	10	13	13	12	14	15	12	12	1		R1b
K48	14	13	29	24	10	14	13	16	19	14	11	11	1		Q
M39	14	13	29	24	11	13	13	11	13	14	12	12	1		R1b
M33	14	13	29	24	11	13	13	11	14	14	12	11	1		R1b
M9	14	13	29	24	11	13	13	11	14	14	12	12	1	1	R1b
M34	14	13	29	24	11	13	13	11	14	15	10	13	1		R1b
M19	14	13	29	24	11	13	13	11	14	15	12	11	1		R1b
M55	14	13	29	24	11	13	13	11	14	15	12	12	1		R1b
K90	14	13	29	24	11	13	13	11	14	15	12	13	1		R1b
M25	14	13	29	24	11	13	13	11	14	15	12	14	1		R1b
M29	14	13	29	24	11	13	13	11	14	15	18	12	1		R1b
M13	14	13	29	24	11	13	13	11	15	15	12	13	1		R1b
M4	14	13	29	24	11	13	15	11	14	14	12	13	1		R1b
M32	14	13	29	24	11	14	13	11	14	14	12	12	2		R1b
M100	14	13	29	24	13	13	13	12	14	13	11	12	1		R1b
K77	14	13	29	25	10	15	14	14	20	14	11	12	2		Q
M21	14	13	29	25	11	13	13	11	14	14	12	12	1		R1b
M3	14	13	29	25	11	13	13	11	14	15	12	12	1		R1b
K71	14	13	29	25	11	13	13	11	14	15	12	12	1	2	R1b
N16	14	13	29	26	11	13	13	12	15	15	12	11		1	R1b
N42	14	13	30	22	11	11	13	12	15	14	9	11		1	OE
N53	14	13	30	23	10	11	12	13	14	14	10	13		1	OE
M43	14	13	30	23	10	11	12	13	17	14	10	11	1		OE
M94	14	13	30	23	10	11	12	14	19	14	10	13	1		OE
K17	14	13	30	24	9	13	15	14	15	14	12	11	1		UA
N86	14	13	30	24	10	11	14	14	18	14	11	12		1	Q
N57	14	13	30	24	10	13	14	15	15	14	11	12		1	Q
M68	14	13	30	24	10	15	14	10	17	14	11	12	1		Q
N9	14	13	30	24	11	11	13	19	20	14	10	12		1	UA
N43	14	13	30	24	11	13	13	16	22	15	12	11		1	UA
K34	14	13	30	24	11	14	13	15	16	14	11	11	1		Q
M81	14	13	30	24	12	13	13	11	14	15	12	13	1		R1b
K68	14	13	31	24	10	14	13	15	18	14	12	11	1		Q
K63	14	13	31	24	11	14	13	13	20	14	11	11	1		Q
K11	14	13	31	25	9	14	13	15	17	14	11	12	1		Q

K23	14	13	31	25	10	14	13	15	17	14	11	12	2		Q
N94	14	14	29	24	9	11	12	12	18	14	10	11		1	OE
M14	14	14	29	24	11	13	13	11	14	15	12	12		1	R1b
M12	14	14	30	23	10	11	12	13	16	15	9	12		1	OE
K33	14	14	30	23	10	14	13	14	15	14	11	11	1		Q
M61	14	14	30	23	11	13	13	11	14	15	12	12		1	R1b
M56	14	14	30	24	10	13	13	11	14	14	12	11		1	R1b
M40	14	14	30	24	10	13	13	11	14	15	12	11		1	R1b
M37	14	14	30	24	11	13	13	11	13	14	12	11		1	R1b
M73	14	14	30	24	11	13	13	11	14	14	9	12		1	R1b
M45	14	14	30	24	11	13	13	11	14	14	12	12		1	R1b
M48	14	14	30	24	11	13	13	11	14	15	12	11	1	1	R1b
M95	14	14	30	24	11	13	13	11	15	15	12	12		1	R1b
M75	14	14	30	24	11	13	14	11	14	15	12	13		1	R1b
N40	14	14	30	25	10	13	14	14	16	14	12	13		1	Q
M35	14	14	30	25	11	13	13	11	14	14	12	11		1	R1b
M52	14	14	31	23	10	13	13	11	14	14	12	12		1	R1b
N1	14	14	31	24	10	14	13	13	18	14	11	13		1	Q
K62	14	14	32	23	10	14	13	14	16	14	11	12	1		Q
K3	14	14	32	24	10	14	13	13	19	14	9	12	1		Q
M58	14	14	32	24	11	13	13	11	15	14	12	11		1	R1b
M7	14	14	32	24	11	13	13	12	14	14	12	12		1	R1b
M23	15	12	27	24	11	11	12	13	18	16	9	13		1	OE
M20	15	12	27	25	10	13	12	12	19	14	10	13		1	UA
M38	15	12	28	22	10	11	13	13	14	15	10	11		1	OE
M66	15	12	28	23	10	11	12	13	16	15	9	13		1	OE
N71	15	12	28	23	10	12	15	15	16	14	10	11		2	Q
M30	15	12	28	24	10	11	12	14	18	16	9	13		1	OE
M102	15	12	29	22	10	10	14	16	16	13	12	11		1	OE
K30	15	12	29	22	10	11	13	12	17	16	10	11	1		OE
N69	15	12	29	22	11	11	13	14	14	17	10	12		1	OE
M16	15	12	29	23	11	13	13	15	16	13	9	12		1	J
K40	15	12	29	24	11	13	13	11	14	15	12	12	1		R1b
M85	15	12	31	23	12	15	13	12	15	14	12	12	1	1	R1b
K81	15	12	31	24	10	18	13	14	14	16	11	11	2		UA
M91	15	13	28	24	12	13	13	11	14	14	12	12		1	R1b
M99	15	13	29	21	10	11	14	14	16	14	12	11		1	E3a
M2	15	13	29	22	10	11	13	13	14	16	10	11		1	OE
M26	15	13	29	23	9	11	12	12	17	14	9	11		1	OE
M10	15	13	29	23	10	13	14	11	14	15	12	12		1	R1b
K80	15	13	29	23	10	14	13	14	15	14	9	11	2		UA
N92	15	13	29	24	11	13	13	11	14	15	12	12		1	R1b
K89	15	13	29	25	11	15	13	15	15	15	11	11	1		Q

N38	15	13	30	21	10	11	13	15	16	14	11	11		1	E3a
N10	15	13	30	21	10	11	13	16	17	14	11	12		1	E3a
N75	15	13	30	21	10	11	15	16	17	13	11	12		1	E3a
N33	15	13	30	21	11	11	14	15	17	14	11	11		1	E3a
M79	15	13	30	22	9	11	13	13	15	14	10	11	1		UA
N3	15	13	30	22	10	12	13	15	17	14	11	13		1	E3a
N21	15	13	30	23	10	11	14	13	15	16	10	11		1	OE
M86	15	13	30	23	12	13	13	14	16	13	9	11	1		R1b
N84	15	13	30	24	10	11	12	13	14	16	8	12		1	OE
M89	15	13	30	24	11	13	13	11	14	14	12	12	1		R1b
N17	15	13	30	25	11	13	13	10	11	15	12	12		1	UA
N77	15	13	31	21	10	11	13	15	17	14	11	12		1	E3a
N91	15	13	31	21	10	11	13	16	17	14	11	11		1	E3a
N31	15	13	31	21	10	11	13	16	17	14	11	12		1	E3a
N62	15	13	31	21	10	11	14	15	19	14	11	12		1	E3a
N24	15	13	31	21	10	11	14	16	17	13	11	11		1	E3a
N12	15	13	31	21	10	11	14	16	17	14	11	13		1	E3a
N8	15	13	31	21	10	11	15	17	18	14	11	12		2	E3a
N68	15	13	31	21	10	12	13	16	17	14	11	12		1	E3a
N78	15	13	31	21	11	11	13	16	17	14	11	12		1	E3a
N25	15	13	32	21	10	11	14	15	20	14	11	12		1	E3a
N52	15	14	29	25	11	13	14	11	16	14	10	12		1	R1b
K82	15	14	30	24	11	12	13	9	21	14	11	9	2		UA
M70	15	14	30	25	11	13	13	11	14	15	12	12	1		R1b
N74	15	14	31	21	10	11	13	15	16	14	11	11		1	E3a
N48	15	14	31	23	10	11	11	14	16	16	10	12		1	OE
N54	15	14	31	24	10	11	14	15	16	14	11	12		1	OE
N36	15	14	32	21	10	11	13	16	17	14	11	12		1	E3a
N44	16	12	28	22	10	11	14	14	15	16	11	11		1	OE
N34	16	12	29	22	11	11	13	15	16	17	8	11		1	E3a
N59	16	12	30	25	11	11	13	11	14	15	11	11		1	OE
M42	16	13	29	23	10	11	12	12	15	15	9	11	2		OE
N87	16	13	29	23	10	13	13	11	15	15	12	11		1	R1b
N85	16	13	29	23	11	11	12	12	16	15	9	11		1	OE
K22	16	13	30	21	9	11	13	12	12	14	10	12	1		C3b
N73	16	13	30	21	10	11	14	15	18	14	11	12		1	E3a
M6	16	13	30	21	10	11	14	17	19	14	11	12	1		E3a
N90	16	13	30	21	10	12	15	17	20	14	11	12		1	E3a
N49	16	13	30	21	11	11	15	17	18	14	12	12		1	E3a
K29	16	13	30	24	9	11	13	12	12	14	10	13	1		C3b
M78	16	13	30	24	9	11	13	12	14	14	10	12	1		OE
N60	16	13	30	24	11	14	13	11	15	14	12	12		1	OE
K79	16	13	30	25	10	13	14	19	19	15	10	11	2		Q

N29	16	13	31	21	10	11	15	17	19	14	11	11	1	E3a
N41	16	13	32	21	10	11	13	15	19	14	11	11	1	E3a
N6	16	14	31	21	10	11	14	16	18	14	11	12	1	E3a
N22	16	14	31	21	10	11	14	17	19	14	11	12	1	E3a
N82	16	14	31	22	10	11	14	14	17	14	11	10	1	UA
N2	17	13	30	20	10	11	14	15	18	14	11	12	1	E3a
N5	17	13	30	21	10	11	13	17	18	13	11	11	1	E3a
N39	17	13	30	21	10	11	14	15	17	14	11	12	1	E3a
N7	17	13	30	21	10	11	14	17	19	14	11	12	1	E3a
N14	17	13	30	21	10	11	15	15	18	14	11	12	1	E3a
N19	17	13	30	21	10	11	15	16	18	14	12	13	2	E3a
N64	17	13	30	22	10	11	13	16	17	14	11	12	1	E3a
N63	17	13	30	22	10	11	13	16	17	14	11	13	1	E3a
N88	17	13	31	21	10	11	15	17	18	14	12	11	1	E3a
N30	17	14	30	21	11	11	14	17	18	14	11	11	2	E3a
N45	17	14	31	21	10	11	14	14	17	14	11	12	1	E3a
N20	17	14	31	21	10	11	14	17	19	14	11	12	1	E3a
N28	17	14	31	21	10	11	15	17	18	14	12	12	1	E3a
N27	17	14	32	21	11	11	15	17	18	14	11	12	1	E3a
K55	18	13	28	24	10	15	13	14	14	14	11	12	1	UA

Tabla 47. Parámetros medios de diversidad genética intrapoblacional de Waoranis en comparación con otros grupos étnicos similares

Población	2N	H	k
Waorani	40	0.650±0.129	4.77±1.74
Kichwa	230	0.737±0.084	8.38±2.53
Gaviao	58	0.736±0.082	5.69±2.43
Surui	42	0.636±0.110	4.08±0.76
Waiwai	54	0.715±0.094	6.23±2.39
Xavante	68	0.687±0.105	4.85±1.41
Zoro	50	0.684±0.120	5.15±2.38

H, diversidad genética media; k, número medio de alelos

El único valor que destaca en esta tabla es el número de alelos en los Kichwa, pero es sólo consecuencia de su mayor tamaño muestral.

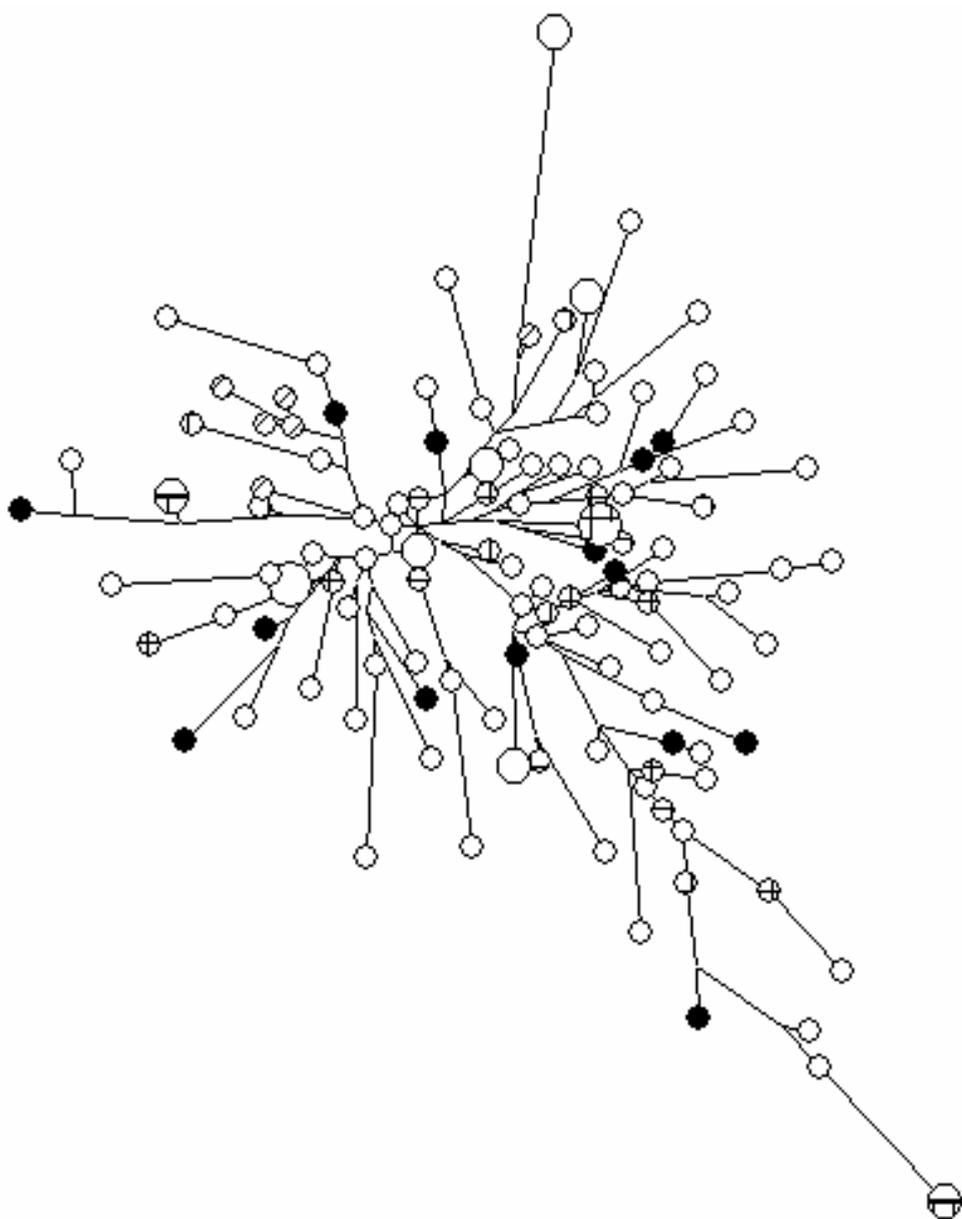


Gráfico 32. *Median joining network* de cromosomas Q putativos. Círculos vacíos: cromosomas Quechua; tramados, Mestizos; círculos llenos, Afroecuatorianos.

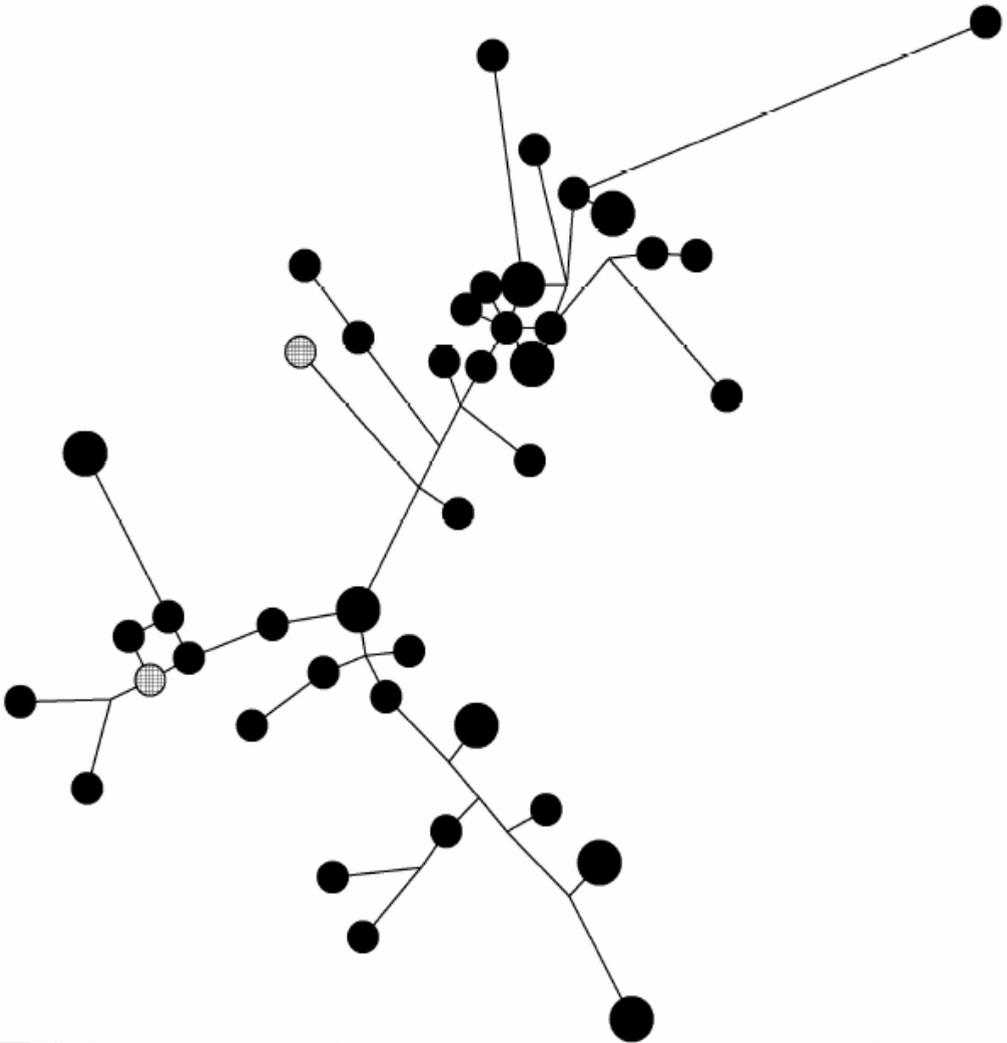


Gráfico 33: *Median joining network* de cromosomas E3a putativos. Símbolos como en el gráfico anterior.

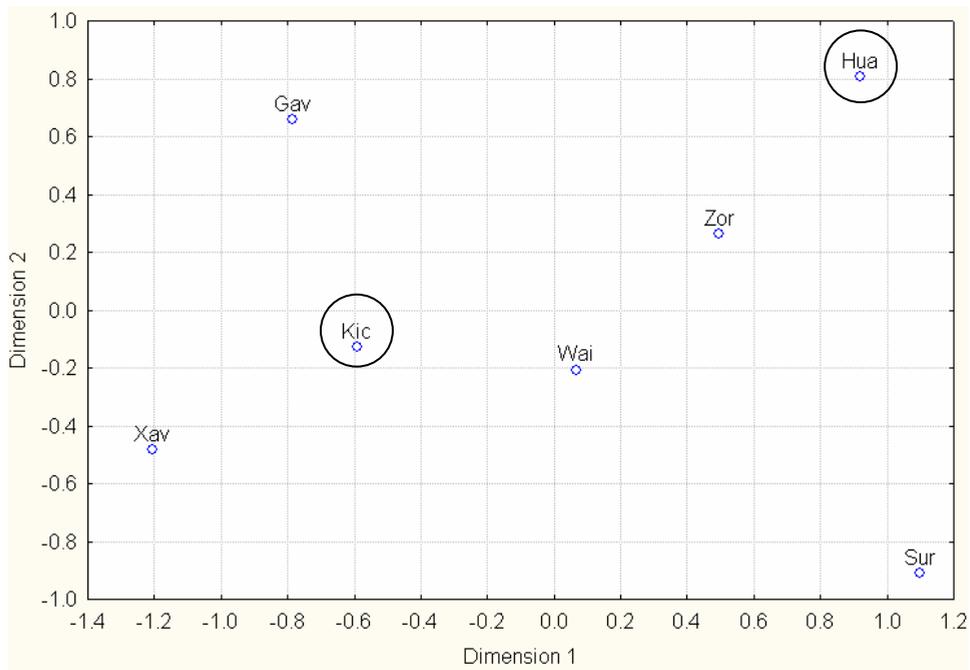


Gráfico 34. Distancias Fst entre población Huaorani y grupos amerindios de la región Amazónica. Representación mediante escalamiento multidimensional. Se comparan waorani con kichwa, surui, gaviao y zoro que viven actualmente en Brasil en comunidades aisladas (Hutz M y cols, 2002). Encerrado en círculos la población Kichwa y Waorani.

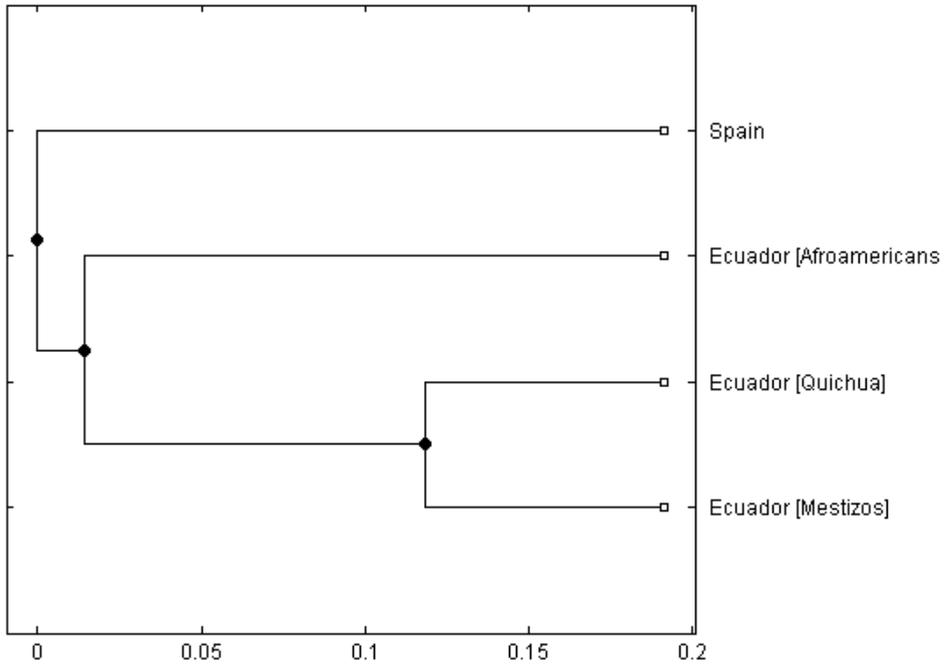


Gráfico 35. Dendrograma y distancias genéticas entre Mestizos, Kichwas y Afroamericanos calculadas con haplotipos mínimos del cromosoma Y.

Discusión



STRs autosómicos

Diversidad intrapoblacional

Quince STRs contenidos en el kit PowerPlex 16 fueron tipados en 115 individuos kichwas, 317 mestizos y 104 afroecuatorianos. Las frecuencias alélicas se muestran en un inicio. El promedio de alelos y la diversidad genética se pueden encontrar en las tablas precedentes.

Además de las poblaciones ecuatorianas, se incluyeron datos de dos posibles poblaciones originarias: las frecuencias de alelos de una población metropolitana de Barcelona, que incluía personas nacidas en toda España (Paredes y cols., 2003) y de Guinea Ecuatorial (Alves y cols., 2005), antigua colonia española y lugar de comercio de esclavos en África.

Los kichwas mostraron la diversidad más baja, de acuerdo con la menor variabilidad descrita para muchos grupos amerindios. La diversidad en mestizos y afroecuatorianos es mayor, también de acuerdo con las expectativas para las poblaciones mestizas. Sin embargo, de todas las comparaciones pareadas, solamente la frecuencia alélica y la diversidad haplotípica son inferiores en los kichwas que en los mestizos (prueba de Wilcoxon, $p=0,002$ y $p=0,001$, respectivamente)

Distancias genéticas

Se calcularon las distancias genéticas F_{ST} entre los ecuatorianos y las poblaciones externas. Se usaron las distancias F_{ST} en vez de la medida de la distancia específica del STR dado que siete de los 15 *loci* mostraron repeticiones imperfectas que no pudieron ser explicadas por el modelo de mutación escalonado sencillo en el que se basan las distancias tales como R_{ST} (Slatkin 1995).

Las distancias genéticas son cortas, en general, debido probablemente a frecuentes mutaciones escalonadas que tienden a homogeneizar las distribuciones de frecuencia de los alelos. Esta es una tendencia general para los STRs y más aún para los STRs forenses, en las que la homogeneidad interpoblacional es una propiedad deseable.

Los mestizos muestran una distancia corta a los kickwas, pero su distancia a los españoles es claramente más corta que entre los kichwas y los españoles. También es este el caso para su respectiva distancia a los guineanos. Esto es consistente con un triple origen genético para los mestizo: amerindios, europeos y africanos, como se demuestra por los STRs en el cromosoma «Y». Los afroecuatorianos son los más próximos a los guineanos pero están más próximos a los kichwas y a los españoles que lo que lo están los guineanos. Con diferentes proporciones de mezcla, el modelo de triple origen propuesto para los mestizos también aplica a los afroecuatorianos.

Mezcla genética

La mezcla genética fue cuantificada como sugirieron Dupanloup y Bertorelle (2001). Estos autores obtuvieron un modelo lineal que puede admitir cualquier número de poblaciones parentales, así como tasa de mutación, distancia molecular entre alelos y tiempo transcurrido desde la mezcla.

Las proporciones de mestizaje y sus desviaciones estándar se determinaron a partir de 100.000 iteraciones *bootstrap*. Utilizando los kichwas, españoles y guineanos como poblaciones origen, las proporciones de mezcla en los mestizos fueron $0,730 \pm 0,243$ de amerindios, $0,193 \pm 0,280$ de europeos y $0,078 \pm 0,077$ de africanos.

Las grandes desviaciones estándar son un reflejo de las pequeñas distancias genéticas entre las poblaciones origen. Estos resultados contrastan fuertemente con los obtenidos a partir de los STRs en el cromosoma «Y», pero pueden reconciliarse postulando una gran asimetría de sexos en los apareamientos, con la mayoría de los apareamientos mixtos afectando a hombres europeos y mujeres amerindias.

Sin embargo, tales diferencias extremas no pueden aparecer si los mestizos fuesen generados en una sola generación por el apareamiento de mujeres amerindias y varones europeos. Es decir, una mezcla de genes contribuida por ~70% de varones europeos, 30% varones amerindios y sólo mujeres amerindias produciría las proporciones observadas para el cromosoma «Y», pero en la mezcla de autosomas, las proporciones serían 35% europeos y 65% amerindios. Es necesario volver a invocar la asimetría posterior en los apareamientos entre mestizos y amerindios, contribuida otra vez mayormente por hombres y mujeres, respectivamente, para explicar los resultados.

Se han estudiado otros marcadores autosómicos de otras poblaciones mestizas: un resumen de la literatura se presenta previamente. Se puede ver que los mestizos ecuatorianos presentan una de las mayores contribuciones de amerindios en las poblaciones estudiadas aunque, dados los diversos tipos de marcadores y niveles de resolución utilizados en las diferentes publicaciones, dicha comparación debe hacerse con precaución.

Las proporciones de mezcla para afroecuatorianos fueron $0,564 \pm 0,107$ africanos, $0,279 \pm 0,328$ amerindios y $0,158 \pm 0,367$ europeos. Como también se ve para el cromosoma «Y», la contribución de los amerindios a los afroecuatorianos es notable. La asimetría es menor que en los mestizo pero, de nuevo, los varones europeos parecen haber contribuido desproporcionadamente a los apareamientos mixtos.

Para la población Wuaorani se calculó las distancias F_{st} entre poblaciones y se las representó con escalamiento multidimensional. En este gráfico, las distancias son lo más proporcionales posible a las distancias genéticas. No se aprecia un patrón claro, y, por ejemplo, no parece que las poblaciones se agrupen por afinidades lingüísticas: huaoraníes y kichwa hablan lenguas de la familia andina, mientras que surui, gaviao y zoro hablan lenguas muy parecidas, dentro de la familia tupi. Este tipo de situaciones se dan a menudo cuando se comparan poblaciones amerindias, en que la deriva parece haber jugado un papel más importante que las migraciones o el flujo génico en la configuración del «paisaje genético».

Las diferencias entre poblaciones son significativas en su conjunto. AMOVA dio un F_{st} de 4.81%, es decir, un 4.81% de la variación total se debe a diferencias entre poblaciones, con $p < 0.0001$.

STRs en el cromosoma «Y»

Diversidad dentro de la población.

Se tiparon los STRs DYS19, 389I, 389II, 390, 391, 392, 393, 385, 437, 438 y 439 del cromosoma «Y» en 94 afroecuatorianos, 102 kichwas y 102 mestizos, todos de Ecuador. Las frecuencias alélicas, las frecuencias haplotípicas y los descriptores generales de la diversidad genética intrapoblacional se reportan previamente.

Los mestizos y afroecuatorianos muestran ligeramente (y no significativamente) una diversidad más alta medida por el número medio de *loci* que muestran alelos diferentes en un par de cromosomas aleatorios y la varianza media del tamaño del alelo. Esta tendencia a mayor diversidad se espera en las poblaciones mezcladas.

Distribución haplotípica dentro de Ecuador.

Siete haplotipos diferentes fueron compartidos entre kichwas y mestizos, uno entre mestizos y afroecuatorianos y uno entre kichwas, afroecuatorianos y mestizos. Este último resulta ser el haplotipo más frecuente en los europeos y, particularmente, en los españoles. El número total de haplotipos diferentes es 271.

Distribución haplotípica mínima con poblaciones globales

Se han definido haplotipos mínimos (es decir, DYS19-389I-389II-390-391-392-393-385) para la práctica forense y dichos haplotipos de poblaciones globales se conservan en la YHRD (base de datos de referencia de haplotipos del cromosoma Y; <http://www.yhrd.org>). Los haplotipos mínimos en las poblaciones ecuatorianas se buscaron en la YHRD (versión 16); esta versión contenía los haplotipos mínimos para 32.196 cromosomas de 271 poblaciones mundiales.

Se contaron las coincidencias perfectas; para los haplotipos sin coincidencia, se consideraron los *one-step neighbours* (es decir, haplotipos que son diferentes en una repetición solamente en un *locus*). Ningún haplotipo mostró coincidencias con más de un grupo continental. No se pudo encontrar una coincidencia ni un *one-step neighbour* en más de la mitad de los haplotipos kichwas.

También es notable que sólo se encontraron cinco coincidencias con otras poblaciones de nativos americanos, pero 26 haplotipos tenían *one-step neighbours*. Estos dos hechos se pueden explicar por dos fenómenos no excluyentes entre sí: la diferenciación interpoblacional entre los amerindios (Salzano, 2002) y la menor representación de estas poblaciones en la base de datos (seis, comparada con 201 poblaciones de europeos). Esto hace más probable que los cromosomas que no coinciden (los cuales, *a priori*, podrían tener cualquier población origen) fuesen de origen nativos americanos.

En conjunto, el número de coincidencias con Europa es llamativo. Este método sería más sensible a la mezcla de europeos, ya que Europa (y España en particular) está representada en exceso en la YHRD. A pesar de ello, se encontraron

coincidencias perfectas o casi perfectas en Europa para un 14% de los cromosomas “Y” de kichwas, 67% de mestizos y 27% de afroecuatorianos.

Estimaciones de mestizaje

La proporción de cromosomas «Y» de origen americano, europeo y africano en cada población se estimó intentando predecir el grupo haploide de cada cromosoma, ya que la mayoría de los grupos haploides están restringidos geográficamente (Jobling y Tyler-Smith, 2003). Esta tarea se realizó usando conjuntos de datos en los que se habían tipado ambos marcadores bialélicos y STRs (Bortolini y col., 2003; Zegura y col., 2004; Beleza y col., en prensa; Beleza y col., comunicación personal), y se obtiene como ventaja el hecho de que la variación del STR en el cromosoma «Y» está fuertemente repartida por el fondo del grupo haploide (Bosch y col., 1999).

Un cromosoma fue asignado a un grupo haploide cuando se encontró una coincidencia perfecta o casi perfecta de un cromosoma con un grupo haploide conocido, o cuando estaba presente un alelo o subhaplotipo diagnóstico (como el 14 o alelos más grandes en el DYS392 combinado con DYS19*13 para el grupo haploide Q, o DYS19*15 - DYS390*21 para E3a, o DYS392*13-DYS385*11, 14 para R1b).

Ya que estamos interesados en los amplios orígenes de cada cromosoma mas que en una filogeografía exacta y como este método puede ser propenso a errores, asignamos cada cromosoma a una de las siguientes categorías: Q (nativos americanos), R1b (europeos), Otros europeos (incluyen E3b, G, I, J, R1a), E3a (africanos). Las frecuencias de cada clase en cada población se pueden encontrar en las tablas precedentes.

Es notable que los Kichwas contienen ~10% de cromosomas “Y” de origen europeo putativo. Esto no es excepcional en Sudamérica: 11% en los grupos Guaraní e Ingano; 14% en los Kaigang; 26% en los Wayuu (Bortolini y col. 2003). La proporción de líneas putativas europeas alcanza el ~70% en los mestizos (más un 2% adicional de origen africano). El significado de esta cifra no es fácilmente aparente, ya que aunque se han publicado conjuntos de datos Y-STR para poblaciones urbanas comparables, para las poblaciones mestizo, en lo que sabemos, no se han publicado estimaciones cuantitativas de proporciones de mezcla.

Los afroecuatorianos también están muy mezclados: Los orígenes de sus líneas de cromosoma «Y» se pueden estimar en el ~44% africanos, ~31% europeos, ~15% nativos americanos. En este caso existen cifras comparables: en diversas comunidades afrobrasileñas las contribuciones paternas varían desde el 47 al 77% para los africanos, 23-48% para los europeos y 0-4% para los nativos americanos (Abe-Sandes y col., 2004).

En comparación con Brasil, la contribución de los nativos americanos a los afroecuatorianos parece mayor, probablemente debido a la población, históricamente mucho más densa, de nativos americanos en los Andes que en las regiones amazónica y atlántica. La proporción relativa de R1b frente a otros grupos haploides europeos es diferente entre mestizos y afroecuatorianos ($X^2=6,59$, $p=0,01$). La proporción en los mestizos es similar a la de los españoles; teniendo en cuenta solamente los cromosomas derivados putativamente de europeos, la frecuencia de R1b es 65,8%, mientras que es 59,6% en España (Flores y col. 2004). En afroecuatorianos, es el 37,9%.

Líneas de nativos americanos y de africanos en detalle

Se generaron *Median joining networks* para los cromosomas putativos “Q” y “E3a”. Por lo que respecta a los cromosomas “Q”, no se encontró en la red ninguna estructura discernible que pudiera sugerir la presencia de líneas secundarias como Q-M19 (Bortolini y col., 2003). Por el contrario, en la red E3a, parecen aparentes dos líneas secundarias.

En comparación con Beleza y col. (comunicación personal), la mitad inferior parece aplicar a los cromosomas E3a7, mientras que la superior puede pertenecer al parágrafo E3a*. Las frecuencias de estos dos grupos haploides en los afroecuatorianos se estiman en 20,2% y 24,5%, respectivamente.

Este estudio proporciona un esbozo razonablemente detallado de la composición de los principales grupos étnicos de Ecuador y contribuye al conocimiento de su variada herencia.

Reflexiones etnogeográficas

Los resultados encontrados nos permiten establecer varias hipótesis sobre el Ecuador y Sur América, así como establecer ciertas inferencias sobre el poblamiento del país y origen de los ecuatorianos actuales. Se puede decir, en primera instancia, que este es un estudio inacabado que nos abre nuevas perspectivas futuras de investigación. Luego, habría que señalar que el volumen de información obtenido y los conocimientos adquiridos que son bastantes, siguen siendo insuficientes para entender este entramado étnico, geográfico y genético de los pobladores del nuevo mundo. A pesar de ello, este estudio nos permite realizar algunas reflexiones sobre nuestra compleja estructura étnica y genética actual que se detalla a continuación.

El Mestizo

Representa el grupo más numeroso de ecuatorianos que son genéticamente próximos a todas las poblaciones urbanas de América del Sur, poblaciones que se calculan son abarcan más del 50% de todos los habitantes. Hablan español como herencia de la conquista española, aunque se han hispanizado muchos vocablos y términos de origen amerindio. Por otro lado, los ecuatorianos han emprendido un nuevo flujo migratorio hacia Europa, que es lento pero continuo. Esto significa que habrá un nuevo mestizaje dentro de las futuras generaciones de europeos.

Llama la atención que los mestizos tienen un ~70% de componente indígena amerindio nativo kichwa, siendo el más alto descrito hasta ahora. Esto significaría que somos un país mayoritariamente indígena en el cual el componente caucásico se ha diluido o dispersado a lo largo de los años. Podría pensarse que este grado de mestizaje es similar en los países vecinos, que comparten nuestras costumbres y manifestaciones culturales.

De allí, que podríamos formular una *división etnogeográfica del subcontinente americano* de acuerdo a las tres raíces étnicas de mestizaje, en tres grandes grupos: los países andinos como Venezuela, Colombia, Perú, Bolivia y el norte de Chile, en quienes esperamos un componente amerindio nativo mayor; los países del cono sur Argentina, Chile, Uruguay y Paraguay, en los cuales habría un componente caucásico mayoritario, que posiblemente sea de los últimos dos siglos; y Brasil que por sí solo constituye un país megadiverso con un fuerte componente afroamericano.

Esta división coincide parcialmente con los estudios realizados sobre los límites genómicos de las poblaciones humanas (Burbujani y Belle, 2006), que agrupan genotipos de STRs autosómicos de acuerdo a la geografía y que establecieron 10 barreras genéticas, 4 de las cuales están en centro y sudamérica. Podemos afirmar que Centroamérica es más parecida a Norteamérica, que a la región subcontinental.

Los Kichwas

Se ubican a lo largo de todo el callejón interandino del Ecuador y, muy cercanos a los mestizos, constituyen el segundo grupo poblacional. Desde luego, su presencia ratifica el concepto de una América Indígena. Se conoce que antes del imperio incásico existieron poblaciones nativas originarias de Ecuador que fueron aparentemente asimiladas por los Incas, pero existen en los actuales momentos descendientes de aquellas culturas originarias?.

Si es así estaríamos ante la presencia de *subestructura poblacional en los kichwas actuales*, inferencia que requerirá futuros estudios poblacionales. Por otro lado, si todos los pueblos indígenas tuvieron un ancestro común no podríamos determinar con claridad si hay diferencias entre los grupos actuales. También se debería establecer lo qué sucedió con los predecesores.

Desde el punto de vista evolutivo, podemos formular también una *teoría sobre el flujo de las migraciones humanas en Ecuador*, las mismas que se dieron aparentemente por tres caminos: un grupo entró por el callejón interandino y son los ancestros de los kichwas actuales. Un segundo grupo entró y se ubicó en la costa ecuatoriana del Océano Pacífico y si así fue, en los actuales momentos debería haber algún grupo descendiente de ellos. Por una tercera ruta llegaron al oriente ecuatoriano y a la región amazónica pero pasaron las montañas y no volvieron, quedando fracciones de pueblos aislados por la geografía y aislados entre sí, lo que explicaría la presencia de los kichwas del oriente y a lo mejor de algunos grupos amerindios dispersos.

Analizando, la segunda ruta hacia la costa pacífica tendríamos que esperar que existiera un grupo étnico relacionado con los ancestros de los kichwas actuales y que además, hablaran algún idioma amerindio nativo; situación que no se observa. A lo largo de toda la costa ecuatoriana no existen rastros antropológicos, de poblaciones amerindias nativas cercanas a los kichwas actuales.

Los estudios arqueológicos hallaron los restos humanos más antiguo de Ecuador en la península de Santa Elena hace ~11.000 años a.C. Sin embargo, no hay evidencias de que estos pueblos hayan subsistido o hayan migrado, sino que aparentemente desaparecieron durante la expansión incásica. Tampoco se haya explicación sobre si estos primeros pobladores llegaron a través de la ruta continental hasta la costa como un grupo derivado de los ancestros de los amerindios kichwas actuales. Al contrario se han formulado hipótesis en las que se dice que debido a su ubicación actual y su tradición de la pesca y la navegación, podrían ser originarios de otro sitio, a lo mejor de Oceanía.

Cabe señalar también que actualmente existe un pequeño pueblo de pescadores ubicados en el mismo sitio, en Santa Elena, que se autodefine como un grupo étnico diferente y son conocidos como los «cholos» de la costa. Hablan español, se los identifica como parte de los mestizos y viven tradicionalmente de la pesca tradicional, desde que se los conoce. Podríamos sugerir que este pueblo tiene alguna relación de descendencia con los primeros pobladores, aunque no se descarta que sean un grupo mestizo.

Tampo existe evidencia cultural de su cercanía con algún pueblo amerindio de la zona andina. Tampoco son similares a los mestizos de la provincia del Guayas donde se ubica geográficamente su pueblo. No están aislados pero aparentemente su fenotipo es diferente. Lo claro es que no hay evidencia de que haya algún grupo nativo amerindio que se mantenga hasta ahora, en la costa pacífica del Ecuador. Quedan aún preguntas sin responder, una de ellas sobre el origen de los primeros pobladores que se ubicaron en la península de Santa Elena y sobre la situación de sus descendientes, si los hubo.

Los Waorani

Son quizás un enigma étnico y evolutivo. Se mantienen como grupo nómada de cazadores-recolectores y los más aislados como los Tagaeri y los Tamomename, casi no tienen contacto con el mundo occidental. Son difíciles de ubicar geográficamente ya que habitan en una inmensa reserva ecológica, y hablan un lenguaje amerindio nativo que no tiene congéneres con otras lenguas.

Algunos autores han descrito que hablan un lenguaje llamado «jivaroan», el cual no estamos seguros si podría pertenecer a este grupo. No hemos encontrado pueblos cercanos genéticamente a este grupo, incluso en el Brasil amazónico.

Curiosamente, 8 de las 13 lenguas amerindias reconocidas en el Ecuador proceden de la región amazónica y aunque pudieran tener un origen común se mantienen como auténticas y diferentes. Geográficamente, las condiciones de la selva amazónica no han permitido a estos grupos humanos mantener contacto permanente entre sí, aunque hay evidencia de intercambios culturales. Se conoce que viajan grandes distancias en busca de mujeres que puedan ser esposas y madres, en un intento de preservar su grupo familiar.

Esto significa que se han mezclado con otros grupos aunque sea sutilmente. No se conoce con exactitud de donde proceden estos pueblos nativos amazónicos aislados. Podríamos inferir que vinieron antes que los ancestros de los kichwas o que a lo mejor podrían ser descendientes de un ancestro común, y si así lo fuera tendrían que existir relación genética con las poblaciones de Asia Central y de esta manera confirmar su origen.

También podríamos pensar que estos grupos aislados, como son los Waorani, proceden del Brasil y que con los años llegaron hasta la selva ecuatoriana, pero tendrían que ser genéticamente cercanos a los pueblos nativos del amazonas brasileño lo que no hemos observado. Se requieren mayores estudios, que comprendan un mayor número de poblaciones nativas y de individuos para encontrar respuestas adecuadas.

Los Negros

Los resultados encontrados nos permiten formular también una *teoría de la mezcla negra del afroamericano*, o de su variabilidad intrapoblacional. Se ha demostrado claramente que los Negros son una población trihíbrida. Esto nos lleva a pensar en que en los actuales momentos existe en el Ecuador solo poblaciones derivadas o mezcladas, como los *mulatos*, frutos de la unión entre un caucásico y un negro y los *zambos*, descendientes de negros y amerindios.

Por lo tanto, los descendientes de los negros africanos ya no deberían calificarse como negros, sino al contrario describirse como productos de una mezcla, tal como los mestizos. No es aconsejable utilizar en este caso el término *mestizo*, ya que significa la mezcla entre un amerindio y un caucásico.

Por otro lado, existen dos grandes asentamientos de origen negro en Ecuador. Uno ubicado en la provincia de Esmeraldas, en la costa ecuatoriana, y otro en la Provincia del Carchi, en la zona interandina. Aunque tienen un ancestro común presentan divergencias culturales. Se podría pensar que los negros del Carchi tienen un mayor componente amerindio.

Esto podría explicar las diferencias existentes entre los negros ecuatorianos y algunos de los negros afroamericanos de Estados Unidos, que tendrían un componente en la mezcla mayoritariamente caucásico versus el amerindio. También se tendría que diferenciar los componentes de la mezcla entre los negros y los componentes Na-Dene o Aleutianos, que probablemente existirían en Norte América.

Finalmente, se debe señalar que los estudios genéticos realizados constituyen la primera investigación formal sobre la etnogenética ecuatoriana.

Primera

Los mestizos, amerindios kichwas y negros afroamericanos se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg para todos los STRs autosómicos realizados tanto por técnicas manuales como automatizadas. Se ha generado una base de datos propia y a nivel local, para los cálculos estadísticos utilizados en la resolución de casos forenses.

Segunda

La utilización en forma conjunta de 15 STRs autosómicos (en formato multiplex) ha demostrado poseer una elevada variabilidad y ofrece un Poder de Discriminación (PD) conjunto superior a 0,99999999 y de Poder de Exclusión *a priori* (MEC) siempre por encima de 0,99999925, la Probabilidad de Matching combinado encontrado es de 1 en 1.27×10^{17} para mestizos.

Tercera

En mestizos, amerindios kichwas y negros afroamericanos, la diversidad haplotípica del cromosoma «Y» es alta y bastante próxima a uno; este parámetro es numéricamente idéntico a los parámetros forenses de información *a priori* como el poder de discriminación o el poder de exclusión. El conjunto de 12 *loci* analizados tiene amplio poder de discriminar individuos varones no relacionados en todas las tres poblaciones y se puede usar en casos forenses

Cuarta

Se ha confirmado y cuantificado con los marcadores STRs autosómicos que mestizos y afroecuatorianos son poblaciones trihíbridas. Los mestizos contienen ~73% de cromosomas autosómicos de origen amerindio, un ~19% europeo putativo y ~8% origen africano. Los afroecuatorianos se pueden estimar en el ~57% africanos, ~28% europeos y ~15% nativos americanos.

Quinta

Se observa en la mezcla una mayor contribución de los varones europeos a partir de cromosoma «Y». En mestizos las líneas europeas putativas alcanzan un ~70%, un ~2% son de origen africano y un ~28% de nativos americanos, lo que coincide con la introducción de linajes paternos durante la conquista española. En afroamericanos se observa un ~44% africanos, ~31% europeos y ~15% nativos americanos. En los kichwas el ~10% es de origen europeo putativo y un ~78% nativos americanos.

Sexta

Mediante los STRs autosómicos se confirma que los mestizos tienen una pequeña distancia genética con los amerindios kichwas y luego, se acercan a los españoles y a las poblaciones caucasoides de la Península Ibérica y de Europa. Los kichwas, claramente nativos, se aproximan a los mestizos de la mayoría de poblaciones urbanas de los países del área andina, sobre todo en aquellos sitios donde existe una clara presencia indígena. Los afroecuatorianos son los más próximos a los guineanos pero están más próximos a los kichwas y a los españoles, que a los africanos.

Séptima

Se encontraron 271 haplotipos del cromosoma «Y» diferentes. Siete haplotipos del cromosoma «Y» diferentes fueron compartidos entre kichwas y mestizos, uno entre mestizos y afroecuatorianos y uno entre kichwas, afroecuatorianos y mestizos. Este último resulta ser el haplotipo más frecuente en los europeos y, particularmente, en los españoles.

Octava

Se confirma también por los STRs en el cromosoma «Y» que los afroecuatorianos son los más próximos a los guineanos pero están más próximos a los kichwas y a los españoles, que lo que lo están los guineanos. Los mestizos muestran una distancia pequeña a los kichwas, pero su distancia a los españoles es claramente más reducida que entre los kichwas y los españoles.

Novena

Los amerindios waorani aunque muestran un claro interés antropológico y están en equilibrio de Hardy-Weinberg presentan un grado de endemismo de difícil valoración. No se ha podido apreciar un patrón claro que diferencie a este grupo étnico de grupos similares en estado de aislamiento. Se puede afirmar que la deriva génica parece haber jugado un papel más importante que las migraciones o el flujo génico en la configuración del «paisaje genético» waorani.

Décima

Los datos obtenidos son de enorme valor antropológico y forense, y constituyen una herramienta indispensable para trazar mejor la historia de Ecuador, en busca de los orígenes de los actuales pobladores del Nuevo Mundo.

Referencias



Referencias y fuentes de información

- Abe-Sandes K, Silva WA Jr, Zago MA. (2004) Heterogeneity of the Y chromosome in Afro-Brazilian populations. *Hum Biol.* 76:77-86
- Alves C, Gusmão L, Lopez-Parra AM, Soledad Mesa M, Amorim A, Arroyo-Pardo E. (2005) STR allelic frequencies for an African population sample (Equatorial Guinea) using AmpFISTR Identifiler and Powerplex 16 kits. *Forensic Sci Int.* 148:239-42.
- Amorim A y Pereira L (2005) Pros and cons in the use of SNPs in forensic kinship investigation: a comparative analysis with STRs. *Forensic Sci Int.* 150: 17-21.
- Andersen J, Martin P, Carracedo A, Dobosz M, Eriksen B, Johnson V y cols. (1996) Report on the third EDNAP collaborative STR exercise. European DNA Profiling Group. *Forensic Sci Int;* 78/2: 83-93
- Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, deBruijn MH, Coulson AR, Drouin J, Eperon IC, Nierlich DP, Roe BA, Sanger F, Schreier PH, Smith AJ, Staden R, Young IG (1981) Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature;* 290(5806): 457-465.
- Ardila G (1992) El norte de América del Sur: diversidad y adaptaciones en el final del Pleistoceno. En: Politis G (ed) *Arqueología en América Latina Hoy*, Biblioteca Banco Popular, Bogotá, 90-115.
- Ardila G y Politis G (1989) Nuevos datos para un viejo problema: investigación y discusiones en torno al poblamiento de América del Sur, *Boletín del Museo del Oro*, Bogotá.
- Ayala E (1988) El hombre temprano en el Ecuador aborigen. *Nueva Historia del Ecuador*, Tomo I, Corporación Editora Nacional / Grijalbo, Quito.
- Ayala E (1989) *Nueva historia del Ecuador*, Corporación Editora Nacional/Grijalbo, Quito.
- Ayala E, Fernández S (2003) Ecuador, raíces del presente. Disponible en: <http://www.dlh.lahora.com.ec/paginas/historia/>
- Ayub Q, Mohyuddin A, Qamar R, Mazhar K, Zerjal T, Medí Q, Tyler-Smith C (2000) Identification and characterisation of novel human Y-chromosomal microsatellites from sequence database information. *Nucleic Acids Research*, Vol. 28 (8): e8.
- Babalini C, Tarsi T, Martinez-Labarga C, Scano G, Pepe G, De Stefano GF, Rickards O (2005) COL1A2 (type I collagen) polymorphisms in the Colorado Indians of Ecuador. *Ann Hum Biol.* Sep-Oct; 32 (5): 666 - 78.

- Bahn PG (1993) Archaeology. 50,000-year-old Americans of Pedra Furada. *Nature*; 362:114-115.
- Baltimore D (2001) Our genome unveiled. *Nature*, 409: 814-16.
- Bamshad M, Wooding S, Salisbury BA, Stephens JC (2004) Deconstructing the relations between genetics and race. *Nat Rev Genet*, 5: 598-609.
- Bandelt HJ, Forster P, Rohl A. (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol*.16:37-48.
- Bär W, Brinkman B, Budowle B, Carracedo A, Gill P, Lincoln P, Mayr W, Olaisen B (1997). DNA recommendations – Further report of the DNA Commission of ISFH regarding the use of short tandem repeats systems. *Int J Legal Med*; 110: 175-76
- Bar W, Kratzer A, Machler M, Schmid W (1988) Postmortme stability of DNA. *Forensic Sci Int*, 39 (1): 59-70.
- Barbujani G, Belle E (2006) Genomic boundaries between human populations. *Human Hered*; 61: 15-21
- Batzer MA, Deininger PL (2002) ALU repeats and human genomic diversity. *Nat Rev Genet*; 3: 370-9.
- Beleza S, Gusmão L, Lopes A, Alves C, Gomes I, Giozueli M, Calafell F, Carracedo A, Amorim A (2006) Microphylogeography and demographic history of Portuguese male lineages. *Ann Hum Genet*, 70: 181-94.
- Bell B, Nieves P, Abecia E, Martínez-Jarreta B, Hinojal Fonseca R, Martínez Cordero (2000) Population genetics of the STR loci HUMCSF1PO, HUMF13A01, HUMFES/FPS and 12S391 in Asturias (Northern Spain) *Forensic Science Int*; 113:21-23.
- Bell R (1965) Investigaciones arqueológicas en el sitio de El Inga, Ecuador, Casa de la Cultura Ecuatoriana, Quito.
- Benítez L, Garcés A (1989) Culturas ecuatorianas ayer y hoy. Quito, Edit. Abya-Yala.
- Bernard C, (1994) Descubrimiento, conquista y colonización de América a quinientos años, Ed. F.C.E., México.
- Bertoni B, Budowle B, Sans M, Barton SA, Chakraborty R. (2003) Admixture in Hispanics: distribution of ancestral population contributions in the Continental United States. *Hum Biol*. 75:1-11.
- Bonifaz E (1978) Obsidianas del paleoindio de la región del Ilaló, edición del autor, Quito
- Bonilla C, Parra EJ, Pfaff CL, Dios S, Marshall JA, Hamman RF, Ferrell RE, Hoggart CL, McKeigue PM, Shriver MD. (2004b) Admixture in the Hispanics of the San Luis

Valley, Colorado, and its implications for complex trait gene mapping. *Ann Hum Genet.* 68:139-53.

Bonilla C, Shriver MD, Parra EJ, Jones A, Fernandez JR. (2004a) Ancestral proportions and their association with skin pigmentation and bone mineral density in Puerto Rican women from New York city. *Hum Genet.* 115:57-68

Boork P y Copley R (2001) Filling the gaps. *Nature*, 409: 818-20

Bortolini MC, Salzano FM, Thomas MG, Stuart S, Nasanen SP, Bau CH, Hutz MH, Layrisse Z, Petzl-Erler ML, Tsuneto LT, Hill K, Hurtado AM, Castro-de-Guerra D, Torres MM, Groot H, Michalski R, Nymadawa P, Bedoya G, Bradman N, Labuda D, Ruiz-Linares A. (2003) Y-chromosome evidence for differing ancient demographic histories in the Americas. *Am J Hum Genet.*73:524-39

Bosch E, Calafell F, Santos FR, Pérez-Lezaun A, Comas D, Benchemsi N, Tyler-Smith C, Bertranpetit J. (1999) Variation in short tandem repeats is deeply structured by genetic background on the human Y chromosome. *Am J Hum Genet.* 65:1623-38.

Bosch E, Lee AC, Calafell F, Arroyo E, Henneman P, de Knijff P, Jobling MA (2002) High resolution Y chromosome typing: 19 STRs amplified in three multiplex reactions. *For Sci Int* 2002; 125: 42-51.

Brinkmann B (1995) The STR approach. En: Carracedo A, Brinkmann B, Bär W (eds). *Advances in forensic Haemogenetics* 6: 41-51.

Brinkmann B, Junge A, Meyer E, Wiegand P (1998) Population genetic diversity in relation to microsatellite heterogeneity. *Hum Mutat*; 11(2): 135-144.

Brinkmann B, Klintschar M, Neuhuber F, Hühne J, Rolf B (1998) Mutation rate in human microsatellites: influence of the structure and length of the tandem repeat. *Am J Hum Genet.* 62: 1408-1415.

Brinkmann B, Sajantila A, Goedde HW, Matsumoto H, Nishi K, Wiegand P (1996) Population genetic comparisons among eight populations using allele frequency and sequence data from three microsatellite loci. *Eur J Hum Genet*; 4: 175-182.

Brión M, Dupuy BM, Heinrich M, Hohoff C, Hoste B, Ludes B, Carracedo y cols. (2005b) A collaborative study of the EDNAP group regarding Y-chromosome binary polymorphisms analysis. *Forensic Sci Int*, 153 (2-3): 103-8.

Brión M, Salas A, González-Neira A, Lareau MV, Carracedo A (2003) Insights into Iberian Population origins through the construction of highly informative Y-chromosome haplotypes using biallelic markers, STRs and the MSY1 minisatellite. *Amer J Physican Anthropol.* 122: 147-61

Brión M, Sanchez JJ, Balogh K, Thacker C, Blanco-Verea A, Børsting C, y cols. (2005a) Introduction of an single nucleotide polymorphism-based Major Y-chromosome

haplogroup typing kit suitable for predicting the geographical origin of male lineages. *Electrophoresis*, 26 (23): 4411–20.

Brión M, Sobrino B, Blanco-Verea A, Lareau MV, Carracedo A (2005c) Hierarchical analysis of 30 Y-chromosome SNPs in European populations. *Int J Legal Med*. 119 (1): 10-5.

Brión M, Sobrino B, Blanco-Verea A, Lareau MV, Carracedo A (2004a) Hierarchical analysis of 30 Y-chromosome SNPs in European populations. *Int J Legal Med*; 119:10-15.

Brión M, Quintans B, Zarrabeitia M, González-Neira A, Salas A; Lareau V, Tyler-Smith C, Carracedo A (2004b) Micro-geographical differentiation in Northern Iberia revealed by Y-chromosomal DNA analysis. *Gene*, 329-17-25.

Brito M (1992) *Libro Mundos Amazónicos*, Fundación Sinchi Sacha. Quito-Ecuador.

Budowle B (2004) SNP typing strategies. *Forensic Sci Int*, 146S: S139-S142.

Budowle B, Bieber F, Eisenberg A (2005) Forensic aspects of mass disasters: strategic considerations for DNA-based human identification. *Legal Med*, 7: 230-43.

Budowle B, Moretti TR, Baumstark AL, Defenbaugh DA, Keys KM (1999) Population data on the thirteen CODIS core short tandem repeat loci in African Americans, U.S. Caucasians, Hispanics, Bahamians, Jamaicans, and Trinidadians. *J Forensic Sci*, 44 (6): 1277-86.

Butler JM (1999) STR Analysis by time-of-flight mass spectrometry. *Profiles in DNA*, 2 (3): 3-6

Butler JM (2001) Commonly used short tandem repeat markers, *Biology of STRs: stutter products, non-template addition, microvariants, null alleles and mutation rates*, Additional DNA markers: amelogenin, Y-chromosome STRs, mtDNA, SNPs, Alu repeats. En: Butler JM (ed), *Forensic DNA typing*, Academic Press, San Diego, USA.

Butler JM (2001) *Forensic DNA Typing: biology and technology behind STR markers*. London: Academic Press, 2001.

Butler JM (2002) Mini STR development to aid of degraded samples. Presentation for World Trade Center kinship and DNA analysis panel, Albany, NY.

Butler JM (2003) Recent development in Y-STR and Y-SNP Analysis. *Forensic Sci Rev*, 15 (2): 91-111.

Butler JM (2005) Constructing STR multiplex assays. *Methods Molecular Biol*, 297: 53-66

Butler JM (2006) Genetics and genomics of core STR loci used in human identity testing. *J Forensic Sci*, 51(2): 253-265.

- Butler JM, Levin BC (1998) Forensic applications of mitochondrial DNA. *Trends Biotech*, 16: 158-62.
- Butler JM, Li J, Shaler TA, Monforte JA, Becker CH (1998) Reliable genotyping of short tandem repeat loci without an allelic ladder using time-of-flight mass spectrometry. *Int J Legal Med*, 112: 45-49
- Butler JM, Schoske R, Vallone P, Kline M, Redd A, Hammer M (2002). A novel multiplex for simultaneous amplification of 20 Y chromosome STR markers. *Forensic Sci Int*; 129: 10-24
- Butler JM, Schoske R, Vallone P, Kline M, Redd AJ, Hammer MF (2002) A novel multiplex for simultaneous amplification of 20 Y chromosome STR markers. *For Sci Int* 2002; 129: 10-24.
- Butler JM, Schoske R, Vallone PM, Redman JW, Kline MC. Allele frequencies for 15 autosomal STR loci on U.S. Caucasian, African American, and Hispanic populations. *J Forensic Sci* 2003;48:908-11.
- Butler JM, Shen Y, McCord BR. (2003) The development of reduced size STR amplicons as tools for analysis of degraded DNA. *J. Forensic Sci*, 48 (5): 1054-64.
- Carracedo A (2005) Forensic DNA typing protocols. *Methods Molec Biol*, Vol. 297, Humana Press
- Carracedo A, Lareu MV (1998) Proceedings of the Ninth International Symposium on Human identification. Madison: Promega Corporation; 89-107.
- Casanova M, Leroy P, Boucekkine C, Weissenbach J, Bishop C, Fellous M, Purrello M, Fiori G, Siniscalco M (1985). A human Y-linked DNA polymorphism and its potential for estimating genetic and evolutionary distance. *Science*; 230 (4732): 1403-1406.
- Castrillo F (1992) *El Soldado de la Conquista*. Mapfre, Madrid.
- Chen C, Gentles AJ, Jurka J, Karlin S (2002) Genes, pseudogenes, and Alu sequence organization across human chromosomes 21 and 22. *Proc Natl Acad Sci USA*;99: 2930-35.
- Chung DT, Drabek J, Opel KL, Butler JM, McCord BR (2004) A study on the effects of degradation and template concentration on the efficiency of the STR miniplex primer sets. *J. Forensic Sci*. 49 (4): 733-40.
- Cifuentes L, Morales R, Sepulveda D, Jorquera H, Acuña M. (2004) DYS19 and DYS199 loci in a Chilean population of mixed ancestry. *Am J Phys Anthropol*. 125:85-9.
- Clayton TM, Whitaker JP, Sparkes R, Gill P (1998) Analysis and Interpretation of mixed forensic stains using DNA STR profiling. *For Sci Int*, (91) 55-70.

- Coble M (2005) Characterization and performance of new miniSTR loci for typing degraded samples. Talk at the International Society of Forensic Genetics meeting (Ponta Delgada, Azores, Portugal), September 14, 2005.
- Coble M.D y Butler JM (2005) Characterization of new miniSTR loci to aid analysis of degraded DNA. *J. Forensic Sci.* 50 (1):43-53.
- Coble MD, Hill CR, Vallone PM, Butler JM (2005) Characterization and performance of new miniSTR loci for typing degraded samples. *Progress in Forensic Genetics* 11 [comunicación personal].
- Conejo A (2005) Kuri Shimi, curso de Kichwa funcional activo para hispano y kichwa hablantes, 1ª. Ed. Proyecto de fortalecimiento de municipios indígenas alternativos. CODENPE (http://www.otavalosonline.com/clasesdekichwa/kuri_shimi/)
- Corach D, Filgueira L, Marino M, Penacino G, Sala A (2001) Routine Y-STR typing in forensic casework. *For Sci Int* 2001; 118: 131-135.
- Corach D, Sala A, Penacino G, Iannucci N, Bernardi P, Doretti M, Fondebrider L, Ginarti A, Inchaurregui A, Somigliana C, Turner S, Hagelberg E (1997). Additional approaches to DNA typing of skeletal remains: The search for "missing" persons killed during the last dictatorship in Argentina. *Electrophoresis*; 18: 1608-1612.
- Corach D., Sala A., Penacino G. and Sotelo A (1995). Mass Disasters: Rapid Molecular Screening of Human Remains by Means of STRs Typing. *Electrophoresis*; 16 (9):1617-1623.
- Cotton EA, Allsop RF, Guest JL, Frazier RR, Koumi P, Callow IP y cols (2000) Validation of AmpFISTR® SGMPlus™ system for use in forensic casework. *For Sci Int*, 112 (2-3): 151-61.
- De Knijff P, Kayser M, Caglia A, Corach D, Fretwell N, Gehrig C, Graziosi G, Heidorn F, Herrman S, Herzog B, Hidding M, Honda K, Jobling M, Krawczak M, Leim K, Meuser S, Meyer E, Oesterreich W, Pandya A, Parson W, Penacino G, Perez-Lezaun A, Piccinini A, Prinz M, Schmitt C, Schneider PM, Szibor R, Teifel-Greding J, Weichhold G, Roewer L (1997). Chromosome Y microsatellite: population genetic and evolutionary aspects. *Int J Legal Med*; 110: 134-140.
- De Souza IR, Muniz YC, de M Saldanha G, Alves Junior L, da Rosa FC, Maegawa FA, Susin MF, de S Lipinski M, Petzl-Erler ML. (2003) Demographic and genetic structures of two partially isolated communities of Santa Catarina Island, southern Brazil. *Hum Biol.*75:241-53.
- Dixon LA, Dobbins AE, Pulker HK, Butler JM, Vallone PM, Coble MD, et al (2005a) Analysis of artificially degraded DNA using STR and SNPs – results of a collaborative European (EDNAP) exercise. *Forensic Sci Int*, doi: 10.1016/j.forsciint.2005.11.011.

- Dixon LA, Murray CM, Archer JE, Dobbins AE, Koumi P, Gill P (2005b) Validation of a 21-locus autosomal SNP multiplex for forensic identification purposes. *Forensic Sci Int.* 154: 62-77.
- Drábek J, Chung DT, Butler JM, McCord BR (2004) Concordance study between miniplex STR assays and a commercial STR typing kit, *J. Forensic Sci.* 49 (4): 859-60.
- Dupanloup I, Bertorelle G. (2001) Inferring admixture proportions from molecular data: extension to any number of parental populations. *Mol Biol Evol.* 18:672-5
- Ecuador Terra Incógnita, eds. (2000) Ecuador: nuestra gente. *Rev Ecuador Terra Incógnita*, Número 6. Quito
- Edwards A, Civitello A, Hammond HA, Caskei CT (1991) DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am J Hum Genet*; 49: 746-756.
- Edwards A, Hammond HA, Caskey CT, Chakraborty R (1992) Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups. *Genomics*; 12: 241-253.
- Epplen JT, Santos EJM, Mäkeler W, Rousseau J, van Helden P, Epplen C (1997) Simple repetitive DNA sequences: junk, tools or more?. *Proceedings from the first European symposium on human identification 1996. Toulouse: Promega*; 10-19.
- Erich HA, Sheldon EL, Horn G (1986) HLA typing using DNA probes. *Biotechnol* 1986; 4: 975-981.
- Esnault C, Maestre J, Heidmann T (2000) Human LINE retrotransposons generate processed pseudogenes. *Nature Genet*, 24: 363-67
- Estupiñán-Bass N (2006). El Negro ecuatoriano y su cultura. Descripción y relación de la provincia y tierra de las Esmeraldas por Miguel Cabello de Balboa M, 1553 Disponible en: <http://www.cncultura.gov.ec/>
- Fanning TG, Singer MF (1987) LINE-1: a mammalian transposable element. *Biochim Biophys Acta*; 910 (3):203-212.
- Flores C, Maca-Meyer N, Gonzalez AM, Oefner PJ, Shen P, Perez JA, Rojas A, Larruga JM, Underhill PA. (2004) Reduced genetic structure of the Iberian peninsula revealed by Y-chromosome analysis: implications for population demography. *Eur J Hum Genet.* 12:855-63.
- Frommer M, Prosser J, Tkachuk D, Reisner AH, Vincent PC (1982) Simple repeated sequences in human satellite DNA. *Nucleic Acid Res*, 10 (2): 543-63.
- Frommer M, Prosser J, Tkachuk D, Reisner AH, Vincent PC (1982). Simple repeated sequences in human satellite DNA. *Nucleic Acids Res*; 10(2): 543-563.

- Futreal A, Kasprzy K, Birey E, Mullikin J, Wooster R, Stratton M (2001) Cancer and genomics. *Nature*, 409: 850-52.
- Garber TL, Butler LM, Trachtenberg EA, Erlich HA, Rickards O, De Stefano G, Watkins DI (1995). HLA-B alleles of the Cayapa of Ecuador: new B39 and B15 alleles. *Immunogenetics*;42(4):308.
- Gené M, Fuentes M, Huguet E y cols (1998) Quechua Amerindian population characterized by HLA-DQ α , YNZ22, 3APO B, HUMTH01, and HUMVWAA31A polymorphism, *J Forensic Sci*, 43 (2): 403-5.
- Gené M, Moreno P, Borrego N y cols (2000) Population study of Aymara Amerindians for PCR-DNA polymorphisms HUMTH01, HUMVWAA31A, D3S1358, D8S1179, D18S51, D19S253, YNZ22 and HLA-DQ α , *Int J Legal Med*, 113: 126–8.
- Ghebranious N, Vaske D, Yu A, Zhao C, Marth G, Weber JL (2003) STRP Screening sets for the human genome at 5cM density. *BMC Genomics*, 4 (6): 1-10.
- Gill P, Brenner C, Brinkmann B, Budowlw B, Carracedo A, Jobling P, De Knijff P, Kayser M, Mayr WR, Morling N, Olaisen B, Pasacali V, Prinz M, Roewer L, Schneider P, Sajantilla A, Tyler-Smith C (2001). DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics: recommendations on forensic analysis using Y-chromosome STRs. *For Sci Int*
- Gill P, D'Aloja E, Dupuy B, Eriksen B, Jangblad M, Johnsson V, et al (1998) Report of the European DNA profiling Group (EDNAP) – an investigation of the hypervariable STR loci ACTBP2, APOAII and D11S55a and the compound loci D12S391 and D1S1656. *Forensic Sci Int*, 98: 193-200.
- Gill P, Fereday L, Morling N, Schneider P (2006b) New multiplexes for Europe – Amendments and clarification of strategic development. *Forensic Sci Int*, doi: 10.1016/j.forsciint.2005.11.025.
- Gill P, Fereday L, Morling N, Schneider PM (2006a) The evolution of DNA databases- Recommendations for new European loci. *Forensic Sci. Int.* 156: 242-44.
- Gill P, Kimpton CP, d'aloja E, Andersen JF, Bar W, Brinkmann B, Holgersson S, Johnsson V, Kloosterman AD, Lareu MV, Nellermann L, Pfitzinger H, Phillips CP, Schmitter H, Schneider PM, Stenersen M (1994) Report of the European DNA profiling group (EDNAP)- towards standardisation of short tandem repeats (STR) loci. *For Sci Int*; 65: 51-59.
- Gill P, Kimpton CP, Urquhart A, Oldroyd N, Millican ES, Watson SK, Downes TJ (1995) Automated short tandem repeat (STR) analysis in forensic casework – a strategy for the future. *Electrophoresis*, 16:1543-1552.

- Gill P, Urquhart A, Millican ES, Oldroyd NJ, Watson S, Sparkes R, Kimpton CP (1996). A new method of STR interpretation using inferential logic-development of a criminal intelligence database. *Int J Legal Med*; 109(1): 14-22.
- Gill P, Werrelet DJ, Budowle B, Gurrier R (2004) An assesment of wheter SNPs will replace STRs in national DNA databses-joint considerations of the DNA working group of the European Network of Forensic Science Institutes (ENFSI) and the Scientific Working Group on DNA Analysis Methods (SWGDM). *Sci Justice*, 44 (1): 51-3.
- Gill P, Werret DJ (1987) Exclusion of a man charged with murder by DNA fingerprinting. *For Sci Int* ; 35: 145-148.
- Gill P, Whitaker J, Flaxman C, Brown N, Bucleton J (2001) An investigation of rigor of interpretation rules for STRs derived from less than 100 pg of DNA. *Forensic Sci In*, 112: 17-40.
- Gómez J, García-Hirschfeld J, García O, Carracedo A (2004) GEP proficiency testing program in forensic genetics: 10 years of experience. GEP-ISFG Working group, ICS 1261: 124– 126.
- González Suárez F (2004) *Historia general de la República del Ecuador. Edición digital basada en la de Quito*, Imprenta del Clero, 1890. Publicación de la Biblioteca Virtual Miguel de Cervantes, Alicante.
- González-Andrade F, Sánchez D (2005b) DNA typing from skeletal remains folowing an explosion in a military fort—first experience in Ecuador (South America). *Leg Med (Tokyo)*; 7 (5): 314-8.
- González-Andrade F, Sánchez D (2005c) DNA typing from skeletal remains following an explosion in a military fort – first experience in Ecuador (South- America), *Legal Med (Tokyo) Oct*; 7 (5): 314-318.
- González-Andrade F, Sánchez D, Bolea M B, Martínez-Jarreta B (2005b) DNA typing in missing persons in Ecuador. *Prog Forensic Genet* 11 (en prensa)
- González-Andrade F, Sánchez D, Martínez-Jarreta B (2004) DNA research in sexual offences: experience in Ecuador. *Progr Forensic Genet* 10, ICS 3374:544-546
- González-Andrade F, Sánchez D, Martínez-Jarreta B y cols. (2005a) Análisis de 2758 casos de paternidad resueltos con polimorfismos STR-PCR en Ecuador. *Rev. Ciencia Forense (España)* 7: 205-216.
- González-Andrade F, Sánchez D., Martínez-Jarreta B (2005). DNA polymorphisms distribution on ethnic groups of Ecuador (South America). In: Read MM (ed.) *Trends on DNA fingerprinting research*, Novapublishers (Ed).

- González-Neira A, Elmoznino M, Lareu MV, Sánchez-Diz P, Gusmão L, Prinz M, Carracedo A (2001). Sequence structure of 12 novel Y chromosome microsatellite and PCR amplification strategies. *For Sci Int* 2001; 122: 19-26.
- Goodwin W, Ballard D, Simpson K, Thacker C, Syndecombe Court D, Gow J (2004) Case study: paternity testing-whwn 21 loci are not enough. In: Doutremepuich C, Morling N (eds.) *Progress in forensic genetics 10*, Amsterdam, International Congress Series 1261:460-2.
- Grubwieser, P., Muhlmann, R., and Parson, W. (2003) New sensitive amplification primers for the STR locus D2S1338 for degraded casework DNA. *Int J Legal Med.* 117(3): 185-188.
- Gu Z, Wang H, Nekkuntenko A, Li WH (2000) Densities length proportions and other distributional features of repetitive sequences in the human genome estimated from 340 mb of genomic sequence. *Gene*, 259: 81-88
- Gunn PR, Trueman K, Stapleton P, Klarkowski DB (1997) DNA analysis in disputed parentage: the occurrence of two apparently false exclusions of paternity, both at short tandem repeat (STR) loci, in the one child. *Electrophoresis*, 18(9): 1650-1652.
- Gusmão L, González-Neira A, Pestoni C, Brion M, Lareu MV (1999) Carracedo A. Robustness of the Y STRs DYS9, DYS389 I and II, DYS390 and DYS393: optimization of a PCR pentaplex. *For Sci Int*; 106 (3): 163-172.
- Gusmão L, Sánchez-Diz P, Calafell F, Martin P, Alonso CA, Álvarez-Fernández F y cols. (2005) Mutation rates at Y-chromosome specific microsatellites. *Hum Mutation*, 26 (6): 520-8.
- Hallenberg C, Morling N (2002). A report of the 2000 and 2001 Paternity Testing Workshops of the English Speaking Working Group of the International Society for Forensic Genetics. *For Sci Int*, 129: 43-50.
- Hammer M y Redd AJ (2006) Forensic Applications of Y chromosome STRs and SNPs. Reporte final. Documento No. 211979. U.S. Department of Justice.
- Hammer MF (1994). A recent insertion of an Alu element on the Y chromosome is a useful marker for human population studies. *Mol Biol Evol*; 11: 749-761.
- Hammer MF, Chamberlain V, Kearney V, Stover D, Zhang G, Karafet T, Walsh B, Redd AJ (2005) Population structure of Y chromosome SNP haplogroups in the United States and forensic implications for constructing Y chromosome STR databases. *Forensic Sci Int*. Doi:10.1016/j.forsciint.2005.11.013
- Hardman N (1986) Structure and function of repetitive DNA in eukaryotes. *Biochem J*; 234: 1-11.

- Hauge XY, Litt M (1993) A study of the origin of “shadow bands” seen when typing dinucleotide repeat polymorphisms by the PCR. *Hum Mol Genet*, 2(4): 411- 415.
- Hellmann, A., Rohleder, U., Schmitter, H., and Wittig, M. (2001) STR typing of human telogen hairs-a new approach. *Int.J.Legal Med.* 114(4-5): 269-273.
- Henke J, Henke L (1999) Mutation rate in human microsatellites. *Am J Hum Genet*, 64: 1473.
- Heyer E, Puymirat J, Dieltjes P, Bakker E, de Knijff P (1997). Estimating Y chromosome specific microsatellite mutation frequencies using deep rooting pedigrees. *Hum Mol Genet*, 6(5): 799-803.
- Hill C, Coble D, Butler JM (2006) Development of 27 new MiniSTR loci for improved analysis of degraded DNA samples. Poster B105 at AAFS Congress, Seattle, 2006 [comunicación personal].
- Hirschfeld L, Hirschfeld H (1919) Serological differences between the blood of different races. The result of researches on the Macedonian front. *Lancet* ii, 675-679.
- Holland MM, Cave CA, Holland CA, Bille TW (2003) Development of a quality, high throughput DNA analysis procedure for skeletal samples to assist with the identification of victims from the World Trade Center attacks. *Croatian Medical Journal*, 44: 264-72.
- Hollis M, Hindley J (1988) Satellite II DNA of human lymphocytes: tandem repeats of a simple sequence element. *Nucleic acids Res*; 16(1): 363.
- Holm O (1981) Los primeros hombres del Ecuador, Museo Antropológico del Banco Central, Guayaquil.
- Holt CL, Buoncristiani M, Wallin JM, Nguyen T, Lazaruk KD, Walsh PS (2002) TWDAM validation of AmpFISTR[®] SGMPlus[™] amplification kits for forensic DNA casework. *J Forensic Sci*, 47 (1): 66-96.
- Home Office (1988) DNA Profiling in immigration casework. Report of a pilot trial by the Home Office and Foreign and Commonwealth Office. Home Office, London.
- Hou YP, Zhang J, Li YB, Wu J, Zhang SZ, Prinz M (2001) Allele sequence of six new Y-STR loci and haplotypes in the chinese Han population. *For Sci Int* ; 118: 147-152.
- Houck CM, Rinehart FP, Schmid CW (1979) A ubiquitous family of repeated DNA sequences in the human genome. *J Mol Biol*; 132: 289-306.
- Hsiung W, Li-Zhenglong G, Wang H, Nekkuntenko A (2001) Evolutionary analysis of the human genome. *Nature*, 409: 847-9.

- Hutz M, Callegari-Jacques S, Almeida S, Armbrorst T, Salzano F (2002) Low levels of STRP variability are not universal in American Indians. *Hum Biol*; 74 (6): 791-806
- Iida R, Tsubota E, Matsuki T (2001) Identification and characterization of two novel human polymorphic STRs on the Y chromosome. *Int J Legal Med*; 115: 54-56.
- INEC, Instituto Nacional de Estadísticas y censos (2003a) Anuario Estadístico del Ecuador. VI Censo de población del Ecuador y V de vivienda del año 2001. Documento oficial, Quito.
- INEC, Instituto Nacional de Estadísticas y censos (2003b) Anuario de Migración Internacional, Documento oficial, Quito.
- Internacional Human Genome Sequencing Consortium, CGH (2004) Finishing the euchromatic sequence of the Human Genoma. *Nature*, 431: 931-45.
- International Human Genome Sequence Consortium, CHG (2001) Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409: 860-921.
- Internacional SNP Working Group, Marth G, Yeh R, Minton M, Donaldson R, Li Q, Duan S y cols (2001) Single-nucleotide polymorphisms in the public domain: how useful are they? *Nat Genet*; 27 (4): 371-2
- ISFH (1994) DNA recommendations – 1994 report concerning further recommendations of the DNA Commission of the International Society for Forensic Haemogenetics regarding PCR-based polymorphisms in STR (short tandem repeat) systems. *Int J Legal Med*, 107: 159-160.
- ISFH, International Society for Forensic Haemogenetics (1992). Recommendations of the DNA Commission of the International Society for Forensic Haemogenetics relating to the use of PCR-based polymorphisms. *Forensic Sci Int*. 1992 Jul; 55 (1): 1-3.
- Jeffreys AJ, Brookfield JFY, Semeoneff R (1985) Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints. *Nature*; 317: 818-819.
- Jeffreys AJ, Pena SDJ (1993) Brief introduction to human DNA fingerprinting. En: Pena SDJ, Chakraborty R, Epplen JT, Jeffreys AJ (eds.) *DNA fingerprinting*. State of Science. Birkhäuser Verlag, Basel; 1-20.
- Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL (1985). Hypervariable minisatellite regions in human DNA, Individual specific fingerprints of human DNA. *Nature*; 316: 76-9.
- Jiménez-Sánchez G, Childs B, Valle D (2001) Human disease genes. *Nature*, 409: 853-55.
- Jobling MA y Tyler Smith C (2000) New uses for new haplotypes the human Y chromosome, disease and selection. *Trends Genet*; 16 (8): 356-62.

- Jobling MA y Tyler-Smith C (1995) Fathers and sons: the Y chromosome and human evolution. *Trends Genet*, 11(11):449-56.
- Jobling MA, Bouzekry N, Fretwell N, Dober G, Jeffreys A (1996). Digital DNA typing of human paternal lineages. En: *Molecular Biology and Human Diversity*. Boyce AJ, Mascie-Taylor CGN (Eds). Cambridge University Press, Cambridge, 12-23.
- Jobling MA, Pandya A, Taylor-Smith C (1997). The Y chromosome in forensic and paternity testing. *Int J Legal Med*; 110: 118-124.
- Jobling MA, Tyler-Smith C. (2003) The human Y chromosome: an evolutionary marker comes of age. *Nat Rev Genet*. 4:598-612.
- Kariya Y, Kato J, Hayashizaki Y, Himeno S, Tarui S, Matsubara K (1987) Revisión of consensus séquence of human Alu Repeats. *Gene*; 53: 1-10.
- Kayser M, Caglia A, Corach D, Fretwell N, Gehrig C, Graziosi G, Heidorn F, Herrman S, Herzog B, Hidding M, Honda K, Jobling M, Krawczak M, Leim K, Meuser S, Meyer E, Oesterreich W, Pandya A, Parson W, Penacino G, Perez-Lezaun A, Piccinini A, Prinz M, Schmitt C, Schneider PM, Szibor R, Teifel-Greding J, Weichhold G, de Knijff P, Roewer L (1997). Evaluation of Y-chromosomal STRs: a multicenter study. *Int J Legal Med*; 110: 125-133.
- Kayser M, Roewer L, Hedman M, Henke L, Henke J, Brauer S, Krüger C, Krawczak M, Nagy M, Dobosz T, Szibor R, de Knijff P, Stoneking M, Sajantila A (2000) Characteristics and frequency of germline mutations at microsatellite loci from the human Y chromosome, as revealed by direct observation in father/son pairs. *Am J Genet*, 66: 1580-1588.
- Kayser M, Sajantila A (2001) Mutations at YSTR loci: implications for paternity testing and forensic analysis. *For Sci Int*, 118: 116-121.
- Kimura M, Ohta T (1978). Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite population. *Proc Natl Acad Sci USA*; 75: 2868-2872
- Korenberg JR, Rykowski MC (1988) Human genome organization: Alu, lines, and the molecular structure of metaphase chromosome bands. *Cell*; 53: 391- 400.
- Krawczak M, Cooper DN (1991) Gene deletions causing human genetic disease: mechanisms of mutagenesis and the role of the local DNA sequence environment. *Hum Genet*, 86: 425-441.
- Krenke BE, Tereba A, Anderson SJ, Buel E, Culhane S, Finis CJ et al (2002) Validation of a 16-locus fluorescent multiplex system. *J Forensic Sci*, 47 (4): 773-785.
- Lahn B and Page D (1997) Functional coherence of the human Y chromosome. *Science*; 278: 675-80.

- Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, Devon K (2001) Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*; 409: 860- 921.
- Levadokou EN, Freeman DA, Budzynski MJ, Early BE, McElfresh KC, Schumm JW, et al. Allele frequencies for fourteen STR loci of the PowerPlex 1.1 and 2.1 multiplex systems and Penta D locus in Caucasians, African-Americans, Hispanics, and other populations of the United States of America and Brazil. *J Forensic Sci* 2001;46:736-61.
- Levinson G, Gutman GA (1987) Slipped strand mispriming: a major mechanism for DNA sequence evolution. *Mol Biol Evol* 1987; 4: 203-221.
- Lewin B (2003). *Genes VI*. Oxford: Oxford University Press.
- Linn S, Arber W (1968) Host specificity DNA produced by *Escherichia Coli* X. In vitro restriction of phage fd replicative form. *Proc Natl Acad Sci USA*; 59: 1300- 1306.
- Lins AM, Sprecher CJ, Puers C, Schumm JW (1996) Multiplex sets for the amplification of polymorphic short tandem repeat loci – silver stain and fluorescence detection. *Biotechniques*, 20: 882-889.
- Litt M, Luty JA (1989) A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am J Hum Genet*; 44 (3): 397-401.
- Loyo MA, de Guerra DC, Izaguirre MH, Rodriguez-Larralde A. (2004) Admixture estimates for Churuguara, a Venezuelan town in the State of Falcon. *Ann Hum Biol*. 31:669-80.
- Luque JA, Herráez A (2001) Organización del Genoma Eucariótico, Clonación acelular: Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). En: Luque JA, Herráez A (eds) *Biología Molecular e Ingeniería Genética*. Madrid: Ediciones Harcourt, 2001.
- Lygo JE, Johnson PE, Holdaway DJ, Woodroffe S, Whitaker JP, Clayton TM et al (1994) The validation of short tandem repeat (STR) loci for use in forensic casework. *Int J Legal Med*, 107 (2): 77-89.
- Lynch T, Pollock S (1985) La arqueología de la Cueva Negra de Chobshi, *Miscelánea Antropológica Ecuatoriana*, Quito.
- Malik HS, Henikoff S, Eickbush TH (2000) Poised for contagion: evolutionary origins of the infectious abilities of invertebrate retroviruses. *Genome Res*, 10: 1307-8.
- Mansfield ES, Robertson, Vainer M, Isenberg AR, Frazier RR, Ferguson K, Chow S, Harris DW, Barker DL, Gill PD, Budowle B, McCord BR (1998) Analysis of multiplexed short tandem repeat (STR) systems using capillary array electrophoresis. *Electrophoresis*; 19:101-107.

- Marshall A, Hodgson J (1998) DNA chips: an array of possibilities. *Nature Biotechnol*, 16: 27-31.
- Martin PD, Schmitter PM, Schneider PM (2001) A brief history of the formation of DNA databases in forensic science within Europe. *Forensic Sci Int*, 119: 225-31.
- Martínez Jarreta B (1996) Análisis de Polimorfismos ADN en Biología Forense. En: Martínez Jarreta B (Ed). *La Prueba Pericial Médica en el Derecho*. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Zaragoza (ed). Zaragoza,: 143-161.
- Martínez Jarreta B (1999) Introducción al estudio de los Polimorfismos del ADN en Medicina Forense. En: Martínez Jarreta MB (ed), *La prueba del ADN en Medicina Forense*. Barcelona: Masson.
- Martínez Jarreta B (2003a) Curso on-line de Genética Forense, Departamento de Medicina Legal y Forense, Universidad de Zaragoza.
- Martínez Jarreta B (2003b) Los Estudios de ADN en España. *Archivos de la Facultad de Medicina de Zaragoza*, 43 (2): 43-45.
- Martínez Jarreta B, Nievas P, Abecia E, Hinojal R (2003c) Population genetics of Y chromosomal haplotypes in Asturias (Northern Spain). En: Brinkmann B, Carracedo A (eds) *Progress in Forensic Genetics 9*. Elsevier Science, 327-330.
- Martinez Marignac VL, Bertoni B, Parra EJ, Bianchi NO. (2004) Characterization of admixture in an urban sample from Buenos Aires, Argentina, using uniparentally and biparentally inherited genetic markers. *Hum Biol.*;76:543-57.
- Martinez-Labarga C, Rickards O, Scacchi R, Corbo RM, Biondi G, Pena JA, Varas de Vieira C, Guevara AE, Santurino MS, de Stefano GF (1999). Genetic population structure of two African-Ecuadorian communities of Esmeraldas. *Am J Phys Anthropol*. Jun;109(2):159-74
- Mathias N, Bayes M, Tyler-Smith C (1994) Highly informative compound haplotypes for the human Y chromosome. *Hum Mol Genet*; 3: 115-123.
- Merriwether DA, Ferrell RE (1996) The four founding lineage hypothesis and the New World: a critical reevaluation. *Mol Phylogen Evol*; 5:241-246.
- Merriwether DA, Rothhammer F, Ferrell RE (1995) Distribution of the four founding lineage haplotypes in Native Americans suggests a single wave of migration for the New World. *Am J Phys Anthropol*; 98:411-430.
- Moscetti A, Boschi I, Dobosz M, Destro-Bisol G, Pescarmona M, d'Aloja E, Pascali V (1995) Fluorescence based classification of microsatellites using a single-wavelength semiautomatic sequencer: genotype assignment and identity tests by analysis of comigrating peak profiles. *Electrophoresis*, 16: 1875-1880.

- Moya A (2000) *Ethnos, atlas etnográfico del Ecuador*. Ministerio de Educación y Cultura, Quito, Ecuador.
- Mullis KB, Faloona FA (1987) Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalyzed chain reaction. *Meth Enzymol*; 155: 335-350.
- Myers JS, Vincent BJ, Udall H, Watkins WS, Morrish TA, Kilroy GE, Swergold GD, Henke J, Henke L, Moran JV, Jorde LB, Batzer MA (2002) A comprehensive analysis of recently integrated human ta L1 elements. *Am J Hum Genet*; 71:312-26
- Oakey R, Tayler Smith C (1990). Y chromosome DNA haplotyping suggests that the most European and Asian men are descendend from one of two males. *Genomics*; 7: 325-330
- Ohno S. Evolutional reason for having so much junk DNA (1972). En: Pfeiffer RA (ed.). *Modern aspects of cytogenetics: constitutive heterochromatin in man*. Stuttgart: Schattauer Verlag; 169- 180.
- Ohtaki H, Yamamoto T, Yoshimoto T, Uchihi R, Ooshima C, Katsumata Y, Tokunaga K (2002) A powerful, novel, multiplex typing system for six short tandem repeat loci and the allele frequency distributions in two Japanese regional populations. *Electrophoresis*. 23(19): 3332-40.
- Orgel LE, Crick FHC (1980) Selfish DNA: the ultimate parasite. *Nature*; 284: 604-607.
- Owerbach D y Aagaard L (1984) Analysis of a 1963bp polimorphic region flanking the human insulin gene. *Gene*, 32: 475-9
- Owerbach D, Aagaard L (1984) Analysis of a 1963bp polymorphic region flanking the human insulin gene. *Gene*; 32: 475-479.
- Paredes M, Crespillo M, Luque JA, Valverde JL. (2003) STR frequencies for the PowerPlex 16 System Kit in a population from Northeast Spain. *Forensic Sci Int*. 135:75-8.
- Parra EJ, Kittles LRA, Shriver MD (2004) Implications of correlations between skin color and genetic ancestry for biomedical research. *Nat Gen* 36 (11 Suppl): S54-S60.
- Pascali VL, Dobosz M, Brinkmann B (1998). Coordinating Y-chromosomal STR research for the Courts. *Int J Legal Med*; 112: 1.
- Pepe G, Rickards O, Bue C, Martinez-Labarga C, Tartaglia M, De Stefano GF (1994) EcoRI, RsaI, and MspI RFLPs of the COL1A2 gene (type I collagen) in the Cayapa, a Native American population of Ecuador. *Hum Biol. Dec*;66(6):979-89.
- Pepe G, Rickards O, Vanegas OC, Brunelli T, Gori AM, Giusti B, Attanasio M, Prisco D, Gensini GF, Abbate R (1997) Prevalence of factor V Leiden mutation in non-European populations. *Thromb Haemost. Feb*;77(2):329-31

- Perez-Miranda AM, Alfonso-Sanchez MA, Kalantar A, Garcia-Obregon S, de Pancorbo MM, Pena JA, Herrera RJ (2005) Microsatellite data support subpopulation structuring among Basques. *J Hum Genet*; 50(8):403-14.
- Pestoni C, Cal ML, Lareu MV, Rodríguez Calvo MS, Carracedo A (1998) Y chromosome STR haplotypes: genetic and sequencing data of the Galician population (NW Spain) *Int J Legal Med* 1998; 112: 15-21.
- Pestoni C, Lareu MV, Rodriguez M, Muñoz I, Barros F, Carracedo A (1995). The use of the STRs HUMTH01, HUMVWFA31/A, HUMF13A1, HUMFES/FPS, HUMLPL in forensic application. *Int J Legal Med*; 107: 283-290.
- Phillips C, Lareu M, Salas A, Fondevila M, Berniell Lee G, Carracedo A, Morling N, Schneider P, Syndercombe Court D. The SNP for ID Consortium, Spain (2004c) Population specific single nucleotide polymorphisms. *Progr Forensic Genet* 11, 10: 27-29.
- Phillips C, Lareu M, Sanchez J, Brion B, Sobrino B, Morling N, Schneider P, Syndercombe Court D, Carracedo A. The SNP for ID Consortium, Spain (2004a) Selecting single nucleotide polymorphisms for forensic applications. *Progr Forensic Genet* 11, 10:18-20.
- Phillips C, Lareu V, Salas A, Carracedo A (2004b) Nonbinary single-nucleotide polymorphism markers. *Progr Forensic Genet* 11, 10: 27-29
- Polymeropoulos MH, Xiao H, Rath DS, Merrill CR (1990) Dinucleotide repeat polymorphism at the int-2 protooncogene locus (INT2). *Nucleic Acids Res*; 18:7468.
- Prak El y Haig HK (2000) Mobile elements and the human genome. *Nature Rev Genetics*, 1: 134-44.
- Prinz M, Boll K, Baum H, Schaler B (1997) Multiplexing of Y chromosome specific STRs and performance for mixed samples. *Forensic Sci Int*; 85: 209-218.
- Prosser J, Frommer M, Paul C, Vincent PC (1986) Sequence relationships of three human satellite DNAs. *J Mol Biol*; 187 (2): 145-155.
- Quintana-Murci L, Krausz C, Zerjal T, Sayar SH, Hammer MF, Mehdi SQ, Ayub Q, Qamar R, Mohyuddin A, Radhakrishna U, Jobling MA, Tyler-Smith C, McElreavey K (2001) Y-chromosome lineages trace diffusion of people and languages in southwestern Asia. *Am J Hum Genet*; 68 (2): 537-42.
- Redd AJ, Agellon AB, Kearney VA, Contreras VA, Karafet T, Park H, De Knijff P, Butler JM, Hammer MF (2002) Forensic value of 14 novel STRs on the human Y chromosome. *For Sci Int*; 130: 97-111.

- Redd AJ, Clifford S, and Stoneking M (1997) Multiplex DNA typing of Short-Tandem-Repeat loci on the Y Chromosome. *Bol Chem*; 378 (8): 923-927.
- Reid TM, Ingala DA, Kraemer CM, Dage WM, Dieckhoner C, Fortman J, et al. Distribution of HUMACTBP2 (SE33) alleles in three North American populations. *J Forensic Sci* 2003;48:1422-3.
- Reynolds R, Varlano J (1996). Gender determination of forensic samples using PCR amplification of ZFX/ZFY gene sequences. *J Forensic Sci*; 41 (2): 279-286.
- Rickards O, Martinez-Labarga C, Lum JK, De Stefano GF, Cann RL (1999) mtDNA history of the Cayapa Amerinds of Ecuador: detection of additional founding lineages for the Native American populations. *Am J Hum Genet*. Aug;65(2):519-30.
- Rickards O, Martinez-Labarga C, Trucchi E, Renzi F, Casalotti R, Babalini C, Biondi G, Pepe G, De Stefano G (2005) Restriction fragment length polymorphisms of type I collagen locus 2 (COL1A2) in two communities of African ancestry and other mixed populations of northwestern Ecuador. *Hum Biol* Feb;77(1):115-23.
- Rickards O, Tartaglia M, Martinez-Labarga C, De Stefano GF (1994) Genetic characterization of the Cayapa Indians of Ecuador and their genetic relationships to other Native American populations. *Hum Biol* Dec;66(6):1127.
- Riethman HC, Xiang Z, Paul S, Morse E, Hu XL y cols. (2001) Integration of telomere sequences with the draft human genome sequences. *Nature*, 409: 948-51.
- Rodríguez-Delfín L, Santos SEB, Zago MA (1997). Diversity of the human Y chromosome of South American Amerindians: a comparison with blacks, whites, and Japanese from Brazil. *Ann Hum Genet*; 61: 439-448.
- Roewer L (1998). The Y chromosome: forensic application and evolutionary aspects. En: *Progress in Forensic Genetics 7*. B Olaisen, B Brinkmann and PJ Lincoln (Editors). Elsevier Science BV, 407-412.
- Roewer L, Armemann J, Spurr NK, Grzeschik KH, Epplen JT(1992b). Simple repeat sequences on the human Y chromosome are equally polymorphic as their autosomal counterparts. *Hum. Genet.*; 89: 389- 394.
- Roewer L, Croucher P, Willuweit S, Lu T, Kayser M, Lessig R, de Kniff P, Jobling M, Tyler-Smith C, Krawczak M (2005) Signature of recent historical events in the European Y-chromosomal STR haplotype distribution. *Human Gen*, 116: 279-91.
- Roewer L, Epplen JT (1992a). Rapid and sensitive typing of forensic stains by PCR amplification of polymorphic simple repeat sequences in case work. *Forensic Sci Int*; 53: 163-71

- Roewer L, Kayser M, Anslinger K, Augustin C, Caglia A, Corach D, Füredi S, Geserick G, Henke L, Hidding M, Kärigel HJ, De Knijff P, Lessig R, Pascali V, Parson W, Prinz M, Rolf B, Schmitt C, Schneider P, Szibor R, Teifel-Greding J, Krawczak M. Caucasian Y-STR haplotype reference database for forensic application (2000). En: Sensabaugh GF, Lincoln PJ, Olaisen B, (eds). *Progress in Forensic Genetics* 8. Elsevier Science; 613-615.
- Roewer L, Kayser M, Dieltjes P, Nagy M, Bakker E, Krawczak M, de Knijff P (1996). Analysis of molecular variance (AMOVA) of Y-chromosome specific microsatellites in two closely related human populations. *Hum Mol Genet*; 5(7): 1029-1033.
- Roewer L, Nagy M, Schmidt P, Epplen JT, Herzog, Schroder G (1993) Microsatellite and HLA class II oligonucleotide typing in a population of Yanomani Indians. En: Pena DJ, Chakraborty R, Epplen JT, Jeffreys AJ, eds. *DNA fingerprinting. State of the Science*. Birkäuser Verlag, Basel, Boston, Berlin; 221-230.
- Rosenblat A (1954) La población indígena: 1492-1950, el mestizaje y las castas coloniales. Buenos Aires, Ed. Noa.
- Rubin CM, Houck CM, Deininger PL, Friedmann T, Schmid CW (1980) Partial nucleotide sequence of the 300-nucleotide interspersed repeated human DNA sequences. *Nature* 1980; 284: 372-374.
- Ruhlen M. A guide to the world's languages. Stanford: Stanford University Press, 1991.
- Ruitberg CM, Reeder DJ, Butler JM (2001) STR Base: a short tandem repeat DNA database for the human identity testing community. *Nucleic Acids Res*; 29:320-22.
- Sajantila A, Lukka M, Syvanen AC (1997) Experimentally observed germline mutations at human micro- and minisatellite loci. *Eur J Hum Genet*, 7: 263-266.
- Sajantila A, Puomilahti S, Johnsson V, Ehnholm C (1992) Amplification of reproducible allele markers for amplified fragment length polymorphism analysis. *Biotechniques*; 12(1): 16-21.
- Salas A, Cariacedo A, Rickards M, Macaulay V (2005) Charting the ancestro of African Americans. *Am J Hum Genet*, 77 (4): 676-80.
- Salas A, Phillips C, Carracedo A (2006) Ancestry vs. Physical traits: the search for ancestry informative markers (AIMs). *Int J Legal Med*, 120: 188-89.
- Salazar E (1984) Cazadores recolectores del antiguo Ecuador, Museo del Banco Central, Cuenca.
- Sullivan L, Hellman M (1938) El cráneo de Punín, *Anales de la Universidad Central*, Quito.

- Salzano FM. 2002. Molecular variability in Amerindians: widespread but uneven information. *Ann Braz Acad Sci* 74:223–263.
- Sánchez D (1997). Molecular Genetics in Paternity Tests In: Paz y Miño C, Leone P (eds.) Proceedings of 1st National Symposium of Human Genetics. PUCE, Quito-Ecuador, pp. 78-9.
- Sánchez D (1998). Human Identification in Ecuador. In: Cerón C (ed.) Written papers from the 22nd Symposium of Biology in Ecuador. Central University of Ecuador, pp. 79-80
- Sánchez JJ, Phillips C, Borsting C, Balogh K, Fondevila M, Harrison CD, Carracedo A y cols (2006) A multiplex assay with 52 SNP for human identification. *Electrophoresis*, 27: 1713-24
- Sans M (2000) Admixture studies in Latin America: from the 20th century to the 21st century. *Human Biol*, 72 (1): 155-77.
- Santiana A (1966) Nuevo panorama ecuatoriano del Indio, Ed. Universitaria, Quito
- Santos FR, Bianchi NO, Pena SDJ (1996) Worldwide distribution of human Y chromosome haplotypes. *Genoma Res*, 6: 601-611.
- Santos FR, Epplen JT and Pena S (1993). Testing deficiency paternity cases with a Y-linked tetranucleotide repeat polymorphism. *DNA Fingerprinting: State of the Science*; 261-265.
- Sapolsky RJ, Hsie L, Berno A, Ghandour G, Mittmann M, Fan JB (1999) High throughput polymorphism screening with high density oligonucleotide arrays. *Genet Anal*, 14(5-6):187-92.
- Scacchi R, Corbo RM, Rickards O, De Stefano GF (1994) The Cayapa Indians of Ecuador: a population study of seven protein genetic polymorphisms. *Ann Hum Biol*, Jan-Feb;21(1):67-77.
- Scacchi R, Corbo RM, Rickards O, Mantuano E, Guevara A, De Stefano GF (1997) Apolipoprotein B and E genetic polymorphisms in the Cayapa Indians of Ecuador. *Hum Biol*. Jun;69(3):375-82
- Schmid CW (1996) Alu: structure, origin, evolution, significance and function of one-tenth of human DNA. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*, 53: 283-19
- Schmid CW, Deininger PL (1975) Sequence organization of the human genome. *Cell*; 6: 345-358.
- Schneider PM , Martin PD (2001) Criminal DNA databases: the European situation. *Forensic Sci Int*, 119: 232-8.

- Schneider PM, Bender K, Mayr WR, Parson W, Hoste B, Decorte R, et al (2004) STR analysis of artificially degraded DNA-results of a collaborative European exercise. *Forensic Sci Int*, 139: 123-34
- Schneider PM, D'Aloja E, Dupuy BM, Eriksen B, Jangblad A, Kloosterman AD, Kratzer A, Lareu MV, Pfitzinger H, Rand S, Scheithauer R, Schmitter H, Skitsa I, Syndercombe-Court D, Vide MC (1999) Results of a collaborative study regarding the standardization of the Y-linked STR system DYS385 by the European DNA Profiling (EDNAP) group. *Forensic Sci Int*; 102: 159-65.
- Schneider PM, Meuser S, Waiyawuth W, Seo Y, Rittner C (1998) Tandem repeat structure of the duplicated Y-Chromosomal STR locus DYS385 and frequency studies in the German and three Asian populations. *Forensic Sci Int*; 97 (1): 61-70.
- Schneider S, Roessli D, and Excoffier, L (2000) Arlequin: A software for population genetics data analysis. Ver 2.000. Genetics and Biometry Lab, Dept. of Anthropology, University of Geneva.
- Schuller W, Fareday L, Scheithauer R (2001) Manual de INTERPOL sobre el intercambio y la utilización de datos relativos al ADN-Recomendaciones del grupo de expertos en ADN de INTERPOL. OIPC-INTERPOL (ed.) Lyon, France
- Schumm JW, Lins AM, Micka KA, Sprecher CJ, Rabbach DR, Bacher JW (1997) Automated fluorescent detection of STR multiplexes – Development of the GenePrint™ PowerPlex™ and FFFL multiplexes for forensic and paternity applications. Proceedings from the first European Symposium on human identification 1996. Toulouse: Promega; 90-104.
- Schumm, J.W., Wingrove, R.S., Douglas, E.K. (2004) Robust STR multiplexes for challenging casework samples. *Progress in Forensic Genetics ICS 1261:547-549*
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat) y Ministerio de Relaciones Exteriores de Ecuador (2002) Declaración de Cancún sobre países megadiversos afines. Disponible en: www.mmrree.gov.ec.
- Seielstad MT, Hebert JM, Lin AA, Underhill PA, Ibrahim M, Vollrath D, Cavalli-Sforza LL (1994) Construction of human Y-chromosomal haplotypes using a new polymorphic A to G transition. *Hum. Mol. Genet*; 3: 2159-2161
- She X, Jiang Z, Clark R, Liu G, Cheng Z, Tuzun E (2004) Shotgun sequence assembly and recent segmental duplications within the human genome. *Nature*, 431: 927-30.
- Shigeta Y, Yamamoto Y, Doi Y, Miyaishi S, Ishizu H (2002) Evaluation of a method for typing the microsatellite D12S391 locus using a new primer pair and capillary electrophoresis. *Acta Med Okayama* 56: 229-36.

- Shriver MD, Parra EJ, Dios S, Bonilla C, Norton H, Jovel C, Pfaff C, Jones C, Massac A, Cameron N, Baron A, Jackson T, Argyropoulos G, Jin L, Hoggart CJ, McKeigue PM, Kittles RA. (2003) Skin pigmentation, biogeographical ancestry and admixture mapping. *Hum Genet.* 112:387-99
- Shriver MD, Smith MW, Jin L, Marcini A, Akey JM, Deza R, Ferrell RE (1997). Ethnic affiliation estimation by use of population specific DNA markers. *Am J Hum Genet*, 60: 957-964.
- Singer MF (1982) Highly repeated sequences in mammalian genomes. *Int Rev Cytol*; 76: 67-112.
- Singer MF, Skowronsky J (1985) Making sense out of LINES: Long inter spersed repeat sequences in mammalian genomes. *Trends Biochem Sci*; 10: 119-122. (24) Okada N. SINES. *Curr Opin Genet Dev* 1991; 1: 498-504.
- Skorecki K, Selig S, Blazer S, Bradman R, Waburton PJ, Ismajlowicz M, Hammer MF (1997). Y chromosomes of Jewish priests. *Nature*; 385: 32.
- Slatkin M. (1995) A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*. 139:457-62
- Smit AF (1999) Interspersed repeats and other mementos of transposable elements in mammalian genomes. *Curr Opin Genet Dev* 1999; 9: 657-663.
- Smith AF (1996) The origin of interspersed repeats in the human genome. *Current Opin Genet Dev*, 6: 743-48.
- Smith HO, Wilcox KW (1970) A restriction enzyme from *Haemophilus Influenzae* I. Purification and general properties". *J Mol Biol*; 51: 379-391.
- Sobrinho B, Brión M, Carracedo A (2005b) SNPs in forensic genetics: a review on SNP typing methodologies. *Forensic Sci Int*, 154: 181-94.
- Sobrinho B, Carracedo A (2005a) SNP typing in Forensic Genetics. *Methods Mol Biol*, 297: 107-27.
- Sparkes R, Kimpton C, Gilbard S, Carne P, Andersen J, Oldroyd N, Thomas D, Urquhart A, Gill P (1996) The validation of a 7- locus multiplex STR test for use in forensic casework (II), artefacts, casework studies and success rates. *Int J Legal Med* 1996, 109(4): 195-204.
- Sprecher CJ, Puers C, Lins AM, Schumm JW (1996). General approach to analysis of polymorphic short tandem repeat loci. *Biotechniques*; 20: 266-276.
- Stoneking M y Chakravarti A (2001) From the evolutionary past to a future of genetic medicine. *Nature*, 409: 821-33.

- Stothert J (1988) La prehistoria temprana de la península de Santa Elena, Ecuador: Cultura Las Vegas, *Miscelánea Antropológica Ecuatoriana*, Guayaquil, serie monográfica, 10 (5).
- Sturzeneker R, Bevilacqua RAU, Haddad LA, Simpson AJG, Pena SDJ (2000). Microsatellite instability in tumors as a model to study the process of microsatellite mutations. *Hum Mol Genet*, 9(3): 347-352.
- Syvanen AC (1999) From gels to chips: “minisequencing” primer extension for analysis point mutations and single nucleotide polymorphisms. *Hum Mutat*, 13(1): 1-10.
- Szibor R, Kayser M., Roewer L (2000) Identification of the human Y-chromosomal microsatellite locus DYS19 from degraded DNA. *Am.J.Forensic Med.Pathol.* 21 (3): 252-54.
- Tautz D (1993) Notes on the definition and nomenclature of tandemly repeated DNA sequences. En: Pena SDJ, Chakraborty R, Epplen JT, Jeffreys AJ (eds.). *DNA fingerprinting: state of the science*. Basel: Birkhauser Verlag; 21-28.
- Temme M (1982) Excavaciones en el sitio de precerámico de Cubilán, *Misceláneas Antropológica Ecuatoriana*.
- The International SNP Map Working Group (2001) A map of human sequence variation containing 1,42 million SNP. *Nature*, 409: 928-33.
- Tishkoff SA y Kidd KK (2004) Implications of biogeography of human populations for race and medicine. *Nat Gen* 36 (11 Suppl): S21-S27.
- Titus-Trachtenberg EA, Rickards O, De Stefano GF, Erlich HA (1994). Analysis of HLA class II haplotypes in the Cayapa Indians of Ecuador: a novel DRB1 allele reveals evidence for convergent evolution and balancing selection at position. *Am J Hum Genet*, Jul; 55(1):760-86.
- Torrioni A, Schurr TG, Cabell MF, Brown MD, Neel JV, Larsen M et al (1993) Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNAs. *Am J Hum Genet* 1993; 53:563-590.
- Torrioni A, Schurr TG, Yang CC, Szathmary EJE, Williams RC, Schanfield MS et al (1992) Native American mitochondrial DNA analysis indicates that the Amerind and the Nadene populations were founded by two independent migrations. *Genetics* 1992; 130:153-162.
- Trachtenberg EA, Erlich HA, Rickards O, DeStefano GF, Klitz W (1995) HLA class II linkage disequilibrium and haplotype evolution in the Cayapa Indians of Ecuador. *Am J Hum Genet*. Aug;57(2):415-24.

- Tsukada K, Takayanagi K, Asamura H, Ota M, Fukushima H (2002) Multiplex short tandem repeat typing in degraded samples using newly designed primers for the TH01,CSF1PO,and vWA loci. *Legal Medicine*. 4: 239-45.
- Underhill PA, Jin L, Lin AA, Mehdi SQ, Jenkins T, Vollrath D, Davis RW, Cavalli-Sforza LL, Oefner PJ (1997). Detection of numerous Y chromosome biallelic polymorphisms by denaturing high-performance liquid chromatography. *Genome Res*; 7 (10): 996-1005.
- Underhill PA, Jin L, Zemens R, Oefner PJ, Cavalli-Sforza LL (1996). A pre-Columbian Y chromosome-specific transition and its implications for human evolutionary history. *Proc Natl Acad Sci USA*,; 93 (1): 196-200.
- Underhill, PA, Passarino G, Lin AA, Shen P, Mirazon M, Lahr RA y cols (2001) The phylogeography of Y chromosome binary haplotypes and the origins of modern human populations. *Ann Hum Genet*, 65: 43-63.
- Urquhart A, Kimpton CP, Downes TJ, Gill P (1994). Variation in short tandem repeat sequences. *Int J Legal Med*; 107: 13-20.
- Urquhart A, Kimpton CP, Gill P. Sequence variability of the tetranucleotide repeat of the human beta-actin related pseudogene H-beta-Ac-psi-2 (ACTBP2) locus. *Hum Genet* 1993; 92: 637-638.
- Vásquez C (1976) 28 mil años de antigüedad de Hombre de Otavalo, Quito.
- Vásquez L, Saltos N (2003) Ecuador: su realidad. Fundación José Peralta.
- Venter JC y cols (2001), The sequence of the Human Genome, *Science*, Vol. 291: 1304-1351 Vogt PH. Report of the Third International Workshop on Human Y Chromosome Mapping 1997. *Cytogenet Cell Genet* 1997; 79: 1-20.
- Wallin JM, Buoncristiani MR, Lazaruk KD, Fildes N, Holt CL, Walsh PS (1998) TWGDAM validation of AmpFISTR[®] Blue[™] PCR amplification kit for forensic casework analysis. *J Forensic Sci*, 43 (4): 854-70.
- Walsh PS, Fildes NJ, Reynolds R (1996) Sequence analysis and characterization of stutter products at the tetranucleotide repeat locus VWA. *Nucl Acids Res*, 24(14): 2807.
- Watson JD y Crick HC (1953) Molecular structure of nucleic acids. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*; 171: 737-738.
- Waye JS, Willard HF (1987) Nucleotide sequence heterogeneity of alpha satellite repetitive DNA: a survey of alphoid sequences from different human chromosomes. *Nucleic Acids Res*; 15(18): 7549-69.
- Weber JL, May PE (1989) Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am J Hum Genet*; 44(3): 388-396.

- Weber JL, Wong C (1993) Mutation of human short tandem repeats. *Hum Mol Genet*; 3: 1123-1128.
- Whitaker JP, Clayton TM, Urquhart AJ, Millican ES, Downes TJ, Kimpton CP, et al (1995) Short typing repeat typing of bodies from a mass disaster: high success rate and characteristic amplification patterns in highly degraded samples. *BioTechniques*, 18 (4): 670-7.
- Whitaker JP, Cotton EA, Gill P (2001) A comparison of the characteristics of profiles produced with AmpFISTR® SGM Plus™ multiplex system for both standard and low copy number (LCN) STR DNA analysis. *Forensic Sci Int*, 123: 215-23
- White PS, Tatum OL, Deaven LL, Longmire JL (1999). New, male-specific microsatellite markers from the human Y chromosome. *Genomics*; 57: 433-437.
- Wiegand P, Kleiber M (2001) Less is more--length reduction of STR amplicons using redesigned primers. *Int.J.Legal Med.* 114(4-5): 285-287.
- Wiegand P, Klein R, Braunschweiger G, Hohoff C, Brinkmann B (2005) Short amplicon STR multiplex for stan typing. *Int J Legal ed*, doi: 10.1007/s00414-005-0048-8.
- Wong Z, Wilson V, Patel I, Povey S, Jeffreys AJ (1987) Characterization of a panel highly variable minisatellites cloned from human DNA. *Ann Hum Genet*; 51:269-88.
- Yoshida K, Sekiguchi K, Kasai K, Sato H, Seta S, Sensabaugh GF (1997) Evaluation of new primers for CSF1PO. *Int.J.Legal Med.* 110 (1): 36-8.
- Zarrabeitia MT, Alonso A, Martin J, Gonzalez-Gay MA, Martin-Escudero JC, de Pancorbo MM, Sanz P, Ruiz-Cabello F, Riancho JA (2006) Study of six X-linked tetranucleotide microsatellites: population data from five Spanish regions. *Int J Legal Med*; 120(3):147-50.
- Zegura SL, Karafet TM, Zhivotovsky LA, Hammer MF. (2004) High-resolution SNPs and microsatellite haplotypes point to a single, recent entry of Native American Y chromosomes into the Americas. *Mol Biol Evol.* 21:164-75.

Direcciones de internet:

- [http:// www.codenpe.gov.ec](http://www.codenpe.gov.ec)
- <http://es.wikipedia.org/wiki>
- <http://ruly70.medfac.leidenuniv.nl/~fldo>
- <http://www.csfs.ca/pplus/profiler.htm>
- <http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase>
- <http://www.dlh.lahora.com.ec/paginas/historia/>
- <http://www.enfsi.org/ewg/dnawg>
- <http://www.fbi.gov/hq/lab/codis/index1.htm>

<http://www.forensic.gov.uk>
<http://www.frentesocial.gov.ec/siise>
<http://www.genetree.com>
<http://www.ics-publishing.com/periodicals/ics>
<http://www.isfg.org>
<http://www.isfg.org/ednap/ednap.htm>
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
<http://www.promega.com/geneticidproc/>
<http://www.str-base.org/index.php>
<http://www.uni-duesseldorf.de/>
<http://www/MedFak/Serology/database.html>
<http://www.yhrd.org/index.html>
<http://www.ystr.charite.de>
www.fluxus-engineering.com

Anexos



FOR THE RECORD

Dora Sánchez Q.,¹ Fabricio González-Andrade,¹ and Begoña Martínez-Jarreta²

Population Genetics of 12 STR Loci in a Sample of Mestizos from Ecuador (South America)

POPULATIONS: Mestizos from Ecuador ($n = 400$)

KEYWORDS: forensic science, DNA typing, short tandem repeat, PCR, population genetics, Mestizo, Ecuador, HUMCSF1PO, HUMTPOX, HUMTH01, HUMF13A01, HUMvWA, D13S317, D16S539, D5S818, D7S820, HUMLPL, HUMF13B, HUMHPRTB

Ecuador is a small South American country with almost 12 million inhabitants comprised of three main ethnic groups: (a) Urban populations, usually dihybrid Mestizos- or trihybrid and (b) Amerindian natives, more than 100 multiethnic and pluricultural groups, and (c) African-derived populations in fairly isolated communities and descendants of slaves (1,2). Mestizos are the most representative and largest group in our country. They are descendants of Spanish (Caucasian) and Amerindian people. This is a new hybrid group, like the Mulatos who arose from Caucasians and Blacks or Zambos, a mixture of Amerindians and Blacks. We think that different degrees of genetic admixture exist, mainly with Amerindians, too. This situation has several variations towards the cities of the Andes and the cities of the Pacific coast.

Whole blood was obtained in EDTA by venipuncture from healthy unrelated Mestizos born and living in Ecuador. The DNA was extracted using the Wizard Genomic DNA Purification Kit System[®] (Promega Corporation, Madison WI). The multiplex analysis of HUMCSF1PO, HUMTPOX, HUMTH01, D13S317, D16S539, D5S818 and D7S820 was performed using multiplex kits from Promega Corporation (Madison, WI) and following the manufacturer's recommendations. Microsatellites HUMF13A01, HUMvWA HUMLPL, HUMF13B, and HUMHPRTB were analyzed in an uniplex approach. The recommendations from the DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics for

analysis of STRs systems were followed. Fragment size and allele designation of different loci was determined by comparison with allelic ladders distributed in the kit (Promega Corporation, Madison, WI). Evaluation of Hardy-Weinberg expectations and determination of further statistical parameters of forensic interest was carried out by using the computer program, HWE-analysis version 3.3 (Christoph Puers, Institute for Legal Medicine, University of Münster), as previously described (3,4). Minimum allele frequencies were also calculated.

References

1. Sanchez D. Molecular genetics in paternity tests. In: Paz y Miño C, Leone P, editors. Proceedings of 1st National Symposium of Human Genetics. PUCE, Quito-Ecuador, 1997:78-9.
2. Sans M. Admixture studies in Latin America: from the 20th century to the 21st century. *Human Biol* 2000;72(1):155-77.
3. Nievas P, Martínez-Jarreta B, Abecia E, Budowle B. Genetic analysis of the STR loci D16S539, D7S820, D13S317, D18S535, D1S1656 and loci D12S391 in two Spanish populations. In: Sensabaugh G, Lincoln P, Olaisen B, editors. *Advances in forensic genetics 8*. Elsevier, Amsterdam 2000:190-2.
4. Martínez-Jarreta B, Diaz Roche P, Abecia E. Genetic variation at six STR loci (CTT, FFV) in Aragon (North Spain). *Forensic Sci Int* 1999; 100(1):87-92.

Additional information and reprint requests:

Fabricio González M.D.
Laboratorio de Genética Molecular
Av. Colombia E431y Antonio Elizalde
Quito, Ecuador
Telefax: +593-2-2584724
E-mail: fabriciogonzalez@usa.net

¹ Molecular Genetics Laboratory, Ecuadorian Red Cross, Quito, Ecuador.

² Department of Legal Medicine, Faculty of Medicine, University of Zaragoza, Spain.

TABLE 1—Allele frequency distribution. HW equilibrium tests and parameters of forensic efficiency on the loci analyzed.

Allele	CSF1PO	TPOX	TH01	F13A01	VWA	D13S317	D16S539	D5S818	D7S820	LPL	HPRTB	HUMF13B
<i>n</i> =	400	400	410	336	400	389	389	389	393	320	121	216
3.2			0.001	0.011								
4			0.002	0.224								
5			0.339	0.193								
6		0.001	0.330	0.170								0.058
7	0.004	0.003	0.066	0.241			0.001	0.110	0.005	0.002	0.012	0.037
8	0.003	0.523	0.107	0.026		0.082	0.027	0.023	0.070	0.005	0.004	0.178
9	0.021	0.046	0.072	0.003		0.213	0.198	0.092	0.080	0.036	0.025	0.280
9.3			0.075									
10	0.270	0.031	0.001	0.002		0.107	0.208	0.052	0.247	0.544	0.033	0.424
11	0.308	0.271	0.002	0.009		0.149	0.213	0.433	0.296	0.202	0.107	0.021
12	0.291	0.120		0.002		0.221	0.267	0.193	0.251	0.1910	0.264	0.002
13	0.940	0.004		0.006	0.003	0.134	0.075	0.095	0.041	0.013	0.236	
14	0.100			0.0014	0.028	0.093	0.010	0.043	0.090	0.009	0.202	
15					0.065	0.001			0.001		0.099	
16					0.398						0.017	
17					0.308							
18					0.146							
19					0.040							
20					0.014							
P min	0.0075	0.0075	0.0081	0.0021	0.0075	0.0037	0.0037	0.0046	0.0038	0.0093	0.0244	0.0137
× 2	0.2200	0.6560	0.0200	0.7200	0.9370	0.1302	0.5726	0.6142	0.9510	0.2400	0.2000	0.1960
G test	0.5000	0.1120	0.2000	0.6000	0.9504	0.2238	0.4414	0.7178	0.9242	0.9400	0.6000	0.2000
Exact Test	0.4800	0.4220	0.6000	0.4000	0.8980	0.2110	0.4688	0.5768	0.9222	0.3200	0.1800	0.8000
Obs H	0.7575	0.5825	0.7568	0.8223	0.7250	0.8509	0.8046	0.7370	0.7557	0.6688	0.7851	0.8333
Exp H	0.7393	0.6367	0.7510	0.8133	0.7202	0.8399	0.7951	0.7440	0.7763	0.6268	0.8134	0.7068
MEC	0.4966	0.3883	0.5328	0.6253	0.4872	0.6760	0.5915	0.5423	0.5446	0.3814	0.6267	0.4644
MEP	0.4916	0.3372	0.5115	0.6239	0.4602	0.6750	0.5899	0.4996	0.5558	0.3243	0.6242	0.4388
PIC	0.6914	0.5835	0.7129	0.7850	0.6749	0.8183	0.7623	0.7135	0.7403	0.5762	0.7839	0.6576
PM	0.1237	0.1842	0.1012	0.6748	0.1296	0.0496	0.0755	0.0961	0.0831	0.1984	0.7739	0.1636
PD	0.8763	0.8152	0.8988	0.9325	0.8707	0.9504	0.9245	0.9039	0.9169	0.8016	0.9226	0.8364



ELSEVIER

Forensic Science International 135 (2003) 64–66

Forensic
Science
International
www.elsevier.com/locate/forsciint

Announcement of population data

Genetic profile of the Ecuadorian Mestizo population (Ecuador—South America) by using the Power Plex[®] 16 System Kit

Fabricio González-Andrade^{a,*}, Dora Sánchez-Q^a,
Begoña Martínez-Jarreta^b

^a*Servicio de Genética, Cruz Roja Ecuatoriana, Av. Colombia y Elizalde esquina, Quito, Ecuador*

^b*Department of Legal Medicine, University of Zaragoza, Zaragoza, Spain*

Received 3 March 2003; received in revised form 11 April 2003; accepted 14 April 2003

Abstract

Allele frequency data for the 15 STR systems and Amelogenine were determined in a population sample of healthy Mestizo unrelated individuals. All loci met Hardy–Weinberg expectations and the high discrimination power of combined system showed the forensic efficiency of these genetic markers. There is a lack of information on Ecuadorian population from a genetic point of view and therefore no previous publications on the distribution of STRs on Mestizos is available. Mestizos are descendents of Spanish and Amerindian people, however, significant differences were found between the former and the populations from Spanish peninsula, that have been analyzed for these genetic markers.

© 2003 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

Keywords: Ecuador; STRs; Forensic genetics; Population data; Mestizo

Population sample: Whole blood was obtained in EDTA vacutainers tubes by venipuncture from healthy unrelated Mestizos born and living in Ecuador. Samples came from the Paternity Test Bank of the Cruz Roja Ecuatoriana, Genetics Laboratory [1].

N: 317 individuals.

DNA extraction: The DNA was extracted using Wizard Genomic DNA Purification Kit System[®] (Promega Corporation, Madison, WI, USA), and the quantity was estimated by UV absorbance (Gene Quant Calculator[®], Pharmacia, Uppsala, Sweden).

PCR: Amplification was performed in a Techne Thermal Cycler, model Genius[®] following the manufacturer's recommendations [2].

Typing: By ABI Prism 310. Fragment size and allele designation of different loci was determined by comparison with allelic ladders distributed into the Power Plex[®] 16 System Kit (Promega) [2]. The recommendations of the DNA

Commission of the International Society of Forensic Haemogenetics for analysis of STRs systems were followed [3,4].

Results: See Tables 1 and 2.

Quality control: Proficiency testing of the GEP-ISFG Working Group (<http://www.gep-isfg.org>).

Analyses of data: Evaluation of Hardy–Weinberg expectations was carried out using the Exact-test and determination of further statistical parameters of forensic interest was carried out by using the computer programme HWE-analysis version 3.3 (Christoph Puers, Institute for Legal Medicine, University of Münster), as previously described [5].

Other remarks: This paper follows the guidelines for publication data requested by the journal [6]. Ecuador is a small South American country with almost 12 million inhabitants comprised of three main ethnic groups: (a) urban populations, usually dihybrid-Mestizos or trihybrid-Mestizos, (b) Amerindian natives, more than 100 multiethnic and pluricultural groups, and (c) African-derived populations in fairly isolated communities and descendants of slaves [7]. Mestizos are the most representative and largest group in our country. They are descendants of Spanish (Caucasian) and

* Corresponding author. Tel.: +593-2-2584724.

E-mail address: fabriciogonzalez@usa.net (F. González-Andrade).

Table 1
Allele distribution of 15 STR loci and Amelogenin in a population sample of Ecuadorian Mestizos ($n = 317$)

Allele	D3S1358	TH01	D21S11	D18S51	Penta E	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSF1PO	Penta D	VWA	D8S1179	TPOX	FGA
2.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.004	–	–	–	–
3.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.002	–	–	–	–
5	–	–	–	–	0.033	–	–	–	–	–	0.002	–	–	–	–
6	–	0.331	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
7	–	0.292	–	–	0.071	0.125	–	0.002	–	0.004	0.006	–	–	–	–
8	–	0.076	–	–	0.027	0.002	0.080	0.067	0.017	0.002	0.016	–	0.008	0.558	–
9	–	0.092	–	–	0.006	0.086	0.188	0.054	0.177	0.010	0.206	–	0.004	0.041	–
9.3	–	0.196	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
10	–	0.014	–	0.004	0.035	0.028	0.078	0.278	0.207	0.261	0.233	0.002	0.065	0.017	–
11	–	–	–	0.018	0.061	0.433	0.202	0.301	0.230	0.278	0.121	0.004	0.060	0.273	–
12	0.008	–	–	0.073	0.188	0.241	0.237	0.264	0.262	0.357	0.162	0.002	0.212	0.112	–
13	0.004	–	–	0.098	0.069	0.073	0.110	0.023	0.095	0.081	0.174	0.002	0.319	–	–
14	0.057	–	–	0.249	0.049	0.009	0.104	0.001	0.013	0.006	0.067	0.048	0.204	–	–
15	0.457	–	–	0.161	0.122	–	0.002	–	–	–	0.006	0.079	0.101	–	–
16	0.270	–	–	0.110	0.090	–	–	–	–	–	–	0.379	0.026	–	–
17	0.146	–	–	0.139	0.063	–	–	–	–	–	–	0.302	–	–	0.009
18	0.049	–	–	0.071	0.051	–	–	–	–	–	–	0.143	–	–	0.002
19	0.010	–	–	0.027	0.031	–	–	–	–	–	–	0.026	–	–	0.006
19.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.002
20	–	–	–	0.020	0.043	–	–	–	–	–	–	0.009	–	–	0.081
20.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.002
21	–	–	–	0.020	0.037	–	–	–	–	–	–	0.002	–	–	0.103
22	–	–	–	0.006	0.016	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.105
22.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.002
23	–	–	–	0.004	0.006	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.116
23.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.007
24	–	–	–	0.002	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.189
25	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.191
25.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.002
26	–	–	0.002	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.072
27	–	–	0.014	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.037
28	–	–	0.069	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.002
29	–	–	0.196	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.002
29.2	–	–	0.004	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
30	–	–	0.246	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
30.2	–	–	0.026	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
31	–	–	0.077	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
31.2	–	–	0.149	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
32	–	–	0.006	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
32.2	–	–	0.149	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
33.2	–	–	0.052	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
34.2	–	–	0.004	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
35	–	–	0.004	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
35.2	–	–	0.002	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Exact-test	0.0062	0.4696	0.0916	0.0066	0.1148	0.1422	0.4094	0.0868	0.8828	0.0198	0.8664	0.2828	0.0546	0.3110	0.0278
χ^2 -test	0.0374	0.0396	0.1120	0.0312	0.2966	0.2890	0.2698	0.0458	0.9340	0.0026	0.8172	0.3272	0.1606	0.3586	0.0596
G-test	0.0092	0.6456	0.0690	0.0090	0.4610	0.2224	0.4110	0.1338	0.9090	0.0320	0.8040	0.4940	0.1252	0.3386	0.0342

Table 2
Forensic value of the analysed systems expressed as various statistical parameters

STR locus	MEC	PIC	P_m	D
D3S1358	0.4551	0.6458	0.1432	0.8568
HUMTH01	0.5272	0.7125	0.1065	0.8935
D21S11	0.6871	0.8235	0.0469	0.9531
D18S51	0.7211	0.8442	0.0415	0.9585
Penta E	0.8215	0.9054	0.1759	0.9824
D5S818	0.5048	0.6878	0.1103	0.8897
D13S317	0.6652	0.8109	0.0526	0.9473
D7S820	0.5272	0.7129	0.1042	0.8957
D16S539	0.5928	0.7634	0.0761	0.9239
CSF1PO	0.4689	0.6690	0.1262	0.8737
Penta D	0.6523	0.8043	0.0524	0.9476
HUMVWA	0.5118	0.6948	0.1164	0.8836
D8S1179	0.5994	0.7635	0.0726	0.9274
HUMTPOX	0.3481	0.5425	0.2270	0.7729
FGA	0.7509	0.8635	0.0306	0.9694

MEC: mean paternity exclusion chance; PIC: polymorphism information content; P_m : probability of match; D : discrimination power. Cumulative power of discrimination (PD) was 0.9999 and cumulative mean exclusion chance (MEC) was 0.9999.

Amerindian people. Amerindians were easily assimilated in this new class by society. Sometimes, the union between a conqueror and an Amerindian had political or religious reasons: domination of a territory or conversion to Catholicism [8]. Actually, Mestizos mostly live in urban regions.

References

- [1] F. González-Andrade, D. Sánchez-Q, B. Martínez-Jarreta, Evaluation of 1495 cases of disputed paternity in Ecuador (South America) resolved with STR-PCR polymorphisms, in: Proceedings of the International Association of Forensic Sciences, Monduzzi, 2002, pp. 225–230.
- [2] Promega Corporation, Gene Print™ STR Systems for silver stain detection, Technical Manual (TMD. No.004), 1998.
- [3] International Society for Forensic Haemogenetics, Recommendations of the DNA Commission of the International Society for Forensic Haemogenetics relating to the use of PCR-based polymorphisms, 1992; Forensic Sci. Int. 55 (1) (1992) 1–3.
- [4] W. Bär, B. Brinkmann, B. Budowle, A. Carracedo, P. Gill, P. Lincoln, W. Mayr, B. Olaisen, DNA recommendations, further report of the DNA Commission of the ISFH regarding the use of short tandem repeat systems, 1997; Forensic Sci Int. 87 (3) (1997) 181–184.
- [5] B. Martínez-Jarreta, P. Díaz Roche, E. Abecia, Genetic variation at six STR loci (CTT, FFV) in Aragon (north Spain), Forensic Sci. Int. 100 (1–2) (1999) 87–92.
- [6] P. Lincoln, A. Carracedo, Publication of population data of human polymorphisms, Forensic Sci. Int. 110 (2000) 3–5.
- [7] D. Sánchez, Human identification in Ecuador, in: C. Cerón (Ed.), in: Proceedings of the Memories of the 22nd Symposium of Biology in Ecuador, Central University of Ecuador, 1998, pp. 79–80.
- [8] M. Sáns, Admixture studies in Latin America: from the 20th century to the 21st century, Hum. Biol. 72 (1) (2000) 155–177.

Genetic Profile of the Kichwas (Quichuas) from Ecuador by Analysis of STR Loci

FABRICIO GONZÁLEZ-ANDRADE¹ AND DORA SÁNCHEZ-Q.¹

Abstract Allele frequency data for the STR systems CSF1PO, TPOX, TH01, D13S317, D16S539, D5S818, and D7S820 were determined in a population sample of unrelated, healthy Amerindian Kichwa individuals. All loci met Hardy–Weinberg expectations, and there was no evidence for association of alleles among the seven loci.

Ecuador has three main ethnic groups: Caucasian mestizos, Amerindian natives (more than 100 multiethnic and pluricultural groups), and descendants of African slaves (Sánchez 1998). During the last five centuries, three or more diverse populations came into contact, interacted, and mixed. They are, in chronological order, Amerindians (a fairly homogeneous Asian-derived group), Europeans (mostly Spanish), and Africans (who were brought to Latin America as slaves) (Sáns 2000). Amerindian populations of the Andes are classically divided into two linguistics groups: Quechua and Aymara speakers (Rodríguez-Delfín et al. 2001). Quechua, with an *e*, is the language spoken today by the descendants of Incas, especially in Peru and Bolivia (Gené et al. 1998, 2000). But this is not a reality in Ecuador, because most of the indigenous people speak Quichua (Kichwa), with an *i*, which is an anthropological language variation, derived from the admixture process after the Inca period (SIDENPE 2003).

The Kichwa (the ancestral name) or Quichua (a name derived from the mixture of natives and Spanish) population has almost 3 million inhabitants (20% of the total Ecuadoran population). They are the most representative Amerindian group in Ecuador. Most of them live in the mountains, in the Andean region, from Carchi province in the north to Loja province in the south. Some of them are distributed in the Amazonia region, in the provinces of Pastaza, Napo, Sucumbíos, and Orellana (Figure 1). They number approximately 70,000 persons and speak a Kichwa language distinguishable from highlands Quichua dialects (CODENPE 2003). Everyone speaks Spanish as a second language.

¹Service of Molecular Genetics, Metropolitan Hospital, Quito, Ecuador.

Human Biology, October 2004, v. 76, no. 5, pp. 000–000.

Copyright © 2004 Wayne State University Press, Detroit, Michigan 48201-1309

KEY WORDS: KICHWAS, QUICHUAS, ECUADOR, AMERINDIANS, DNA TYPING, SHORT TANDEM REPEAT, CSF1PO, TPOX, TH01, D13S317, D16S539, D5S818, D7S820, POPULATION GENETICS.

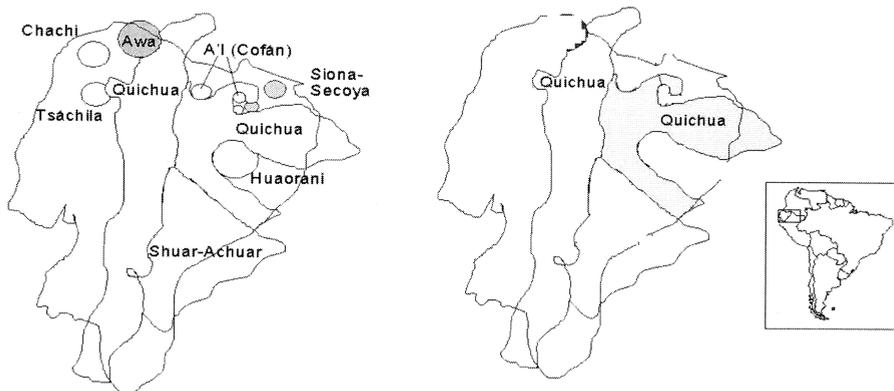


Figure 1. Location of Kichwas in Ecuador.

Mestizos are the most representative and largest group in Ecuador. They are descendants of Spanish (Caucasian) and Amerindian peoples. This is a new hybrid group, like *Mulatos*, who are a mixture of Caucasians and blacks, or *Zambos*, who are a mixture of Amerindians and blacks. These three groups sometimes appear differentiated in censuses and had different legal rights in the past (González-Andrade et al. 2003b). Amerindians were easily assimilated in this new class into the society. Sometimes the union between a conqueror and an Amerindian had political or religious reasons: the domination of a territory or the conversion to Catholicism. Actually, Mestizos mostly live in urban regions. We think that different degrees of genetic admixture, mainly with Amerindians, also exist. This situation has several variations in the cities of the Andes and the cities of the Pacific coast (González-Andrade et al. 2002).

The State of Ecuador has recognized different indigenous nationalities, each with their own identity and language, as shown in Table 1. Ethnicity means cultural practices and moral values that distinguish groups and communities. Individuals from different ethnic groups see themselves as different from other social and native groups. This concept has two dimensions: cultural and social characteristics (language, religion, faith, location, etc.) and a sense of shared identity and tradition.

Indigenous nationality means a joining of thousand-year-old peoples before the Ecuadoran state was established. Indigenous nationals share a historical identity, language, and culture, live in a certain territory, have their own institutions and traditional forms of social, economic, and political organization, and practice their own authority.

Kichwa nationality is a product of several groups who are culturally different but have the same language, such as the Karanki, Natabuela, Otavalo, Kayambi, Kitu-kara, Panzaleo, Chibuleo, Kichwa del Tungurahua, Salasaka, Puruhá, Kañari, and Saraguro.

Few genetic studies have been carried out in Ecuadoran native populations,

Table 1. Indigenous Nationalities of Ecuador

<i>Name</i>	<i>Language</i>	<i>Population (Approximate Number of People)</i>	<i>Location</i>	<i>Neighboring Country with Similar Group</i>
Awá	Awapit	900–1,000	Along Mira and San Juan rivers in Carchi and Esmeraldas provinces	Colombia
Secoya	Paicoca	200	Along the Shushufindi, Aguarico, and Cuyabeno rivers	Peru
Huaoroani (Aucas)	Hao Tiro	2,000	Between the Napo River in the north and the Curaray River in the south	None
Epera	Sia Pedee (Wamuna or Epena)	200	In Esmeraldas province, around Borbón, San Francisco, and Tablillo	Colombia
Siona	Paicoca	400 secoyas (Ankuterer and Piojes)	Along the Shushufindi, Aguarico, and Cuyabeno rivers	Colombia
A'i Cofan	A'ingae	500	Along the upper Aguarico River and the Guanúes and San Miguel rivers, and on the Ecuadorian-Colombian border	Colombia
Shiwar	Shiwar Chicham	600	In Pastaza province, along the Corrientes River	Peru
Zápara	Zapara	150	Along the Conambo, Pindoyaco, and Curaray rivers	Peru
Kichwa	Kichwa	3,000,000 in the Andean region; 70,000 in Amazonia	In the highlands from Carchi province in the north to Loja province in the south; in Amazonia, in Pastaza, Napo, Sucumbíos, and Orellana provinces	Peru
Chachi (Cayapas)	Cha'palaa	4,000	In Esmeraldas province, along the Cayapas, Santiago, Dabable, and Rosario rivers.	None
Tsa'Chila (Colorados)	Tsa'fiqui	2,000	In Santo Domingo de los Colorados	None
Shuar	Shuar Chicham	70,000	In Zamora Chinchipe and Morona Santiago provinces	Peru
Achuar	Achuar Chicham	3,000	In Pastaza and Morona Santiago	Peru
Afro-Ecuadorans	Spanish	500,000	In Esmeraldas and Carchi provinces	None

Sources: CODENPE (2003) and our data.

Table 2. Previous Genetic Studies in Ecuadoran Populations

<i>Group Studied</i>	<i>Genetic Marker Analyzed</i>	<i>Number of Individuals Analyzed</i>	<i>Reference</i>
Chachi (Cayapas)	HLA class II	100	Titus-Trachtenberg et al. (1994)
Chachi (Cayapas)	HLA class II	100	Trachtenberg et al. (1995)
Chachi (Cayapas)	<i>HLA*DQA1</i>	40	Zimmerman et al. (1995)
Chachi (Cayapas)	HLA class I (B)	13	Garber et al. (1995)
Huaoranis	<i>HLA*DRB1</i>	6	Blagitko et al. (1997)
Chachi (Cayapas)	mtDNA	204	Rickards et al. (1999)
African descendants	Blood subgroups and serum markers	255	Martínez-Labarga et al. (1999)
Mestizo population	STRs (CSF1PO, TPOX, TH01, F13A01, VWA, D13S317, D16S539, D5S818, D7S820, LPL, HPRTB, F13B)	400	González-Andrade et al. (2003b)
Black population	STRs (CSF1PO, TPOX, TH01, F13A01, VWA, D13S317, D16S539, D5S818, D7S820, LPL, HPRTB, F13B)	104	González-Andrade et al. (2003a)

as shown in Table 2. Extensive work may be required in this field to demonstrate the different genetic admixture processes between original individuals. Some groups, such as the Cayapas, have been studied principally. There is a general lack of information on the Ecuadoran population from a genetic point of view, and no previous publications on the distribution of short tandem repeats (STRs) are available.

In this paper we report the allele frequency distribution of seven STR loci that have proven to be extremely useful for forensic casework, human identification, and population genetics—CSF1PO, TPOX, TH01, D13S317, D5S818, D16S539, and D7S820—in a population sample of Amerindian Kichwas (Quichuas) from Ecuador.

Materials and Methods

Population Sample. Whole blood was obtained by venipuncture into vacutainer tubes containing EDTA. The subjects were healthy, unrelated Kichwas, of both sexes, who had been born and who now live in the highlands of Ecuador. The number of chromosomes analyzed was 150.

DNA Extraction. DNA was extracted using the Wizard Genomic DNA Purification Kit System (Promega Corp. 1998), and the quantity was estimated by ultraviolet absorbance (Gene Quant Calculator, Pharmacia, Uppsala, Sweden).

Typing. The multiplex analysis of CSF1PO, TPOX, and TH01 was performed using the CTT Multiplex System kit, and the analysis of D13S317, D5S818, D16S539, and D7S820 was performed using the Gamma STR Multiplex System (Promega Corp. 1998), following the manufacturer's recommendations in both cases.

Amplification using the PCR was performed in a Techne Thermal Cycler, model Genius, following the manufacturer's recommendations. The PCR products were typed by vertical electrophoresis on 0.40-mm-thick 4% denaturing polyacrylamide gels (19:1 acrylamide:bisacrylamide, 7 M urea) with silver staining. Electrophoresis was carried out in a Gibco BRL Sequencing System, model SA (Gibco, United States) at 200 V for 1 min, followed by 200 V for 2 min at the end, at a fixed temperature of 50°C. {AU: Q2} The recommendations of the DNA Commission of the International Society for Forensic Haemogenetics for analysis of STR systems were followed (Bär et al. 1997; ISFG 1992).

Analyses of Data. Evaluation of Hardy–Weinberg expectations was carried out using the exact test, and determination of further statistical parameters of forensic interest was carried out by using the computer program HWE-Analysis, version 3.3 (Christoph Puers, Institute for Legal Medicine, University of Münster), as previously described (Martínez-Jarreta et al. 1999; González-Andrade et al. 2002).

Results and Discussion

The distributions of observed allele frequencies for the seven loci (CSF1PO, TPOX, TH01, D13S317, D5S818, D16S539, and D7S820) and the results of the different analytical procedures for testing the correspondence of the genotype frequencies with Hardy–Weinberg expectations are summarized in Table 3. This table shows the forensic value of the analyzed systems expressed as various statistical parameters.

All loci met Hardy–Weinberg expectations, and there was no evidence of association of alleles among the seven loci. The forensic efficiency parameters revealed the high forensic efficiency of the seven STR loci analyzed. The data presented in this study will allow the calculation of matching probabilities in forensic casework if Ecuadoran Kichwa individuals are considered as a source of DNA evidence.

Some forensic values of interest were calculated. The cumulative power of discrimination was calculated to be 0.68212, and the cumulative mean exclusion chance was 0.99627. Statistical parameters of genetic variability, such as heterozygosity and the number of alleles, were also calculated. The heterozygosity ranged from 0.5800 to 0.8235. The number of alleles observed ranged from 5 to 7.

In Ecuador, ethnic differences have been associated with differences in

Table 3. Genetic Distribution of Seven STR Loci in the Kichwa Population

<i>Allele</i>	<i>CSFIPO</i> (<i>n</i> = 150)	<i>TPOX</i> (<i>n</i> = 150)	<i>TH01</i> (<i>n</i> = 150)	<i>D13S317</i> (<i>n</i> = 102)	<i>D16S539</i> (<i>n</i> = 104)	<i>D5S818</i> (<i>n</i> = 95)	<i>D7S820</i> (<i>n</i> = 104)
6	–	–	0.4800	–	–	–	–
7	–	–	0.3200	–	–	0.1110	–
8	0.0030	0.5130	0.0070	0.0690	0.0140	–	0.0050
9	0.0070	–	0.0230	0.2450	0.1920	0.1160	0.0029
9.3	–	–	0.1330	–	–	–	–
10	0.3130	0.0030	0.1230	0.1570	0.29 30	0.0420	0.2600
11	0.2930	0.3600	0.0370	0.0930	0.2640	0.5740	0.3700
12	0.3130	0.1230	–	0.1720	0.1830	0.1320	0.2880
13	0.0570	0.0030	–	0.1760	0.0480	0.0260	0.0480
14	0.0130	–	–	0.0880	0.0050	–	–
χ^2	0.3744	0.8728	0.2032	0.9518	0.6680	0.8948	0.7000
<i>G</i> test	0.3408	0.9080	0.5280	0.9366	0.5464	0.9486	0.1956
Exact test	0.4956	0.8192	0.3928	0.8956	0.4214	0.9548	0.1090
Observed heterozygosity	0.7333	0.5800	0.6400	0.8235	0.7308	0.6421	0.6442
Expected heterozygosity	0.7165	0.5936	0.6497	0.8377	0.7749	0.6288	0.7126
Mean exclusion chance	0.4552	0.3065	0.3876	0.66663	0.55157	0.41383	0.45228
Mean exclusion probability	0.4543	0.2833	0.3547	0.67073	0.55331	0.32687	0.44803
Polymorphism information content	0.6591	0.5114	0.5871	0.81208	0.73358	0.59417	0.65486
Probability of match	0.1401	0.2462	0.1906	0.05498	0.09578	0.17429	0.14127
Power of discrimination	0.8599	0.7538	0.8094	0.94502	0.90422	0.82571	0.85873
Minimal allele frequency	0.0184	0.0167	0.0173	0.0284	0.0260	0.0268	0.0254

Number of random shuffles performed: 5,000.

power and wealth; ethnic groups are discriminated against. There has not been a complete census of all ethnic nationalities and groups. Only maternal language has been considered as a tool to mark differences between native groups in Ecuador. Genetics should be a most efficient tool to establish a real biological history of Ecuadoran populations.

Kichwa nationality appears to be due to a process of quichuization of several peoples who had their own characteristics. This nationality arose from contacts between ethnic groups in the pre-Inca period, and they adopted a Quichua-like maternal language. Quichua was the Inca language.

Kichwas live near the Andean region, which has ecological features of the

paramo region. They adopted a micro vertical system of production, characterized by cultivation in microclimatic areas. In their political organization the *curaca* or *cacique* was the most important authority. Commercial interchanges facilitated the movement of language. The *mindalas* transport exotic products, cultural manifestations, and rituals into neighboring zones and even farther in a synergy of peoples and populations.

Inca invasion produced cultural changes in original peoples, but they did not suffer a rupture of their structure; they adopted a new way of production. During the conquest period the original peoples experienced a strong rupture of ancestral societies, with an imposition of Spanish language. Quichuas survived this period, and they call their language Kichwa, an ancestral and millenarian name, a product of a mixture of aboriginal language, pre-Inca language, and Quichua from Incas.

The information summarized in this report allows further comparison between worldwide populations and may also provide data for statistical evaluation in some areas such as forensics.

Received 13 August 2003; revision received 12 April 2004.

Literature Cited

- Bär, W., B. Brinkmann, B. Budowle et al. 1997. DNA recommendations: Further report of the DNA Commission of the ISFH regarding the use of short tandem repeat systems. *Forensic Sci. Int.* 87(3):181–184.
- Blagitko, N., C. O’Huigin, F. Figueroa et al. 1997. Polymorphism of the HLA-DRB1 locus in Colombian, Ecuadorian, and Chilean Amerinds. *Hum. Immunol.* 54:74–81.
- CODENPE (Consejo de Desarrollo de las Nacionalidades y Pueblos del Ecuador). 2003. *Nacionalidades y Pueblos del Ecuador, Quito*. Quito: CODENPE.
- Garber, T., L. Butler, E. Trachtenberg et al. 1995. HLA-B alleles of the Cayapa of Ecuador: New B39 and B15 alleles. 42:19–27.
- Gené, M., M. Fuentes, E. Huguet et al. 1998. Quechua Amerindian population characterized by HLA-DQ α , YNZ22, 3APO B, HUMTH01, and HUMVWAA31A polymorphism. *J. Forensic Sci.* 43(2):403–405.
- Gené, M., P. Moreno, N. Borrego et al. 2000. Population study of Aymara Amerindians for the PCR-DNA polymorphisms HUMTH01, HUMVWAA31A, D3S1358, D8S1179, D18S51, D19S253, YNZ22, and HLA-DQ α . *Int. J. Legal Med.* 113:126–128.
- González-Andrade, F., D. Sánchez-Q., and B. Martínez-Jarreta. 2002. Evaluation of 1,495 cases of disputed paternity in Ecuador (South America) resolved with STR-PCR polymorphisms. *Proc. Int. Assoc. Forensic Sci.* (Monduzzi ed.), 225–230.
- González-Andrade, F., D. Sánchez-Q., and B. Martínez-Jarreta. 2003a. Genetic profile of the Ecuadorian Black population (Ecuador, South America) by using the Power Plex16 system kit. *Progr. Forensic Genet.* 10 (in press).
- González-Andrade, F., D. Sánchez-Q., and B. Martínez-Jarreta. 2003b. Genetic profile of the Ecuadorian Mestizo population by using the Power-Plex 16 system kit. *Int. J. Forensic Sci. Int.* 135(1):64–66.

- ISFG (International Society for Forensic Haemogenetics). 1992. Recommendations of the DNA Commission of the International Society for Forensic Haemogenetics relating to the use of PCR-based polymorphisms. *Forensic Sci. Int.* 55(1):1–3.
- Martínez-Jarreta, B., P. Díaz Roche, and E. Abecia. 1999. Genetic variation at six STR loci (CTT, FFV) in Aragon (north Spain). *Forensic Sci. Int.* 100(1–2):87–92.
- Promega Corporation. 1998. *Gene Print STR Systems for Silver Stain Detection: Technical Manual*. TMD no. 004. Promega Corp.
- Rickards, O., C. Martínez-Labarga, J. Kum et al. 1999. mtDNA history of the Cayapa Amerinds of Ecuador: Detection of additional founding lineages for the native American populations. *Am. J. Hum. Genet.* 65:519–530.
- Rodríguez-Delfin, L., V. Rubin-de-Celis, and M. Zago. 2001. Genetic diversity in an Andean population from Peru and regional migration patterns of Amerindians in South America: Data from Y chromosome and mitochondrial DNA. *Hum. Hered.* 51:97–106.
- Sánchez, D. 1998. Human identification in Ecuador. In *Memoires of 22nd Symposium of Biology in Ecuador*, C. Cerón, ed. Quito: Central University of Ecuador, 79–80.
- Sánchez, D., F. González-Andrade, and B. Martínez Jarreta. 2003. Population genetics of 12 STR loci in a sample of Mestizos from Ecuador (South America). *J. Forensic Sci.* 48(2):453–454.
- Sáns, M. 2000. Admixture studies in Latin America: From the 20th century to the 21st century. *Hum. Biol.* 72(1):155–177.
- SIDENPE. 2003. *Sistema Integrado de Indicadores Sociales del Ecuador: Frente Social*.
- Trachtenberg, E., A. Erlich, O. Rickards et al. 1995. HLA class II linkage disequilibrium and haplotype evolution in the Cayapa Indians of Ecuador. 57:415–424.
- Zimmermann, P., P. Phadke, A. Lee et al. 1995. Migration of a novel *DQA1 allele from African origin to North and South America. *Hum. Immunol.* 42:233–240.

Genetic Analysis of Autosomic and Y-Chromosome STR-PCR Polymorphisms of the HUAORANIS, the Last Nomad tribe in Ecuador

Fabricio González-Andrade^{a,*} Miguel Bolea^b ,
Begoña Martínez-Jarreta,^b Dora Sánchez^a

^a GENética, Laboratorios de ADN., Hospital Metropolitano, Quito (Ecuador)
^b Legal Medicine Department, University of Zaragoza (Spain)

Abstract. Allele frequency data for the 15 STR systems, Amelogenine and 12 STRs from chromosome Y were determined in a population sample of healthy Amerindian Huaorani individuals. All loci met Hardy-Weinberg expectations and the high discrimination power of the combined system showed the forensic efficiency of these genetic markers.

Keywords: Ecuador; STRs; Forensic Genetics; Amerindian Huaoranis; Population genetics

1. Introduction

Huaorani Population, are last nomad tribe of hunters-collectors from Ecuador. They speak Huao Tiri and no similar language exists from the linguistic point of view. They live in small communities, some of them without any contact with western society, such as the Tagaeri and Taromenane. Traditionally, the basic social unit is the “nanicabo”, formed by 6 to 10 families living under the same roof. There are currently only 2,000 individuals left in 716,000 hectares, in dispersed communities in the Amazonia region. They are also called Aucas and Jíbaros. They shrink heads (CODENPE, 2003).

2. Material and Methods

Population Sample : Whole blood was obtained in EDTA Vacutainer tubes by venipuncture from healthy unrelated Amerindian Huaoranis born and living in Ecuador. We collected all samples within a period of six months. N: 37 Huaoranis. DNA extraction: DNA was extracted using Wizard Genomic DNA Purification Kit System[®], and the quantity was estimated by UV absorbance. PCR: Amplification was performed in a Genius[®] model Techne Thermal Cycler. Typing: By ABI Prism 310. Fragment size and allele designation of

* Fabricio González-Andrade, MD. Tel: +593-2269354. Fax: +593-2269354.
E-mail address: fabriciogonzalez@yahoo.es

different loci was determined by comparison with allelic ladders distributed into the PowerPlex 16 (Promega) kit. The recommendations of the DNA Commission of the International Society of Forensic Haemogenetics for analysis of STRs systems were followed. Quality control: GEP-ISFG Working Group (<http://www.gep-isfg.org>) proficiency testing. Data Analysis: Evaluation of Hardy-Weinberg expectations was carried out using statistical parameters of forensic interest, as previously described (González-Andrade F, 2002, 2003).

3. Results and Discussion

Table 1 show Y chromosome haplotypes found, and Table 2 shows allelic frequencies of autosomic STRs. Cumulative power of discrimination (PD) of autosomic STRs was 0.9999 and cumulative mean exclusion chance (MEC) was 0.999625.

Table 1. Y-Chromosome haplotypes founded.

Huaoranis														
H	N	Fq	DYS 19	DYS 385 a	DYS 385 b	DYS 389 I	DYS 389 II	DYS 390	DYS 391	DYS 392	DYS 393	DYS 437	DYS 438	DYS 439
h1	1	0.166667	13	14	19	12	30	25	10	14	14	15	11	12
h2	1	0.166667	14	14	16	13	30	23	10	15	13	14	12	13
h3	1	0.166667	14	14	16	13	30	23	10	15	13	14	12	11
h4	1	0.166667	13	15	15	13	28	23	10	14	13	14	11	10
h5	1	0.166667	14	14	16	12	30	23	10	15	12	14	12	12
h6	1	0.166667	14	14	16	13	30	23	10	15	13	14	12	12

Statistical parameters	N	k	Hd	□	V
Huaoranis	6	6	1	5.87±3.26	0.55±0.53

N, sample size; k, number of different haplotypes; Hd, haplotype diversity; □, average pairwise differences between haplotypes; V, average repeat size variance. P min: allelic frequency minimum, MEC: Mean paternity exclusion chance; PIC: Polymorphism information content; Pm: Probability of match; PD: Discrimination power; Obs H: observed heterocigoty; Exp H: expected heterocigoty; FIS: inbreeding coefficient

References:

- CODENPE, Consejo de Desarrollo de las Nacionalidades y Pueblos del Ecuador, (2003), Nacionalidades y Pueblos del Ecuador, Quito, www.codenpe.org.ec
- González-Andrade F, Sánchez-Q. D, Martínez-Jarreta B (2002) Evaluation of 1495 cases of Disputed Paternity in Ecuador (South America) resolved with STR-PCR polymorphisms. Proceedings of International Association of Forensic Sciences, Monduzzi Ed: 225-230
- González-Andrade F, Sánchez-Q., Martínez-Jarreta B (2003) Genetic profile of the Ecuadorian Mestizo population by using the Power-Plex 16 system kit. Int J Forensic Sci Int. 2003 Jul 29;135(1):64-6.

Table 2. Allele distribution of 15 STR loci and Amelogenin in a Population sample of Huaoranians (n = 37)

Allele	TH01	CSF1PO	TPOX	VWA	D13S317	D3S1358	D5S818	D7S820	D21S11	D18S51	PENTA E	D16S539	PENTA D	D8S1179	FGA
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.027	0	0
6	0.4459	0	0	0.0135	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0.4865	0	0	0	0	0	0.2973	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0.0135	0.0135	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0135	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0.0135	0.0135	0	0	0.027	0.3784	0.4595	0	0
9.3	0.0676	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0.1486	0	0	0.0811	0	0	0	0	0	0	0.4324	0.3919	0.0135	0
11	0	0.1622	0.2703	0	0.0135	0	0.2973	0.3919	0	0	0	0.0676	0.0541	0	0
12	0	0.6351	0.7162	0	0.1351	0	0.2297	0.5541	0	0.3243	0.0405	0.027	0	0.0811	0
13	0	0.0135	0	0	0.2703	0	0.1622	0	0	0.1622	0.1757	0.0135	0.0676	0.1216	0
14	0	0.0270	0	0	0.5	0	0	0.0405	0	0.0135	0	0.0676	0	0.4865	0
15	0	0	0	0.1351	0	0.6486	0	0	0	0.1486	0.4865	0	0	0.0946	0
16	0	0	0	0.6486	0	0.3378	0	0	0	0.0135	0	0	0	0.2027	0
17	0	0	0	0.1892	0	0.0135	0	0	0	0.1216	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.2162	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0.0135	0	0	0	0	0	0	0.1216	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1486	0	0	0	0.1351
21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0135
22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0135
23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1351
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.3514
25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1757
26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1757
29	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1351	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	0	0	0.2432	0	0	0	0	0	0
31	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1081	0	0	0	0	0	0
31.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0.2027	0	0	0	0	0	0
32.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0.2162	0	0	0	0	0	0
33.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0946	0	0	0	0	0	0
X² test	0.72062	0.98083	0.00009	0.91865	0.82901	0.81171	0.00001	0.74809	0.999939	0.28775	0.161700	0.52169	0.0001	0.9377	0.85807
P min	0.09292	0.09106	0.10785	0.10379	0.10786	0.08926	0.08749	0.09817	0.08926	0.09817	0.09817	0.09488	0.08749	0.08749	0.08393
MEC	0.47233	0.19117	0.57406	0.58081	0.62797	0.35735	0.29440	0.47039	0.24871	0.40178	0.50075	0.40407	0.26258	0.32335	0.17544
PIC	0.65676	0.36882	0.74640	0.75277	0.78751	0.55614	0.47777	0.65476	0.44157	0.59899	0.69752	0.59992	0.46180	0.50597	0.33863
Pm	0.14976	0.43898	0.11615	0.10007	0.09863	0.21400	0.29003	0.14095	0.30021	0.22863	0.11617	0.17601	0.27533	0.27093	0.40972
PD	0.85024	0.56102	0.88385	0.89993	0.90137	0.78600	0.70997	0.85905	0.69979	0.77137	0.88383	0.82399	0.72467	0.72907	0.59028
Obs H	0.62160	0.56750	0.91890	0.86480	0.91900	0.51360	0.45940	0.75670	0.51350	0.75670	0.75680	0.67550	0.45940	0.45930	0.35130
Exp H	0.69320	0.46502	0.77790	0.78454	0.81413	0.62704	0.52490	0.69173	0.53756	0.65192	0.74397	0.65961	0.55992	0.54716	0.41381
FIS	0.115418	-0.20386	-0.16528	-0.08739	-0.11354	0.19199	0.13662	-0.07913	0.05767	-0.14502	-0.00349	-0.01025	0.19061	0.17192	0.16253
Allele	PENTA E	D3S1358	FGA	D18S51	D21S11	PENTA D	VWA	D8S1179	D7S820	D13S317	D5S818	D16S539	TH01	CSF1PO	TPOX

Announcement of Population Data

Y chromosome STR haplotypes: genetic data from Mestizos, Amerindian Kichwas and Afroamericans Blacks from Ecuador

Fabricio González-Andrade^{1a,*}, Dora Sánchez^a, Bruce Budowle^b,
Begoña Martínez-Jarreta^c

^a*Molecular Genetics Laboratory, Metropolitan Hospital, Quito (Ecuador)*

^b*FBI Academy, Quantico (USA)*

^c*Department of Legal Medicine, University of Zaragoza, (Spain)*

Abstract. Twelve Y-specific STR loci were studied in three ethnic groups from Ecuador: Mestizos, Amerindian Kichwas (Quichuas) and Blacks Afroamericans. Ethnicity means cultural practices and moral values to distinguish groups and communities. Individuals from ethnic group see themselves like different to others social and native groups. In this paper, we report haplotype and allele frequency distribution of these twelve Y-chromosome STR were estimated. Observed haplotype diversities are in range between 0.997 to 0.999. Y chromosome have proven to be extremely useful for forensic casework, human identification and population genetics.

Keywords: Y-Chromosome STRs, Y-haplotypes, Population databases, Mestizos, Kichwas, Blacks, Ecuador

Population Sample: whole blood was obtained in EDTA vacutainers tubes by venipuncture from healthy unrelated mestizo, kichwa and black populations, born and living in Ecuador. N= 102 individuals for each ethnic group analyzed

DNA extraction: DNA was extracted using Wizard™ system (Promega, USA), and the quantity was estimated by UV absorbance. **PCR:** Amplification was performed in a Techne thermalcycler, model Genius® and Perkin Elmer 9600 thermalcycler, following the manufacturer's recommendations for the reactives. **Typing:** The 11 Y-chromosome STRs in the Power Plex-Y™ kit were typed with an ABI Prism 310 automated sequencer. Fragment size and allele designation of different loci was determined by comparison with allelic ladders distributed with the kit (Promega, USA). The recommendations of the DNA Commission of the International Society of Forensic Haemogenetics for analysis of STRs systems were followed (Bär et al, 1997; ISFG, 1992; Gill P et al, 2001). We also used the experience of our team ((González F et al, 2002, 2003, 2005). **Quality control:** proficiency testing of the GEP-ISFG Working Group (<http://www.gep-isfg.org>). **Analyses of data:** gene diversity at each locus, the number of haplotypes, and haplotype diversity were calculated using a program developed by Chakraborty and Lee (<http://cgi.uc.edu/download/haplo>). Linkage disequilibria tests were performed using the same program, with 5000 permutations, is based on the Fisher exact test on contingency tables. DYS385 locus treated as a single locus for allele frequency estimates (Budowle B, et al, in press). Gene diversity, the diversity estimates for each of the DYS385 loci were calculated by arbitrarily assigning the smaller size allele to the DYS385a locus. This paper follows the guidelines for publication data requested by the journal.

Other remarks: Most important ethnics groups from Ecuador are Mestizos, Amerindian Kichwas (Quichuas) and Blacks Afroamericans. Mestizos are the most representative and largest group in our country (CODENPE-SIISE, 2002). They are descendents of Spanish (Caucasian) and Amerindian people. Mostly they live in urban regions. We think that exist different degrees of genetic admixture, mainly with Amerindians, too (Sáns M, 2002). This situation have several variations towards the cities of the Andes and the cities of Pacific coast Kichwa (ancestral name) or Quichua (a mixture of native and Spanish

* Corresponding author. Tel: +593-2-2269354. Fax: +593-2-2269354
E-mail address: fabriciogonzaleza@yahoo.es

derived name) population are almost three million inhabitants (20% of total). They are most representative Amerindian group in Ecuador. Most of them live in the mountains, in the Andean region, from Carchi province, on the north, until Loja province, on the South. Some of them are distributed on the Amazonia region, on provinces of Pastaza, Napo, Sucumbíos and Orellana. There, they are approximately 70.000 persons, and speak kichwa language distinguishable from highlands Quichua dialects (González-Andrade F et al, 2004). Everybody have the Spanish like a second language (Vásquez L, Saltos N, 2003). Black populations from Ecuador are descendents of African slaves. They live in two major regions, in Andean region on Valle del Chota, and in the coast, in Esmeraldas province. It is possible, that they come from Colombia and Africa, on slaves ships in 1533 (Vásquez L, Saltos N, 2003). There are 500.000 individuals around the country. They speak Spanish and preserve African traditions like music, dance, religion and ancestral practices. Blacks are an ethnic group formed by Blacks Communities, characterised for an afroecuadorian ascending, a same history, with similar cultural manifestations between themselves and a conscient identity. Actually, mostly of them live in rural regions and work in agricultural activities.

Comparison of populations

Haplotype sharing within Ecuador: Seven different haplotypes were shared between Kichwas and Mestizos, one between Mestizos and Afroecuadorians, and one between Kichwas, Afroecuadorians, and Mestizos. The latter happens to be the most frequent haplotype in Europeans, and particularly in Spanish. The total number of different haplotypes is 271. See table 4.

Minimum haplotype sharing with global populations: Minimum haplotypes (i.e., DYS19-389I-389II-390-391-392-393-385) have been defined for forensic practice and such haplotypes from global populations are stored in the YHRD (Y-chromosome haplotype reference database; <http://www.yhrd.org>). Minimum haplotypes in the Ecuadorian populations were searched for in the YHRD (release 16); that release contained minimum haplotypes for 32,196 chromosomes from 271 world populations. Perfect matches were counted; for haplotypes without matches, one-step neighbours were considered (that is, haplotypes being different by one repeat only at one locus). No haplotype showed matches to more than one continental group. A match or a one-step neighbour could not be found for over half of the Kichwa haplotypes. It is also remarkable that only five matches were found with other Native American populations, but 26 haplotypes had one-step neighbours. These two facts can be explained by two non-mutually exclusive phenomena: the higher interpopulation differentiation among Amerindians (Salzano, 2002), and the under-representation of these populations in the database (six as compared to 201 European populations). This makes more likely that the no-match chromosomes (which, a priori, could have any population origin) would be of Native American origin. Overall, the number of matches with Europe is striking. This method would be more sensitive to European admixture, since Europe (and Spain in particular) is overrepresented in YHRD. However, perfect or near-perfect matches in Europe were found for 14% of Kichwa Y chromosomes, 67% of Mestizos, and 27% of Afroecuadorians. See table 5.

Results and Discussion

Allele frequencies at each STR are shown in Table 1. Most frequently haplotypes are in Table 2. We show haplotype information in table 3. Observed haplotype diversities are in range between 0.997 to 0.999.

Table 1. Allele frequencies and gene diversities of Ecuadorian populations

Genetic marker	Mestizos (n= 102)	Kichwas Amerindian (n =102)	Blacks Afroamericans (n = 102)
<i>DYS 19</i>			
12	0,01961	0,02941	0,17647
13	0,32353	0,60784	0,20588
14	0,45098	0,21569	0,31373
15	0,16667	0,09804	0,14706
16	0,03922	0,03922	0,15686
18	-	0,00980	-
Gene diversity	0.668802	0,577558	0.789555

DYS 385 a			
9	-	0,00980	-
10	0,00490	-	0,00490
11	0,18137	0,02941	0,07353
12	0,09314	0,07843	0,0341
13	0,10294	0,04902	0,04412
14	0,25980	0,27451	0,13235
15	0,08824	0,20098	0,15686
16	0,06863	0,08824	0,18137
17	0,10784	0,09804	0,18627
18	0,04412	0,05882	0,11765
19	0,03431	0,07843	0,04412
20	0,00980	0,02451	0,01961
21	0,00490	0,00980	0,00490
Gene diversity	0.767230	0.860610	0.839643
DYS 385 b			
9		0,00980	
10	0,00490	-	0,00490
11	0,18137	0,02941	0,07353
12	0,09314	0,07843	0,0341
13	0,10294	0,04902	0,04412
14	0,25980	0,27451	0,13235
15	0,08824	0,20098	0,15686
16	0,06863	0,08824	0,18137
17	0,10784	0,09804	0,18627
18	0,04412	0,05882	0,11765
19	0,03431	0,07843	0,04412
20	0,00980	0,02451	0,01961
21	0,00490	0,00980	0,00490
Gene diversity	0.767230	0.860610	0.839643
DYS 389 I			
12	0,15686	0,18627	0,12745
13	0,60784	0,60784	0,63725
14	0,22549	0,20588	0,23529
15	0,00980		
Gene diversity	0.560474	0.558921	0.527470
DYS 389 II			
27	0,01961	-	-
28	0,78430	0,04902	0,07843
29	0,38235	0,24510	0,16667
30	0,36275	0,35294	0,41176
31	0,10784	0,28431	0,30392
32	0,04902	0,06831	0,03922
Gene diversity	0.708600	0.734615	0.709571
DYS 390			
20	-	-	0,00980
21	0,01961	0,00980	0,41176
22	0,05882	0,03922	0,09804
23	0,21569	0,20588	0,12745
24	0,60784	0,57843	0,24510
25	0,0984	0,16667	0,09804
26			0,00980
Gene diversity	0.576199	0.599495	0.741992
DYS 391			
9	0,02941	0,10784	0,03922
10	0,53922	0,61765	0,65686
11	0,37255	0,26471	0,28431
12	0,04902	0,00980	-
13	0,00980	-	0,01961
Gene diversity	0.57274	0.542031	0.490584
DYS 392			
10	0,01961	-	-

11	0,24510	0,06863	0,64706
12	0,01961	0,02941	0,04902
13	0,47059	0,18627	0,17647
14	0,20588	0,52941	0,10784
15	0,03922	0,13725	0,01961
16	-	0,01961	-
17	-	0,0980	-
18	-	0,01961	-
Gene diversity	0.680450	0,666278	0.541060
DYS 393			
10	-	-	0,00980
11	0,00980	0,00980	0,05882
12	0,11765	0,00980	0,51961
13	0,71569	0,72549	0,25490
14	0,13725	0,21569	0,15686
15	0,01965	0,03922	-
Gene diversity	0.459134	0,429625	0.643176
DYS 437			
13	0,06863	0,00980	0,04902
14	0,57843	0,82353	0,70588
15	0,31373	0,12745	0,18627
16	0,03922	0,03922	0,03922
17			0,01961
Gene diversity	0.566298	0,306931	0.467288
DYS 438			
8		0,09800	0,02941
9	0,12745	0,04902	0,19610
10	0,21569	0,09804	0,14706
11	0,19608	0,70588	0,55882
12	0,45098	0,13725	0,24510
18	0,00980		
Gene diversity	0.702194	0,475442	0.610755
DYS 439			
9	0,00980	0,02941	
10	0,01961	-	0,03922
11	0,29412	0,31373	0,32353
12	0,49020	0,51961	0,50980
13	0,16667	0,12745	0,12745
14	0,00980	0,00980	
15	0,00980		
Gene diversity	0.651136	0,620462	0.623762

Table 2. Haplotypes found in more than two individuals. Haplotypes occurring more than once, highest haplotype frequency (observed 1 times) = 3 (0.0294)

Mestizos

H	N	Fq	DYS 19	DYS 385 a	DYS 385 b	DYS 389 I	DYS 389 II	DYS 390	DYS 391	DYS 392	DYS 393	DYS 437	DYS 438	DYS 439
h1	2	0.0196	16	12	15	13	29	23	10	11	12	9	11	15
h2	2	0.0196	12	15	17	13	30	23	10	14	13	10	12	13
h3	2	0.0196	14	11	14	13	29	24	11	14	13	12	12	14

Kichwas Amerindians

H	N	Fq	DYS 19	DYS 385 a	DYS 385 b	DYS 389 I	DYS 389 II	DYS 390	DYS 391	DYS 392	DYS 393	DYS 437	DYS 438	DYS 439
h1	2	0.0196	14	15	17	13	31	25	10	14	13	14	11	12
h2	2	0.0196	15	14	14	12	31	24	10	18	13	16	11	11
h3	2	0.0196	15	14	15	13	29	23	10	14	13	14	9	11
h4	2	0.0196	16	19	19	13	30	25	10	13	14	15	10	11
h5	2	0.0196	13	15	16	13	29	24	10	14	13	14	11	12
h6	2	0.0196	14	14	20	13	29	25	10	15	14	14	11	12
h7	3	0.0294	13	14	14	13	30	24	10	13	13	14	11	12
h8	2	0.0196	14	12	14	12	29	24	11	13	13	15	12	11
h9	2	0.0196	15	9	21	14	30	24	11	12	13	14	11	9

h10	2	0.0196	13	19	19	14	31	24	11	14	13	14	11	12
<i>Blacks</i>														
H	N	Fq	DYS 19	DYS 385 a	DYS 385 b	DYS 389 I	DYS 389 II	DYS 390	DYS 391	DYS 392	DYS 393	DYS 437	DYS 438	DYS 439
h1	2	0.0196	13	13	14	13	30	24	9	11	13	10	10	14
h2	2	0.0196	15	16	15	12	28	23	10	12	15	10	11	14
h3	2	0.0196	15	16	17	13	30	21	10	11	15	11	12	13
h4	2	0.0196	16	15	18	13	30	21	10	11	14	11	12	14
h5	2	0.0196	15	15	17	13	31	21	10	11	13	11	12	14
h6	2	0.0196	15	17	18	13	31	21	10	11	15	11	12	14
h7	3	0.0294	14	11	18	13	29	23	10	13	13	12	13	15
h8	2	0.0196	17	16	18	13	30	21	10	11	15	12	13	14
h9	2	0.0196	15	15	16	14	31	21	10	11	13	11	11	14
h10	2	0.0196	14	11	14	13	29	25	11	13	13	12	12	15
H11	3	0.0294	15	16	17	13	31	21	11	11	13	11	12	14
H12	2	0.0196	17	17	18	14	30	21	11	11	14	11	11	14
H13	2	0.0196	14	11	14	13	28	24	13	13	13	12	12	15

Table 3. Haplotype information on twelve Y STR loci in Ecuadorian populations

	Mestizos	Kichwas- amerindians	Blacks –afroamericans
Sample size	102	102	102
Number of unique haplotypes	99	91	89
Haplotype diversity	0.999418	0.997670	0.997476
Random match probability	0.000582	0.002330	0.002524

REFERENCES:

- Bär W, Brinkmann B, Budowle B, et al (1997). DNA recommendations. Further report of the DNA Commission of the ISFH regarding the use of short tandem repeat systems. *Forensic Sci Int.* 1997 Jun 23; 87 (3): 181-4.
- Budowle B, Adamowicz M, Aranda X, Barna C, Chakraborty R, Eisenberg AJ, et al .Twelve short tandem repeat loci Y chromosome haplotypes: genetic analysis on populations residing in North America. *Forens. Sci. Int.* (in press).
- CODENPE-SIDENPE-SIISE[®], 2002. Available in: <http://www.codenpe.gov.ec> CODENPE means Consejo de Nacionalidades y Pueblos indígenas del Ecuador. SIDENPE means Sistema de Indicadores de Nacionalidades y Pueblos indígenas del Ecuador.
- Gill P, Brenner C, Brinkmann B, Budowle B, Carracedo A, Jobling MA et al (2001) DNA Commission of the ISFG recommendations on forensic analysis using Y-chromosome STRs. *Int J Legal Med*, 114: 305-309.
- González-Andrade F, Sánchez D (2004) Genetic Profile of the Kichwas (Quichuas) from Ecuador, South America, by analysis of STR loci. *Hum Biol* 76 (5): 23-30
- González-Andrade F, Sánchez-Q., Martínez-Jarreta B (2003) Genetic profile of the Ecuadorian Mestizo population by using the Power-Plex 16 system kit. *Forensic Sci Int.* Jul 29; 135 (1): 64-6.
- González-Andrade F, Sánchez-Q., Martínez-Jarreta B (2005) Genetic analysis of the amerindian kichwas and afroamerican descendents populations from Ecuador characterised by 15 STR-PCR polymorphisms. *Forensic Sci Int. Sep.* 4581. doi: 10.1016/j.forscint.2005.08.002.
- González-Andrade F, Sánchez-Q. D, Martínez-Jarreta B (2002) Evaluation of 1495 cases of Disputed Paternity in Ecuador (South America) resolved with STR-PCR polymorphisms. *Proceedings of International Association of Forensic Sciences*, Monduzzi Ed: 225-230
- <http://www.gep-isfg.org>
- <http://www.yhrd.org> (Y-chromosome haplotype reference database)
- <http://cgi.uc.edu/download/haplo>
- International Society for Forensic Haemogenetics (1992). Recommendations of the DNA Commission of the International Society for Forensic Haemogenetics relating to the use of PCR-based polymorphisms. *Forensic Sci Int.* 1992 Jul; 55 (1): 1-3.
- Salzano FM (2002). Molecular variability in Amerindians: widespread but uneven information. *Ann Braz Acad Sci* 74: 223–263.
- Sáns M (2000) Admixture studies in Latin America: from the 20th century to the 21th century. *Human Biol*, 72 (1): 155-77.
- Vásquez L, Saltos N (2003) Ecuador: su realidad. Fundación José Peralta.

Sex-specific Genetic Admixture of Mestizos, Amerindian Kichwas and Afroecuatorians from Ecuador

Fabricio González-Andrade ^{a*}, Dora Sánchez ^a,
Begoña Martínez-Jarreta ^b

^a*Molecular Genetics Laboratory, Metropolitan Hospital, Quito (Ecuador)*

^b*Department of Legal Medicine, University of Zaragoza, (Spain)*

Abstract. Three main ethnic groups live in the south American country of Ecuador: Mestizos, Amerindian natives and African-derived populations, or Afroecuatorians. Mestizos and Afroecuatorians can be considered, as is the case with equivalent populations in other Latin American countries, tri-hybrid populations containing genes originating in America, Europe, and Africa. The proportion and the dynamics of the admixture process remain unknown. However, a certain sex- asymmetry of the admixture process should be expected due to historical reasons. We have typed 11 Y-chromosomal STRs (short tandem repeats) in these three ethnic groups with a two-fold purpose: to provide adequate allele and haplotype frequencies for forensic genetic purposes, and to quantify the admixture proportions in male lineages. Additionally, a dataset of 15 autosomal STRs in the same samples was reanalyzed with the same purpose. The contributions to Mestizo Y-chromosomes were estimated as ~70% European, ~28% Amerindian, ~2% African, while, in autosomes, they were respectively ~19%, ~73%, and ~8%, which outlines the sexual asymmetry in mating, with Europeans contributing mostly males. The European Y chromosome haplotypes in the Mestizos were very similar to those in Spain. Moreover, ~10% of European Y chromosomes were found in the Amerindian Kichwa. As for Afroecuatorians, their contributions on the male line are ~44% African, ~31% European, ~15% Native American; the latter is the highest percentage described so far for an Afroamerican group. Autosomal admixture was estimated as ~56% African, ~16% European, and ~28% Amerindian.

Keywords: Kichwas, Afroamericans, Mestizos, Ecuador, Y-chromosome STRs, Genetic admixture

1. Introduction

Three main ethnic groups live in Ecuador: Mestizos, Amerindian natives, and Afroecuatorians. Mestizos are the most numerous group, with 8,000,000 (or 60% of the total population); they are the Spanish-speaker descendants of Europeans (mostly Spanish) and Amerindian natives. The proportion and the dynamics of the processes that caused this admixture of populations remain unknown.

A number of different Amerindian native populations retain their culture, language, and distinct identity in Ecuador. Of those, the most numerous by far are the Kichwa (often spelt Quichua), which number ~3,000,000. The Kichwa language is the result of the absorption of local populations into the former Inca empire (the related, but different, language spoken by the descendants of the Inca in the core Inca regions of Perú and Bolivia is called Quechua). The Kichwa live mostly in the Andes highlands, but some are found in the Amazonia region (Maya 2000; Vásquez et al., 2003). Both between highland and plain and within the highlands, a considerable cultural and dialectal variation exists. Finally, half a million Ecuadorians descend from African slaves and retain distinct phenotypical features, as well as African cultural traits such as music, dance, and religion. They live in rural areas in two separate provinces, in the Valle del Chota (in the Andes), and in the coastal Esmeraldas province (Maya 2000; Vásquez et al., 2003). The extent to which they have absorbed European and Native Amerindian gene contributions remains uncharacterized.

* Corresponding author. Tel: +593-2-2269354. Fax: +593-2-2269354
E-mail address: fabriciogonzalez@yahoo.es

We have typed 11 Y-chromosomal STRs (short tandem repeats) in these three ethnic groups with a two-fold purpose: to provide adequate allele and haplotype frequencies for forensic genetic purposes, and to genetically characterize the three groups. Large genetic differences are expected among Kichwa, Mestizos, and Afroecuadorians, and, accordingly, separate population databases should be used in forensic casework. We have typed the currently most used and best standardized Y-chromosome STRs in forensic practice worldwide so our results can be compared with those obtained in other populations.

Mestizos and Afroecuadorians can be considered, as is the case with equivalent populations in other Latin American countries, tri-hybrid populations containing genes originating in America, Europe, and Africa in various proportions. We aim to quantify those proportions and to ascertain the sex asymmetry of the admixture process by comparing Y-chromosome with autosomal markers. Y-chromosome genetic variation is particularly deeply partitioned among populations and among continental groups, which allows a quite precise identification of the origin of each Y chromosome, and makes Y STRs a good tool for admixture quantification. However, they only convey the male side of the history, and, for that reason, we have reanalyzed a published data set of 15 forensic autosomal STRs in the same populations (González-Andrade et al., 2003, 2004, and 2005).

2. Material and methods

Population Sample: Whole blood was obtained in EDTA Vacutainer tubes by venipuncture from healthy unrelated Kichwas, Mestizo and Black populations, of both sexes, born and living in Ecuador. Samples from Kichwas and Blacks was obtained directly at their communities. Samples of Mestizos came from paternity test bank of our laboratory. **DNA extraction:** DNA was extracted using the Wizard Genomic DNA Purification Kit System[®] [Promega, 1998] and quantity was estimated by UV absorbance (Gene Quant Calculator[®], Pharmacia, Uppsala, Sweden). **PCR:** Amplification was performed in a Techne Thermal Cycler, model Genius[®] following the manufacturer's recommendations.

Typing: The 11 Y-chromosome STRs in the Power Plex Y kit were typed with an ABI Prism 310 automated sequencer. Fragment size and allele designation of different loci was determined by comparison with allelic ladders distributed with the kit. The recommendations of the DNA Commission of the International Society of Forensic Haemogenetics for analysis of STRs systems were followed (Bär et al, 1997; ISFG, 1992). We also used the experience of our team (Bell B et al, 2000; Martínez-Jarreta B, 1999).

Quality control: Proficiency testing by the GEP-ISFG Working Group (<http://www.gep-isfg.org>). **Data Analyses:** Number of different haplotypes, haplotype diversity, pairwise haplotype differences, and allele size variance in Y-chromosome STRs were computed with Arlequin 2.000 (Schneider et al., 2000). Median-joining networks (Bandelt et al., 1999) were produced with the Network 4.1.0.8 program (available at www.fluxus-engineering.com). STRs were given weights that were inversely proportional to their allele size variances. Admixture proportions in autosomal STRs were computed with the Admix 2.0 program (Dupanloup and Bertorelle, 2001)

3. Results and Discussion

1. Y-chromosome STRs

Within-population diversity

We typed the DYS19, 389I, 389II, 390, 391, 392, 393, 385, 437, 438, and 439 Y-chromosome STRs in 94 Afroecuadorians, 102 Kichwa, and 102 Mestizos, all from Ecuador. Allele frequencies can be found in Supplementary Tables 1 to 2, and haplotype frequencies in Supplementary Table 5. General descriptors of intrapopulation genetic diversity can be found in Table 1. Haplotype diversity is high and quite close to one in all three populations; it should be noticed that this parameter, in haploid systems such as mtDNA and the Y-chromosome, is numerically identical to forensic a priori information parameters such as the power of discrimination or the power of exclusion in paternity cases. Therefore, this 11-locus set has ample power to discriminate unrelated male individuals in all three populations, and

can be used in such situations as sex crimes where it is most appropriate. Mestizos and Afroecuadorians show slightly (and non-significantly) higher diversities as measured by the average number of loci showing different alleles in a random pair of chromosomes, and the average variance of the allele size. This trend to higher diversity is expected of admixed populations

Haplotype sharing within Ecuador

Seven different haplotypes were shared between Kichwas and Mestizos, one between Mestizos and Afroecuadorians, and one between Kichwas, Afroecuadorians, and Mestizos. The latter happens to be the most frequent haplotype in Europeans, and particularly in Spanish. The total number of different haplotypes is 271.

Minimum haplotype sharing with global populations

Minimum haplotypes (i.e., DYS19-389I-389II-390-391-392-393-385) have been defined for forensic practice and such haplotypes from global populations are stored in the YHRD (Y-chromosome haplotype reference database; <http://www.yhrd.org>). Minimum haplotypes in the Ecuadorian populations were searched for in the YHRD (release 16); that release contained minimum haplotypes for 32,196 chromosomes from 271 world populations. Perfect matches were counted; for haplotypes without matches, one-step neighbours were considered (that is, haplotypes being different by one repeat only at one locus). Results are found in Table 2. No haplotype showed matches to more than one continental group. A match or a one-step neighbour could not be found for over half of the Kichwa haplotypes. It is also remarkable that only five matches were found with other Native American populations, but 26 haplotypes had one-step neighbours. These two facts can be explained by two non-mutually exclusive phenomena: the higher interpopulation differentiation among Amerindians (Salzano, 2002), and the under-representation of these populations in the database (six as compared to 201 European populations). This makes more likely that the no-match chromosomes (which, a priori, could have any population origin) would be of Native American origin. Overall, the number of matches with Europe is striking. This method would be more sensitive to European admixture, since Europe (and Spain in particular) is overrepresented in YHRD. However, perfect or near-perfect matches in Europe were found for 14% of Kichwa Y chromosomes, 67% of Mestizos, and 27% of Afroecuadorians.

Admixture estimates

The proportion of Y chromosomes of American, European, and African origin in each population was roughly estimated by trying to predict the haplogroup of each chromosome, since most haplogroups are geographically restricted (Jobling and Tyler-Smith, 2003). This task was performed by using datasets in which both biallelic markers and STRs had been typed (Bortolini et al., 2003; Zegura et al., 2004; Beleza et al., in press; Beleza et al., pers. comm.), and takes advantage of the fact that STR variation in the Y chromosome is deeply partitioned by haplogroup background (Bosch et al., 1999). A chromosome was allocated to a haplogroup when a perfect or near-perfect match was found for a chromosome with known haplogroup, or when a diagnostic allele or subhaplotype was present (such as 14 or larger alleles at DYS392 combined with DYS19*13 for haplogroup Q, or DYS19*15 - DYS390*21 for E3a, or DYS392*13-DYS385*11, 14 for R1b). Since we are interested in the broad origins of each chromosome rather than in a fine phylogeography, and because this method can be prone to error, we assigned each chromosome to one of the following categories: Q (Native American), R1b (European), Other European (includes E3b, G, I, J, R1a), E3a (African). Frequencies of each class in each population can be found in Table 3, and class assignments for each haplotype in Supplementary Table 5.

It is remarkable that the Kichwa contain ~10% of Y-chromosomes of putative European origin. This is not exceptional in South America: 11% in Guaraní and Ingano groups; 14% in the Kaingang; 26% in the Wayuu (Bortolini et al. 2003). The proportion of putative European lineages reaches ~70% in Mestizos (plus an additional 2% of African origin). The meaning of this figure is not readily apparent, since although Y-STR data sets have been published for comparable urban, Mestizo populations, to the best of our knowledge, no quantitative estimates of admixture proportions have been published.

Afroecuadorians are also highly admixed: the origins of their Y-chromosome lineages can be estimated at ~44% African, ~31% European, ~15% Native American. In this case, comparable figures do exist: in different Afro-Brazilian communities, paternal contributions range from 47 to 77% for Africans, 23-48% for Europeans, and 0-4% for Native Americans (Abe-Sandes et al., 2004). Compared to Brazil, the Native American contribution to Afroecuadorians seems larger, probably due to the historically much denser Native American population in the Andes than in the Amazon and Atlantic regions. The relative proportion of R1b vs. other European haplogroups is different between Mestizos and Afroecuadorians ($\chi^2=6.59$, $p=0.01$). The proportion in Mestizos is similar to that in Spaniards; taking into account only the putatively European-derived chromosomes, the frequency of R1b is 65.8%, while it is 59.6% in Spain (Flores et al. 2004). In Afroecuadorians, it is 37.9%.

Native American and African lineages in detail

Median joining networks were produced for the putative “Q” and “E3a” chromosomes. As for the “Q” chromosomes (Figure 1), no discernible structure is found in the network that would suggest the presence of sublineages such as Q-M19 (Bortolini et al., 2003). On the contrary, in the E3a network (Figure 2), two sublineages seem apparent. By comparison to Beleza et al. (pers. comm.), the bottom half seems to apply to E3a7 chromosomes, while the top may belong to the E3a* paragroup. The frequencies of these two haplogroups in the Afroecuadorians are estimated at 20.2% and 24.5%, respectively.

2. Autosomal STRs

Intrapopulation diversity

Fifteen STRs contained in the PowerPlex 16 kit were typed in 115 Kichwa, 317 Mestizo, and 104 Afroecuadorian individuals. Allele frequencies were reported in González-Andrade et al. (2003) (Mestizos) and González-Andrade et al. (2004, 2005) (Kichwa and Afroecuadorians). Mean number of alleles and genetic diversity can be found in Table 4. Besides the Ecuadorian populations, data from two possible source populations were included: allele frequencies from a metropolitan population from Barcelona (including individuals born all over Spain; Paredes et al., 2003), and from Equatorial Guinea (Alves et al., 2005), a former Spanish colony and slave trade post in Africa. The Kichwa showed the lowest diversity, in accordance with the low variability described for many Amerindian groups. Diversity in Mestizos and Afroecuadorians is greater, also according to the expectations for admixed populations. However, of all pairwise comparisons, only number of alleles and haplotype diversity are lower in the Kichwa than in Mestizos (Wilcoxon test, $p=0.002$ and $p=0.001$, respectively)

Genetic distances

F_{ST} genetic distances were computed among the Ecuadorian and external populations. F_{ST} distances were used rather than any STR-specific distance measure given that seven out of the 15 loci showed imperfect repeats that cannot be accommodated by the simple stepwise mutation model on which distances such as R_{ST} are based (Slatkin 1995). Genetic distances in general are short, probably due to frequent stepwise mutations that tend to homogenise allele frequency distributions. This is a general trend for STRs, and more so for forensic STRs, in which interpopulation homogeneity is a desirable property. Mestizos show a short distance to the Kichwa, but their distance to Spanish is clearly shorter than that between Kichwa and Spanish. This is also the case for their respective distance to Guineans. This is consistent with a triple genetic origin for the Mestizos: Amerindian, European and African, as demonstrated by Y-chromosome STRs. Afroecuadorians are closest to Guineans, but are closer to Kichwa and Spanish than Guineans are. With different admixture proportions, the triple source model proposed for Mestizos also applies to Afroecuadorians.

Genetic admixture

Genetic admixture was quantified as suggested by Dupanloup and Bertorelle (2001). These authors derived a linear model that can accommodate any number of parental populations, as well as mutation rate, molecular distance among alleles and time elapsed since admixture. Admixture proportions and their standard deviations were estimated from 100,000 bootstrap iterations. By using Kichwa,

Spanish, and Guineans as source populations, admixture proportions in Mestizos were 0.730 ± 0.243 Amerindian, 0.193 ± 0.280 European, and 0.078 ± 0.077 African. Large standard deviations are a reflection of small genetic distances among the source populations. These results contrast sharply with those obtained for the Y-chromosome STRs, but can be reconciled by postulating a large sex asymmetry in matings, with most mixed matings involving European men and Amerindian women. However, such extreme differences cannot arise if the Mestizos were created in a single generation by the mating of Amerindian women and European men. That is, a mixture of genes contributed by ~70% European men, 30% Amerindian men and only Amerindian women would result in the proportions seen for the Y-chromosome, but, in autosomes admixture proportions would be 35% European and 65% Amerindian. Later asymmetry in matings between Mestizos and Amerindians, again contributing mostly men and women, respectively, needs to be invoked to explain the results.

Other urban Mestizo populations have been studied for other autosomal markers: a survey of the literature is presented in Table 6. It can be seen that Ecuadoran Mestizos present one of the largest Amerindian contributions in the populations studied, although, given the various types of markers and levels of resolution used in the different publications, such a comparison should be made with caution. Admixture proportions for Afroecuadorians were 0.564 ± 0.107 African, 0.279 ± 0.328 Amerindian, and 0.158 ± 0.367 European. As seen also for the Y chromosome, the Amerindian contribution to Afroecuadorians is remarkable. Asymmetry is lower than in Mestizos, but again European men seem to have contributed disproportionately to admixed matings.

Conclusions

We have confirmed and quantified that Mestizos and Afroecuadorians are tri-hybrid populations, with various proportions of Amerindian, European, and African contributions. As seen from the Y chromosome, the male European contribution (clearly Spanish in the case of Mestizos) was much larger than when admixture estimates were computed from autosomal STRs. Other types of markers would allow a refinement of the present results. For instance, Y-chromosome biallelic markers would allow confirming the geographical attribution of Y chromosomes, and, in particular, would probably shed some light on the origin of European Y chromosomes in the Afroecuadorians. Autosomal Ancestry Informative Markers (AIMs, Shriver et al., 2003) would yield much more precise autosomal admixture estimates. And, last but not least, mtDNA sequences and haplogroups would provide the female side of history. However, our study provides a reasonably detailed sketch of the composition of the main ethnic groups of Ecuador and contributes to the understanding of their diverse heritage.

References:

- Abe-Sandes K, Silva WA Jr, Zago MA. (2004) Heterogeneity of the Y chromosome in Afro-Brazilian populations. *Hum Biol.* 76:77-86
- Alves C, Gusmao L, Lopez-Parra AM, Soledad Mesa M, Amorim A, Arroyo-Pardo E. (2005) STR allelic frequencies for an African population sample (Equatorial Guinea) using AmpFISTR Identifier and Powerplex 16 kits. *Forensic Sci Int.* 148:239-42.
- Bandelt HJ, Forster P, Rohl A. (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol.* 16:37-48.
- Bär W, Brinkmann B, Budowle B, et al (1997). DNA recommendations. Further report of the DNA Commission of the ISFH regarding the use of short tandem repeat systems. *Forensic Sci Int.* 1997 Jun 23; 87 (3): 181-4.
- Beleza S, Gusmao L, Lopes A, Alves C, Gomes I, Giozueli M, Calafell F, Carracedo A, Amorim A Microphylogeography and demographic history of Portuguese male lineages. *Ann Hum Genet* (in press)
- Bell B, Nieves P, Abecia E, Martínez-Jarreta B, Hinojal Fonseca R, Martínez Cordero (2000) Population genetics of the STR loci HUMCSF1PO, HUMF13A01, HUMFES/FPS and 12S391 in Asturias (Northern Spain) *Forensic Science Int*; 113:21-23.

- Bertoni B, Budowle B, Sans M, Barton SA, Chakraborty R. (2003) Admixture in Hispanics: distribution of ancestral population contributions in the Continental United States. *Hum Biol.* 75:1-11.
- Bonilla C, Shriver MD, Parra EJ, Jones A, Fernandez JR. (2004a) Ancestral proportions and their association with skin pigmentation and bone mineral density in Puerto Rican women from New York city. *Hum Genet.* 115:57-68
- Bonilla C, Parra EJ, Pfaff CL, Dios S, Marshall JA, Hamman RF, Ferrell RE, Hoggart CL, McKeigue PM, Shriver MD. (2004b) Admixture in the Hispanics of the San Luis Valley, Colorado, and its implications for complex trait gene mapping. *Ann Hum Genet.* 68:139-53.
- Bortolini MC, Salzano FM, Thomas MG, Stuart S, Nasanen SP, Bau CH, Hutz MH, Layrisse Z, Petzl-Erler ML, Tsuneto LT, Hill K, Hurtado AM, Castro-de-Guerra D, Torres MM, Groot H, Michalski R, Nymadawa P, Bedoya G, Bradman N, Labuda D, Ruiz-Linares A. (2003) Y-chromosome evidence for differing ancient demographic histories in the Americas. *Am J Hum Genet.* 73:524-39
- Bosch E, Calafell F, Santos FR, Perez-Lezaun A, Comas D, Benchemsi N, Tyler-Smith C, Bertranpetit J. (1999) Variation in short tandem repeats is deeply structured by genetic background on the human Y chromosome. *Am J Hum Genet.* 65:1623-38.
- Cifuentes L, Morales R, Sepulveda D, Jorquera H, Acuna M. (2004) DYS19 and DYS199 loci in a Chilean population of mixed ancestry. *Am J Phys Anthropol.* 125:85-9.
- De Souza IR, Muniz YC, de M Saldanha G, Alves Junior L, da Rosa FC, Maegawa FA, Susin MF, de S Lipinski M, Petzl-Erler ML. (2003) Demographic and genetic structures of two partially isolated communities of Santa Catarina Island, southern Brazil. *Hum Biol.* 75:241-53.
- Dupanloup I, Bertorelle G. (2001) Inferring admixture proportions from molecular data: extension to any number of parental populations. *Mol Biol Evol.* 18:672-5
- Flores C, Maca-Meyer N, Gonzalez AM, Oefner PJ, Shen P, Perez JA, Rojas A, Larruga JM, Underhill PA. (2004) Reduced genetic structure of the Iberian peninsula revealed by Y-chromosome analysis: implications for population demography. *Eur J Hum Genet.* 12:855-63.
- Gené M, Fuentes M, Huguet E, et al (1998) Quechua Amerindian population characterized by HLA-DQ α , YNZ22, 3APO B, HUMTH01, and HUMVWAA31A polymorphism, *J Forensic Sci*, 43 (2): 403-5.
- Gené M, Moreno P, Borrego N, et al (2000) Population study of Aymara Amerindians for the PCR-DNA polymorphisms HUMTH01, HUMVWAA31A, D3S1358, D8S1179, D18S51, D19S253, YNZ22 and HLA-DQ α , *Int J Legal Med*, 113: 126-28
- González-Andrade F, Sánchez D, Martínez-Jarreta B (2003) Genetic profile of the Ecuadorian Mestizo population by using the Power-Plex 16 system kit. *Int J Forensic Sci Int.* 2003 Jul 29; 135 (1): 64-6.
- González-Andrade F, Sánchez D (2004) Genetic Profile of the Kichwas (Quichuas) from Ecuador, South America, by analysis of STR loci. *Hum Biol*, Oct; 76 (5): 723-30.
- González-Andrade F, Sánchez D., Martínez-Jarreta B (2005). DNA polymorphisms distribution on ethnic groups of Ecuador (South America). In: *Trends on DNA fingerprinting research*, Ed. Novapublishers (in press).
- International Society for Forensic Haemogenetics (1992). Recommendations of the DNA Commission of the International Society for Forensic Haemogenetics relating to the use of PCR-based polymorphisms. *Forensic Sci Int.* 1992 Jul; 55 (1): 1-3.
- Jobling MA, Tyler-Smith C. (2003) The human Y chromosome: an evolutionary marker comes of age. *Nat Rev Genet.* 4:598-612.
- Loyo MA, de Guerra DC, Izaguirre MH, Rodriguez-Larralde A. (2004) Admixture estimates for Churuguara, a Venezuelan town in the State of Falcon. *Ann Hum Biol.* 31:669-80.
- Martinez Marignac VL, Bertoni B, Parra EJ, Bianchi NO. (2004) Characterization of admixture in an urban sample from Buenos Aires, Argentina, using uniparentally and biparentally inherited genetic markers. *Hum Biol.*;76:543-57.
- Moya A (2000) *Ethnos, atlas etnográfico del Ecuador*. Ministerio de Educación y Cultura, Quito, Ecuador.
- Paredes M, Crespillo M, Luque JA, Valverde JL. (2003) STR frequencies for the PowerPlex 16 System Kit in a population from Northeast Spain. *Forensic Sci Int.* 135:75-8.

- Salzano FM. 2002. Molecular variability in Amerindians: widespread but uneven information. *Ann Braz Acad Sci* 74:223–263.
- Schneider, S., Roessli, D., and Excoffier, L. (2000) Arlequin: A software for population genetics data analysis. Ver 2.000. Genetics and Biometry Lab, Dept. of Anthropology, University of Geneva.
- Shriver MD, Parra EJ, Dios S, Bonilla C, Norton H, Jovel C, Pfaff C, Jones C, Massac A, Cameron N, Baron A, Jackson T, Argyropoulos G, Jin L, Hoggart CJ, McKeigue PM, Kittles RA. (2003) Skin pigmentation, biogeographical ancestry and admixture mapping. *Hum Genet.* 112:387-99
- Slatkin M. (1995) A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics.* 139:457-62
- Vásquez L, Salto N (2003) Ecuador: su realidad. Fundación José Peralta.
- Zegura SL, Karafet TM, Zhivotovsky LA, Hammer MF. (2004) High-resolution SNPs and microsatellite haplotypes point to a single, recent entry of Native American Y chromosomes into the Americas. *Mol Biol Evol.* 21:164-75

Table 1

	N	k	Hd	□	V
Kichwa	102	91	0.9977±0.0015	7.12±3.37	1.14±1.14
Mestizos	102	99	0.9994±0.0015	7.64±3.59	1.21±1.06
Afroecuadorians	94	89	0.9989±0.0018	7.79±3.66	1.41±1.20

N, sample size; k, number of different haplotypes; Hd, haplotype diversity; □, average pairwise differences between haplotypes; V, average repeat size variance.

Table 2.

	Kichwa	Mestizos	Afroecuadorians
American Matches	5 (4.9%)	1 (1.0%)	0
1-s n. Americas	26 (25.5%)	10 (9.8%)	2 (2.1%)
European Matches	12 (11.8%)	57 (55.9%)	18 (19.1%)
1-s n. Europe	2 (2.0%)	11 (10.8%)	7 (7.4%)
African Matches	1 (1.0%)	1 (1.0%)	29 (30.9%)
1-s n. Africa	0	1 (1.0%)	7 (7.4%)
Central Asian Matches	1 (1.0%)	0	0
1-s n. Central Asia	1 (1.0%)	0	0
Pacific Matches	2 (2.0%)	0	0
East Asian Matches	0	1 (1.0%)	0
1-s n. East Asia	0	1 (1.0%)	0
1-s n. South Asia	0	0	1 (1.1%)
No matches	52 (51.0%)	19 (18.6%)	30 (31.9%)

Minimum-haplotype Y-STR matches for Ecuadorian populations in the YHRD database (release 16). “1-s n.” stands for “one-step neighbours”, that is, haplotypes without any perfect match but with chromosomes in the database being different only by one repeat at one locus. “Americans” include Native American and Hispanic populations; “Africa” includes Africans and populations of African descent living in the Americas or Europe.

Table 3

	Kichwa	Mestizos	Afroecuadorians
Q	78 (76.5%)*	23 (22.5%)	14 (14.9%)
R1b	7 (6.9%)	48 (47.1%)	11 (11.7%)
Other European	4 (3.9%)	25 (24.5%)	18 (19.1%)
E3a	0	2 (2.0%)	41 (43.6%)
Unknown	13 (12.7%)	4 (3.9%)	10 (10.6%)

Inferred haplogroup frequencies in Ecuador populations, by comparison of STR haplotypes with data sets in which both STRs and haplogroup-defining biallelic polymorphisms had been typed. (*) includes two chromosomes that carry haplotypes found in C3b chromosomes, also of Native American origin.

Table 4.

Population	2N	k	H
Kichwa ⁽¹⁾	230	8.87±3.08	0.751±0.088
Mestizos ⁽²⁾	634	10.47±4.28	0.781±0.080
Afroecuadorians ⁽²⁾	208	10.13±3.44	0.808±0.064
Spanish ⁽³⁾	408	9.87±3.72	0.794±0.067
Guineans ⁽⁴⁾	268	10.40±3.62	0.802±0.059

Average intrapopulation diversity parameters for 15 autosomal STR loci. 2N, sample size in number of chromosomes; k, average number of alleles; H, mean expected heterozygosity. Computed from data in 1: González-Andrade et al., (2003); 2: González-Andrade et al. (2004, 2005); 3: Paredes et al. (2003). 4: Alves et al. (2005).

Table 5

	Kichwa	Mestizos	Afroecuadorians	Spanish	Guineans
Kichwa	0				
Mestizos	0.0075	0			
Afroecuadorians	0.0278	0.0137	0		
Spanish	0.0437	0.0204	0.0163	0	
Guineans	0.0651	0.0417	0.0096	0.0274	0

F_{ST} genetic distances based on 15 autosomal STR loci.

Table 6

Population	Type	Reference			
			Native	European	African
Mestizos, Ecuador	General urban	Our data	73	19.3	7.8
Afroecuadorians	African American	Our data	27.9	15.8	56.4
La Plata (Argentina)	General urban	Martínez-Marignac et al., 2004	25.9	67.6	6.5
Churuguara (Venezuela)	General urban	Loyo et al., 2004	19.9	52.5	27.6
Santiago (Chile)	Low status	Cifuentes et al., 2004	34.7	65.3	NA
Santiago (Chile)	High status	Cifuentes et al., 2004	20.9	79.1	NA
Puerto Rico	Living in New York City	Bonilla et al., 2004a	17.6	53.3	29.1
San Luis Valley (USA)	Hispanics	Bonilla et al., 2004b	34.1	62.7	3.2
Costa da Lagoa, Santa Catarina Island (Brazil)	General urban	De Souza et al., 2003	7.7	75	17.3
Sao Joao do Rio Vermelho, Catarina Island (Brazil)	General urban	De Souza et al., 2003	18.7	53.3	28
California (USA)	Hispanics	Bertoni et al., 2003	43	46.3	10.7
California (USA)	Hispanics	Bertoni et al., 2003	38.2	48.4	13.4
Nevada (USA)	Hispanics	Bertoni et al., 2003	57.9	34	8.1
SW USA	Hispanics	Bertoni et al., 2003	35.6	64.4	0
Florida (USA)	Hispanics	Bertoni et al., 2003	19.9	72	8.1

New Jersey (USA)	Hispanics	Bertoni et al., 2003	9.1	84.5	6.4
Pennsylvania (USA)	Hispanics	Bertoni et al., 2003	0.2	82.9	16.9
SE USA	Hispanics	Bertoni et al., 2003	0	93.3	6.7
Virginia (USA)	Hispanics	Bertoni et al., 2003	21.3	63.8	14.9

Admixture proportions for various urban admixed American populations based on autosomal loci. NA: Not available

Figure 1: Median joining network of putative Q chromosomes. Open circles: Kichwa chromosomes; cross hatching, Mestizos; filled circles, Afroecuadorians.

Figure 2: Median joining network of putative E3a chromosomes. Symbols as in Figure 1.

