

Miriam Baeta Bafalluy

Estudio de la variabilidad del
genoma mitocondrial y de
marcadores sexuales en grupos
étnicos de Ecuador

Departamento

Anatomía Patológica, Medicina Legal y Forense
y Toxicología

Director/es

Martínez- Jarreta, Begoña
Martínez de Pancorbo Gómez, María de los
Ángeles

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>

Tesis Doctoral

ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DEL GENOMA
MITOCONDRIAL Y DE MARCADORES SEXUALES EN
GRUPOS ÉTNICOS DE ECUADOR

Autor

Miriam Baeta Bafalluy

Director/es

Martínez- Jarreta, Begoña
Martínez de Pancorbo Gómez, María de los Ángeles

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Anatomía Patológica, Medicina Legal y Forense y Toxicología

2012

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Anatomía Patológica,
Medicina Legal y Forense y Toxicología



ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DEL GENOMA MITOCONDRIAL Y DE MARCADORES SEXUALES EN GRUPOS ÉTNICOS DE ECUADOR

Memoria para optar al Grado de Doctor Europeo presentada por

Miriam Baeta Bafalluy

Directoras:

Catedrática Dra. Begoña Martínez Jarreta

Catedrática Dra. M^a de los Ángeles Martínez de Pancorbo Gómez

Zaragoza, 2011



ÁREA DE MEDICINA LEGAL Y FORENSE
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA
C/Domingo Miral , s/n

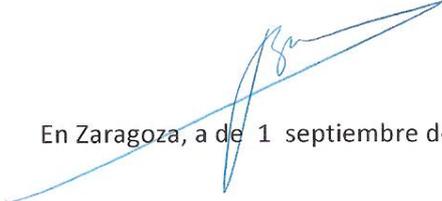
50.009-ZARAGOZA (SPAIN)

Prof. Dra. Begoña Martínez Jarreta
Catedrática de Medicina Legal y Forense

**DOÑA BEGOÑA MARTÍNEZ JARRETA, CATEDRÁTICA DE MEDICINA LEGAL Y FORENSE DE LA
UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA**

HACE CONSTAR:

Que el trabajo realizado por D^a MIRIAM BAETA BAFALLUY titulado: "ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DEL GENOMA MITOCONDRIAL Y DE MARCADORES SEXUALES EN GRUPOS ÉTNICOS DE ECUADOR" ha sido llevado a cabo bajo su tutela y dirección, y considera que reúne las condiciones para su defensa pública y la obtención del grado de Doctor.


En Zaragoza, a de 1 septiembre de 2011



Universidad Euskal Herriko
del País Vasco Unibertsitatea

DPTO. DE ZOOLOGÍA Y BIOLOGÍA CELULAR ANIMAL
FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO UPV / EHU
Paseo de la Universidad 7
01006 – Vitoria-Gasteiz

Prof. Dra. Marian Martínez de Pancorbo
Catedrática de Biología Celular

**DOÑA MARIAN MARTÍNEZ DE PANCORBO, CATEDRÁTICA DE BIOLOGÍA
CELULAR DE LA UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO**

HACE CONSTAR:

Que el trabajo realizado por D^a MIRIAM BAETA BAFALLUY titulado: “ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DEL GENOMA MITOCONDRIAL Y DE MARCADORES SEXUALES EN GRUPOS ÉTNICOS DE ECUADOR” ha sido llevado a cabo bajo su tutela y dirección, y considera que reúne las condiciones para su defensa pública y la obtención del grado de Doctor.

En Vitoria-Gasteiz, a 1 de septiembre de 2011



Institut für Rechtsmedizin und Forensische Wissenschaften

Forensische Genetik, Westring 3, Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin

Institut für Rechtsmedizin
Direktor: Prof. Dr. med. Michael Tsokos
- Haus L -
Turmstr. 21
10559 Berlin

Abteilung Forensische Genetik
Forum 4, Westring 3, Etage EO
Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin

Tel.: (030) 450 525012
Fax: (030) 450 525912

Berlin, July 5, 2011

My name Marion Nagy. I am the head of the Dept. of Forensic Genetics of the Institute of Legal Medicine at the Charité – Universitätsmedizin in Berlin, Germany. The department is specialized in DNA identification for forensic investigations and has a strong research focus on population genetics.

From April 1st to July 1st of 2011 Miriam Baeta Bafalluy has completed a 3 months term as a part of her PhD program in our department and under my supervision.

Her studies were focused on the application of phylogenetic SNPs located on the human Y chromosome aimed to reconstruct the history of South American populations. She learned modern laboratory techniques as e.g. SNaPshot minisequencing or automated DNA extraction. She became familiar with computer-aided interpretation of population data using programmes as NETWORK and AMOVA.

Sincerely


Dr. Marion Nagy
Head of Department

RESUMEN

En esta tesis se presentan los resultados obtenidos del estudio de la variabilidad genética de tres grupos étnicos de Ecuador (waorani, kichwa y mestizo) mediante marcadores de contrastado valor antropológico y forense. Más concretamente se estudió el ADN mitocondrial y 10 STRs del cromosoma X de los tres grupos ecuatorianos. En el caso de la población kichwa y mestiza se complementó el análisis con el estudio de los linajes paternos mediante la caracterización de 17 STRs y SNPs del cromosoma Y.

Las diferencias observadas en el acervo genético de los tres grupos étnicos estudiados pueden correlacionarse con los diferentes sucesos históricos y demográficos acontecidos en estas poblaciones.

La población amerindia waorani ha mostrado una diversidad genética muy baja para los marcadores analizados, especialmente en su ADNmt, dónde tan solo se han podido hallar dos haplotipos distintos entre los individuos analizados. De hecho, los resultados obtenidos muestran que los Waorani presentan una de las variabilidades más bajas descritas hasta la fecha para poblaciones americanas en estudios de ADNmt. Esta baja diversidad genética observada probablemente es el resultado de sucesivos episodios de deriva genética favorecidos, por un lado, por el largo aislamiento geográfico de la población (con escasos intercambios interétnicos y elevada endogamia), y por otro lado, por el reducido tamaño poblacional consecuencia de la elevada tasa de mortalidad reportada entre los Waorani (con una de las tasas de homicidio más elevadas de la historia). Asimismo en este grupo amerindio se han identificado únicamente dos haplogrupos (A2: 91% y D1: 9%), de origen nativo americano, lo que también puede ser indicativo de un importante efecto fundador en los linajes mitocondriales

La otra población amerindia analizada, la kichwa, ha presentado valores de diversidad genética superiores a los Waorani, pero acordes con lo observado en otras poblaciones amerindias. El estudio del ADNmt y cromosoma Y ha revelado la presencia de linajes maternos (haplogrupos A: 49%, B: 3%, C: 8% y D: 40%) y paternos (haplogrupos Q: 63%, C3*: 37%) de origen exclusivamente nativo americano. En este sentido, despierta gran interés el hallazgo del linaje del cromosoma Y C3* (M217), pues en poblaciones americanas se ha descrito únicamente la presencia del linaje derivado C3b (P39) (en Norteamérica) con la excepción de algunos individuos waorani, kichwa y wayúu (de Colombia) que presentan también C3*. La presencia de este linaje, más antiguo que C3b, en poblaciones sudamericanas abre nuevos interrogantes, pues sería de esperar que en el sur del continente se hallaran los mismos linajes que en el norte, o en todo caso linajes derivados. Por otro lado, la comparación con otras poblaciones ha permitido determinar una mayor cercanía genética de los Kichwas con grupos del norte de Sudamérica y de Mesoamérica. No obstante, las comparaciones con otros grupos Quechua parlantes, y por lo tanto lingüísticamente afines a los Kichwa de Ecuador, no evidencian la existencia de un importante sustrato genético común entre ellos. Esto parece indicar que la expansión del Quechua tuvo un mayor impacto cultural que genético en este grupo ecuatoriano.

En lo referente a la población mestiza, el estudio genético del cromosoma Y ha confirmado la naturaleza trihíbrida de dicho grupo, con un 50% de linajes de origen euroasiático, 36% amerindio y 11% africano. El hallazgo de linajes mitocondriales de origen exclusivamente nativo americano (A: 33%, B: 33%, C: 10% y D: 24%), junto con la importante presencia de haplotipos del cromosoma Y de origen europeo permiten poner en evidencia la asimetría sexual que se produjo en este grupo durante el periodo colonial, con un predominio de enlaces entre mujeres amerindias y varones europeos.

Finalmente el estudio comparativo entre los grupos ecuatorianos ha permitido constatar la gran heterogeneidad existente dentro de la población ecuatoriana que se comprueba tanto para los marcadores uniparentales como para el cromosoma X. Desde una perspectiva antropológica, esto señala el importante papel que puede haber tenido la deriva genética en la composición del acervo genético actual de estas poblaciones, así como posibles efectos fundadores. Por otro lado, desde el punto de vista forense, las diferencias observadas entre grupos ratifica la necesidad de establecer bases de datos verdaderamente representativas de la realidad poblacional del país y que reflejen la variabilidad genética de las distintas etnias. En este sentido, también se ha comprobado la eficiencia forense de los marcadores utilizados en la población mestiza y kichwa, siendo sin embargo esa eficiencia menor en la población waorani, al tratarse de un grupo con una elevada endogamia y una diversidad genética muy reducida.

En síntesis, este trabajo constituye una importante contribución a la caracterización genética de una población tan diversa y multiétnica como la ecuatoriana, logrando un mejor conocimiento de su pasado a través del estudio del patrimonio genético actual de los distintos grupos étnicos analizados. Por otro lado se ha generado una base de datos poblacional que hasta la fecha estaba incompleta y que resulta imprescindible para la resolución de casos forenses en los que individuos de origen ecuatoriano puedan estar involucrados.

SUMMARY

This thesis presents the results from the study of the genetic variation in three ethnic groups from Ecuador (Waorani, Kichwa and Mestizo) through valuable markers for anthropological and forensic purposes. The analysis of mtDNA and 10 X-STRs was performed in the three Ecuadorian groups, and additional Y chromosome studies were conducted in the Kichwa and Mestizo populations, with the determination of 17 Y-STRs and Y-SNPs in the male individuals.

Different patterns on genetic variation were observed among ethnic groups, which may be explained by the singular historical and demographic events occurred in each population.

The Waorani population presented an exceptionally low genetic diversity for the analyzed markers, especially for mtDNA since only two different haplotypes have been described among the individuals examined. In fact, the results showed that this Amerindian group presented one of the lowest mitochondrial variability described until now in American populations. This remarkably low diversity could be the result of recurrent genetic drift events that were probably reinforced by the long isolation (with scarce gene flow with other ethnic groups and high endogamy), as well as by the small size of this population, consequence of the continuous interethnic and internal quarrels (they had one of the highest rate of homicide of any society known). Furthermore the identification of just two of the main Native American haplogroups (A2: 91% and D1: 9%), could be indicative of strong founder events in maternal lineages.

The Kichwa population showed higher diversity values than the Waorani, but concordant with other Amerindian populations. MtDNA and Y chromosomal studies revealed that the maternal (Hg A: 49% B: 3%, C: 8%, and D: 40%) and paternal lineages (Hg Q: 63%, and C3*: 37%), were exclusively Native American. In this context, it is remarkable the identification of the C3* (M217) lineage, since C3b (P39) is the only C lineage described in American populations (more specifically in North America), with the exception of other Ecuadorian and Wayuu (Colombian) individuals where haplogroup C3* has also been found. The presence of the C3* lineage, more ancient than C3b, in South America can lead to new questions concerning the settlement in the south of the continent, since it would be expected to find the same or derived lineages than in the north. On the other hand, the comparison with other American groups has showed genetic similarity among Kichwa and northern South American and Mesoamerican groups. However non-close genetic relationships could be established among Kichwa and other Quechua-speaking groups, even though a common gene pool was expected to be found as result of linguistic affinities. Thus, this could suggest that the effect of the Quechua expansion is more evident in a cultural rather than in a genetic level in this population.

The genetic studies in the Mestizo population revealed the trihybrid nature of this group through the Y chromosome lineages, with variable proportions of Eurasian (50%), American (39%), and African (11%) lineages. Furthermore, the high proportion of European paternal lineages in addition to the finding of only Native American maternal lineages (A: 33%, B: 33%, C: 10%, and D: 24%), evidenced the asymmetric pattern of mating during the colonial period involving mostly immigrant men (especially Spanish) and native women.

Finally, the comparative study among the three ethnic groups revealed the existence of genetic heterogeneity within the Ecuadorian population, when concerning uniparental and X chromosome markers. From an anthropological point of view, this could be indicative of the genetic drift impact on the gene population pool, as well as possible founder effects. Forensically, the genetic differentiation observed in the population reinforced the necessity of creating databases that collect the genetic diversity of different ethnic groups, giving a more complete picture of the current genetic composition of Ecuador. Additionally, parameters of forensic interest showed that the different markers studied are highly efficient in Kichwa and Mestizo populations, but this efficiency becomes lower in the Waorani group because of its high endogamy and reduced genetic diversity.

In summary, this work constitutes an important contribution to the genetic characterization of the multiethnic and diverse population of Ecuador, providing a better knowledge of its history through the genetic analysis of different ethnic groups. Furthermore, the data obtained have allowed the creation of a population genetic database, which becomes crucial for the resolution of forensic cases where Ecuadorian individuals are involved.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría expresar mi agradecimiento a todas las personas que han colaborado en la realización de esta tesis, sin ellas no hubiera sido posible completar este trabajo.

En primer lugar quiero darle las gracias a **Begoña**, directora de esta tesis, por la confianza depositada en mí y por haberme dado la oportunidad de formarme en el mundo de la Genética Forense y abrirme tantas puertas, pero sobretodo por todo el afecto y apoyo mostrado durante estos años en Zaragoza. A **Marian**, codirectora de la tesis, por su generosidad y disponibilidad, así como por sus enseñanzas y comentarios que fueron de inestimable ayuda en la realización de este trabajo.

A mis compañeros de laboratorio porque siempre he podido contar con ellos. A **Carol** per la seva amistat, per totes les experiències, viatges i caigudes que hem viscut i per haver estat fonamental en aquest llarg camí. A **Ceci** por su ayuda y miles de consejos, pero especialmente por su cariño y amistad en los momentos en que más los necesitaba y por esas terapias improvisadas en el lab. A **Yolanda** por el afecto, constante apoyo y momentos vividos durante estos años. A **Miguel** por las anécdotas y risas compartidas, por estar siempre ahí. También a **Asun** por su buena disposición siempre que he requerido su ayuda. A todos ellos por haber cuidado de mí.

To **Lutz** for his comments and support, answering my non-stop questions; and especially for his kindness and care during all the shared experiences. Also to the rest of people who made my stay in Berlin a precious experience, and especially to **Maria**, for her friendship and for “adopting” me during those months, letting me be a part of her growing family.

A **Sergio** por su valiosa ayuda, por guiarme en el mundo del mitocondrial y sobre todo por aguantar mis kilométricos mails llenos de preguntas. A **Jose** por su desinteresada colaboración en el laboratorio y al resto de compañeros de Vitoria que tuve la suerte de conocer.

To **Bruce** for the unforgettable experience in Texas, for sharing with me invaluable lessons about science, work, and others subjects (like the Jelly Belly world). Also to the rest of the team of the University of North Texas for the good times we had. And to **Karen**, an amazing person, who took care of me as only a mom would do.

A **Fátima** y a los miembros de su laboratorio en Oporto, por guiarme en los primeros pasos de este viaje.

A todas las personas que hicieron posible la expedición a Ecuador y la posibilidad de conocer una cultura tan increíble como la Waorani. Fue una experiencia inolvidable que siempre me acompañará.

Al Programa Europa de la CAI que financió mi estancia en Alemania.

A todos aquellos que con sus consejos, respuestas y comentarios han colaborado en la realización de este trabajo.

A toda la gente que he conocido en Zaragoza a lo largo de estos años: gracias a vosotros me llevo muy buenos recuerdos conmigo.

Als meus amics, perquè tot i la distància sempre heu estat al meu costat, escoltant-me, animant-me i sobretot compartint mil moments inoblidables. Ja sabeu que sou i sereu sempre molt importants per mi.

Finalment a la meva família que sempre m'ha recolzat. En especial als meus pares, per haver estat els primers en confiar en mi i haver-me animat al llarg d'aquesta aventura; per cuidar-me, i ajudar-me sempre. Sóc molt afortunada de tenir-vos.

Muchas gracias a todos! Moltes gràcies! El viaje ha llegado a su fin!

A la meva família

ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	1
I. INTRODUCCIÓN.....	3
1. ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA HUMANA	5
2. EL ADN MITOCONDRIAL.....	5
2.1. Organización genómica.....	5
2.2. Propiedades del ADN mitocondrial.....	6
2.3. ADNmt y Genética de Poblaciones.....	10
Filogeografía del ADN mitocondrial.....	11
Origen del acervo genético de las poblaciones de América	12
Diversidad del ADNmt en América del Sur	14
2.4. ADNmt y Genética Forense	14
3. CROMOSOMAS SEXUALES.....	16
3.1. CROMOSOMA Y.....	16
3.1.1. Características	17
3.1.2. Polimorfismos del cromosoma Y.....	19
STRs del cromosoma Y	19
SNPs del cromosoma Y.....	20
Uso conjunto de Y-STRs e Y-SNPs	21
3.1.3. Cromosoma Y y Genética de Poblaciones	22
Filogeografía del cromosoma Y.....	22
Origen del acervo genético de las poblaciones de América	24
Asimetría sexual en poblaciones americanas	25
3.1.4. Cromosoma Y y Genética Forense	26
3.2. CROMOSOMA X.....	27
3.2.1. Características del cromosoma X	27
3.2.2. Polimorfismos del cromosoma X.....	28
STRs del cromosoma X.....	29
Ligamiento de loci.....	29
Datos poblacionales.....	30
3.2.3. Cromosoma X y Genética de Poblaciones.....	31
3.2.4. Cromosoma X y Genética Forense	32
4. ECUADOR: POBLACIÓN OBJETO DEL ESTUDIO.....	33
4.1. Dinámica de poblamiento	33

4.2. Composición actual	34
4.3. Población mestiza.....	34
4.4. Poblaciones amerindias.....	35
Población kichwa	35
Población waorani	36
4.5. Interés genético de los grupos ecuatorianos	38
II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	39
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
1. SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS	45
1.1 Población amerindia waorani.....	45
1.2. Población amerindia kichwa	45
1.3. Población mestiza.....	45
2. EXTRACCIÓN DE ADN	46
2.1. Extracción de ADN a partir de hisopos de saliva.....	46
2.2. Extracción de ADN a partir de manchas de sangre en FTA	46
3. CUANTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	47
4. ANÁLISIS DEL ADN MITOCONDRIAL	47
4.1. Análisis de los segmentos HVSI y HVSII	47
4.2. Análisis de la región de control completa del ADNmt	49
5. ANÁLISIS DE LOS MARCADORES DEL CROMOSOMA Y.....	51
5.1 Análisis de 17 STRs del cromosoma Y	51
5.2 Análisis de SNPs del cromosoma Y	52
6. ANÁLISIS DEL CROMOSOMA X	58
7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	59
7.1. ADN mitocondrial.....	59
7.2. Cromosoma Y	63
7.3. Cromosoma X	64
IV. RESULTADOS	67
1. ANÁLISIS DEL ADN MITOCONDRIAL	69
1.1. Análisis de las secuencias del ADNmt	69
Estudio de HVSI y HVSII en la población waorani	69
Estudio de la región control en la población kichwa	71
Estudio de la región control en la población mestiza	74
1.2. Parámetros de diversidad y de interés forense	76

1.2.1. Parámetros de diversidad: diversidad haplotípica y nucleotídica	76
1.2.2. Otros parámetros de diversidad y de interés forense	79
1.2.3. Comparación de los parámetros de diversidad con otras poblaciones	81
1.3. Determinación haplogrupos de ADNmt	83
1.4. Red promedio de las poblaciones ecuatorianas	86
1.5 Análisis interpoblacional	87
Haplotipos compartidos entre poblaciones de estudio y otras poblaciones	87
Test exacto de diferenciación poblacional	90
Análisis de Varianza Molecular (AMOVA)	90
Distancias genéticas entre poblaciones	91
2. CROMOSOMA Y	93
2.1. Parámetros de diversidad.	93
2.2. Determinación de haplogrupos	97
2.3. Red promedio de las poblaciones ecuatorianas	99
2.4. Análisis interpoblacional	100
Haplotipos compartidos	100
Test exacto de diferenciación poblacional	101
Análisis Molecular de Varianza (AMOVA)	101
Distancias genéticas entre poblaciones	101
3. CROMOSOMA X	104
3.1. Parámetros de diversidad	104
3.2. Equilibrio de Hardy- Weinberg	107
3.3. Análisis de desequilibrio de ligamiento	107
3.4. Parámetros de eficiencia forense	109
3.5. Comparación interpoblacional	111
V. DISCUSIÓN	115
1. ADN MITOCONDRIAL	117
1.1. Parámetros de diversidad	117
1.2. Potencial del análisis del D-loop completo	118
1.3. Determinación de haplogrupos	119
1.4. Origen de los linajes maternos	120
1.5. Análisis interpoblacional	121
2. CROMOSOMA Y	122
2.1. Parámetros de diversidad y de interés forense	122

2.2. Determinación de haplogrupos.....	122
2.3. Análisis interpoblacional	124
3. CROMOSOMA X.....	126
3.1. Parámetros de diversidad	126
3.2. Equilibrio de Hardy-Weinberg.....	126
3.3. Ligamiento entre los loci del cromosoma X estudiados.....	126
3.4. Parámetros de eficiencia forense.....	127
3.5. Análisis interpoblacional	128
4. Consideraciones finales.....	129
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	137
VII. ANEXOS	159

ABREVIATURAS

ADN:	Ácido desoxirribonucleico
ADNmt:	Ácido desoxirribonucleico mitocondrial
ADNn:	Ácido desoxirribonucleico nuclear
AMOVA:	Análisis de Varianza Molecular
ARN:	Ácido ribonucleico
ATP:	Adenosín trifosfato
CP:	Comunicación Personal
CRS:	Secuencia de referencia de Cambridge
DHPLC:	<i>Denaturing High Performance Liquid Chromatograph</i>
D-Loop:	<i>Displacement loop</i>
dNTP:	Desoxinucleótido trifosfato
ddNTP:	Didesoxinucleótido trifosfato
EDTA:	Ácido Etilen-Diaminotetraacético
GHEP-ISFG:	Grupo de Habla Española y Portuguesa de la <i>International Society for Forensic Genetics</i>
HWE:	Equilibrio Hardy Weinberg
Hg:	Haplogrupo
HVS:	Región hipervariable del ADN mitocondrial
Kb	Kilobases
Mb:	Megabases
PAR:	<i>Pseudoautosomal Region</i>
Pb:	Pares de bases
PC:	Probabilidad de coincidencia al azar
PCR:	<i>Polimerase Chain Reaction</i>
PD:	Poder de discriminación
Rpm:	Revoluciones por minuto
SAP:	<i>Shrimp Alkaline Phosphatase</i>
SDS:	Dodecil Sulfato de Sodio
Seg:	Segundos
S. :	Siglo
STRs:	Repeticiones cortas en tándem
SNPs:	Polimorfismos de un solo nucleótido
Taq:	<i>Termus aquaticus</i>
TBE:	Tris-borato-EDTA
TE:	Tris-EDTA
V:	Voltios
Vol.:	Volumen
X-SNPs:	SNPs del cromosoma X
X-STRs:	STRs del cromosoma X
YAP:	Polimorfismo Alu del cromosoma Y
YCC:	<i>Y Chromosome Consortium</i>
Y-SNPs:	SNPs del cromosoma Y
Y-STRs:	STRs del cromosoma Y

I. INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1. ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA HUMANA

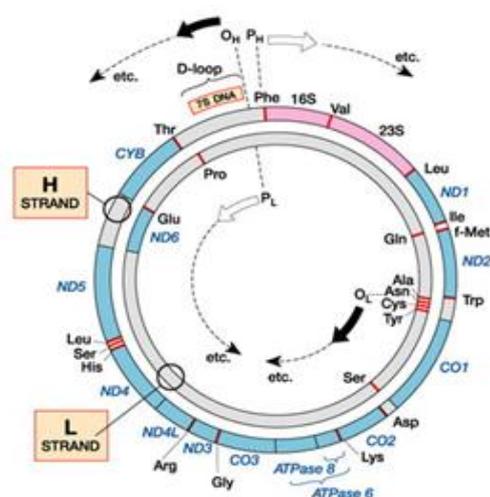
La variabilidad genética humana es la base fundamental sobre la que se asientan disciplinas como la Genética Médica, Genética de Poblaciones o la Genética Forense. No obstante, en comparación con otras especies, la especie humana puede considerarse relativamente homogénea. Así dos personas tomadas al azar se distinguen, en promedio, en tan solo un 0.1% de las bases nucleotídicas que conforman su ADN, o expresado de otra forma, discrepan en unos 6 millones de pares de bases (pb). Se estima que la mayor parte de estas diferencias genéticas se encuentran dentro de las propias poblaciones (85%), mientras que las variaciones entre poblaciones son escasas (15%) (Comas, 2010; Jorde y Wooding, 2004).

Esta baja diversidad genética ha obligado a estudiar aquellas regiones del genoma que aportan mayor información a la hora de detectar cambios entre los individuos. De la batería de marcadores actualmente disponibles para el estudio de las poblaciones humanas, el ADN mitocondrial (ADNmt) y el cromosoma Y se han convertido en dos de los sistemas más estudiados, debido principalmente a sus propiedades uniparentales (herencia exclusivamente materna y paterna, respectivamente) (van Oven y Kayser, 2009; Roewer *et al.*, 2005; Underhill, 2003; Bailliet *et al.*, 1994). Más recientemente también ha ganado importancia otro marcador con herencia diferencial entre ambos sexos, el cromosoma X (Heyer y Segurel, 2010; Lambert *et al.*, 2010). Todos estos marcadores presentan unas características exclusivas que los convierten en herramientas muy valiosas tanto desde un punto antropológico como forense.

2. EL ADN MITOCONDRIAL

2.1. Organización genómica

El ADN mitocondrial (ADNmt) es una molécula circular y cerrada que se localiza en el interior de las mitocondrias celulares, orgánulos responsables del metabolismo energético celular generando ATP a través del proceso de fosforilación oxidativa.



La secuencia completa del genoma mitocondrial humano fue descrita por primera vez por Anderson *et al.* en 1981 (Anderson *et al.*, 1981). Su tamaño es de aproximadamente 16.569 pb, y está formado por dos hebras complementarias: la cadena pesada o H (*Heavy*), rica en bases púricas; y la cadena ligera o L (*Light*), con una mayor proporción de bases pirimidínicas (Figura 1).

Figura 1. Esquema del ADNmt humano. Se representan las dos cadenas con los genes que codifican. OL y OH simbolizan los orígenes de replicación de la cadena ligera y la pesada. PL y PH los orígenes de transcripción. El D-loop corresponde a la región de control.

Este sistema genético presenta unas características únicas de simplicidad y economía. Su organización genética es muy compacta, sin presencia de intrones en los genes. Esta economía organizativa se explicaría por la teoría endosimbionte, por la que la mitocondria habría reducido al mínimo su genoma a lo largo de la evolución (Margulis, 1981). Según esta teoría las mitocondrias son producto de la simbiosis establecida hace unos 1.500 millones de años entre bacterias aerobias y células proto-eucariotas. Como consecuencia de esta relación, la bacteria habría relegado parte de sus funciones a la célula, perdiendo parte de su autonomía. De ahí, que la mayor parte de las proteínas mitocondriales sean codificadas por el ADN nuclear (ADNn), y tan solo una pequeña fracción por el ADNmt.

El genoma mitocondrial se organiza en dos regiones bien definidas, la región codificante y la región no codificante o de control. La región codificante representa el 90% del ADNmt. Contiene pocos genes, un total de 37 (28 codificados por la cadena pesada y 9 por la ligera): 13 que codifican para polipéptidos involucrados en el sistema de fosforilación oxidativa, 2 para ARNs ribosomales (12S y 16S) y 22 para ARNs de transferencia (Pakendorf y Stoneking, 2005).

La región control o no codificante corresponde al 10% del genoma restante. Esta región también se conoce como asa de desplazamiento (D-loop o bucle D) por la estructura visible en el microscopio electrónico que se forma durante la replicación del ADNmt. Este segmento presenta un tamaño de aproximadamente 1120 pb, y se halla situado entre los genes del ARN de transferencia de la prolina y la fenilalanina. Se trata de una zona muy polimórfica, en ella se localizan dos segmentos hipervariables de aproximadamente 400pb: HVSI y HVSII. Ambas regiones han sido utilizadas extensamente en estudios de genética poblacional y forense. Existe una tercera región hipervariable (HVSIII), pero la falta de estudios limita su uso. La región control es la menos conservada entre las distintas especies (Walberg 1981), y más del 96% de los cambios de bases son transiciones (Greenberg *et al.*, 1983).

El análisis del ADNmt se realiza en base a la comparación con una secuencia de referencia. Inicialmente se utilizó la denominada secuencia de referencia de Anderson (CRS o *Cambridge Reference Sequence*) (Anderson *et al.*, 1981). No obstante, posteriormente dicha secuencia fue revisada por Andrews *et al.* (1999). Por lo que actualmente se utiliza esta nueva secuencia conocida como rCRS (*revised Cambridge Reference Sequence*) para realizar las comparaciones.

2.2. Propiedades del ADN mitocondrial

El ADN mitocondrial presenta unas características únicas que lo distinguen del ADN nuclear:

Poliplasmia

Aunque el ADN mitocondrial constituye menos del 1% del ADN celular total, se presenta en un elevado número de copias en cada mitocondria y por extensión en cada célula (poliplasmia). Cada mitocondria contiene entre 2 y 10 copias de esta molécula de ADN, y a su vez cada célula puede contener cientos de mitocondrias, con lo que el número de copias de ADNmt oscilará entre 1.000 y 10.000, dependiendo de cada órgano y tejido.

Herencia materna

A diferencia del ADNn, la transmisión del ADNmt no es mendeliana, sino que se hereda exclusivamente por vía materna (Giles *et al.*, 1980), es decir, de madres a hijos.

Existen diversas teorías que intentan explicar esta peculiar forma de transmisión del ADNmt. La teoría tradicionalmente más aceptada se basa en que durante la fase de fecundación tan solo penetraría en el óvulo la cabeza del espermatozoide, por lo que las mitocondrias paternas (localizadas en el cuello del espermatozoide) quedarían fuera, y en consecuencia el óvulo sólo contendría el ADNmt materno. No obstante, otros autores consideran que el ADNmt paterno sí entraría en el óvulo, pero que éste no perduraría durante todo el desarrollo del cigoto (Ankel-Simons y Cummins, 1996). Esto podría deberse a su eliminación mediante mecanismos de reconocimiento y eliminación selectiva. Más concretamente, las mitocondrias del espermatozoide (y su ADNmt) serían eliminadas a través del proteasoma del embrión, que reconocería la cola de ubiquitina con la que las proteínas mitocondriales son marcadas en la espermatogénesis (Sutovsky *et al.*, 1999; Thompson *et al.*, 2003). Otra posible explicación de la ausencia de ADNmt paterno podría ser su extrema dilución en relación con el materno, ya que mientras en el oocito existen alrededor de 100.000 copias de ADNmt, tan solo hay unas 100-150 copias en el espermatozoide. Esta gran diferencia numérica haría que la probabilidad de transmisión de ADNmt paterno a la siguiente generación fuera mínima (Chen *et al.*, 1995a).

Durante mucho tiempo, el modelo de herencia exclusivamente materna del ADNmt ha sido ampliamente aceptado por la comunidad científica (Stoneking y Soodyall, 1996), pero hace unos años se publicó un estudio en el que se presentaba el primer caso de ADNmt de origen paterno en células humanas (Schwartz y Vissing, 2002). En este estudio se observó ADNmt paterno en el músculo esquelético de un paciente con una severa miopatía, aunque en el resto de tejidos presentaba el ADNmt materno correspondiente (Schwartz y Vissing, 2002; Schwartz y Vissing, 2003). Estudios adicionales no pudieron corroborar dicha evidencia de herencia paterna, ni en otros pacientes con patologías musculares similares ni en otros tipos de patologías mitocondriales (Filosto *et al.*, 2003; Schwartz y Vissing, 2004).

No obstante, en el caso de que se dé una transmisión de ADNmt paterno en humanos no deja de ser un fenómeno extremadamente raro, que principalmente se relaciona con fallos en el funcionamiento normal del sistema de reconocimiento y eliminación de las moléculas de ADNmt paterno (Pakendorf y Stoneking, 2005). Por lo tanto, a efectos prácticos, la herencia materna del ADNmt humano puede seguir considerándose como regla general (Schwartz y Vissing, 2003).

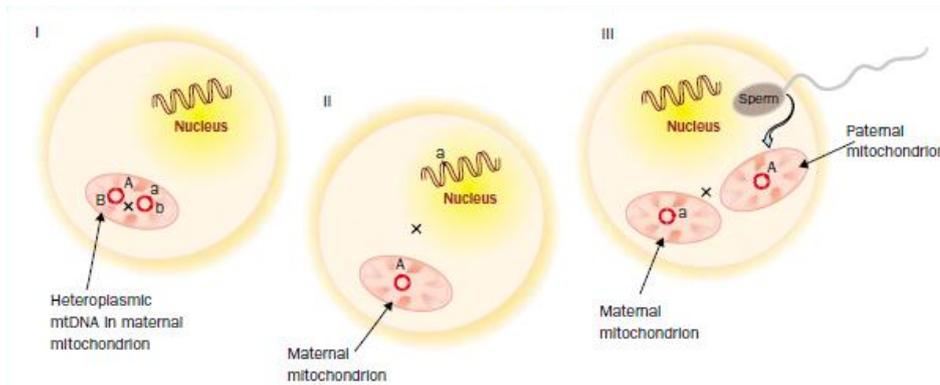
Ausencia de recombinación

Otro supuesto largamente aceptado es la ausencia de recombinación en el ADNmt, por lo que este genoma se heredaría como un único locus o un haplotipo. Pero en realidad la mitocondria tiene los enzimas necesarios para realizar una recombinación homóloga, por lo que teóricamente se podría producir este fenómeno.

En la Figura 2 se representan las tres posibles situaciones en las que el ADNmt podría recombinar (Eyre-Walker y Awadalla, 2001; Morris y Lightowlers, 2000):

- I) Recombinación entre diferentes moléculas de ADNmt en oocitos heteroplásmicos.
- II) Recombinación del ADNmt con secuencias de ADNmt presentes en el ADN nuclear (pseudogenes).
- III) Recombinación entre el ADN materno y el ADN paterno en el oocito fertilizado, previa a la degradación de las mitocondrias en el óvulo o por su posible persistencia en el óvulo.

Figura 2. Representación de posibles mecanismos de recombinación del ADNmt (tomada de Morris 2000).



En la última década, la publicación de varios artículos abrió el debate sobre la posible recombinación del ADNmt, pero la falta de evidencias y la baja fiabilidad de los resultados, hicieron que gran parte de la comunidad científica no respaldara esos hallazgos (Elson *et al.*, 2001). Pero recientemente nuevos estudios han aportado evidencias directas de la presencia de recombinación en el ADNmt. Así, Kraysberg *et al.* (2004) describieron la presencia de recombinación en el ADNmt en tejido muscular del único caso en el que hasta ahora, se ha observado la presencia de ADNmt materno y paterno. Otros estudios también han demostrado de forma directa la existencia de recombinación en ADNmt humano, cuando hay presencia de diferentes tipos mitocondriales, ya sean de origen paterno o resultantes de nuevas mutaciones (D'Aurelio *et al.*, 2004; Zsurka *et al.*, 2005).

En todo caso, a falta de evidencias definitivas y de lograr un consenso total en la comunidad científica, el criterio más aceptado es que de existir la recombinación en el ADNmt no es un fenómeno suficientemente frecuente en la evolución humana para refutar el paradigma de la ausencia de recombinación.

Tasa de mutación

La tasa de mutación es la probabilidad de que ocurra un tipo concreto de mutación en una unidad de tiempo determinada. Dependerá, por la tanto, de la velocidad de aparición y fijación de las mutaciones en los linajes. Esto va a permitir introducir una escala temporal en la evolución molecular para hacer estimas temporales sobre el ancestro común más reciente entre dos linajes, es decir, estimar el tiempo de divergencia entre ellos.

Aunque no existe un acuerdo generalizado en cuanto a la tasa de mutación real en el ADNmt, se estima que es 6-17 veces más elevada que la calculada en el genoma nuclear (Richter *et al.*, 1988). Esta tasa de mutación no es igual para todo el ADNmt: las regiones hipervariables presentan una tasa de mutación mayor que la región codificante, donde es menos probable

que se mantenga una mutación, ya que podría afectar la funcionalidad de algunos de los elementos codificados por dicha región. Para todo el genoma mitocondrial, exceptuando la región control, la tasa estimada es de aproximadamente 1.7×10^{-8} sustituciones por sitio por año (Ingman *et al.*, 2000). La rápida acumulación de mutaciones en el ADNmt es el resultado de algunas de las propiedades de este sistema genético:

- El ADNmt está especialmente expuesto a la acción de especies oxígeno-reactivas generadas en la fosforilación oxidativa de la mitocondria, por lo que es muy sensible al daño oxidativo, principalmente causado por la presencia de radicales libres (Richter *et al.*, 1988).
- El ADNmt carece del efecto protector que las histonas proporcionan al ADNn, por lo que es más vulnerable a la acción mutagénica de los radicales.
- Los mecanismos de reparación de ADN son menos efectivos que los del ADNn, por lo que se podrán acumular más cambios introducidos por error (Bogenhagen, 1999).

Heteroplasma

Otra característica exclusiva del ADNmt es la heteroplasma. Este fenómeno se define como la coexistencia de dos o más tipos de ADNmt dentro de la población mitocondrial de un mismo individuo (Tully *et al.*, 2000).

La proporción de células puede cambiar de predominantemente normales a mutantes en tan sólo algunas generaciones. La aparición de una mutación en una de las moléculas de ADNmt crea una mezcla intracelular de moléculas mutantes y normales. Durante la división las mitocondrias se reparten aleatoriamente entre las células hijas, en el proceso conocido como segregación replicativa. Como resultado, después de varios ciclos de división celular la proporción de ADNmt mutante y normal puede derivar hacia una forma pura, sea la mutante o la normal, llegando a la homoplasma.

Los estudios de familias con presencia de heteroplasma han mostrado que, aunque hay casos en los que la heteroplasma se mantiene más o menos constante de una generación a otra, mayoritariamente los niveles de heteroplasma varían bastante entre generaciones, con una tendencia a la fijación rápida de una de las variantes presentes en el individuo heteroplásmico (Brandstätter *et al.*, 2004; Lutz *et al.*, 2000a). Esta rápida fijación podría explicarse por la existencia de un cuello de botella genético en la transmisión de las mitocondrias (y de su ADNmt) de una generación a otra (Hauswirth y Laipis, 1982; Jansen, 2000). Así durante la oogénesis se produciría una drástica reducción de la población de ADNmt, por lo que por mera cuestión de azar podrían permanecer células con todas sus moléculas de ADNmt normales, o únicamente células con la mutación, o bien una mezcla de ambos tipos. A partir de este número limitado de mitocondrias se desarrollarían todas las copias presentes en el oocito maduro, y eventualmente el individuo (Poulton *et al.*, 1998).

En un principio se pensó que la heteroplasma era un fenómeno poco común y que la mayoría de individuos eran homoplásmicos (Comas *et al.*, 1995; Monnat y Loeb, 1985). Sin embargo, trabajos posteriores y técnicas de mayor sensibilidad han señalado que la heteroplasma es más frecuente de lo que se pensaba, por lo que se postula que todos los individuos serían

heteroplásmicos en mayor o menor medida (Bendall *et al.*, 1996; Brandstätter *et al.*, 2004). Esta explicación parece más lógica, ya que era bastante improbable que, dada la elevada tasa de mutación del genoma mitocondrial, todos los millones de moléculas de ADNmt presentes en un individuo fueran completamente idénticas. La escasez de fenómenos de heteroplasmas estaría más bien relacionada con las limitaciones técnicas de los sistemas para detectar una mutación cuando se halla en baja frecuencia.

Existen dos tipos de heteroplasmas: de posición y de longitud. La heteroplasma de posición o puntual es la coexistencia de dos o más ADNmt, que presentan nucleótidos diferentes en la misma posición debido a mutaciones puntuales. Al analizar la secuencia de ADNmt se observará un solapamiento de varias bases nucleotídicas en la misma posición. Por otro lado, en las heteroplasmas de longitud, los diferentes tipos de ADNmt difieren en el número de bases. Se produce principalmente en las regiones ricas en citosina, como el tracto poli-C de los segmentos HVSI y HVSII del ADNmt. En este caso se observará un solapamiento de secuencias a partir del punto donde ocurre la heteroplasma. Este tipo de heteroplasma es más frecuente en la población que las heteroplasmas de posición (Carracedo *et al.*, 2000).

Las heteroplasmas pueden producirse a nivel de la mitocondria, célula, tejido o individuo. Por lo tanto se pueden dar diversas situaciones: (1) individuos con más de un ADNmt en un tejido; (2) individuos con un tipo de ADNmt en un tejido y otro tipo diferente en otro tejido; o (3) individuos con heteroplasma en una parte de tejido y homoplasma en otra parte. Si las heteroplasmas ocurren en la línea germinal serán heredadas por su descendencia, mientras que si afecta a la línea somática será una característica propia de ese individuo.

Habitualmente, en casos de heteroplasma, los diferentes tipos de ADNmt presentes en un individuo difieren en una sola base, siendo infrecuente la heteroplasma en dos o más sitios. La aparición de heteroplasmas no invalida el uso del ADNmt en el análisis forense, aunque sí que puede dificultar la interpretación de los resultados. Por ello es importante seguir las recomendaciones y pautas analíticas establecidas por los laboratorios de referencia para certificar de que se trata efectivamente de una heteroplasma y no de un artefacto o contaminación (Carracedo *et al.*, 2000).

2.3. ADNmt y Genética de Poblaciones

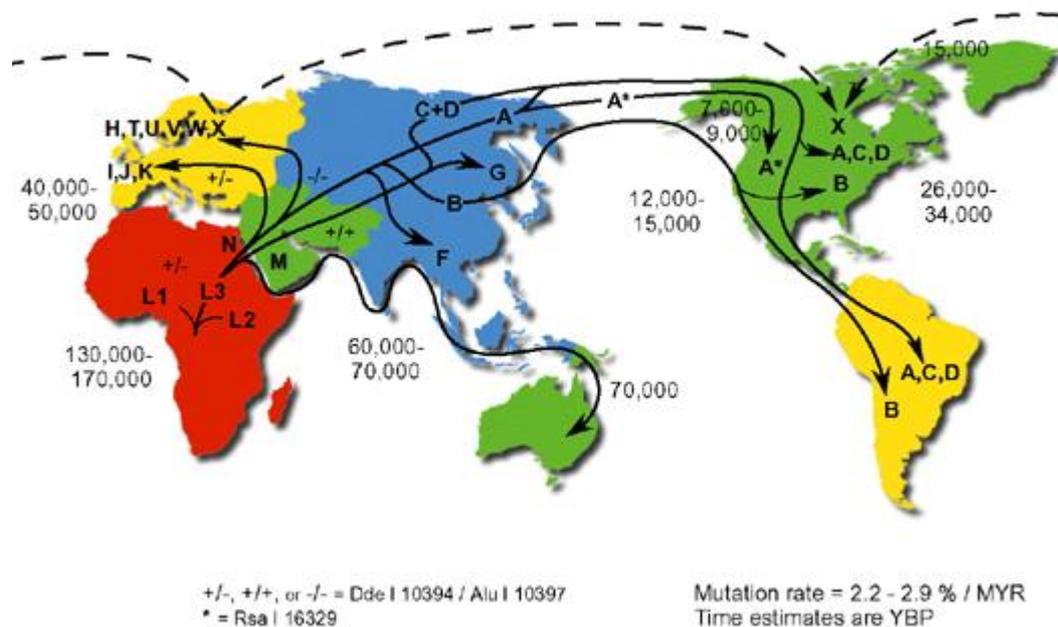
Una de las principales aplicaciones del estudio del ADNmt es en el campo de la genética de poblaciones humanas. El primer estudio de la variabilidad del ADNmt en poblaciones humanas fue realizado a principios de los años 80 mediante la digestión del ADNmt con enzimas de restricción (RFLPs, *Restriction Fragment Length Polymorphisms*) (Brown, 1980). Estudios posteriores basados en el análisis con enzimas de restricción de alta resolución de todo el genoma o en la secuenciación, han permitido definir con mayor detalle la filogenia del ADNmt (Achilli *et al.*, 2008; Finnila *et al.*, 2001; Tamm *et al.*, 2007).

El conjunto de estudios de ADN mitocondrial en poblaciones africanas (Chen *et al.*, 1995b), europeas (Adams *et al.* 2008, Torroni *et al.*, 1994b), asiáticas (Kolman *et al.*, 1996; Torroni *et al.*, 1993b) y nativas americanas (Achilli *et al.*, 2008; Tamm *et al.*, 2007) ha permitido establecer la filogeografía (o distribución geográfica) de los principales linajes mitocondriales.

Filogeografía del ADN mitocondrial

A lo largo de la historia las mutaciones se han acumulado secuencialmente en los linajes de ADNmt a partir de las secuencias fundadoras. Estos linajes fueron divergiendo a medida que las poblaciones se dispersaron por los distintos continentes (Figura 3), es por ello que muchos linajes mitocondriales son específicos de determinadas regiones geográficas. Estos haplotipos (o secuencias de ADNmt) relacionados filogenéticamente y específicos de una determinada región geográfica se denominan haplogrupos.

Figura 3. Representación de la dispersión de los principales haplogrupos de ADNmt en los cinco continentes (De Salle y Yudell, 2002).

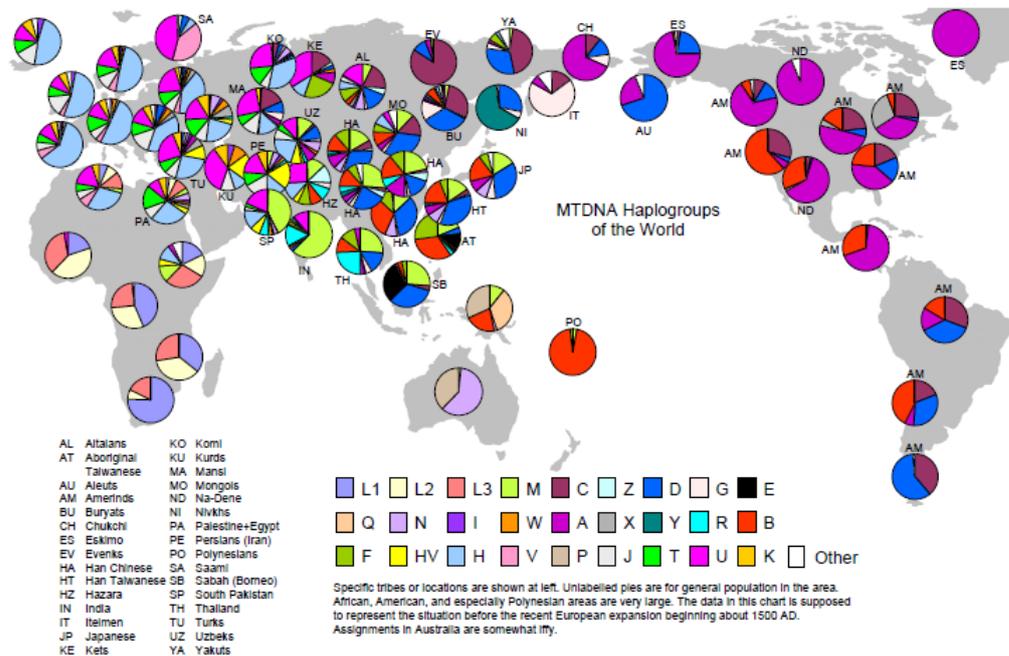


En la clasificación actual de los linajes del ADNmt se considera el haplogrupo L0, de origen africano, como la ramificación más antigua del árbol (Mishmar *et al.*, 2003). Este haplogrupo habría surgido en África Oriental y posteriormente se habría expandido por África, principalmente a través de los linajes L1, L2 y L3. El haplogrupo L3 habría derivado en los grupos M y N, que marcan la salida del hombre moderno del continente africano, y por lo tanto, los que habrían dado origen a los linajes de ADNmt presentes en Europa, Asia, Oceanía y América. En Europa predominan los haplogrupos H, I, J, N1b, T, U, V, W e Y, que provendrían básicamente del macrohaplogrupo N (Mishmar *et al.*, 2003). En Asia, los macrohaplogrupos N y M habrían dado lugar a los linajes A, B, C, D, F, G, Y y Z, entre otros, con una distribución variable a lo largo del continente (Derenko *et al.*, 2007; Kong *et al.*, 2003).

Actualmente el estudio del ADNmt constituye uno de los enfoques más efectivos y potentes en la determinación de la estructura y dinámica de las poblaciones. Una de las líneas de investigación en las que se ha empleado exitosamente este marcador ha sido en el estudio del poblamiento de América y de los movimientos migratorios que habrían dado lugar al actual acervo genético de las poblaciones americanas.

En la Figura 4 puede observarse la distribución continental de los principales haplogrupos.

Figura 4. Distribución continental de los principales haplogrupos de ADNmt (McDonald J. D. 2005) previa al s. XVI.



Origen del acervo genético de las poblaciones de América

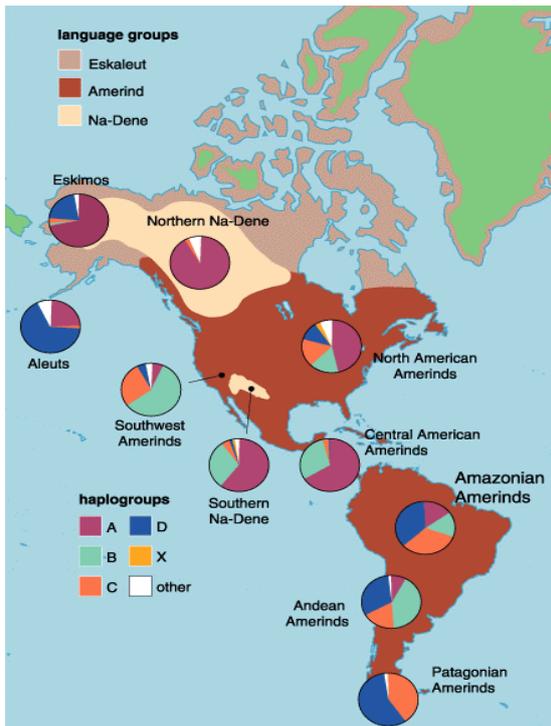
Aún hoy en día, la llegada de los primeros humanos modernos al continente americano sigue siendo un tema de gran controversia y falta de consenso en la comunidad científica. Se han desarrollado varias teorías para explicar el poblamiento del Nuevo Mundo, pero sin duda, la teoría más ampliamente aceptada es que los primeros humanos llegaron a América desde Asia durante la última glaciación (hace unos 10.000-80.000 años) (Pitulko *et al.*, 2004). En este periodo, debido al descenso de los niveles de mar, los continentes asiáticos y americanos estuvieron temporalmente unidos a través de un puente intercontinental (conocido como Bering) que permitió el paso de los primeros humanos al Nuevo Mundo (Goebel *et al.*, 2008).

Más allá de este consenso en cuanto al origen asiático de los primeros americanos hay otros aspectos claves de la colonización que aún no están claros, como el periodo exacto en que se produjo o el número de migraciones y las rutas que se siguieron (Keyeux *et al.*, 2002; Rodríguez-Delfin *et al.*, 2001; Schurr, 2004). Es aquí donde los estudios genéticos, y en especial aquellos basados en el ADNmt y en el cromosoma Y, juegan un papel clave.

La gran mayoría de los haplotipos de ADNmt (95-100%) hallados en poblaciones indígenas americanas contemporáneas pertenecen a uno de los 4 haplogrupos de ADNmt principales, A, B, C y D (Horai *et al.*, 1993; Schurr *et al.*, 1990; Torroni *et al.*, 1993a); o al haplogrupo minoritario X (Brown *et al.*, 1998; Forster *et al.*, 1996). Este patrón de variación también se ha observado en el análisis de muestras amerindias antiguas (Jones, 2003; Kaestle y Smith, 2001; Lalueza *et al.*, 1997; Malhi y Smith, 2002). Por lo tanto, se piensa que estos haplogrupos corresponderían a los principales linajes fundadores de ADNmt de los nativos americanos, es decir, estos haplogrupos habrían llegado desde Asia con las primeras migraciones de los hombres modernos al continente americano, dando lugar a las poblaciones indígenas americanas. Más concretamente se habla de que hay 4 haplogrupos mitocondriales

principales, conocidos como “panamericanos” (A2, B2, C1 y D1), y 5 linajes menores (C4c, D2a, D3, D4h3, y X2a) (Achilli *et al.*, 2008; Perego *et al.*, 2009; Tamm *et al.*, 2007).

Los haplogrupos A, B, C y D son observados en poblaciones indígenas del Norte, Centro y Sur de América, mientras que el haplogrupo X se encuentra en América del Norte (Brown *et al.*, 1998; Torroni *et al.*, 1993a). Esta distribución geográfica sugiere que todos ellos estuvieron presentes en el asentamiento original de América, y que hubo una posterior diferenciación genética de las poblaciones indígenas en las distintas regiones.



Si se consideran los 3 grupos lingüísticos nativos americanos principales (Figura 5), se observa que en los grupos Eskimos y Aleuts predominan el haplogrupo A y D respectivamente. También en el caso de los Na-Dené, el haplogrupo A es mayoritario (especialmente en los del Norte) (Forster *et al.*, 1996). En cambio, los Amerindios presentan todos los haplogrupos fundadores, pero con distinta frecuencia según la región. El haplogrupo A generalmente ocurre en frecuencias más elevadas en el norte del continente, al contrario que los haplogrupos C y D mayormente observados en el Sur de América. Por otro lado, el haplogrupo B no parece presentar una distribución clinal clara.

Figura 5. Distribución de los haplogrupos entre las poblaciones indígenas de América.

Si bien estos cuatro haplogrupos normalmente aparecen juntos en las poblaciones nativas, algunas tribus carecen de haplotipos de al menos uno de esos haplogrupos, tal y como sucede en determinadas poblaciones del Centro de América, en que predominan los haplogrupos A y B (Salzano, 2002; Torroni *et al.*, 1994a). Estos patrones podrían reflejar la influencia de la deriva genética y del efecto fundador en la distribución de los haplotipos de ADNmt en las poblaciones americanas, causando su fijación o extinción estocástica (Kolman *et al.*, 1995; Torroni *et al.*, 1993a; Schurr *et al.*, 1990). Dicho de otro modo, lo que habría ocurrido es que cuando un pequeño grupo se separaba y aislaba del grupo fundador puede que no tuviera todos los haplogrupos presentes en la población original. En consecuencia, los descendientes de este grupo sólo presentaban unos pocos haplogrupos de los originales (efecto fundador). Además, debido a su menor tamaño poblacional, estos grupos escindidos serían más sensibles al efecto de las mutaciones en toda la población (deriva genética). Esto explicaría las posibles diferencias en las frecuencias de los polimorfismos entre el grupo fundador y el derivado (Schurr, 2002). Esta explicación estaría respaldada por la alta frecuencia de algunos haplotipos “particulares” (variantes genéticas únicas exclusivas de pequeños grupos aislados) en varias tribus amerindias (Torroni *et al.*, 1993a; Schurr *et al.*, 1990). Por lo tanto, el aislamiento tribal y el efecto fundador podría conducir a una divergencia genética tribal, causando la diferente distribución de haplotipos entre poblaciones.

Entre las poblaciones indígenas americanas también se han detectado algunos haplotipos no pertenecientes a los 5 linajes maternos anteriormente comentados (Starikovskaya *et al.*, 1998). Aunque la presencia de estos haplotipos podría relacionarse con la aparición de haplogrupos o haplotipos fundadores no descritos, la mayoría deriva de haplogrupos fundadores que han sufrido mutaciones en los polimorfismos claves para definirlos. El resto de haplotipos “nuevos” son el resultado de la mezcla con poblaciones no nativas procedentes de migraciones posteriores, como la llegada de los europeos y esclavos africanos a América a partir del siglo XV.

Diversidad del ADNmt en América del Sur

En lo referente al proceso de colonización de América del Sur, éste también está sujeto a un intenso debate. Pero, más allá del modelo de migración, se considera que tras el asentamiento inicial en Sudamérica las poblaciones nativas habrían experimentado cierto aislamiento y tribalización, dando lugar a linajes mitocondriales únicos (Lalueza *et al.*, 1997; Torroni *et al.*, 1993a). No obstante, el posterior crecimiento poblacional y sedentarización de estos grupos habrían reducido los efectos de la deriva genética e incrementado el flujo génico entre grupos locales, contribuyendo a la formación de acervos genéticos regionales (Schurr, 2004). Estudios de ADN antiguo respaldan este supuesto, ya que han demostrado patrones de continuidad entre poblaciones antepasadas y contemporáneas (Moraga *et al.*, 2000).

Otro periodo clave en la historia de las poblaciones nativas americanas fue la llegada de los europeos al Nuevo Mundo, que tuvo un impacto muy profundo en el acervo genético de dichos grupos poblacionales. Por un lado, las guerras y las epidemias que se produjeron causaron la muerte de un elevado número de indígenas y, en algunos casos, la desaparición de pueblos enteros, con la pertinente reducción de la diversidad genética de estas poblaciones. Por otro lado, esta época se caracterizó por el mestizaje poblacional entre grupos de origen amerindio, europeo y africano. Aunque en el acervo genético mitocondrial, la introducción de linajes de origen europeo y africano tuvo un impacto menor que en el caso del cromosoma Y, también dejó una importante huella. En este sentido, se han podido identificar la coexistencia de haplotipos de ADNmt amerindios, europeos y africanos en varias poblaciones (Mendes-Junior y Simoes, 2009; Salas *et al.*, 2008; Rodas *et al.*, 2003; Rodríguez-Delfin *et al.*, 2001; Mesa *et al.*, 2000).

2.4. ADNmt y Genética Forense

Hasta ahora se han descrito las aplicaciones del estudio del ADNmt dentro del campo de la genética de poblaciones. No obstante, el análisis del ADNmt también es de gran utilidad en otras disciplinas científicas, como en el caso de la genética forense.

El estudio del ADNmt ha sido ampliamente usado en el campo de la genética forense, en especial en aquellos casos en los que se dispone de muestras con poco material genético o cuando éste se haya altamente fragmentado (Martínez-Jarreta, 1999). Gracias a algunas de las características anteriormente comentadas, como su elevado número de copias, el ADNmt puede ser recuperado de muestras cuyo estado dificulta o imposibilita la obtención de perfiles genéticos a partir de marcadores nucleares convencionales como los STRs autosómicos (Baeta *et al.*, 2009). Además, su herencia materna y haplotípica permite vincular individuos

emparentados por vía materna, siendo de gran utilidad en la identificación de cadáveres o restos antiguos (Núñez *et al.*, 2011) y en investigaciones de parentesco.

Hasta ahora, la mayor parte de los estudios genéticos se han basado en el análisis de los segmentos HVSI y HVSII del ADNmt. No obstante en los últimos años han incrementado los trabajos en los que se analiza toda la región control del D-loop, incluyendo por lo tanto la región HVSIII (Lutz *et al.*, 2000b). De esta forma se busca incrementar el poder de discriminación del análisis, en especial puede resultar de gran utilidad para diferenciar entre individuos con el mismo haplotipo HVSI-HVSII. También permite realizar una mejor aproximación en la asignación de los haplogrupos mitocondriales.

Otra posibilidad en auge en genética forense es el estudio de determinados SNPs en la zona codificante del genoma mitocondrial, tanto para incrementar la capacidad del análisis para discriminar entre haplotipos idénticos como para realizar la determinación del haplogrupo en cuestión (Álvarez-Iglesias *et al.*, 2007; Parson *et al.*, 2008).

A pesar de estos avances a nivel analítico, existe otra importante limitación a la hora de usar el ADNmt en la resolución de un caso forense. Se trata del número limitado de haplotipos disponibles en las bases de datos de uso forense. Esto puede dificultar la correcta valoración estadística de la prueba forense, ya que en ocasiones se puede producir una sobreestimación de la probabilidad de coincidencia entre el haplotipo obtenido de una muestra y el del sospechoso. Por ejemplo, si la secuencia no aparece ninguna vez en la base de datos puede tenerse la impresión de que es un haplotipo extraordinariamente infrecuente cuando lo que ocurre es que estamos trabajando con una base de datos relativamente pequeña.

Es por ello que resulta esencial seguir realizando estudios genéticos de las distintas poblaciones así como de sus grupos étnicos, para seguir enriqueciendo bases de datos como la EMPOP *database* (Parson *et al.*, 2004). Por lo tanto, aquí es donde convergerían los caminos de la genética forense y la genética de poblaciones humanas, siendo esta última la principal fuente de captación de datos genéticos para las bases de uso forense.

3. CROMOSOMAS SEXUALES.

Otros marcadores genéticos de gran interés antropológico y forense son los cromosomas sexuales, es decir, el cromosoma X y el Y.

Los cromosomas sexuales son los que van a determinar la diferenciación genética entre hombres y mujeres. Más concretamente es el gen SRY (Sex-determining Region of the Y), presente en el cromosoma Y, el que va a determinar per se que el individuo se desarrolle como varón, ya que es el responsable de la diferenciación del tejido testicular durante las primeras etapas del desarrollo (Sinclair *et al.*, 1990). Así, de forma general, el sexo masculino estará establecido por la presencia de un cromosoma X y otro Y, mientras que el femenino vendrá determinado por la presencia de dos cromosomas X. No obstante, esta pauta puede verse alterada en determinadas anomalías cromosómicas sexuales, numéricas o estructurales.

Hace millones de años, los cromosomas X e Y constituían una pareja de cromosomas homólogos como los autosomas, pero a lo largo de la evolución el cromosoma Y ha ido sufriendo una serie de perturbaciones drásticas que han reducido considerablemente su tamaño, mientras que el cromosoma X se habría visto sometido a importantes cambios compensatorios, como la inactivación de uno de los cromosomas X en las mujeres (Lahn y Page, 1999).

3.1. CROMOSOMA Y

El cromosoma Y es uno de los cromosomas más pequeños en el genoma humano, con un tamaño aproximado de 60 Mb (megabases) y representa alrededor del 2-3 % del genoma haploide (Morton, 1991). Desde el punto citológico, el cromosoma Y está formado por regiones de heterocromatina y eucromatina (Figura 6).

La región de heterocromatina se sitúa en la parte distal del brazo largo (Yq). Es una región de longitud variable entre individuos y presenta una alta complejidad. En ella predominan secuencias altamente repetitivas como DYZ1 y DYZ2, presentando polimorfismos de longitud.

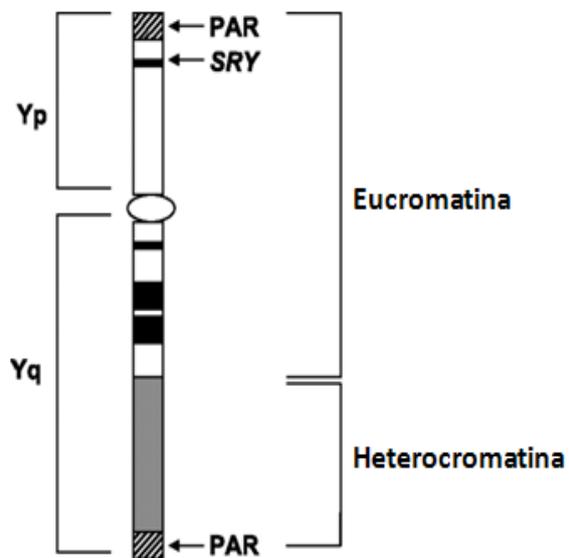


Figura 6. Esquema del cromosoma Y.

La región de eucromatina, de aproximadamente 30 Mb, se sitúa ocupando el brazo corto (Yp), centrómero y zona proximal del brazo largo. Es la región de mayor interés genético, ya que es donde se encuentran genes responsables de importantes funciones biológicas.

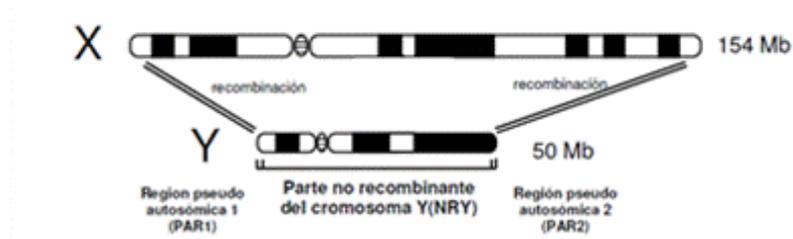
3.1.1. Características

Entre las características del cromosoma Y destacan las siguientes:

Recombinación

A pesar de su distinta naturaleza morfológica, los cromosomas X e Y pueden aparearse durante la meiosis e intercambiar información (Figura 7). Este fenómeno ocurre en pequeñas regiones que contienen secuencias homólogas presentes en ambos cromosomas, denominadas regiones pseudoautosómicas (Burgoyne, 1982). En los cromosomas sexuales humanos se distinguen dos de estas regiones, denominadas PAR1 y PAR2, situadas en los extremos terminales del brazo corto y largo de los cromosomas sexuales, respectivamente.

Figura 7. Esquema de los cromosomas sexuales X e Y.



La región PAR1 del cromosoma Y tiene un tamaño aproximado de 2.6 Mb, y su recombinación es necesaria para la segregación normal de los cromosomas X e Y en la meiosis. Por su parte, la región PAR2 mide unos 320 Kb, y no siempre participa en los procesos de recombinación.

Estas regiones tan solo representan el 5% del cromosoma Y, el 95 % restante del cromosoma no experimenta recombinación. Esta extensa parte es conocida como región no-recombinante o NRY (*Non-recombining Region of the human Y chromosome*), o bien región masculina específica o MSY (*Male Specific Region*), entre otras denominaciones. En ella se encuentran algunos genes funcionales de gran importancia para el desarrollo sexual del hombre, como el gen SRY.

Herencia

Una de las principales características del cromosoma Y es su particular modo de transmisión, únicamente pasa de padre a hijo varón siendo, por tanto, específico del género masculino. Debido a la ausencia de recombinación en la práctica totalidad del cromosoma Y, éste se comporta como un único bloque o grupo de ligamiento en cada transmisión, pasando de generación a generación sin cambios, excepto por la acumulación gradual de mutaciones. Así los procesos de mutación son los responsables de la diversificación haplotípica de este cromosoma.

Tasa de mutación y diversidad genética

En comparación con los cromosomas autosómicos, el cromosoma Y es un cromosoma pobre en número de genes (Lahn *et al* 1997). Este hecho hace pensar que habrá una baja presión selectiva en las zonas no codificantes del cromosoma Y, por lo que en un principio debería ser más libre para acumular mutaciones en comparación con otras partes del genoma. Asimismo, la peculiar gametogénesis del varón, con una mayor permanencia en la línea germinal y un elevado número de divisiones celulares durante la formación del esperma, también tendería a favorecer la aparición de mutaciones (Brinkmann *et al.*, 1998; Li *et al.*, 2002; Weber y Wong, 1993). Pero paradójicamente, se ha visto que la frecuencia de polimorfismos en regiones no codificantes del cromosoma Y es mucho menor que en el resto del genoma. Se estima que la tasa de mutación por nucleótido por generación es de $3-5 \times 10^{-8}$ (Thomson *et al.*, 2000; Underhill y Kivisild, 2007; Xue *et al.*, 2009).

Existen diversas propuestas que intentan explicar esta reducida diversidad del cromosoma Y. Una primera explicación sería aritmética, se basaría en que el tamaño efectivo de población del cromosoma Y (número de cromosomas que pasan a la descendencia) es cuatro veces inferior al de cualquier cromosoma autosómico y tres veces más pequeño que el del cromosoma X. Esto se debe a que cada descendiente de una pareja puede heredar 4 posibles cromosomas autosómicos (2 del padre y 2 de la madre) y 3 posibles cromosomas X (2 de la madre y 1 del padre), mientras que para el cromosoma Y tan sólo hay una posibilidad para el hijo varón. Este menor tamaño poblacional se correlacionaría con una menor diversidad genética (Jobling y Tyler-Smith, 1995).

Otra explicación sería la falta de recombinación en el cromosoma Y. Esto provocaría que al surgir una mutación ventajosa en un gen Y específico, ésta se expanda por la población transportada en su cromosoma Y junto con el resto de variantes alélicas de los genes que este cromosoma contiene. Por lo tanto, se produciría una selección global de todo el haplotipo de dicho cromosoma por efecto *hitch-hiking* (la selección positiva de una mutación ventajosa altera los patrones de variación genética en las secuencias adyacentes) (Jobling y Tyler-Smith, 1995). Este haplotipo aumentaría mucho de frecuencia y podría llegar a fijarse, provocando la bajada de los niveles de polimorfismo global del cromosoma Y en la población. No obstante, tan solo se podrían detectar sus consecuencias en determinados casos, como cuando el barrido selectivo (*selective sweep*) hubiera sido suficientemente importante y en tiempos relativamente recientes, ya que si no sería de esperar que se hubieran recuperado los niveles de diversidad en los sistemas más polimórficos (Perez-Lezaun *et al.*, 1997).

Por otro lado, se ha visto que el cromosoma Y presenta una importante diferenciación entre distintas poblaciones. Esto se debe principalmente a su reducido tamaño efectivo de población que lo hace más susceptible a sufrir los efectos de la deriva genética, que a su vez causará cambios aleatorios en las frecuencias de los haplotipos de una generación a la siguiente, acelerando así la diferenciación de grupos de cromosomas Y entre distintas poblaciones. Mediante diversos estudios se han podido estimar la fracción de varianza entre las poblaciones mundiales de distintos marcadores, un 12-18% para los autosomas (Seielstad *et al.*, 1998), 18-30% para el ADN mitocondrial (Seielstad *et al.*, 1998; Stoneking *et al.*, 1990) y más de un 40% para el cromosoma Y (Hammer *et al.*, 2001; Seielstad *et al.*, 1998).

En este proceso de diferenciación también habría influido la diferente dinámica de la población masculina respecto a la femenina. Así, actividades específicas de género como la guerra, la caza o la poliginia podrían haber reducido el número efectivo de cromosomas Y en determinadas poblaciones, incrementando aún más su tendencia a la deriva (Seielstad *et al.*, 1998; Kayser *et al.*, 2003). También la conducta migratoria diferencial entre hombres y mujeres a lo largo de la historia habría jugado un papel muy importante en este proceso. La patrilocalidad, que caracteriza al 70 % de las poblaciones (Burton *et al.*, 1996), ha hecho que sean las mujeres mayoritariamente las que se trasladen al lugar de origen de sus cónyuges. Por lo tanto, mientras que el ADNmt se desplazaría entre poblaciones en cada generación, el cromosoma Y persistiría dentro de cada población. Teniendo en cuenta que estos procesos migratorios conllevan una reducción de la diferenciación poblacional, se podría explicar en parte el mayor grado de diferenciación genética del cromosoma Y entre poblaciones respecto a otros marcadores, así como su mayor agrupamiento geográfico (Hammer *et al.*, 2001; Seielstad *et al.*, 1998). No obstante, los estudios apuntan a que estos patrones migratorios tendrían mayor importancia a nivel local, pero no tanto a escala continental y global (Kumar *et al.*, 2006; Wilder *et al.*, 2004).

3.1.2. Polimorfismos del cromosoma Y

Los primeros polimorfismos del cromosoma Y fueron descritos en 1985 (Casanova *et al.*, 1985; Lucotte y Ngo, 1985). Desde entonces se han identificado diferentes tipos de polimorfismos: sustituciones, inserciones, deleciones, duplicaciones, reordenamientos complejos, minisatélites, microsatélites y ADN satélite. De estos polimorfismos, los que han mostrado una mayor utilidad en genética de poblaciones y genética forense son los microsatélites o STRs (*Short Tandem Repeats*) y los polimorfismos en un único nucleótido denominados con las siglas SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*).

STRs del cromosoma Y

El primer marcador STR del cromosoma Y descrito fue Y27H39, conocido actualmente como DYS19 (Roewer *et al.*, 1992). En 1997 se estableció un haplotipo mínimo de Y-STRs que incluía los marcadores DYS19, DYS385 a/b, DYS389I y II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393 (Kayser *et al.*, 1997), que fue empleado en numerosos estudios poblacionales (Martínez-Jarreta *et al.*, 2003). Posteriormente se añadieron los marcadores DYS438 y DYS439, constituyendo el haplotipo extendido. Estos marcadores siguen siendo los más estudiados hoy en día, junto a otros como DYS437, DYS448, DYS456, DYS458, DYS635 y GATA H4, integrados en multiplexes de elevado poder de discriminación. Existen más de 220 Y-STRs potencialmente útiles para genética forense y antropología (Gusmao *et al.*, 2006).

De forma general, los Y-STRs más utilizados son de copia única, es decir, sólo existe una copia en el cromosoma Y; salvo en el caso de DYS385 que presenta dos copias palindrómicas. No obstante, se han descrito duplicaciones (incluso triplicaciones) de un Y-STR (Butler *et al.*, 2005), o de varios marcadores cercanos debido a la duplicación de la región del cromosoma Y que los contenga. Por tanto, a la hora de analizar los resultados del tipado de Y-STRs es importante tener en cuenta que la detección de más de un alelo en varios marcadores no debe atribuirse automáticamente a una mezcla de ADN sino que hay que valorar una posible duplicación que haya podido afectar simultáneamente a varios marcadores cercanos. La tasa

media de mutación que presentan estos polimorfismos es de aproximadamente 2.80×10^{-3} , similar al caso de los STRS autosómicos (Kayser *et al.*, 2000).

La implementación entre laboratorios ha sido posible siguiendo las recomendaciones internacionales respecto a la nomenclatura, estructura de secuencia, validación, entre otros aspectos (Gusmao *et al.*, 2006). En la actualidad hay varias bases de datos que recogen información de frecuencias haplotípicas de distintas poblaciones. Entre ellas, destaca la base de datos YHRD (www.yhrd.org) o *Y-chromosome haplotype reference database* (Roewer *et al.* 2001), con más de 97.000 haplotipos del cromosoma Y.

SNPs del cromosoma Y

Los polimorfismos de un solo nucleótido (o SNPs) son marcadores binarios, es decir, en una determinada posición son posibles solamente dos estados alélicos, un estado ancestral salvaje o un estado derivado mutado. Estos marcadores se engloban dentro del término polimorfismos de evento único (UEP), ya que tienen una tasa de mutación mucho más baja que los STR, aproximadamente de 10^{-9} (Thomson *et al.*, 2000). Además de los SNPs, otro tipo importante de marcadores binarios son los indels, que consisten en inserciones/delecciones de un nucleótido o varios.

El primer marcador bialélico descrito en el cromosoma Y fue una inserción Alu (DYS287), conocida también como YAP (Polimorfismo Alu del cromosoma Y) (Hammer, 1994). Posteriormente se describieron una docena de marcadores bialélicos más (Jobling *et al.*, 1997). Pero no fue hasta hace unos años, cuando gracias al uso de la técnica DHPLC (*Denaturing High Performance Liquid Chromatography*) y al desarrollo de modernas técnicas de secuenciación se pudieron identificar centenares de SNPs del cromosoma Y (Karafet *et al.*, 2008; Underhill *et al.*, 1997; Underhill *et al.*, 2000).

Los resultados del tipado de marcadores bialélicos permiten una clasificación en haplogrupos. Los términos haplogrupos y haplotipos pueden llevar a confusión, así que siguiendo lo descrito por de Knijff (2000) se considerará como haplogrupo a los linajes del cromosoma Y definidos por polimorfismos binarios, mientras el término haplotipo se reserva para todos los sublinajes de haplogrupos que están definidos por variaciones en los STRs del cromosoma Y.

Debido a la baja mutación de los SNPs se minimizan los fenómenos de recurrencia o reversión de variantes. Por lo tanto, la presencia compartida de una mutación definirá con una elevada probabilidad un grupo de cromosomas relacionados por descendencia, es decir, cromosomas que derivan de un antepasado común. En cambio en el caso de los STRs, su elevada mutación puede ocasionar que en determinados casos la presencia de haplotipos idénticos por estado y no por descendencia.

El constante crecimiento en el número de SNPs y la coexistencia de varios sistemas de nomenclatura para referirse a los haplogrupos del cromosoma Y hacía muy compleja la comparación e intercambio de datos entre laboratorios. Esto llevó al *Y Chromosome Consortium* (YCC) en el 2002 a la creación de un sistema de nomenclatura estándar para la designación de los haplogrupos binarios del árbol del cromosoma Y humano (Y Chromosome Consortium, 2002).

En la actualidad el árbol filogenético incluye 153 haplogrupos, definidos por aproximadamente 600 marcadores binarios (Karafet *et al.*, 2008). En la Figura 8 se presenta el árbol filogenético con los haplogrupos principales del cromosoma Y.

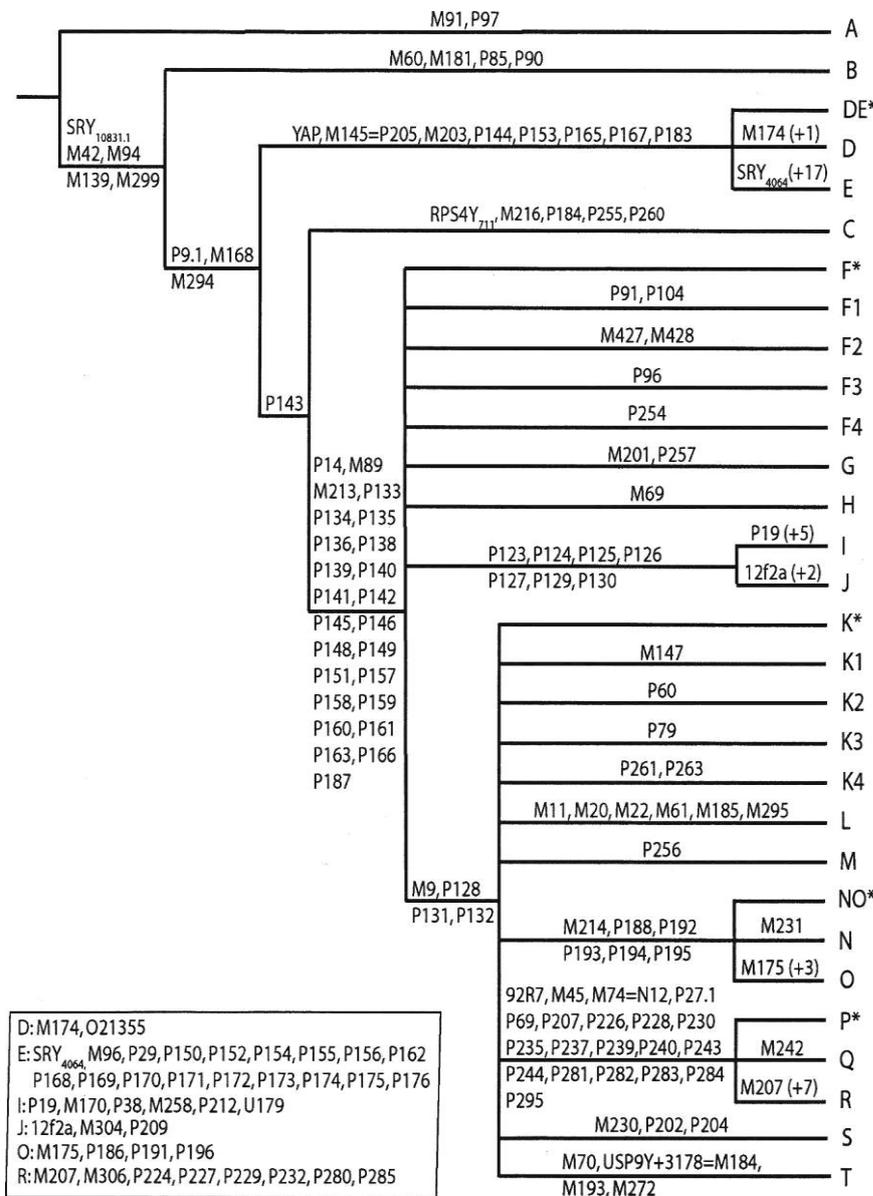


Figura 8. Árbol filogenético con los haplogrupos resumidos del cromosoma Y (Karafet *et al.*, 2008). Los clados o haplogrupos principales son designados con letras desde la A hasta la T. En las ramas se indican las mutaciones. Cada haplogrupo incluye varios subhaplogrupos o subclados. El símbolo (*) indica paragrupo (linaje no definido por mutación derivada).

Uso conjunto de Y-STRs e Y-SNPs

Existe una estrecha relación entre los Y-STRs y los Y-SNPs, ya que la aparición de una mutación o SNP que define a un nuevo haplogrupo llevará asociada consigo un conjunto de alelos STRs (Jobling, 2001). Por lo tanto, en un principio, a partir de los haplotipos Y-STRs observados se podría realizar una primera aproximación sobre el haplogrupo correspondiente (en función de las frecuencias alélicas observadas para cada haplogrupo). En la actualidad existen programas como *Haplogroup Predictor* que mediante cálculos algorítmicos permiten predecir el haplogrupo con mayor o menor precisión dependiendo del linaje en cuestión (Athey, 2005). No obstante, es recomendable realizar el tipado directo de SNPs del cromosoma Y para poder definir con precisión el haplogrupo correspondiente (Muzzio *et al.*, 2010).

3.1.3. Cromosoma Y y Genética de Poblaciones

Como se ha comentado anteriormente el cromosoma es uno de los marcadores más utilizados en el campo de la genética de poblaciones humanas. Gracias a características como la ausencia de recombinación o su herencia exclusivamente paterna, el estudio de este cromosoma constituye una importante herramienta filogenética para trazar y comparar los linajes paternos en las poblaciones humanas, de forma similar a como el ADNmt se utiliza para el estudio de los linajes femeninos.

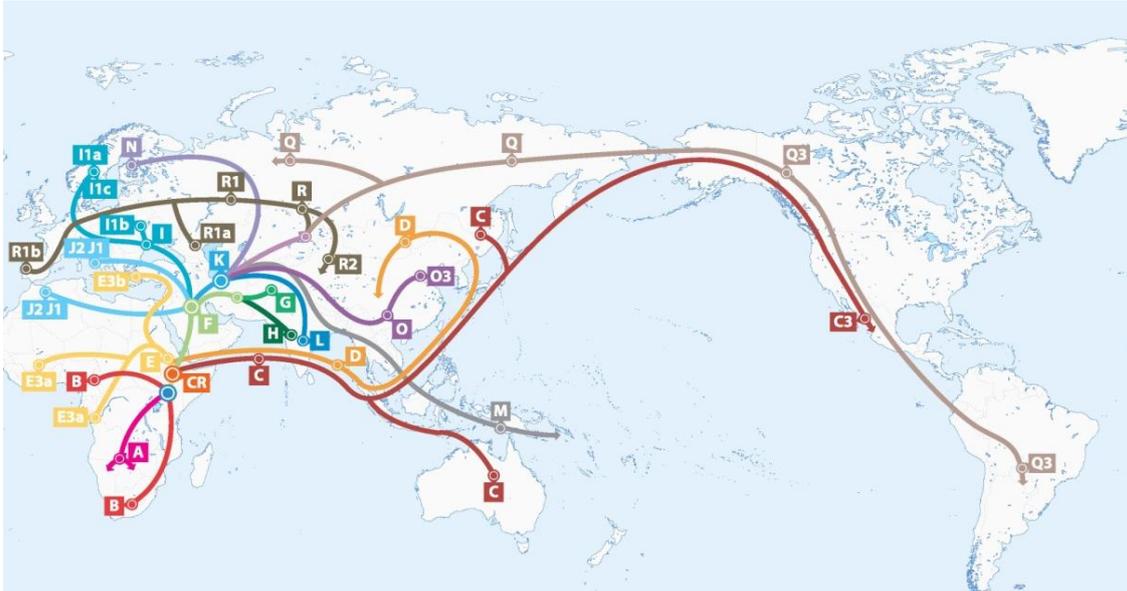
La posibilidad de analizar polimorfismos del cromosoma Y con distintos mecanismos y tasas de evolución, como los SNPs (marcadores de evolución lenta) o como los STRs (marcadores de evolución rápida), permiten estudiar procesos evolutivos a distintas escalas temporales y geográficas. Es por ello que actualmente existen un importante número estudios del cromosoma Y tanto a nivel de especie como a nivel de poblaciones. Así por ejemplo, se ha determinado el origen, evolución y dispersión de poblaciones humanas de África (Gomes *et al.*, 2010; Semino *et al.*, 2002), Europa (Rosser *et al.*, 2000; Semino *et al.*, 2000), Asia (Zhong *et al.*, 2011; Karafet *et al.*, 2002; Su *et al.*, 1999), América (Bortolini *et al.*, 2003; Karafet *et al.*, 1999; Ruiz-Linares *et al.*, 1999) y Oceanía (Capelli *et al.*, 2001).

El estudio de la variabilidad del cromosoma Y permite también analizar la diferenciación genética entre poblaciones cercanas geográficamente o que han divergido en el pasado (Underhill, 2003; Hammer *et al.*, 2001; Underhill *et al.*, 2000; Jobling y Tyler-Smith, 1995). Será de esperar que poblaciones ligadas presenten haplotipos parecidos, mientras que poblaciones lejanas tengan mayores diferencias en la distribución de los cromosomas Y. En esta misma línea se ha podido ver que poblaciones aparentemente homogéneas presenten una subestructuración a nivel del cromosoma Y (Lappalainen *et al.*, 2006), o que en determinadas poblaciones indígenas hay una fuerte reducción del pool genético del cromosoma Y, causada probablemente por aislamiento genético y modelos de apareamiento tradicionales (Geppert *et al.*, 2011).

Filogeografía del cromosoma Y

Como anteriormente se ha comentado, en los últimos años se han publicado un gran número de estudios que han permitido profundizar en el origen y evolución de la filogenia masculina de nuestra especie. Estos estudios se basan en que las mutaciones presentes en el cromosoma Y han surgido progresivamente en el tiempo, es decir, no han aparecido todas a la vez, sino que se han acumulado a lo largo de la historia. De esta forma se ha podido determinar la dispersión de los linajes del cromosoma Y a lo largo del tiempo y de la geografía (Figura 9).

Figura 9. Representación de la dispersión de los haplogrupos del cromosoma Y (tomada de *Family Tree DNA*).



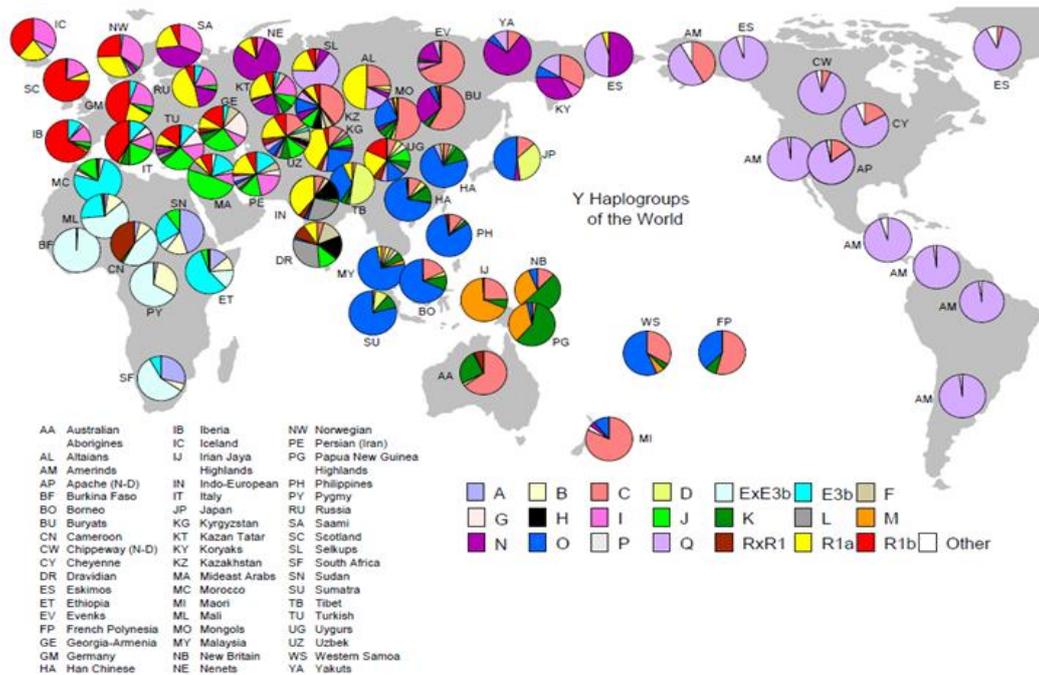
La rama más antigua del árbol filogenético del cromosoma Y correspondería al haplogrupo A, definido por la mutación M91. Este linaje tiene sus raíces en África, al igual que el linaje B (M60). Ambos haplogrupos se encuentran únicamente en poblaciones africanas, o bien en poblaciones procedentes de allí (Gomes *et al.*, 2010; Semino *et al.*, 2002). Posteriormente habría surgido la mutación M168 (haplogrupos CT), que probablemente precedió a la gran migración "Fuera de África" del hombre moderno, dando lugar a todos los linajes no africanos y también a una importante parte de los africanos. Del clado C-T derivaron dos líneas, DE (YAP) y CF (P143), que participaron en las migraciones. El grupo DE se fraccionó en el haplogrupo D (M174) en Asia y E (M96) en África, mientras que el clado CF divergió en Asia en el haplogrupo C (RPS4Y=M130) y el superhaplogrupo F (M89) (Ke *et al.*, 2001; Underhill *et al.*, 2001). Los grupos descendientes del haplogrupo C se dispersaron ampliamente desde Oceanía a Siberia, llegando también al continente americano.

Por su parte el superhaplogrupo F dio origen a los haplogrupos restantes (G a T). Los linajes G (M201), I (M170) y J (M304) se dispersaron en Europa (Luis *et al.*, 2004; Rootsi *et al.*, 2004), mientras que el haplogrupo H (M69) se expandió en India (Kivisild *et al.*, 2003). La población portadora del haplogrupo K (M9), originado en el Sudoeste de Asia, se dispersó ampliamente hacia Eurasia, Oceanía y América, dando lugar a los haplogrupos K (M9), L (M20), M (P256), NO (M214), P (M45), S (M230) y T (M70) (Kayser *et al.*, 2003; Kivisild *et al.*, 2003; Underhill y Kivisild, 2007). De ellos, el linaje NO (M214) se difundió por el norte y este de Euroasia, originando los haplogrupos N (M231) y O (M175) (Rootsi *et al.*, 2007). Paralelamente, la rama del haplogrupo P derivó, por un lado, en el haplogrupo R (M207), muy frecuente en Europa (siendo el linaje R1a-M17 más abundante en el este y R1b-M343 en el oeste) (Underhill *et al.*, 2010), y por otro, dio lugar al haplogrupo Q (M242) que desde Asia Central llegaría al continente americano.

Este patrón migratorio habría dado lugar a la distribución global de los haplogrupos del cromosoma Y, representada en la Figura 10. El estudio de los polimorfismos del cromosoma Y en poblaciones de todo el planeta ha permitido combinar el conocimiento filogenético con la

diversidad geográfica observada, obteniendo una filogeografía muy robusta para este marcador uniparental. En ella se puede observar que distintas regiones geográficas presentan una distribución de haplogrupos marcadamente diferente, pudiéndose hablar, en algunos casos, de haplogrupos específicos de población. Esta propiedad ha sido utilizada para conocer patrones de migración, subestructuración poblacional y mezcla entre poblaciones.

Figura 10. Distribución global de los haplogrupos del cromosoma Y antes de las expansiones del siglo XV (McDonald J. D. 2005).



Origen del acervo genético de las poblaciones de América

Los dos principales haplogrupos fundadores hallados en América son el C y el Q, siendo este último el que presenta una mayor frecuencia a lo largo de todo el continente. Ambos haplogrupos habrían llegado desde Asia a América por el estrecho de Bering. Representan, junto con el haplogrupo R, el 96% de los linajes del cromosoma Y del continente americano (Malhi *et al.*, 2008; Zegura *et al.*, 2004).

El haplogrupo Q (M242) se habría originado en Asia Central y posteriormente se habría introducido al continente americano (Schurr, 2004). Hoy en día, el haplogrupo Q puede hallarse en poblaciones asiáticas, siberianas (Karafet *et al.*, 2002), y americanas (Bolnick *et al.*, 2006; Zegura *et al.*, 2004). Uno de sus sublinajes Q1a3a (M3), específico del continente americano (Karafet *et al.*, 2008; Zegura *et al.*, 2004; Bortolini *et al.*, 2003), constituye el haplogrupo más abundante entre los nativos americanos (Lell *et al.*, 2002). Presenta un gradiente creciente de norte a sur, con una frecuencia bastante variable entre poblaciones (Paez-Riberos *et al.*, 2006; Tarazona-Santos *et al.*, 2001; Ruiz-Linares *et al.*, 1999; Bianchi *et al.*, 1998). Aunque se piensa que este polimorfismo habría surgido poco después de la llegada de los primeros humanos al continente americano (Bianchi *et al.*, 1998), su presencia en algunas poblaciones de Siberia próximas al Estrecho de Bering, podría indicar un origen previo a la

llegada a América (Zegura *et al.*, 2004; Lell *et al.*, 2002). Pero tampoco podría descartarse que estas poblaciones siberianas hubiesen adquirido dicho haplogrupo por migración inversa (Bortolini *et al.*, 2003).

El otro haplogrupo fundador presente en la población indígena americana, principalmente en el América del Norte, es el haplogrupo C (RPS4Y=M130). Este haplogrupo se habría dispersado desde Asia Oriental hacia Siberia, desde donde habría llegado al Nuevo Mundo, especialmente al noroeste de América del Norte. Su sublinaje C3 se encuentra principalmente en poblaciones de Siberia, Mongoles y de Oceanía. En poblaciones nativas americanas, principalmente en poblaciones Na-Dené, se ha descrito su derivado C3b (P39) (Hammer *et al.*, 2006; Zegura *et al.*, 2004). Más recientemente también se ha hallado la presencia de C3* en algunos individuos waoranis y kichwas de Ecuador (Geppert *et al.*, 2011) y wayuús de Colombia (Zegura *et al.*, 2004).

Hoy en día la distribución de haplogrupos en el continente americano es más diversa debido, en gran parte, al proceso de mezcla que acompañó la colonización europea así como al tráfico de esclavos africanos en determinadas zonas del continente (Bolnick *et al.*, 2006). Consecuentemente se hallan otros haplogrupos que habrían sido introducidos más recientemente como E3a (M2) de origen africano (Vallone y Butler, 2004), o DE (YAP) de origen africano o europeo (Karafet *et al.*, 1997; Karafet *et al.*, 1999; Lell *et al.*, 2002), entre otros haplogrupos. En este sentido, existió cierta controversia acerca del origen más o menos reciente del haplogrupo R1 en poblaciones americanas. Pero los últimos estudios (Bolnick *et al.*, 2006; Bosch *et al.*, 2003; Vallone y Butler, 2004; Zegura *et al.*, 2004) parecen apuntar a que la presencia de este haplogrupo sería el resultado de una mezcla genética más reciente con europeos, post-descubrimiento de América, descartando otras teorías que proponían la entrada del haplogrupo desde Asia con el resto de haplogrupos fundadores (Lell *et al.*, 2002; Schurr, 2004).

La proporción de mezcla paterna no nativa americana varía considerablemente en función de la población estudiada (Bolnick *et al.*, 2006; Bosch *et al.*, 2003; Hammer *et al.*, 2006; Karafet *et al.*, 1999). Un estudio realizado por Zegura *et al.* (2004) estima que la proporción de cromosoma Y no nativo americano es de aproximadamente $17 \pm 2\%$ a lo largo del continente americano. Estos estudios señalan el importante efecto que ha tenido la mezcla europea sobre la estructura actual de las poblaciones nativas americanas.

Asimetría sexual en poblaciones americanas

A lo largo de su historia, las poblaciones americanas han experimentado importantes cambios demográficos que han dejado una profunda huella en su acervo genético. De especial relevancia fue el impacto de la llegada de los europeos y del tráfico de esclavos durante el periodo colonial. Este periodo se caracterizó por el predominio de matrimonios entre los colonizadores europeos y mujeres indígenas. Esto se debió principalmente a la escasez de mujeres españolas en el Nuevo Mundo, a la baja extracción social de los emigrantes y a la escasez de prejuicios raciales en cuanto al matrimonio con mujeres indígenas. Pero en ocasiones dichos enlaces buscaban un objetivo más político o religioso, como la conquista de un nuevo territorio o la conversión al catolicismo (González-Andrade *et al.*, 2008b). Esta

asimetría en el apareamiento se ve claramente a nivel genético en determinadas poblaciones americanas mestizas. Así mediante el estudio del cromosoma Y y del ADNmt se observa un predominio de linajes masculinos de origen europeo y linajes femeninos de origen nativo americano (Núñez *et al.*, 2011).

Por otro lado, la llegada de esclavos africanos al continente americano durante los siglos XVI-XVIII, y posteriores procesos de mestizaje, también alteró el sustrato genético masculino de la población con la introducción de linajes del cromosoma Y africanos (Carvalho *et al.*, 2010). Se estima que alrededor de 11 millones de africanos fueron llevados al Nuevo Mundo, procedentes principalmente del África occidental y central (Salas *et al.*, 2005).

3.1.4. Cromosoma Y y Genética Forense

El estudio del cromosoma Y en genética forense es de gran utilidad, en especial en investigaciones penales, ya que la mayor parte de los crímenes violentos y agresiones sexuales son cometidos por varones (FBI, 2005). El estudio del cromosoma Y será de gran ayuda a la hora de detectar específicamente los restos celulares de un varón en mezclas de fluidos biológicos de ambos sexos, indicios muy frecuentes en casos de agresión sexual. Asimismo va a permitir una mejor aproximación al número de contribuyentes de semen en casos de violaciones múltiples o la detección de células epiteliales procedentes de individuos vasectomizados.

Por otro lado, como consecuencia de la elevada especificidad poblacional de determinados haplotipos del cromosoma Y, se puede realizar una aproximación relativa al origen étnico de una muestra. No obstante, esta aproximación debe realizarse con cautela porque puede conducir a conclusiones erróneas. Por ejemplo, la determinación del haplogrupo E1b1b (muy abundante en África) en una muestra puede llevar a pensar que se trata de un individuo africano. No obstante, no puede descartarse que el individuo proceda del Sur de Europa, dónde este haplogrupo también se presenta, aunque en menor frecuencia.

Otra aplicación de este sistema genético es la investigación biológica de paternidad de hijos varones, en especial en aquellos casos en el que el presunto padre haya fallecido. En estas situaciones se podrá recurrir a los parientes varones relacionados por vía paterna, para comprobar si comparten el mismo haplotipo del cromosoma Y.

En definitiva, aunque el estudio del cromosoma Y constituye un método de *screening* rápido y fiable en la casuística forense, siempre hay que tener presente que todos los familiares varones por línea paterna comparten el mismo haplotipo, por lo que no puede excluirse su posible participación en los hechos. Es por ello que es conveniente combinar los marcadores del cromosoma Y con marcadores autosómicos para poder lograr una identificación individualizada.

3.2. CROMOSOMA X

El cromosoma X es un cromosoma submetacéntrico con un tamaño aproximado de 155 Mb, que representa casi el 5% del total del genoma humano. Presenta un elevado contenido de ADN repetitivo no codificante a lo largo de su longitud, así tan solo el 1.7% del cromosoma codifica para proteínas funcionales. Se han descrito un importante número de genes en este cromosoma, aproximadamente del orden de 1100 (Ross *et al.*, 2005). Aunque en este aspecto, si se compara con los cromosomas autosómicos, se trata de un cromosoma pobre en genes.

Las mujeres tienen dos cromosomas X homólogos, por lo que todos los genes y secuencias estarán presentes en diploidía, pudiendo ser para un determinado carácter homocigotas (si los dos alelos del locus son idénticos) o heterocigotas (si los alelos son diferentes). Sin embargo los varones sólo tienen un cromosoma X, por lo que se trata de individuos hemicigóticos.

3.2.1. Características del cromosoma X

A continuación se describen las características más importantes del cromosoma X:

Inactivación

A pesar de que las mujeres tienen dos cromosomas X, tan solo uno se haya activo en cada célula. Esto se debe a que la expresión génica de todos los cromosomas X excepto uno se silencian de forma aleatoria en una fase muy temprana del desarrollo, quedando este cromosoma inactivo permanentemente en los tejidos somáticos. Como resultado de este silenciamiento aleatorio, las mujeres son cromosómicamente un mosaico formado por células con cromosomas activos de origen paterno y materno (Moreira de Mello *et al.*, 2010; Gartler y Goldman, 2001).

La inactivación iguala la cantidad de productos genéticos ligados al cromosoma X con respecto al varón (compensación de dosis) (Lyon, 1961). Del mismo modo, permite la viabilidad de individuos con monosomías, trisomías o polisomías del cromosoma X. En este proceso juega un papel fundamental el gen XIST (*X inactive specific transcript*), localizado en el brazo largo del cromosoma X, pues su expresión determina la inactivación del cromosoma X que lo porta (Kay, 1998).

Recombinación

En las mujeres se produce recombinación meiótica entre los cromosomas X, ya que en las células germinales femeninas el cromosoma X inactivo se reactiva en la meiosis, pudiéndose dar dicho proceso de recombinación (Gartler y Goldman, 2005).

En cambio, en los hombres, al no disponer de un homólogo, el cromosoma X no recombina en la mayor parte de su longitud. La excepción se encuentra en las regiones pseudoautosómicas localizadas en los extremos del cromosoma X, conocidas como PAR1 (en el brazo corto de 2.6 Mb) y PAR2 (en el brazo largo de 0.3 Mb). Estas regiones recombinan con las regiones homólogas del cromosoma Y situadas en sus extremos, como anteriormente se ha comentado.

Herencia

El cromosoma X tiene un patrón de herencia única. La madre transmite a los hijos de ambos sexos uno de sus cromosomas X, de forma análoga a lo que sucede los cromosomas autosómicos. Por lo tanto, el cromosoma X de origen materno de los descendientes puede ser una copia exacta de uno de los dos cromosomas X de la madre, o puede ser un cromosoma recombinante resultado del intercambio de material genético entre los dos cromosomas maternos. En cambio, el padre únicamente transmite su único cromosoma X a sus hijas y en este caso será una copia exacta de su cromosoma, tal como fue recibido de su madre.

Diversidad genética

El hecho de que los hombres solo posean un cromosoma X implica que cada cromosoma X pase dos terceras partes de su tiempo portado por una mujer. Consecuentemente, y teniendo en cuenta la menor tasa de mutación nucleotídica en la línea germinal femenina que en la masculina, es de esperar que el cromosoma X haya estado sometido a menos mutaciones que los autosomas. Por lo tanto, debería presentar una menor diversidad genética (Vicoso y Charlesworth, 2006; Schaffner, 2004).

Esta diversidad se vería incluso más reducida por el menor tamaño efectivo del cromosoma X respecto a los cromosomas autosomas. Considerando que las mujeres tienen dos cromosomas X y los hombres tan solo uno, el tamaño efectivo poblacional del X respecto a los autosomas será de $\frac{2}{3}$. Este es el ratio esperable en situaciones de igualdad respecto al tamaño poblacional y procesos migratorios de hombres y mujeres. Posibles desviaciones en estas condiciones pueden afectar a la relación entre X y autosomas (Keinan *et al.*, 2009; Hammer *et al.*, 2008). Por otro lado, el menor tamaño efectivo del cromosoma X supondrá un mayor efecto de los procesos de deriva genética en la población que en el caso de los autosomas (Casto *et al.*, 2010). Como resultado es de esperar que el cromosoma X presente una mayor estructuración poblacional, tal y lo descrito en algunos estudios (Lambert *et al.*, 2010; Ramachandran *et al.*, 2004). Esta diferenciación entre poblaciones estará influenciada en mayor o menor grado por factores demográficos y por la acción de fuerzas selectivas (Casto *et al.*, 2010; Heyer y Segurel, 2010).

Aunque la diversidad del cromosoma X se considera baja al compararla con los autosomas, aún así sigue siendo el doble que en el caso del cromosoma Y (Schaffner, 2004).

3.2.2. Polimorfismos del cromosoma X

El cromosoma X presenta diferentes tipos de polimorfismos, que no difieren a los descritos en otros cromosomas. Así se producen sustituciones, inserciones, deleciones o duplicaciones de bases, reordenamientos complejos, minisatélites, microsatélites y ADN satélite. No obstante, en genética forense los marcadores más estudiados de este cromosoma son los STRs y también los SNPs.

STRs del cromosoma X

Los STRs del cromosoma X o X-STRs son los marcadores del cromosoma X más utilizados en genética forense, por su alto grado de polimorfismo y alta tasa de mutación. Se trata de secuencias pequeñas de ADN repetidas en tándem, constituidas por unidades de 2 a 7 pb que se repiten un número variable de veces y que dan lugar a alelos de un tamaño aproximado entre 100 y 400 pb. El número de repeticiones varía entre los individuos. Se han descrito más de 30 X-STRs como marcadores forenses. En general, son marcadores tetranucleótidos (unidad de repetición de 4 pb), aunque también hay algunos trinucleótidos (Szibor, 2007).

El uso de una nomenclatura común es crucial en el campo de la genética forense para evitar confusiones y permitir el intercambio y la comparación de resultados. Es por ello que se están haciendo importantes esfuerzos en el desarrollo de los STRs del cromosoma X para unificar la nomenclatura, siguiendo las recomendaciones de la ISFG (Edelmann *et al.*, 2002b).

En la actualidad hay disponibles varios multiplexes que permiten el análisis simultáneo de varios STRs del cromosoma X. Es de destacar el multiplex de 10 X-STRs desarrollado por el GEPH-ISFG, que incluyen los siguientes marcadores: DXS8378, DXS9898, DXS7133, DX7423, DXS6809, DXS7132, DXS9902, DXS6789, GATA172D05 y GATA31E08 (Gusmao *et al.*, 2008). Con este bloque de marcadores se pretende crear un grupo de STRs del cromosoma X de referencia para la comunidad científica internacional, que sea de utilidad en casos de identificación humana, paternidad y otros parentescos biológicos.

Hasta el momento, y a falta de más estudios, se considera que las tasas de mutación de los STRs del cromosoma X (2.09×10^{-3} por meiosis) presentan valores similares a las obtenidas en los marcadores autosómicos (Szibor *et al.*, 2003).

Ligamiento de loci

En la aplicación de los marcadores del cromosoma X en la genética forense es importante determinar el grado de ligamiento entre los loci de este cromosoma, para saber si estos deben tomarse como un haplotipo o bien individualmente a la hora de interpretar los resultados (Medina-Acosta, 2010).

El cromosoma X presenta varios grupos de loci que están suficientemente separados entre sí, y que por lo tanto en principio se heredan independientemente (Bekada *et al.*, 2010; Gusmao *et al.*, 2008). Pero también se han descrito *clusters* o grupos compuestos por loci estrechamente ligados (Figura 11).

En un estudio realizado por Szibor *et al.* (2003) se establecieron cuatro grupos de ligamiento en el cromosoma X, uno de ellos en el brazo corto y otros tres en el brazo largo. Cada uno de los cuatro grupos de ligamiento se expande menos de 0.5 cM y por lo tanto, representa un haplotipo estable. Consecuentemente la probabilidad de recombinación meiótica entre loci dentro de cada cluster será menor al 0.5%, por lo que estarán estrechamente ligados (Szibor, 2007). En cambio, como la distancia entre cada grupo es de 50 cM o más, cada grupo se heredaría de forma independiente a los otros.

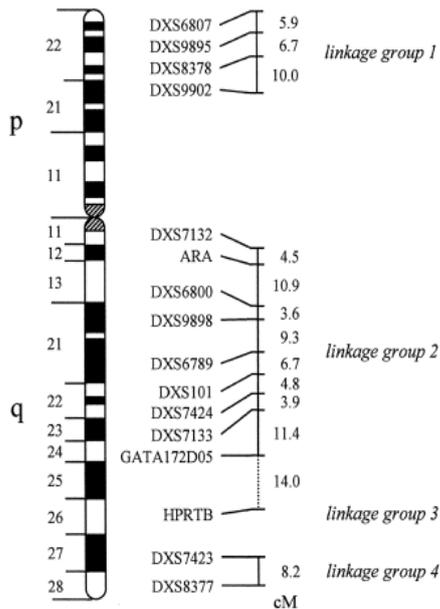


Figura 11. Localización de STRs del cromosoma X de uso forense. Se indican los 4 grupos de ligamiento descritos por Szibor *et al.* (2003).

El concepto de desequilibrio de ligamiento (LD o *Linkage Disequilibrium*) cromosómico hace referencia a la asociación no aleatoria o preferencial de los alelos en un cromosoma, en este caso de los alelos de los loci STRs del cromosoma X. El valor de LD mide la desviación de la frecuencia de haplotipos en una población respecto de la que se espera cuando los alelos de los loci están asociados aleatoriamente. Se aprecia LD significativo cuando los loci se encuentran estrechamente ligados entre sí. Consecuentemente, en estos casos la frecuencia poblacional del haplotipo no podrá ser inferida a partir de la frecuencia alélica de cada marcador, sino que tendrán que considerarse los loci como un único bloque y estimar la frecuencia de dicho haplotipo directamente de los datos poblacionales.

Es importante tener en cuenta que el LD no depende únicamente de la distancia entre marcadores, sino que también podría estar asociado a procesos como la deriva genética, efecto fundador, selección o mezclas poblacionales, que podrían aumentar el LD alrededor de un alelo. Todo ello causaría un efecto contrario a los procesos de recombinación (que disminuyen el LD de los loci), rompiendo el haplotipo ancestral (Martins *et al.*, 2010b; Reich *et al.*, 2001).

Datos poblacionales

En los últimos años ha habido un auge de publicaciones de X-STRs en poblaciones de todo el mundo. Así se disponen datos de España, Portugal, Brasil, Argentina Colombia, Puerto Rico, Alemania o EEUU, entre otros (Becker *et al.*, 2008; Bobillo *et al.*, 2011; Gomes *et al.*, 2007b; Gusmao *et al.*, 2009; Martins *et al.*, 2010a).

La comparación de poblaciones muy cercanas parece indicar que las diferencias en la distribución alélica de los marcadores del cromosoma X resultan mínimas (Zarrabeitia *et al.*, 2009). Consecuentemente, en estos casos se podrán usar las bases de datos generales como referencia. Sin embargo, cuando se consideran el conjunto de poblaciones mundiales se puede observar diferencias significativas en las frecuencias alélicas (Gomes *et al.*, 2007a; Gomes *et al.*, 2007b). Por lo tanto, debido a la mayor estructuración poblacional del cromosoma X, es importante disponer bases de datos de los distintos países. Por lo que se refiere a diferencias

en las frecuencias alélicas relacionadas con el sexo, en la mayoría de publicaciones no se han descrito cambios significativos (Gusmao *et al.*, 2009).

Se deben seguir realizando más estudios poblacionales para determinar frecuencias interpoblacionales, independencia de loci o tasas de mutación, entre otros parámetros. Actualmente existe una Web (www.ChrX-STR.org) que contiene datos sobre los marcadores del cromosoma X utilizados con fines forenses, antropológicos y otras áreas de la genética. A pesar de su potencial, su uso en el campo forense y en el estudio de poblaciones humanas aún es limitado.

3.2.3. Cromosoma X y Genética de Poblaciones

Las características del cromosoma X comentadas anteriormente lo convierten en una herramienta de gran interés para el estudio de las poblaciones humanas. Su principal ventaja es que va a aportar información simultánea de los linajes masculinos y femeninos de la población, a diferencia del cromosoma Y y del ADNmt que tan solo proporcionan datos de las líneas paternas o maternas respectivamente. Además teniendo en cuenta que a lo largo de la historia el cromosoma X ha pasado más tiempo en las mujeres que en los hombres, las posibles diferencias existentes entre sexos podrá verse reflejado en las diferencias entre el cromosoma X y los autosomas (Schaffner, 2004).

A pesar de su gran potencial, el uso del cromosoma X en genética poblacional está poco desarrollado en comparación con otros marcadores genéticos. Hasta ahora los estudios realizados se han centrado principalmente en la historia del hombre moderno (Keinan *et al.*, 2009). Así, se ha descrito que las poblaciones africanas son las que mayor diversidad genética del cromosoma X presentan, mientras que las poblaciones americanas tienen una diversidad más baja (Santos-Lopes *et al.*, 2007).

Por lo que respecta a los estudios de procesos migratorios a nivel más local y regional, el número de publicaciones del cromosoma X es muy bajo comparado con la elevada cifra de publicaciones existentes de ADNmt y cromosoma Y. No obstante, debido a las posibilidades que ofrece este marcador es de esperar que en los últimos años incremente el número de estudios poblacionales al respecto.

3.2.4. Cromosoma X y Genética Forense

A pesar de su potencial utilidad en el campo forense, el uso del cromosoma X sigue siendo reducido. Se emplea básicamente en pruebas de parentesco, paternidades deficientes y en investigación de vestigios biológicos.

La forma de herencia del cromosoma X lo hace especialmente útil en ciertas pruebas de parentesco, pues permiten determinar exclusiones directas. Así, su estudio puede excluir relaciones de parentesco entre un supuesto padre y su hija, o entre una supuesta madre y su hijo, si entre ellos no comparten todos los marcadores. En estos casos los STRs del cromosoma X pueden resultar más informativos y más eficientes que los STRs autosómicos.

También resultarán especialmente útiles en casos complejos de paternidad, por ejemplo en casos donde se estudia una hija cuestionada comparándola con otras hijas biológicas de un padre no disponible, tanto si tienen o no la misma madre. Si las hijas tienen el mismo padre deben compartir el mismo cromosoma X paterno. Asimismo el estudio del X puede resultar muy valioso en casos de incesto, donde dos supuestos padres de una hija son padre e hijo. En este caso dichos individuos no deberían compartir ningún alelo idéntico por descendencia del cromosoma X, pero sí la mitad de los alelos autosómicos. Por lo tanto, en estas situaciones, los marcadores del cromosoma X resultarán más resolutivos que los marcadores autosómicos.

Por lo que se refiere a la investigación de vestigios biológicos, los marcadores del cromosoma X pueden resultar de gran valor en determinadas situaciones. El caso más común es la determinación del componente femenino en una evidencia con mezcla de material genético masculino y femenino. En este supuesto los alelos femeninos solo serán completamente coincidentes con el componente masculino si es homocigota en todos los loci, caso poco probable. No obstante, es necesario tener en cuenta las limitaciones de una inclusión a partir del cromosoma X, dada la complejidad de su herencia y la posibilidad de que el haplotipo del cromosoma X sea compartido por los miembros de una misma familia.

Tal y como se ha visto hasta ahora, el estudio del genoma mitocondrial y de los cromosomas sexuales (X e Y) proporciona información muy valiosa para el estudio de las poblaciones humanas. Es por ello que en los últimos años se han caracterizado un gran número de poblaciones utilizando la amplia batería de marcadores disponibles. A pesar del importante avance experimentado, aún existen grupos poblacionales sin estudiar. Este es el caso de algunas poblaciones de América, como la ecuatoriana, que despiertan un gran interés desde el punto de vista forense, antropológico y evolutivo, dada su compleja historia, gran riqueza y variabilidad cultural, étnica y genética.

4. ECUADOR: POBLACIÓN OBJETO DEL ESTUDIO

4.1. Dinámica de poblamiento

Se conoce poco sobre el origen de los primeros ecuatorianos y de la dinámica de las tempranas migraciones. No obstante, las evidencias arqueológicas halladas apuntan a que la historia de los primeros habitantes de Ecuador se remontaría a hace unos 11.000 años (Dillehay, 1992). Las investigaciones sugieren que el país se pobló por el Callejón Interandino, cuando los últimos glaciares estaban en pleno retroceso. Esta región, cubierta de bosques, ofrecía múltiples recursos para los recién llegados, que pudieron desarrollar actividades de caza y recolección. Es posible que estos grupos hicieran pequeñas incursiones hacia otras regiones del territorio ecuatoriano (Dillehay, 1999). Los vestigios muestran una escasa ocupación de la costa ecuatoriana, a excepción de la península de Santa Elena, donde por esa época habitaban pequeños grupos de cazadores-recolectores de la cultura de Las Vegas (Stoher *et al.*, 2003). En cuanto al asentamiento de pobladores en la Amazonía hay pocas evidencias al respecto, a falta de exploraciones sistemáticas de la región.

A raíz de estos primeros asentamientos empezaron a conformarse diferentes culturas denominadas de acuerdo a su ubicación y desarrollo: las culturas Machalilla, Valdivia, Chorrera en la costa; Cotacollao y Chimba en la sierra; y Pastaza y Chiguaza en la región oriental. Estos grupos tenían una economía arcaica y una tecnología incipiente, condiciones que fueron cambiando con la implementación de nuevas formas de agricultura, desarrollo de cerámica y otros utensilios. Estos grandes pueblos dieron lugar al desarrollo de cacicazgos o señoríos a nivel regional.

La región ecuatoriana podría haber constituido un importante punto de convergencia cultural con grupos de Mesoamérica, dándose un intenso intercambio entre los pueblos de ambas zonas (Lathrap y Marcos, 1975). Los investigadores sostienen que la franja costera del océano Pacífico representó un corredor que comunicó a numerosas sociedades americanas.

En el s. XV los incas llegaron a la parte sur de lo que hoy es el territorio ecuatoriano, incorporándolo a su extenso territorio (que llegó a cubrir también parte de Perú, Bolivia, Chile y noroeste de Argentina). En esa época se produjeron importantes flujos migratorios con la repoblación de los territorios conquistados en el norte con población de las zonas leales del sur del imperio. La presencia inca en territorio ecuatoriano fue relativamente breve, pues a partir del s. XVI se inició la colonización española. La llegada de los primeros españoles a Ecuador supuso un punto y aparte en la historia del país, como también sucedió en el resto del continente. Por un lado, se produjo una importante reducción del número de pueblos originarios como consecuencia del conflicto bélico y la propagación de enfermedades. Por otro lado, se inició la génesis de nuevos grupos étnicos derivados de las nuevas relaciones interculturales entre colonos españoles, amerindios y esclavos africanos, así surgieron los mestizos (descendientes de amerindios y europeos), mulatos (descendientes de caucásicos y negros), zambos (descendientes de negros y amerindios) y criollos (descendientes de españoles nacidos en América). Este proceso histórico sentó las bases sobre las que emergería la actual estructura poblacional del país.

4.2. Composición actual

Ecuador está ubicado en la parte noroeste de América del Sur. Limita al norte con Colombia, al sur y al este con Perú y al oeste con el Océano Pacífico. La extensión del país es de 256.370 kilómetros cuadrados. Está dividido en cuatro regiones (Costa, Sierra, Insular y Oriente o Amazonía), en las que se distribuyen 24 provincias. Ecuador está considerado como uno de los 17 países donde está concentrada la mayor biodiversidad del planeta. Según el último censo de población de población del 2010 (INEC, 2010) la población ecuatoriana supera los 14 millones de individuos.



Figura 12. Localización de Ecuador.

La población ecuatoriana se caracteriza por ser étnicamente muy diversa. Se distinguen tres grupos étnicos principales: a) mestizos (71.9%), b) amerindios nativos, con una gran variedad de grupos étnicos (7%) y c) afroecuatorianos o afrodescendientes (7.2%). También destaca la presencia de población caucásica, que representa un 6.1% de la población.

Desde un sentido etnogeográfico, Ecuador presentaría similitudes con otros países andinos (Bolivia, Perú o norte de Chile), que poseen también un importante componente amerindio nativo (González-Andrade, 2006a). Este grupo se distinguiría de otros países sudamericanos como Argentina, Chile, Uruguay o Paraguay, con una contribución europea muy elevada; o de Brasil con un fuerte aporte afroamericano.

4.3. Población mestiza

Los Mestizos constituyen el grupo más grande y representativo del país, aproximadamente, ocho de cada diez ecuatorianos son mestizos. El término mestizo se utiliza generalmente en referencia a los descendientes de caucásicos (españoles principalmente) e indígenas nativos americanos (sobre todo Kichwas en el caso ecuatoriano). No obstante, el concepto de mestizo es amplio, así es empleado también en referencia a amerindios que han recibido educación y se encuentran en una posición socioeconómica más confortable, evitando el término indígena por su frecuente asociación a posiciones de pobreza.

Los Mestizos ecuatorianos viven preferencialmente en zonas urbanas, aunque también se encuentran presentes en determinadas regiones de Oriente. Fue especialmente a partir de los años 60, cuando se produjeron importantes flujos migratorios hacia la zona Amazónica a raíz de la demanda de mano de obra en la industria petrolera y maderera.



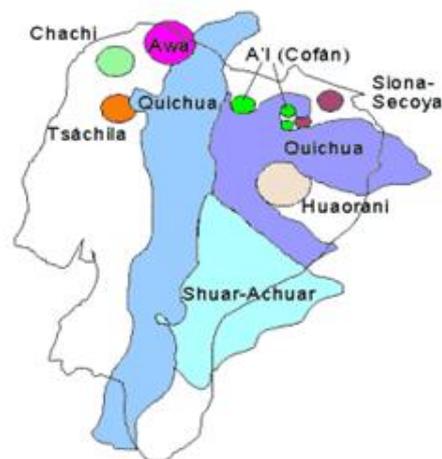
Figura 13. Niños mestizos de Quito.

4.4. Poblaciones amerindias

En Ecuador coexisten más de 13 nacionalidades indígenas y 16 pueblos distribuidos a lo largo del territorio (Figura 14). Las poblaciones indígenas se caracterizan por su autodefinición, su autonomía organizativa, cultural y su política propia. Son pueblos originarios y constituidos miles de años antes de la invasión europea. En pleno s. XXI, muchos de ellos se encuentran en proceso de retroceso e incluso de extinción.

Figura 14. A la izquierda tabla con nacionalidades indígenas de Ecuador y lenguas propias, clasificados según su ubicación geográfica. A la derecha distribución geográfica de las principales nacionalidades del país.

REGIÓN	NACIONALIDAD INDÍGENA	LENGUA
COSTA	Tsa'chila	Tsa'fiqui
	Awá	Awapit
	Epera	Siapede
	Chachi	Cha palaa
SIERRA	Kichwa	Kichwa
AMAZONIA	Kichwa	Kichwa
	Waoarani	Wao tededo
	Shuar	Shuar Chicham
	Achuar	Achuar
	Cofán	A'ingae
	Zápara	Záparo
	Siona-Secoya	Paicoca
	Shiwiar	Shiwiar Chicham



Población kichwa

Entre las poblaciones nativas de Sudamérica el quechua es la lengua amerindia con mayor número de hablantes, más de 8 millones. Se extiende a lo largo de la parte occidental del continente sudamericano. El quechua fue la lengua del imperio inca, que en su momento de máximo esplendor durante el s. XV, se extendió desde Ecuador en el norte hasta Chile por el sur. Tras la conquista española la lengua se conservó en parte porque fue adoptada por los misioneros católicos como lengua de predicación. Hoy en día se considera el quechua como una familia de lenguas de origen andino, con distintas variantes dialectales. Así en Ecuador, por ejemplo, se habla la variante lingüística Quechua-IIB, comúnmente conocida como Quichua o Kichwa.

Los Kichwas (nombre ancestral) o los Quichuas constituyen el mayor grupo indígena de Ecuador con una población de más de 3 millones de personas. La mayoría viven en la zona andina, aunque existen otros grupos ubicados en las provincias de la Amazonía que incluyen entre 60.000 a 100.000 personas organizada en 438 comunidades.

La nacionalidad kichwa de la Amazonía comprende dos pueblos: el pueblo Napo-Kichwa y el pueblo kichwa del Pastaza o Canelo-Kichwa (CONDENPE, 2011).



Figura 15. Kichwa de la Amazonía. Tomada de CONDENPE.

La nacionalidad kichwa agrupa a individuos que presentan una misma tradición lingüística, pero con pequeñas diferencias culturales. Su origen sería el resultado de un complejo y paulatino proceso de relaciones interétnicas con otras nacionalidades conocido como Kichwización.

En el caso de los Kichwa Amazónicos, el matrimonio exógamo con miembros de otros grupos como los Shuar y Achuar, ha permitido su expansión por toda la Amazonia en un proceso de Kichwización muy marcado. Así que a través de una lengua en común, se ha configurado una identidad étnica diferenciada, que aglutina miembros provenientes de varias tradiciones culturales.

Población waorani



Los Waorani o Huaorani son el último pueblo amerindio seminómada de cazadores y recolectores que habita en Ecuador. No hay un censo poblacional oficial de este grupo étnico, pero se estima que actualmente hay unos 3000 Waorani distribuidos en 24 comunidades (CODENPE, 2011). Entre ellos, aún existen grupos como los Tagaeri o los Taromenani, que evitan todo contacto con el exterior.

Figura 16. Grupo waorani.

Su territorio se localiza en la zona noreste de la Amazonia Ecuatoriana (provincias de Orellana, Pastaza y Napo) en la Reserva Étnica Waorani y en el Parque Nacional Yasuní, entre los ríos Napo y Curaray (Figura 17).

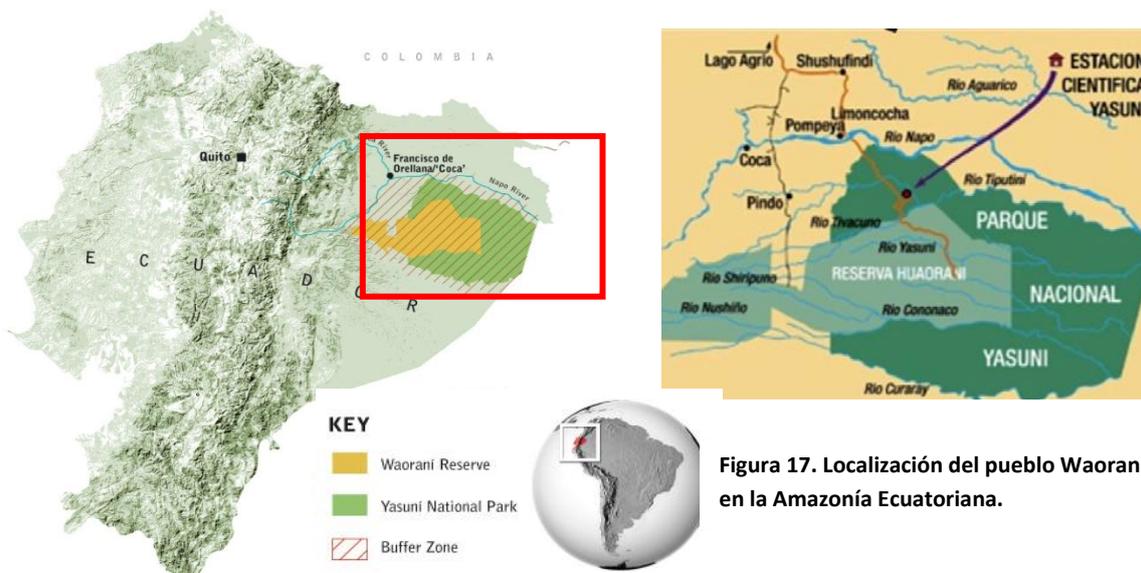


Figura 17. Localización del pueblo Waorani en la Amazonía Ecuatoriana.

Su organización familiar tradicional se basa en el nanicabo o grupo doméstico, constituido por dos o tres casas comunales (malocas) que agrupan a varias familias bajo el mismo techo. La unidad territorial o grupo local se denomina “waomoni”, que es la unión de varios “nanicabos”.

La historia del pueblo waorani ha estado marcada por su largo aislamiento físico y social. Su origen étnico y lingüístico sigue siendo fuente de especulación. Se ha sugerido que los Waorani podrían derivar grupos de origen tupi-guaraní (omaguas, yameos y oas) que se dispersaron en la zona entre los s. X al XVI. Estos grupos se desplazaron desde Brasil hacia el Pacífico, y ante la imposibilidad de cruzar la Cordillera de los Andes se habrían establecido en la selva amazónica, a lo largo de la ribera del río Napo (Cabodevilla, 1994). Pero hasta ahora no se han hallado evidencias suficientes para respaldar ninguna hipótesis. Tampoco a nivel lingüístico, se ha podido establecer ninguna relación entre su lengua -el Wao Tededo- con otras lenguas indígenas en Sudamérica.

En el momento del contacto, los clanes waorani estaban divididos en cuatro grupos principales: Guikitairi, Piyemori, Baiwairi y Wepeiri, que se encontraban dispersos en un territorio inmenso que iba de la frontera con Perú hasta las cabeceras del río Napo (Smith, 1996). Se caracterizaban por enfrentamientos entre clanes y otros grupos de diferente etnia, siendo una de las sociedades con mayor índice de homicidios en la historia (Yost y Paabo, 1981). A causa de los frecuentes desequilibrios demográficos, en esta sociedad era habitual la poligamia (poliginia y menos frecuentemente la poliandria), así como relaciones de carácter endogámico (con matrimonios entre primos cruzados).

El primer contacto con misioneros europeos no se produjo hasta el año 1956. Fue entonces cuando se inició un proceso de reagrupación y reducción de los clanes en un Protectorado, localizado en Tiweno. A finales de la década del 70, el 90% de la población waorani había sido reubicada en dicho asentamiento. Esta concentración espacial trajo consecuencias negativas para sus habitantes (enfermedades, las tensiones intergrupales o agotamiento de recursos), provocando una importante reducción poblacional. A raíz de ello, se inició la descentralización con la formación de varias comunidades nucleadas a lo largo de los ríos orientales de las provincias de Napo, Pastaza y Orellana.

Poco a poco el pueblo Waorani ha experimentado una progresiva apertura hacia el exterior, con importantes cambios en su estructura social, económica y cultural. En muchos grupos se ha pasado de un modelo de asentamiento tradicional nómada al sedentarismo temporal o total. También la poligamia tradicional ha dejado paso al matrimonio monogámico y en ocasiones exógamo (fuera del grupo), debido a las continuas relaciones interétnicas que se establecen, en especial, con individuos kichwas. Así hoy en día, a excepción de determinados poblados, los Waorani conviven en contacto con otros pueblos indígenas vecinos, así como colonos y trabajadores de la industria petrolera y maderera (Fuentes, 1997).

4.5. Interés genético de los grupos ecuatorianos

Estos grupos poblacionales son de gran interés desde el punto de vista genético-poblacional y antropológico. Por un lado, adquieren especial interés el estudio de las poblaciones indígenas y más concretamente, aquellas localizadas en regiones geográficas de difícil acceso para la recolección de muestras. Este es el caso de la población waorani, debido a sus peculiares características socioculturales: aislamiento geográfico y social, difícil acceso, bajo mestizaje y reciente contacto. Por otro lado, también resulta fundamental caracterizar a los grupos étnicos mayoritarios del país (mestizos y kichwas) para lograr una mejor aproximación al actual acervo genético de Ecuador.

En los últimos años se han realizado diversos estudios que han permitido reconstruir parte del mosaico genético ecuatoriano (Geppert *et al.*, 2011; Gómez-Pérez *et al.*, 2011; Cardoso *et al.*, 2008; González-Andrade *et al.*, 2008a; González-Andrade *et al.*, 2007; González-Andrade *et al.*, 2006b; González-Andrade *et al.*, 2003; Rickards *et al.*, 1999). No obstante, aún existe un importante vacío en lo referente a estudios que analicen el origen y las relaciones genéticas entre sus grupos étnicos, y con otras poblaciones americanas.

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS DEL TRABAJO

Como se ha comentado a lo largo de la introducción, existe un gran interés en el estudio de la variabilidad genética de las poblaciones humanas, tanto en genética de poblaciones como en genética forense.

Aún siendo pequeñas, las diferencias existentes entre las poblaciones están directamente relacionadas con la historia de cada población, ya que son el resultado de la historia demográfica de cada grupo poblacional y de la interacción de las distintas fuerzas evolutivas. Así pues, aplicando las herramientas moleculares adecuadas, a partir del estudio de la diversidad genética de grupos humanos actuales se pueden reconstruir aspectos de su pasado como su origen, migraciones y relaciones biológicas con otros grupos, entre otros. El interés despertado en este campo se ha traducido en la puesta en marcha de proyectos genómicos internacionales de gran repercusión como el proyecto *HapMap* o el Proyecto *Genographic*, así como en la caracterización de un gran número de poblaciones de todo el mundo.

El análisis de la diversidad genética humana en las poblaciones actuales ha permitido esclarecer numerosas cuestiones históricas, en distintas escalas temporales y espaciales. Así se ha podido determinar por ejemplo, que el origen del hombre se situaría en África y se remontaría aproximadamente a unos 150.000-200.000 años atrás (Cann *et al.*, 1987, Wallace *et al.*, 1999). Asimismo ha permitido estudiar la huella genética dejada en las poblaciones por las distintas migraciones a lo largo de la historia, como la llegada de los primeros hombres al continente americano o su posterior colonización por parte de los europeos.

Un campo íntimamente ligado a la genética de poblaciones es la genética forense, pues los estudios genético-poblacionales proporcionan los datos genéticos que sustentan en gran parte las bases de datos con fines forenses. Las bases de datos son herramientas imprescindibles en el campo forense, ya que son la base sobre la que se realiza la pertinente valoración estadística de la prueba de ADN en el marco de una investigación criminal, investigaciones de relaciones de parentesco o identificación de cadáveres. En este sentido, el conocimiento de la estructura poblacional de un país además de ser interesante desde un punto de vista antropológico, social y cultural, también surge como una necesidad dentro del campo de la genética forense. La existencia de una subestructuración o estratificación poblacional puede repercutir notablemente en la valoración de los resultados de la prueba del ADN, pues los diferentes grupos pueden diferir entre sí respecto a las frecuencias génicas o haplotípicas de los marcadores estudiados. Es por ello que también es importante caracterizar los distintos grupos étnicos presentes en las poblaciones para poder generar bases de datos lo más representativas posibles del país.

Por otro lado, el gran número de estudios realizados en poblaciones de todo el mundo para los marcadores de linaje (ADN mitocondrial y cromosoma Y) ha proporcionado un gran conocimiento sobre su filogeografía, es decir, sobre la distribución espacial de los distintos linajes a lo largo de la geografía. De esta forma, se han podido identificar linajes específicos de determinadas regiones del mundo. Esta especificidad puede ser usada con fines identificativos

en casos forenses, como una aproximación para estimar la procedencia de los individuos implicados en los hechos a partir de su material genético, aunque se debe actuar con cautela.

El gran número de estudios genético-poblacionales publicados en la última década pone de manifiesto el interés existente por caracterizar los distintos grupos humanos tanto con fines antropológicos como forenses. En especial han despertado un gran interés las poblaciones americanas, por los importantes procesos demográficos que han experimentado, así como por el elevado mestizaje y estratificación que pueden presentar. La población ecuatoriana es un buen ejemplo de ello, ya que como resultado de las distintas migraciones y mezclas entre grupos genéticamente diferenciados que se han producido a lo largo de su historia, actualmente constituye una sociedad multiétnica y pluricultural de gran interés genético.

En consonancia con lo anteriormente expuesto, el **objetivo general** de este trabajo fue estudiar la variabilidad genética de tres grupos étnicos de Ecuador (waorani, kichwa y mestizo) a partir de marcadores de interés forense y antropológico para ampliar el conocimiento genético poblacional de la región ecuatoriana y de su historia, así como para contribuir a las bases de datos genéticos con fines forenses.

Objetivos específicos

1. Estudiar la variabilidad del genoma mitocondrial y del cromosoma X en los tres grupos étnicos ecuatorianos.
2. Estudiar la variabilidad del cromosoma Y en los grupos kichwa y mestizo de Ecuador.
3. Estudiar la relación entre los grupos ecuatorianos, y con otras poblaciones de América.
4. Estudiar la influencia europea, nativa americana y/o africana en la composición genética de las poblaciones ecuatorianas.
5. Hacer una aproximación a la historia de las poblaciones ecuatorianas a través de los datos obtenidos.
6. Incrementar la información disponible sobre bases de datos de ADN mitocondrial y marcadores sexuales en Ecuador con fines forenses.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES Y MÉTODOS

En este estudio se han realizado los siguientes análisis:

- Análisis de las regiones HVSI y HVSII de la región control del ADNmt en individuos waorani (n=32).
- Análisis de la región control completa del ADNmt en individuos kichwas (n=65) y mestizos (n=42).
- Análisis de 10 STRs del cromosoma X en individuos waorani (n=32), kichwas (n=65) y mestizos (n=42)
- Análisis de STRs del cromosoma Y en individuos varones kichwas (n=27) y mestizos (n=28).
- Análisis de SNPs del cromosoma Y en individuos varones kichwas (n=27) y mestizos (n=28).

1. SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS

Para el presente trabajo se seleccionaron individuos pertenecientes a tres grupos étnicos de Ecuador: amerindio waorani, amerindio kichwa y mestizo. La asignación del grupo étnico se realizó en función de la autodefinición dada por cada individuo. Todas las personas incluidas en el análisis aceptaron participar voluntariamente en el estudio, con el correspondiente consentimiento informado.

1.1 Población amerindia waorani

Se tomaron hisopos de mucosa bucal a individuos waorani de comunidades localizadas en la región Amazónica de Ecuador (provincia de Pastaza). En total se recogieron muestras de 111 individuos (55 hombres y 56 mujeres) de 32 grupos familiares, quienes se autodefinieron como descendientes waorani. Se completó un formulario por individuo en el que se recogían sus datos personales (nombre, edad, sexo, lugar de nacimiento y grupo étnico), así como datos de las dos generaciones anteriores al individuo muestreado, tanto por vía materna como por vía paterna, con el fin de identificar individuos emparentados.

El estudio genético se realizó a partir de 32 individuos pertenecientes a grupos familiares distintos.

1.2. Población amerindia kichwa

Se obtuvieron muestras de sangre sobre papel de filtro FTA de 65 individuos no emparentados (38 mujeres y 27 hombres) de las provincias de la Amazonía Ecuatoriana, Pastaza, Napo y Orellana. Todos los individuos se autoreconocieron como Kichwas.

1.3. Población mestiza

Se obtuvieron muestras de sangre sobre papel de filtro FTA de 42 individuos no relacionados, nacidos y residentes en Ecuador, que se autodefinieron como Mestizos. De estos individuos, 28 fueron hombres y 14 mujeres.

2. EXTRACCIÓN DE ADN

Se realizó la extracción del ADN de los hisopos de saliva y de la sangre en FTA mediante Chelex[®] (Sigma-Aldrich, USA). Se trata de una resina de intercambio iónico que captura los iones metálicos multivalentes que catalizan la digestión del ADN (Walsh *et al.*, 1991). Se siguieron los protocolos que se describen a continuación:

2.1. Extracción de ADN a partir de hisopos de saliva

1. Cortar el hisopo y depositarlo en un tubo estéril de 1.5ml
2. Resuspender el hisopo cortado en 1 ml de agua
3. Incubar a temperatura ambiente durante 30 minutos
4. Girar el hisopo con una punta estéril durante 2 minutos para agitar las células del sustrato
5. Eliminar el hisopo
6. Centrifugar 1 min a 12.500 rpm
7. Sin estorbar el pellet eliminar y descartar todo el sobrenadante excepto unos 50 µl. Resuspender el pellet
8. Añadir 150 µl de Chelex 5% (Vol. final=200 µl)
9. Incubar 15-30 minutos a 56°C
10. Vortear 5-10 segundos a alta velocidad
11. Incubar 8 minutos en agua hirviendo
12. Vortear 5-10 segundos a alta velocidad
13. Centrifugar 2-3 minutos a 12.500rpm

2.2. Extracción de ADN a partir de manchas de sangre en FTA

1. Cortar un trozo de FTA de aproximadamente 4mm y depositarlo en un tubo estéril de 1.5ml
2. Añadir 500 µl de agua estéril
3. Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente con agitación suave
4. Centrifugar 5 minutos a 12.500 rpm
5. Descartar el sobrenadante dejando unos 50 µl. Resuspender el pellet
6. Añadir 150 µl de Chelex 5% (Vol. final=200 µl)
7. Incubar 8 minutos en agua hirviendo
8. Vortear 5-10 segundos a alta velocidad
9. Centrifugar 2-3 minutos a 12.500rpm

En todas las extracciones se incluyeron blancos de extracción para monitorizar posibles contaminaciones.

3. CUANTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se realizó la valoración fluorimétrica para determinar la concentración de ADN obtenido tras la extracción. Para ello se empleó el kit Quant-iT™ PicoGreen® dsDNA (Invitrogen, Barcelona). Se preparó una curva estándar con cantidades de ADN conocidas para el correcto calibrado del instrumento. Para cada 1 µl de muestra se añadió 98.75µl de buffer TE 1X con 0.25 µl de Quant-iT PicoGreen.

4. ANÁLISIS DEL ADN MITOCONDRIAL

Se realizaron los siguientes análisis:

- Análisis de los segmentos HVSI y HVSII en individuos waoranis (n=32).
- Análisis de la región D-Loop completa en individuos kichwas (n=65) y mestizos (n=42).

En todas las amplificaciones realizadas se ha incluido un negativo de PCR para descartar posibles contaminaciones de los reactivos de PCR.

4.1. Análisis de los segmentos HVSI y HVSII

Se analizaron los segmentos HVSI y HVSII de 32 individuos waoranis.

Amplificación por PCR

Se amplificaron los segmentos HVSI (16024-16365) y HVSII (64-340) de la región de control del ADNmt. Para realizar dicha amplificación se emplearon dos parejas de *primers* o cebadores (Tabla 1) que incluyen la región M13 para facilitar la reacción de secuenciación posterior (Vigilant *et al.*, 1989).

Tabla 1. Descripción de los cebadores utilizados en la amplificación de HVSI y HVSII. En negrita está marcada la región M13.

	Cebador	Secuencia cebadores (5'-3')
HVSI	H16401	5' TGT AAA ACG ACG GCC AGT TGA TTT CAC GGA GGA TGG TG-3'
	L15996	5' CAG GAA ACA GCT ATG ACC CTC CAC CAT TAG CAC CCA AAG C-3'
HVSII	H408	5' TGT AAA ACG ACG GCC AGT CTC TTA AAA GTG CAT ACC GCC A -3'
	L29	5' CAG GAA ACA GCT ATG ACC GGT CTA TCA CCC TAT TAA CCA C- 3'

La reacción para la amplificación de cada segmento se preparó con los siguientes reactivos:

Tabla 2. Reactivos para la amplificación de HVSI y HVSII.

Reactivos	Volumen
HotStar Taq Plus Master Mix (Qiagen)	10 µl
Cebador L (10µM)	0.4 µl
Cebador H (10µM)	0.4 µl
H2O	7.2 µl
Muestra	1 µl
Volumen final	10 µl

La amplificación se realizó en el termociclador 2720 (Applied Biosystems, EEUU) con las siguientes condiciones: 1) Desnaturalización: 95°C 5 min; 2) Amplificación de 30 ciclos: 94°C 45 seg, 60°C 60 seg y 72°C 60 seg; 3) Elongación final: 72°C 10 min y 4) Mantenimiento: 4°C.

Comprobación del producto de PCR

La comprobación de los productos de la PCR se llevó a cabo mediante el análisis electroforético en un gel de agarosa (2%), preparado añadiendo 0.8 g de agarosa (Sigma) en 40 ml de buffer TBE 1X pH8 (Sigma). Se añade bromuro de etidio al 0.01%. En cada pocillo del gel se deposita 2 µl de muestra amplificada y 3 µl de solución de carga (azul de bromofenol). A continuación se realiza la migración electroforética (voltaje constante de 100 V durante 20-30 minutos), para finalmente visualizar las bandas con luz UV y comprobar si se han amplificado los fragmentos de ADN.

Purificación post-PCR

Los productos de amplificación se purifican mediante los reactivos EXO-SAP (GE Healthcare, UK) para eliminar los dNTPS y cebadores restantes de la PCR, así como productos incompletos. Para ello se mezcla 0.8 µl de EXO y 1.6 µl de SAP con 20 µl de producto amplificado y se somete a 37°C 15 min y 80°C 15 min.

Reacción PCR de secuenciación:

Se utilizó el kit Big Dye Terminator v.1.1 (Applied Biosystems) para realizar la reacción PCR de secuenciación. Todo producto fue analizado en sentido directo y reverso empleando los siguientes cebadores y reactivos:

Tabla 3. Descripción de los cebadores utilizados para la reacción de secuenciación

Cebadores	Secuencia (5'-3')
M13F (<i>Forward</i>)	TGT AAA ACG ACG GCC AGT
M13R (<i>Reverse</i>)	CAG GAA ACA GCT ATG ACC

Tabla 4. Reactivos utilizados para la reacción de secuenciación.

Reactivos	Volumen
H ₂ O	5.75 µl
BDT Master Mix	1.5 µl
Buffer	0.75 µl
Cebador	1 µl
Producto amplificado	1 µl
Volumen final	10 µl

La reacción se realizó siguiendo las siguientes condiciones: 1) Desnaturalización inicial: 96°C 1min; 2) Amplificación de 25 ciclos: 96°C 10 seg, 50°C 5 seg y 60°C 4 min y 3) Mantenimiento: 4°C.

Purificación post-secuenciación.

Los productos de secuenciación fueron purificados mediante el kit IBIAN PCR-Clean up (IBIAN, Zaragoza). Para ello se añadió 250 µl de IBIAN Binding Reagent al producto PCR, y se centrifugó 4 minutos a velocidad máxima. Después se añadió 7 µl de IBIAN Elution Buffer y se centrifugó 1 minuto a 10.000 rpm.

Secuenciación de ADN por electroforesis capilar.

Se prepararon las muestras para poder cargarlas en el secuenciador, añadiendo 16µl de Hi-Di Formamida (Applied Biosystems) al producto de secuenciación anteriormente purificado. Los productos generados en la reacción de secuenciación fueron separados mediante electroforesis capilar en el analizador genético ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems), usando el polímero POP-4™ (Applied Biosystems).

4.2. Análisis de la región de control completa del ADNmt

Se analizó la región de control completa del ADNmt de los grupos poblacionales kichwa y mestizo de Ecuador. Esta región incluye los segmentos hipervariables HVSI, HVSII y HVSIII. La longitud total de la región es de 1.121pb, aunque el tamaño final oscila en función de la presencia de inserciones y/o deleciones.

Amplificación por PCR

Se amplificó la región de control del ADNmt (16024-576) mediante los siguientes cebadores (Cardoso *et al.*, 2010) y reactivos:

Tabla 5. Descripción de los cebadores utilizados en la amplificación de la región control de ADNmt.

Cebadores	Secuencia (5'-3')
L15988	AAGTCTTTAACTCCACCATTAGC
H616	GTGATGTGAGCCCGTCTAAAC

Tabla 6. Reactivos para la amplificación de la región control de ADNmt.

Reactivos	Volumen
HotStar Taq Plus Master Mix (Qiagen)	10µl
Cebador L (10µM)	0.4 µl
Cebador H (10µM)	0.4 µl
H2O	7.2 µl
Muestra	2 µl
Volumen final	20 µl

La amplificación se realizó en un termociclador 2720 (Applied Biosystems) con las siguientes condiciones: 1) Desnaturalización: 95°C 3 min; 2) Amplificación de 10 ciclos: 94°C 45 seg, 70-61°C 60 seg con un gradiente -1°C/ciclo y 72°C 90 seg; 3) Amplificación de 25 ciclos: 94°C 45 seg, 60°C 60 seg y 72°C 90 seg; 4) Elongación final: 72°C 10min y 5) Mantenimiento: 12°C.

Comprobación del producto de PCR

La comprobación de los productos de la PCR se llevó a cabo tal y lo descrito en el anterior apartado 4.1.

Purificación post-PCR

La purificación se realizó añadiendo 0.8 µl de EXO y 1.6 µl de SAP para 10 µl de producto amplificado. Posteriormente se incubó a 37°C 15 min y 80°C 15 min.

Reacción PCR de secuenciación: Big Dye Terminator

Se utilizó el kit Big Dye Terminator v.1.1 (Applied Biosystems) para realizar la reacción PCR de secuenciación. Se emplearon los siguientes cebadores y reactivos:

Tabla 7. Descripción de los cebadores utilizados en la secuenciación de la región control de ADNmt.

Cebadores	Secuencia (5'-3')	Referencia
L15988	AAGTCTTTAACTCCACCATTAGC	Cardoso <i>et al.</i> , 2010
L29	GGTCTATCACCTATTAA CCA C	Vigilant <i>et al.</i> , 1989
L16347	CGTACATAGCACATTACAGT	Handt <i>et al.</i> , 1996
H7	GTG GTT AAT AGG GTG ATA GAC	Vanecek <i>et al.</i> , 2004
H616	GTGATGTGAGCCCGTCTAAAC	Cardoso <i>et al.</i> , 2010

Tabla 8. Reactivos utilizados para la secuenciación en sentido *forward* (F) y *Reverse* (R)

Reactivos	F	R
BDT Master Mix	1.5 µl	3 µl
Buffer	0.75 µl	0.75 µl
Cebador	1 µl	1 µl
H2O	5.75 µl	4.25 µl
Producto amplificado	1 µl	1 µl
Volumen final	10 µl	10 µl

La PCR se realizó siguiendo las siguientes condiciones: 1) Desnaturalización inicial: 96°C 1 min; 2) Amplificación de 25 ciclos: 96°C 10 seg, 50°C 5 seg y 60°C 4 min y 3) Mantenimiento: 4°C.

Purificación post-secuenciación

Los productos de secuenciación se purificaron con columnas Dye-Ex 2.0 (Qiagen Inc., EEUU) de acuerdo con las instrucciones del fabricante:

- Vortear las columnas para resuspender la resina. Aflojar las tapas de los tubos y romper la parte de abajo de la *spin column*. Colocar las columnas en tubos de 2 ml.
- Centrifugar 3 minutos a 2700 rpm. Transferir la columna a un tubo de recolección.
- Lentamente aplicar la reacción de secuenciación (10-20 µl) al gel. Pipetear la reacción en el centro del gel sin tocar los lados de la columna ni del gel.
- Centrifugar 3 minutos a 2700 rpm. Retirar la columna del tubo de recolección.

Secuenciación de ADN por electroforesis capilar

La secuenciación se realizó en un analizador genético ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) tal y lo descrito en el anterior apartado 4.1.

Edición y alineamiento de las secuencias

La edición de las secuencias, es decir, la determinación del orden de las bases de una hebra de ADN, se realizó mediante el programa SeqScape v.2.5 (Applied Biosystems). Este programa alinea las distintas lecturas/secuencias del fragmento que se quiere secuenciar para obtener una secuencia consenso. Posteriormente permite comparar la secuencia consensuada con la secuencia revisada de Cambridge (rCRS), identificando así las posiciones polimórficas.

La región HVSI fue secuenciada y editada entre las posiciones 16024 y 16365; la región HVSII, entre la 64 y 340 y la región HVSIII entre la 438 y 574. La región de control completa fue editada de la posición 16024 a 576. Se realizó la doble secuenciación de las secuencias, es decir, se secuenció tanto en sentido directo como reverso, de manera que tras el alineamiento ambas lecturas deben coincidir plenamente.

5. ANÁLISIS DE LOS MARCADORES DEL CROMOSOMA Y.

Se realizó el análisis de Y-STRs y Y-SNPs de los individuos varones pertenecientes a las poblaciones kichwa (n=27) y mestiza (n=28). Estos análisis se llevaron a cabo en el Departamento de Genética Forense del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de la Universidad Charité de Berlín (Alemania).

5.1 Análisis de 17 STRs del cromosoma Y

Amplificación por PCR

La reacción de amplificación se llevó a cabo utilizando el Kit de PCR AmpFISTR® Yfiler™, que permite estudiar simultáneamente los siguientes Y-STRs: DYS456, DYS389I, DYS390, DYS389II, DYS458, DYS19, DYS385 a/b, DYS393, DYS391, DYS439, DYS635, DYS392, DYS448, GATA H4, DYS437 y DYS438, a partir de aproximadamente 1 ng de ADN. Se emplearon los siguientes reactivos:

Tabla 12. Reactivos utilizados para la amplificación de los Y-STRs

Reactivos	Volumen (µl)
AmpFISTR® Yfiler PCR Reaction mix	9.2 µl
AmpFISTR® Yfiler Kit primer set	5 µl
AmpliAq Gold® DNA Polimerasa (5U/µl)	0.5 µl
ADN	1ng
Agua	Volumen final de 20 µl

Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: 1) Desnaturalización: 95°C 11min; 2) Amplificación de 30 ciclos: 94°C 1min, 61°C 1min, 72°C 1min; 3) Extensión final: 60°C 80min, y 4) Mantenimiento: 4°C.

Detección de los fragmentos STRs:

Para detectar los fragmentos STRs se usó el secuenciador automático de ADN ABI PRISM® 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Se empleó el programa GeneMapper® ID Software v3.2.1 (Applied Biosystems) para la lectura de los resultados, y con la ayuda del *ladder* alélico se realizó la asignación alélica para cada marcador estudiado.

5.2 Análisis de SNPs del cromosoma Y

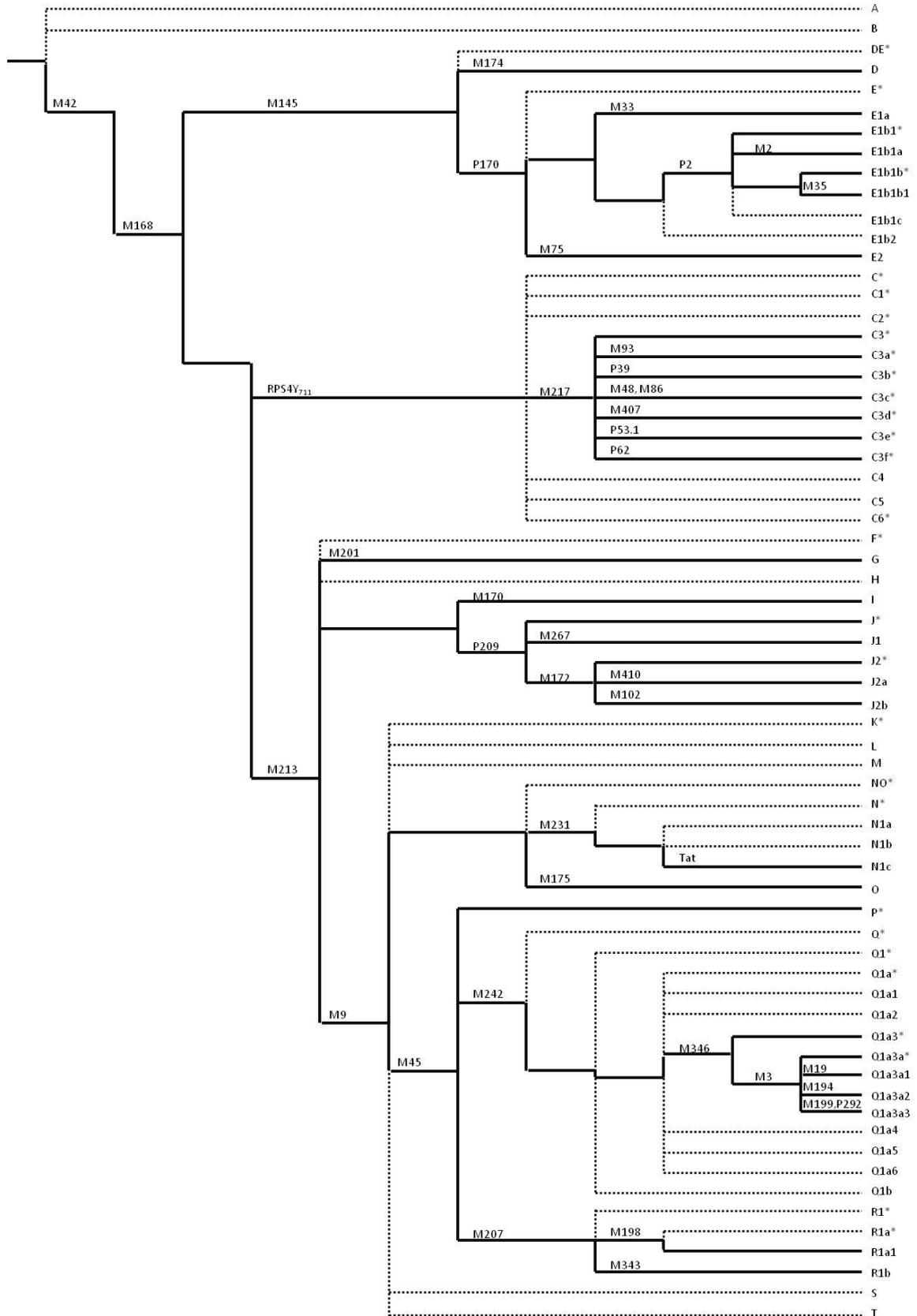
Se ha realizado el análisis jerárquico de SNPs del cromosoma Y (Figura 18) para realizar la asignación de haplogrupos en los individuos masculinos de la población kichwa y mestiza, previamente tipados con Y-STRs

Amplificación mediante PCR.

En primer lugar se analizaron la totalidad de las muestras con el panel de SNPs, nombrado como multiplex Mayor o Mx-M (Geppert *et al.*, 2011). Este análisis permitió una primera clasificación de las muestras en clados principales (B-T, C-T, DE, F-T, K-T) o bien directamente a haplogrupos específicos (C, D, E, P, Q, Q1a3a, R) (Tabla 13).

En los casos en que se determinó que la muestra pertenecía al clado FT o KT, sin poderse asignar un haplogrupo concreto, se aplicó el multiplex I (haplogrupos E, G, I, J) o el multiplex II (N, O y R) respectivamente (Geppert *et al* 2011). Posteriormente para profundizar en aquellas muestras con los haplogrupos E y J se utilizaron los multiplexes IV y V respectivamente (C.P de M. Geppert, Department of Forensic Genetics, Institute of Legal Medicine and Forensic Sciences, Charité-Universitätsmedizin, Berlín, Alemania). Para el estudio del haplogrupo C y Q se aplicaron los multiplexes III y VI respectivamente (Geppert *et al* 2011).

Figura 18. Relaciones filogenéticas entre los haplogrupos del cromosoma Y. En líneas sólidas se indican los haplogrupos estudiados. La mutación correspondiente aparece en cada rama.



Para el análisis jerárquico de los SNPs se utilizaron los siguientes cebadores y reactivos:

Tabla 13. Secuencias de los cebadores usados en la PCR, longitud del fragmento amplificado y los volúmenes de cebadores añadidos en cada reacción multiplex (Mx). Mx-M: Multiplex Mayor

Mx	SNP	Rama	Cebador <i>Forward</i> (5' - 3')	Cebador <i>Reverse</i> (5' - 3')	pb	SNP	μL
Mx-M	M42	B-T	GAGGGAGATAACTTGTGTCAG	GCAAGTTAAGTCACCAGCTC	92	A/T	0.125
	M207	R	CTATGGGGCAAATGTAAGTC	TGAAGGAAAAGTGAGTCTG	129	A/G	0.15
	M242	Q	TACGGCATAGAAAGTTTGTG	GAACAACTCTGAAGCGGTGG	133	C/T	0.1
	M168	C-T	TGTTTTGCAGAGAGCTTGGA	TGACTGTTTCAGTTTTATCCACAAA	150	C/T	0.1
	M3	Q1a3a	AGGGCATCTTTCATTTTAGG	GTGGATTTGCTTTGTAGTAGG	156	G/A	0.1
	M145	DE*	GCATACTTGCTCCACGACT	CCAGGAGCTCACAGTCACAA	173	G/A	0.1
	M174	D	TTCTCCGTCACAGCAAAAATG	ATGCAAAAAGGAGAAGGACAAGA	186	T/C	0.1
	M213	F-T	GGCCATATAAAAAACGAGCA	TGAATGGCAAATTGATTCCA	208	T/C	0.1
	RPS4Y ₇₁₁	C	GATTTTGTGGGTGGTGGTC	TGGCCAGCCTTATCTCTC	217	C/T	0.1
	M45	P*	GAGAGAGGATATCAAAAATTGG	TAGCTTACAACACAAGGATTC	229	G/A	0.1
	P170	E	CCTCTGTGCCTCTTTCAGA	ACAGCAGCAAGCAGGTCTTT	243	G/A	0.1
	M9	K-T	GCAGCATATAAACTTTCAGG	AAAACCTAACTTTGCTCAAGC	340	C/G	0.125
Mx-I (EIJ)	M168	C-T	TGTTTTGCAGAGAGCTTGGA	TGACTGTTTCAGTTTTATCCACAAA	150	C/T	0.125
	M170	I	TTGCAGCTCTTATTAAGTTATG	TAAACTTGCCAATTACTTTCAAC	167	A/C	0.3
	M145	DE	GCATACTTGCTCCACGACT	CCAGGAGCTCACAGTCACAA	173	G/A	0.125
	M174	D	TTCTCCGTCACAGCAAAAATG	ATGCAAAAAGGAGAAGGACAAGA	186	T/C	0.125
	M213	F-T	GGCCATATAAAAAACGAGCA	TGAATGGCAAATTGATTCCA	208	T/C	0.2
	P170	E	CCTCTGTGCCTCTTTCAGA	ACAGCAGCAAGCAGGTCTTT	243	G/A	0.3
	P209	J	TAGTCAAGAAGGCAGAATAGC	GTAAGGTATATTACTGAATCCAC	299	T/C	0.3
	M201	G	TATGCATTTGTGAGTATATGTC	GTTCTGAATGAAAGTTCAAACG	326	G/T	0.125
	M9	K-T	GCAGCATATAAACTTTCAGG	AAAACCTAACTTTGCTCAAGC	340	C/G	0.3
Mx-II (NOR)	M175	O	TAAACTCTCTGAATCAGGCATG	CTACTGATACCTTTGTTTCTG	71	-5pb	0.2
	Tat	N1c	GACTCTGAGTGTAGACTTGTGA	GAAGGTGCCGTAAGGTGTGAA	112	T/C	0.2
	M207	R	CTATGGGGCAAATGTAAGTC	TGAAGGAAAAGTGAGTCTG	129	A / G	0.2
	M198	R1a1	ATCCAGTCATGATGAGGTGG	ATGCCGTTTGCCTAGGTAG	138	C / T	0.2
	M343	R1b	TCTGATTCGCACAAGGCTC	CACCTTTGCCTCTTGCTC	194	C / A	0.2
	M231	N	CCTATTATCCTGGAAAATGTGG	GAATGGTGGCCAGAGTCTTT	219	G/A	0.2
	M45	P	GAGAGAGGATATCAAAAATTGG	TAGCTTACAACACAAGGATTC	229	G / A	0.2
	M9	K-T	GCAGCATATAAACTTTCAGG	AAAACCTAACTTTGCTCAAGC	340	C/G	0.2
Mx-III (C)	M407	C3d	TACTGAAAGTTGGGGACAGTC	GTGATAATCGCTTGCTCTTG	113	A/G	0.1
	M48	C3c	TCCCTTCCACTCTTAGCTTGA	CAATGTAAATGTTAGTATAAGGATG	123	A/G	0.2
	P53.1	C3e	AGATGTCACCTCCGTCTATG	TTACACTATGAACCAATCCAC	155	T/C	0.05
	M217	C3*	CTCCAAAATCCTCTCGTACAG	TGCTGTGGCTTTCATCAAAAATA	168	A/C	0.1
	P62	C3f	TTGCCCTTTCAGAACTCC	TAACAGTCCCCACCAGGAAG	194	-(T)/G	0.1
	RPS4Y ₇₁₁	C	GATTTTGTGGGTGGTGGTC	TGGCCAGCCTTATCTCTC	217	C/T	0.2
	M93	C3a	GAGGCAGGAGAATCACTTCAA	CTGGCTGAAAAGATAATGGTG	244	C/T	0.1
	M86	C3c	ATTTGCTACATACATAAGGTC	GCCACATTCACGGGGTTC	250	T/G	0.1
	P39	C3b	AAACCCTGTCTCTATGAAATAC	TTCTGTGAATTACAACCAGGCT	263	G/A	0.1

Mx-IV (E)	M2	E1b1a	AAGTCCAGACCCAGGAAGGT	ACAGCTCCCCCTTTATCCTC	162	A/G	0.1
	P2	E1b1	GCTCCAGCCATCTTTCTTA	CTTCTCATGAGGGTTTTGGA	180	G/A	0.1
	M33	E1a	CACAACCTTATTGGCTACGG	GTTGAAGCCCCAAGAGAGAC	190	A/C	0.1
	M35	E1b1b 1	GCATGGTCCCTTTCTATGGAT	GAGAATGAATAGGCATGGGTTTC	198	G/C	0.1
	M75	E2	TCCACACATCAAGAAACTTGC	TTGAACAGAGGCATTTGTGA	224	G/A	0.1
	P170	E	CCTCCTGTGCCTTTTCAGA	ACAGCAGCAAGCAGGTCTTT	243	G/A	0.1
Mx-V (J)	M102	J2b	GATAAAATTCACATAGTGAATGG	TGTTTGTTCCTTAATCTCTAGG	113	C/G	0.1
	M267	J1	TCTGGATAGCGGATTCGATG	AACTCGTAGCTTCAAGCAATC	137	T/G	0.1
	M410	J2a	AGTCCCAGGGAACGTGTG	ACCATGCAGGCTGGAAGAG	152	A/G	0.1
	P209	J	AAGAATGAAGAATTAGTCAAGAAG	CCAATTAGTCATCTTTCGCTG	161	T/C	0.1
	M172	J2	AGCCAGATGACCAGGATGC	ATCAGCCAGGTACAGAGAAAG	214	G/T	0.1
Mx-VI (Q)	M19	Q1a3a 1	GTTGCTGGTTGTACGGGGT	CCACAACTGATGTAGAGAC	115	T/A	0.1
	M194	Q1a3a 2	GCCTGGATGAGGAAGTGAG	ATACAGTCGTTGCCTTCTCG	128	T/C	0.075
	P292	Q1a3a 3	ATTCCAGTCATGATGAGGTGG	ATGCCGTTTGCCTAGGTTAG	134	-(T)/G	0.075
	M3	Q1a3a	AGGGCATCTTTCATTTTAGG	GTGGATTTGCTTTGTAGTAGG	156	G/A	0.1
	M199	Q1a3a 3	CCTGGTTGGATTCTGGTCTT	TGATTTCAAGGATTTGTTAGTCTT	196	-(C)/G	0.125
	M346	Q1a3	CAGCCAAGAGGACAGTAAG	TATGTAGGAGGATATTCTTCCA	89	G/C	0.1

Tabla 14. Reactivos empleados en cada multiplex (Mx). Mx-M (Multiplex Mayor).

Reactivos	Mx-M	Mx-I	Mx-II	Mx-III	Mx-IV	Mx-V	Mx-VI
HotStar Master Mix	3.6 µL	3 µL	3 µL	3.1 µL	3 µL	3 µL	3 µL
Primer Mix	2.6 µL	1.9 µL	1.6 µL	2.1 µL	1.2 µL	1 µL	1.15 µL
Agua	-	1.1 µL	0.4 µL	-	0.8 µL	1 µL	0.85 µL
ADN	1 µL						

Las condiciones de amplificación fueron: 1) Desnaturalización 95°C 15 min; 2) Amplificación de 32 ciclos: 94°C 30 seg, 57°C* 1.30min, 72°C 1 min y 3) Elongación final: 72°C 10 min. *Para Mx-III y Mx-IV se cambió la temperatura de 57°C a 60°C, y para Mx-V a 61°C.

Comprobación del producto amplificado

Se comprobaron los productos amplificados mediante un gel de agarosa al 4.5% al que se añadió 7 µL de Bromuro. En cada pocillo se cargó 2 µL de la muestra y 4 µL de solución de carga. La migración se realizó a 100 V durante 1 hora. Finalmente se visualizaron las bandas de amplificación con luz UV.

Purificación post-PCR

Se añadió 2 µL del compuesto EXOSAP-IT (USB® Corporation, EEUU) al producto amplificado y se procedió a su incubación a 37°C durante 15 minutos y a 85°C durante otros 15 minutos.

Reacción PCR de minisequenciación

Una vez realizada la amplificación de los SNPs por PCR se llevó a cabo una reacción de minisequenciación mediante el kit comercial SNaPshot® Multiplex System (Applied Biosystems). A continuación se indican los cebadores y reactivos empleados en la reacción:

Tabla 15. Secuencias de los cebadores usados (en negrita se marca la cola añadida), longitud del fragmento amplificado, orientación *forward* (F) o *reverse* (R) y concentraciones finales de los cebadores.

Mx	SNP	Secuencia cebador (5' - 3')	pb	F/R	μL
Mx- M	RPS4Y ₇₁₁	GGCAATAAACCTTGGATTC	20	F	0.3
	M207	ATGTAAGTCAAGCAAGAAATTTA	23	F	0.1
	M45	TCTGACAACAGAAAGGAGCTTTTGC	25	R	0.3
	M174	CTGACAAGCACCCCTCACTTCTGCACT	27	R	0.1
	M3	GTGAAAGTCTGACAACACCTCTGGACTGA	30	R	0.35
	M213	AAGTCTGACAAGAACTTAAAACATCTCGTTAC	32	R	0.15
	M242	ACGTCGTGAAAGTCTGACAAGGTGACCAAGGTGCT	35	F	0.1
	P170	CGTCGTGAAAGTCTGACAATTCCTTTGGCAAAGTGA	37	F	0.3
	M9	GGTGCCACGTCGTGAAAGTCTGACAAGCCTAAGATGGTTGAAT	43	F	0.3
	M42	TGCCACGTCGTGAAAGTCTGACAATCAGATTTAGGACACAAAAGC	45	F	0.1
	M145	CTAGGTGCCACGTCGTGAAAGTCTGACAAGACACCAGAAAGAAAGGC	47	F	0.1
	M168	AACTAGGTGCCACGTCGTGAAAGTCTGACAAGTATGTGTTGGAGGTGAGT	50	F	0.1
Mx-I	M201	AATAATCCAGTATCAACTGAGG	22	F	0.09
	M174	CTGACAAGCACCCCTCACTTCTGCACT	27	R	0.09
	P209	AAGTCTGACAAACTTCATCTCTGAGTCATT	30	F	0.23
	M213	AAGTCTGACAAGAACTTAAAACATCTCGTTAC	32	R	0.09
	P170	CGTCGTGAAAGTCTGACAATTCCTTTGGCAAAGTGA	37	F	0.14
	M9	GGTGCCACGTCGTGAAAGTCTGACAAGCCTAAGATGGTTGAAT	43	F	0.27
	M145	CTAGGTGCCACGTCGTGAAAGTCTGACAAGACACCAGAAAGAAAGGC	47	F	0.09
	M168	AACTAGGTGCCACGTCGTGAAAGTCTGACAAGTATGTGTTGGAGGTGAGT	50	F	0.09
M170	AACTAGGTGCCACGTCGTGAAAGTCTGACAATTTACTTAAAATCATTGTTC	53	F	0.27	
Mx-II	M343	AAGAGTGCCCTCGTGTCCA	20	F	0.18
	M207	ATGTAAGTCAAGCAAGAAATTTA	23	F	0.18
	M45	TCTGACAACAGAAAGGAGCTTTTGC	25	R	0.18
	M198	GACAATGTACTTAAATTAACCTAAAAGA	28	R	0.18
	M175	AAAGTCTGACAACACATGCCTTCTCACTTCTC	32	F	0.18
	M231	TCGTGAAAGTCTGACAATTTACTGTTTCTACTGCTTTC	37	F	0.18
	M9	GGTGCCACGTCGTGAAAGTCTGACAAGCCTAAGATGGTTGAAT	43	F	0.18
	Tat	GCCACGTCGTGAAAGTCTGACAACCTGAAATATTAATTAACAAC	48	R	0.18
M343	AAGAGTGCCCTCGTGTCCA	20	F	0.18	
Mx-III	RPS4Y ₇₁₁	GGCAATAAACCTTGGATTC	20	F	0.27
	M48	CAATTAGGATTAAGAATATGAT	22	F	0.27
	P53.1	ACAAGCAGAATCTGAACATATCTCC	25	F	0.09
	M93	CTGACAAAAAGCTTGGTGTGACTTGG	27	R	0.18
	M217	AGTCTGACAAGTATTTTCTCTGAAGAGTT	32	R	0.18
	M407	CGTGAAAGTCTGACAACCTAAATCAACTTCTCCTTTGG	37	R	0.18
	P39	GCCACGTCGTGAAAGTCTGACAACGGGAGGTGGAGGTTAT	40	F	0.14

	M86	GTGCCACGTCGTGAAAGTCTGACAACAAGTGGTTAACACACAAGC	45	F	0.18
	P62	TAGGTGCCACGTCGTGAAAGTCTGACAATACAGCACTTCTCATGGAAAGT	50	F	0.18
Mx-IV	P2	GCCCCTAGGAGGAGAA	16	F	0.1
	M35	ACAAGGAGTCTCTGCCTGTGTC	22	R	0.3
	M33	GTTACAAAAGTATAATATGTCTGAGAT	27	R	0.2
	M75	AGTCTGACAAAGACAATTATCAAACCACATCC	32	F	0.1
	P170	CGTCGTGAAAGTCTGACAATTTCTTTGGCAAAGTGA	37	F	0.2
	M2	AAGTCTGACAAACCCCTTTATCCTCCACAGATCTCA	37	R	0.2
	M410	TGAGATGGCACATGTTTCT	19	R	0.05
Mx-V	M267	CAAGATGGAAGCATTTTTGTAATA	25	F	0.1
	P209	AAGTCTGACAAACTTCATCTCTGAGTCATT	30	F	0.1
	M172	GAAAGTCTGACAAAATAATTGAAGACCTTTTAAGT	35	R	0.2
	M102	GTCGTGAAAGTCTGACAACCTATTGTCTTTTCACATCTTA	40	R	0.2
	P292	ATGAGAAATTGCTGTACTTA	20	R	0.14
Mx-VI	M199	GAAATGTTAAAATGGCTTACACTTG	25	F	0.18
	M3	GTGAAAGTCTGACAACACCTCTGGGACTGA	30	R	0.32
	M19	GCCACGTCGTGAAAGTCTGACAAAGACATCTGAAACCCAC	40	R	0.09
	M194	GCCACGTCGTGAAAGTCTGACAAAACATACAGGGAGTGTTTTTT	45	F	0.14

Tabla 16. Reactivos empleados para la reacción de minisequenciación para cada multiplex.

Reactivos	Mx-M	Mx-I	Mx-II	Mx-III	Mx-IV	Mx-V	Mx-VI
SBE Reaction Mix	1.5 µL	1.5 µL	1.5 µL	1.5 µL	1.5 µL	1.5 µL	1.5 µL
Primer Mix	2.3 µL	1.5 µL	1.6 µL	1.25 µL	1.1 µL	0.65 µL	1.15 µL
Agua	-	1.5 µL	1.4 µL	0.75 µL	1.9 µL	2.35 µL	0.85 µL
ADN purificado	1 µL						

Las condiciones de amplificación fueron: 1) 25 ciclos de 96°C 10 min, 50°C 5 seg y 60°C 30 seg, y 2) Mantenimiento a 4°C.

Purificación post-minisequenciación

Se añade 1µl de SAP o *Shrimp Alkaline Phosphatase* (USB® Corporation) a cada producto, y se realiza una incubación a 37°C durante 60 minutos seguida de 15 minutos a 85°C.

Detección de los SNPs

Se prepararon las muestras añadiendo 1 µL de producto purificada con 19.8 µL de Formamida y 2 µL LIZ-120 (Applied Biosystems), antes de introducirlas en un secuenciador ABI PRISM® 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Los resultados fueron analizados mediante el programa GeneMapper® ID Software v3.2.1 (Applied Biosystems).

6. ANÁLISIS DEL CROMOSOMA X

Se estudiaron los siguientes 10 X-STRs: DXS8378, DXS9902, DXS7132, DXS9898, DXS6809, DXS6789, DXS7133, GATA172D05, GATA31E08 y DXS7423 (Tabla 13) mediante el multiplex propuesto por el GHEP-ISFG (Gusmao *et al.*, 2008).

Tabla 17. Características de los 10X-STRs. Mb=Megabase, cM=Centimorgan

Marcador	Localización Citogenética	Localización Física [Mb]	Localización Genética [cM]
DXS8378	p 22.31	9.330	20.21
DXS9902	p 22.2	15.234	32.32
DXS7132	centrómero	64.572	90.75
DXS9898	q 21.31	87.682	101.29
DXS6809	q 21.33	94.825	108.12
DXS6789	q 21.33	95.336	108.47
DXS7133	q 22.3	108.928	118.18
GATA172D05	q 23	113.061	124.36
GATA31E08	q 27.1	140.062	160.54
DXS7423	q 28	149.460	184.19

Amplificación por PCR

Para realizar la amplificación de los STRs se utilizaron los siguientes cebadores y reactivos:

Tabla 18. Secuencia y marcaje de los cebadores. [1] Edelman *et al.*, 2002a, [2] Gomes *et al.*, 2007b, [3] Gusmao *et al.*, 2008.

Locus	Secuencia cebador (5'-3')	Fluorocromo	Ref.
DXS8378	TTAGGCAACCCGGTGGTCC ACAAGAACGAACTCCAACCTC	6-FAM	[1]
DXS9898	CGAGCACACCTACAAAAGCTG TAGGCTCACCTCACTGAGCA	6-FAM	[2]
DXS7133	CACTTCCAAAAGGGGAAAAA ACTTGTACTTGGTGGGAGGAA	6-FAM	[1]
GATA31E08	GCAAGGGGAGAAGGCTAGAA TCAGCTGACAGAGCACAGAGA	6-FAM	[3]
GATA172D05	TAGTGGTGATGGTTGCACAG ATAATTGAAAGCCCGGATTC	VIC	[1]
DXS7423	GTCTTCCTGTCATCTCCCAAC TAGCTTAGCGCCTGGCACATA	VIC	[1]
DXS6809	TCCATCTTTCTGAACCTTCC TGCTTTAGGCTGATGTGAGG	VIC	[2]
DXS7132	TCCCCTCATCTATCTGACTG CACTCCTGGTGCCAACTCT	NED	[2]
DXS9902	CTGGGTGAAGAGAAGCAGGA GGCAATACACATTCATATCAGGA	NED	[1]
DXS6789	CTTCATTATGTGCTGGGGTAAA ACCTCGTGATCATGTAAGTTGG	NED	[2]

Tabla 19. Reactivos para la amplificación de los 10 X-STRs.

Reactivos	Volumen
2x Multiplex Master Mix (Qiagen)	5 µl
10X Primer mix (10µM)	0.4 µl
H2O	2.6 µl
Muestra	2 µl (1ng/µl)
Volumen final	10 µl

La amplificación se realizó en un equipo GeneAmp 9700 Gold (Applied Biosystems) siguiendo las siguientes condiciones de amplificación: 1) Desnaturalización inicial 95°C 15 min; 2) Amplificación 10 ciclos de 94°C 30seg, 60°C 90 seg y 72°C 60 min, y 20 ciclos de 94°C 30 seg, 58°C 90 seg y 72°C 60min; y 3) Extensión final 60°C 60 min.

Análisis de los fragmentos de ADN amplificados

Previo al análisis se prepararon las muestras, añadiendo 12.5 µl de Formamida Hi-Di™ (Applied Biosystems) y 0.5 µl de GeneScan LIZ500® (Applied Biosystems) por cada 1 µl de ADN amplificado, y se sometieron a una desnaturalización de 6 minutos a 96°C y 4 minutos a 4°C.

Posteriormente las muestras se introdujeron en el analizador genético ABI PRISM® 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Los resultados fueron analizados con el programa GeneMapper® ID Software v3.2.1 (Applied Biosystems).

7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

7.1. ADN mitocondrial

Se realizó el análisis estadístico de los haplotipos obtenidos en las tres poblaciones en estudio.

Parámetros de diversidad

Mediante el programa Arlequin v3.5.1.2 (Excoffier *et al* 2005) se determinó el número de haplotipos diferentes, número y porcentaje de sitios polimórficos, así como otros parámetros de diversidad y de interés genético que se presentan a continuación:

- **Diversidad de secuencias (H):** es la probabilidad de que dos haplotipos escogidos al azar sean diferentes. Se calcula mediante la fórmula de Nei (Nei, 1987):

$$\hat{H} = \frac{n}{n-1} \left(1 - \sum_{i=1}^k p_i^2\right)$$

$$V(\hat{H}) = \frac{2}{n(n-1)} \left\{ 2(n-2) \left[\sum_{i=1}^k p_i^3 - \left(\sum_{i=1}^k p_i^2 \right)^2 \right] + \sum_{i=1}^k p_i^2 - \left(\sum_{i=1}^k p_i^2 \right)^2 \right\}$$

Siendo n el número de secuencias analizadas, k el número de haplotipos identificados, y p_i la frecuencia del haplotipo i en la muestra.

La desviación estándar es calculada como: $s.d(\hat{H}) = \sqrt{V(\hat{H})}$

- **Diversidad nucleotídica (π_n):** describe la probabilidad de que dos nucleótidos homólogos elegidos al azar en una población sean diferentes. Se calcula como el número medio de diferencias entre parejas de secuencias (π) dividido por la longitud en pares de bases de la secuencia estudiada (Tajima, 1993). Las fórmulas correspondientes para este parámetro y su varianza asociada son:

$$\hat{\pi}_n = \frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j<i}^k p_i p_j \hat{d}_{ij}}{L} \quad V(\hat{\pi}_n) = \frac{n+1}{3(n-1)L} \hat{\pi}_n + \frac{2(n^2+n+3)}{9n(n-1)} \hat{\pi}_n^2$$

Dónde p_i y p_j son las frecuencias en la muestra de los haplotipos i y j , d_{ij} un estimador del número de mutaciones surgidas desde la divergencia de dichos haplotipos, y L la longitud de la secuencia analizada.

La desviación estándar es calculada como: $s.d(\hat{\pi}_n) = \sqrt{V(\hat{\pi}_n)}$

- **Número medio de diferencias entre pares de secuencias (π):** es el número medio de diferencias nucleotídicas encontradas entre todos los pares de secuencias de una población. Se calcula:

$$\hat{\pi} = \frac{n}{n-1} \sum_{i=1}^k \sum_{j<i}^k p_i p_j \hat{d}_{ij} \quad V(\hat{\pi}) = \frac{3n(n+1)\hat{\pi} + 2(n^2+n+3)\hat{\pi}^2}{11(n^2-7n+6)}$$

Donde p_i y p_j son las frecuencias de los haplotipos i y j , respectivamente; d_{ij} es una estima del número de mutaciones ocurridas desde la divergencia de dichos haplotipos; y k es el número de haplotipos.

La desviación estándar es: $s.d(\hat{\pi}) = \sqrt{V(\hat{\pi})}$

- **Probabilidad de coincidencia al azar (PC):** es un parámetro de interés forense que indica la probabilidad de que dos individuos de una misma población presenten el mismo haplotipo por azar. Está relacionado con π , a mayor número de diferencias entre las secuencias de una población, menor será la probabilidad de coincidencia por azar. Se calcula como:

$$PC = \sum_i^h x_i^2$$

Donde x_i es la frecuencia del haplogrupo i y h es el número de haplotipos distintos identificados en la muestra.

- **Poder de discriminación (PD):** es otro parámetro de utilidad en la genética forense. Se obtiene restando el valor de probabilidad de coincidencia al azar a la unidad.

Determinación de haplogrupos

Se han clasificado los haplotipos obtenidos en haplogrupos siguiendo la metodología propuesta por Achilli *et al.* (2008), y la versión más actualizada de Phylotree v.12 (van Oven y Kayser, 2009). Para comprobar su correcta asignación se emplearon los programas *mtmanager* (disponible en la web <http://mtmanager.yonsei.ac.kr/>) y *Haplogrep* (<http://haplogrep.uibk.ac.at/>) (Kloss-Brandstätter *et al.*, 2010), que asignan automáticamente el haplogrupo de ADNmt más probable dado un haplotipo determinado (mediante un algoritmo matemático).

Redes promedio

La construcción de las redes promedio se efectuó con el programa Network v4.6. (www.fluxus-engineering.com/) mediante el algoritmo *Median Joining*. Se empleó el algoritmo de Máxima Parsimonia para facilitar la interpretación de las redes con excesivas reticulaciones. Debido a la diferente tasa de mutación que presentan los polimorfismos, se otorgó un mayor peso relativo a los polimorfismos menos frecuentes, ya que su presencia puede tener una mayor implicación filogenética (Brandstätter *et al.* 2008).

Análisis interpoblacional

Se realizaron los siguientes análisis mediante el programa Arlequin:

- Test exacto de diferenciación poblacional

El test exacto de diferenciación poblacional comprueba la hipótesis de que la distribución de haplotipos entre pares de poblaciones haya sido al azar (Raymond y Rousset, 1995). Se construye una tabla de contingencia basada en las frecuencias haplotípicas y se estima la probabilidad de observar una tabla parecida a ésta bajo la hipótesis nula de ausencia de diferenciación. Básicamente este test va a indicar si existen diferencias significativas entre las frecuencias de haplotipos de las poblaciones analizadas. El test se realizó con 10.000 repeticiones de la cadena de Markov.

- Análisis Molecular de Varianza (AMOVA)

El análisis molecular de la varianza (AMOVA) permite estudiar la estructura genética de las poblaciones. La asignación de categorías permite construir agrupaciones en las poblaciones y determinar el grado de estructuración de la variación genética observada. Se obtiene la variación genética intergrupala (*F_{ct}*), interpoblacional (*F_{st}*) e intragrupal (*F_{sc}*).

- Distancias genéticas y escalamiento multidimensional

A partir de las frecuencias haplotípicas se ha calculado la matriz de distancias genéticas basadas en *F_{st}*. En este test se ha usado un nivel de significación de 0.05, de forma que, dada una matriz de valores de P, todo resultado entre pares de poblaciones que sea menor de 0.05 será estadísticamente significativo.

Las matrices de distancia genética basadas en *F_{st}* han sido representadas mediante el escalamiento multidimensional (MDS) (Kruskal y Wish 1978), que permite una representación visual de los patrones de distancias entre un conjunto de poblaciones. A cada población se le

asigna una posición relativa en el espacio, reflejando el grado de proximidad existente entre las poblaciones. Este análisis se ha realizado mediante el programa SPSS versión 17.0.

- Poblaciones recopiladas de la bibliografía para estudios comparativos

Con fines comparativos se recopilaron de la bibliografía 2412 secuencias HVSI de 42 poblaciones de todo el continente americano (Tabla 20). No se pudo utilizar el haplotipo HVSI-HVSII por la falta de datos de HVSII en un gran número de casos.

Tabla 20. Poblaciones recopiladas de la bibliografía para realizar los análisis comparativos. N (número de haplotipos considerados).

POBLACIÓN	N	Referencia	POBLACIÓN	N	Referencia
Sudamérica	1104		Mesoamérica	720	
Salta (Argentina)	18	Tamm <i>et al.</i> , 2007	Maya (México)	56	Sandoval <i>et al.</i> , 2009
Catamarca (Argentina)	24		Otomi (México)	68	
Aymara (Bolivia)	96	Gaya-Vidal <i>et al.</i> , 2010	Xochimilco (México)	35	
Quechua(Bolivia)	93		Chihuahua (México)	87	Green <i>et al.</i> , 2000
La paz (Bolivia)	97	Afonso <i>et al.</i> , 2010	Huetar (Costa Rica)	27	Santos <i>et al.</i> , 1994
Gaviao (Brasil)	27	Ward <i>et al.</i> , 1996	Cuba	81	Mendizabal <i>et al.</i> , 2008
Xavante (Brasil)	44		El Salvador	87	Salas <i>et al.</i> , 2008
Zoro (Brasil)	29		Nicaragua	145	Núñez <i>et al.</i> , 2010
Yanomami (Brasil)	71	Easton <i>et al.</i> , 1996	Ngöbe (Panamá)	61	Tamm <i>et al.</i> , 2007
Yagán (Chile)	15	Moraga <i>et al.</i> , 2000	Kuna (Panamá)	34	
Mapuche (Chile)	58		Emberá (Panamá)	39	
Arsario (Colombia)	48	Tamm <i>et al.</i> , 2007	Norteamérica	588	
Coreguaje (Colombia)	27	Tamm <i>et al.</i> , 2007	Dogrib (Canadá)	23	Tamm <i>et al.</i> , 2007
Ijka (Colombia)	29		Haida(Canadá)	41	Ward <i>et al.</i> , 1993
Kogui (Colombia)	48		Aleut (EEUU)	163	Rubicz <i>et al.</i> , 2003
Wayúu (Colombia)	42		Apaches (EEUU)	177	Budowle <i>et al.</i> , 2002
Colombia	98	Salas <i>et al.</i> , 2008	Navajo(EEUU)	142	
Cayapa (Ecuador)	33	Tamm <i>et al.</i> , 2007	Yakima(EEUU)	42	Shields <i>et al.</i> , 1993
Secoya-Siona (Ecuador)	12		Cofán (Ecuador)	4	
Achés (Paraguay)	63	Schmitt <i>et al.</i> , 2004			
San Martín (Perú)	22	Fuselli <i>et al.</i> , 2003			
Arequipa (Perú)	22				
Tayacaja (Perú)	61				
Quechua (Perú)	23	Sandoval <i>et al</i> 2009			

7.2. Cromosoma Y

Parámetros de diversidad

Mediante el programa Arlequin se calcularon las frecuencias alélicas y la diversidad génica para cada Y-STR analizado, las frecuencias y diversidad haplotípica del conjunto de loci, y el número promedio de diferencias entre individuos. El poder de discriminación del sistema se obtuvo dividiendo el número de haplotipos diferentes observados en la población entre el número total de muestras.

Determinación de haplogrupos

La asignación del haplogrupo se realizó en función de los SNPs del cromosoma Y estudiados. Las frecuencias de haplogrupos se estimaron por medio de recuento directo.

Red promedio

Se ha obtenido la red promedio o *network* filogenético para los haplotipos identificados mediante el programa Network v.4.6.

Análisis interpoblacional

- **Haplotipos compartidos** entre las poblaciones estudiadas y con las poblaciones recogidas en la YHRD (<http://www.yhrd.org>) versión 37, con más de 97.575 haplotipos de 108 países.
- **Test Exacto de diferenciación poblacional** basado en frecuencias haplotípicas y análisis **AMOVA** (análisis de la varianza molecular) para evaluar la estructuración genética que presenta la población mediante Arlequin. En estos dos análisis también se incluyeron otras poblaciones ecuatorianas, caracterizadas en otros estudios: dos grupos waoranis (Geppert *et al.*, 2011; González-Andrade *et al.*, 2009), dos grupos mestizos (Baeza *et al.*, 2007; González-Andrade *et al.*, 2008a), un grupo kichwa, y un grupo afroecuatoriano (González-Andrade *et al.*, 2008a). Dicho análisis se limitó a los 12 Y-STRS comunes tipados para dichos grupos.
- **Distancias genéticas basadas en el estadístico *RST*** (Slatkin, 1995) mediante el programa Arlequin. Para determinar las relaciones genéticas de los grupos étnicos ecuatorianos en estudio con otras poblaciones recopiladas de la bibliografía (Tabla 21). Se tuvieron en cuenta todos los marcadores Y-STRS estudiados con excepción de DYS385, y en el caso del sistema DYS389II se sustrajo el número de repeticiones en el locus DYS389I del número de repeticiones en el locus DYS389II para obtener el valor real para este último (DYS389b).
- **Poblaciones recopiladas de la bibliografía para estudios comparativos**
Para realizar la comparación de los haplotipos se recopilaron de la bibliografía un total de 3472 haplotipos del cromosoma Y de poblaciones americanas, africanas y asiáticas analizados para los 17 Y-STRs estudiados en este trabajo.

Tabla 21. Recopilación de haplotipos de la bibliografía. Se indica la población, grupo étnico al que pertenecen, número de individuos (N) y referencia bibliográfica.

Población (País)	Grupo	N	Referencia
Athabaskan (Alaska, USA)	Nativo americano	196	Davis <i>et al.</i> , 2011
Inupiat (Alaska, USA)	Nativo americano	196	
Yupik (Alaska, USA)	Nativo americano	196	
Colla (Argentina)	Nativo americano	56	Toscanini <i>et al.</i> , 2011
Toba (Argentina)	Nativo americano	19	
Aymara (Bolivia)	Nativo americano	58	Gaya-Vidal <i>et al.</i> , 2011
Quechua (Bolivia)	Nativo americano	55	
Beni (Bolivia)	Nativo americano	86	Tirado <i>et al.</i> , 2009
Santa Catarina (Brasil)	Mestizo	109	Caine <i>et al.</i> , 2010
Emberá (Colombia)	Nativo americano	24	YHRD
Caribe (Colombia)	Mestizo	305	Romero <i>et al.</i> , 2008
Santander (Colombia)	Mestizo	192	Diaz Sarmiento, 2010
Bogotá (Colombia)	Mestizo	196	
EE.UU	Afroamericano	259	Schoske <i>et al.</i> , 2004
Waorani (Ecuador)	Nativo americano	34	Geppert <i>et al.</i> , 2011
Barcelona (España)	Caucásico	247	Sanchez <i>et al.</i> , 2007
Guinea	Africano	33	Arroyo-Pardo <i>et al.</i> , 2005
Maya (Guatemala)	Nativo americano	110	Martínez-González <i>et al.</i> , 2011
Guatemala	Mestizo	115	
Yucatán (México)	Mestizo	170	Rangel-Villalobos <i>et al.</i> , 2009
Nicaragua	Mestizo	149	Nuñez <i>et al.</i> , 2010
Norte de Portugal	Caucásico	152	Pontes <i>et al.</i> , 2007

7.3. Cromosoma X

Parámetros de diversidad

Las frecuencias alélicas fueron estimadas mediante el método de conteo directo de los alelos hallados en cada locus. Para determinar si habían diferencias significativas entre la distribución de frecuencias alélicas de los loci en hombres y mujeres se empleó el test exacto de diferenciación, aplicando la corrección de Bonferroni para tests múltiples (valores significativos de $P < 0.005$) con el programa Arlequin. También se utilizó este programa para la estima del número de haplotipos y de haplotipos compartidos, diversidad de cada locus, desequilibrio de ligamiento en los varones y equilibrio de Hardy-Weinberg en las muestras femeninas. El umbral de significación fue fijado según el ajuste de Bonferroni.

Los parámetros de eficiencia forense calculados fueron el Poder de Discriminación en hombres (PD_m) y en mujeres (PD_f) y la Probabilidad de Exclusión de la Paternidad “a priori” (PE) según se trate de tríos supuesto padre-madre-hija o solamente supuesto padre-hija. Las fórmulas utilizadas en cada caso han sido las propuestas por Desmarais *et al.* (1998):

$$PD \text{ (mujeres)} = 1 - 2 \sum p_i^2 + \sum p_i^4$$

$$PD \text{ (hombres)} = 1 - \sum p_i^2$$

$$PE \text{ (trío)} = 1 - \sum p_i^2 + \sum p_i^4 - \sum p_i^2$$

$$PE \text{ (spadre-hija)} = 1 - 2 \sum p_i^2 + \sum p_i^3$$

Análisis interpoblacional

Se realizó la comparación de las tres poblaciones ecuatorianas con otras poblaciones del continente americano estudiadas para el mismo decaplex de microsátélites del cromosoma X. En este estudio también se han incluido poblaciones de origen europeo y africano, para poder valorar su contribución al acervo genético ecuatoriano.

En total se recopilaron datos de la bibliografía de 18 poblaciones: Cantabria y Galicia (España); Norte y Centro de Portugal; Sao Paulo, Rio de Janeiro, Paraná y Mato Grosso do Sul (Brasil); Buenos Aires, Córdoba, Entre Ríos, Misiones, Río Negro, Colla y Toba (Argentina); Antioquia (Colombia); Costa Rica, y Uganda (Gomes *et al.*, 2009; Gusmao *et al.*, 2009; Toscanini *et al.*, 2009)

Las distancias genéticas entre pares de poblaciones se basaron en el *Fst* (número de alelos diferentes), en vez del método *Rst* (basado en la suma del cuadrado de las diferencias de tamaño de los alelos), por la presencia de alelos intermedios de acuerdo a lo propuesto por Pereira *et al* (2007) .

A partir de las distancias genéticas pareadas obtenidas, se construyó un árbol Neighbor Joining, mediante el programa PHYLIP v.3.69 (PHYLogeny Inference Package) (Felsenstein, 1989) y se visualizó mediante Treeview v.1.6.6 (Page, 1996).

IV. RESULTADOS

RESULTADOS

1. ANÁLISIS DEL ADN MITOCONDRIAL

Se analizó la región control del ADNmt en las tres poblaciones objeto de estudio: waorani, kichwa y mestiza. En el caso de la población waorani se estudiaron los segmentos HVSI y HVSII, mientras que en las poblaciones kichwa y mestiza se amplió el análisis a la región control completa, incluyendo tanto los segmentos HVSI, HVSII como HVSIII.

1.1. Análisis de las secuencias del ADNmt

Estudio de HVSI y HVSII en la población waorani

Los segmentos HVSI y HVSII fueron analizados y secuenciados en 32 individuos no relacionados (Anexo I). A continuación se presentan los resultados del análisis independiente y en conjunto de HVSI y HVSII.

Tabla 22. Número de haplotipos (diferentes, únicos y compartidos) hallados en la población waorani y frecuencia del haplotipo más frecuente (en %).

	HVSI	HVSII	HVSI+HVSII
Haplotipos diferentes	2	2	2
Haplotipos únicos	0	0	0
Haplotipos compartidos por más de 1 individuo	2	2	2
% del Haplotipo más frecuente	90.63	90.63	90.63

Mediante el estudio de HVSI se pudieron diferenciar dos haplotipos diferentes. El haplotipo más abundante se identificó en el 90.625% de los individuos analizados (29 individuos). Dicho haplotipo diverge en las posiciones 16111T, 16223T, 16290T, 16293G, 16304C, 16319A y 16362C respecto a la secuencia rCRS. El segundo haplotipo tan solo se halló en el 9.375% (3 individuos) de la población estudiada, mostrando 4 diferencias (16172C, 16223T, 16325C y 16362C) respecto a la secuencia de referencia.

El estudio de HVSII permitió identificar también dos haplotipos diferentes entre los 32 individuos analizados. El haplotipo más frecuente se halló también en el 90.625 % de los casos, y presentó las mutaciones 64T, 73G, 146C, 153G, 189G, 207A, 235G, 263G, 309.1C y 315.1C respecto a la secuencia de referencia. El otro haplotipo hallado se caracteriza por la delección de las posiciones 105 a 110, así como por las mutaciones 67T, 150T, 263G y 315.1C.

Consecuentemente, el análisis conjunto de HVSI y HVSII permitió diferenciar un total de 2 haplotipos. Por un lado, el haplotipo mayoritario 16111T, 16223T, 16290T, 16293G, 16304C, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 189G, 207A, 235G, 263G, 309.1C y 315.1C, y por otro el haplotipo minoritario 16172C, 16223T, 16325C, 16362C, 67T, 105-110d, 150T, 263G y 315.1C.

La muestra de la población waorani analizada presentó un total de 27 polimorfismos, lo que representa que el 4.4% de las posiciones analizadas son polimórficas (Tabla 23). Más concretamente se hallaron 9 polimorfismos en HVSI (2.63% de las posiciones) y 18 en HVSII (6.86%). También se identificaron un total de 2 inserciones y 6 deleciones.

Tabla 23. Número y naturaleza de los polimorfismos presentes en las secuencias de ADNmt en la población waorani.

	HVSI	HVSII	HVSI+II
TRANSICIONES	9	9	18
C>T	3	2	5
T>C	4	1	5
A>G	1	5	6
G>A	1	1	2
TRANSVERSIONES	-	1	1
C>A	-	-	-
C>G	-	-	-
G>C	-	-	-
G>T	-	1	-
A>T	-	-	-
A>C	-	-	-
T>G	-	-	-
T>A	-	-	-
INSERCIONES	-	2	2
DELECCIONES	-	6	6
Total	9	18	27

El número de transiciones observadas (18) fue superior al de transversiones (1). Los polimorfismos más frecuentes fueron los cambios C16223T, T16362C, A263G y 315.1C que se hallaron en todos los individuos (Tabla 24).

Entre el resto de polimorfismos destaca la deleción de 6 pares de bases en la región 105-110, que ha sido nombrada siguiendo las recomendaciones de Wilson *et al.* (2002).

Tabla 24. Posiciones polimórficas con su frecuencia absoluta (y relativa en %).

Posición	Polim.	N (%)	Posición.	Polim	N (%)
16223	C>T	32(100)	235	A>G	29 (90.625)
16362	T>C	32(100)	309.1	inser	29 (90.625)
263	A>G	32(100)	64	C>T	29 (90.625)
315.1	inser	32 (100)	16325	T>C	3(9.375)
16111	C>T	29 (90.625)	67	G>T	3(9.375)
16319	G>A	29 (90.625)	105	DEL	3(9.375)
16304	T>C	29 (90.625)	106	DEL	3(9.375)
16293	A>G	29 (90.625)	107	DEL	3(9.375)
16290	C>T	29 (90.625)	108	DEL	3(9.375)
73	A>G	29 (90.625)	109	DEL	3(9.375)
146	T>C	29 (90.625)	110	DEL	3(9.375)
153	A>G	29 (90.625)	150	C>T	3(9.375)
189	A>G	29 (90.625)	16172	T>C	3(9.375)
207	G>A	29 (90.625)			

Estudio de la región control en la población kichwa

La región control completa fue secuenciada y analizada en los 65 individuos kichwas. En el Anexo II se observan todos los haplotipos indicando las posiciones que presentaron diferencias respecto a la rCRS.

El número de haplotipos diferentes identificados varió en función de si el análisis se realizaba en base a los segmentos HVSI, HVSII y HVSIII (por separado o conjuntamente) o bien con la región control completa (Tabla 25).

Tabla 25. Número de haplotipos (diferentes, únicos y compartidos) hallados en la población kichwa.

	HVSI	HVSII	HVSI+II	HVSIII	HVSI+II+III	D-LOOP
Haplotipos diferentes	10	9	12	6	12	13
Haplotipos únicos	3	2	4	3	4	5
Haplotipos compartidos por más de 1 individuo	7	7	8	3	8	8
% del Haplotipo más frecuente	40	43.08	40	57.14	40	40

El análisis de las secuencias correspondientes al segmento HVSI permitió identificar un total de 10 haplotipos diferentes. De estos haplotipos, 3 estaban presentes en un único individuo. Entre los haplotipos compartidos, el más frecuente se halló en 26 individuos (40%). Este haplotipo presentó los polimorfismos 16142T, 16223T, 16325C y 16362C. Mediante la determinación del segmento HVSII se pudieron identificar 9 haplotipos distintos, de los que 2 eran haplotipos únicos. El haplotipo más común, presente en 28 individuos (43.08%), mostró las transiciones 73G y 263G, y la inserción 315.1C.

El estudio en conjunto de HVSI y HVSII condujo a la identificación de 12 haplotipos diferentes, 4 de ellos presentes en un único individuo. La secuencia más frecuente en la población (40%) se caracterizó por los polimorfismos 16142T, 16223T, 16325C, 16362C, 73G, 263G y 315.1C.

El análisis de HVSIII únicamente permitió diferenciar 6 haplotipos distintos, de los que 3 eran exclusivos de un individuo. El haplotipo más común, caracterizado por las deleciones en las posiciones 523 y 524, se identificó en el 57.24 % de la población.

Cuando se añadió HVSIII al análisis, no varió el número de haplotipos diferentes respecto al obtenido mediante las otras dos regiones variables juntas. En cambio, el estudio de la región completa del D-loop aumentó el número de haplotipos a un total de 13, de los cuales 5 eran únicos. El haplotipo más común se identificó en 26 de las muestras estudiadas (40%), con los siguientes polimorfismos: 16142T, 16223T, 16325C, 16362C, 16456A, 16519C, 73G, 263G, 315.1C y 489C.

Si se hubiera considerado estrictamente HVSII desde la posición 73 (Parson *et al.*, 2004), el número de haplotipos diferenciados con HVSI-HVSII se habría reducido a 11, ya que la inclusión o no del polimorfismo 64T en HVSII influye en el poder de discriminación de este segmento.

Respecto a la naturaleza de los polimorfismos hallados en las secuencias de ADNmt de la población kichwa, se observó lo siguiente:

Tabla 26. Número y naturaleza de los polimorfismos presentes en las secuencias de ADNmt en la población kichwa.

	HVSI	HVSII	HVSI+II	HVSIII	HVSI+II+III	D-LOOP
TRANSICIONES	19	12	31	4	35	37
C>T	5	2	7	-	7	7
T>C	10	3	13	1	14	15
A>G	2	6	8	2	10	10
G>A	2	1	3	1	4	5
TRANSVERSIONES	2	0	2	0	2	2
C>A	1	-	1	-	1	1
C>G	-	-	-	-	-	-
G>C	-	-	-	-	-	-
G>T	-	-	-	-	-	-
A>T	-	-	-	-	-	-
A>C	1	-	1	-	1	1
T>G	-	-	-	-	-	-
T>A	-	-	-	-	-	-
INSERCIONES	-	3	3	-	3	3
DELECCIONES	-	3	3	2	5	5
Total	21	18	39	6	45	47

En total, el análisis completo de la región D-loop permitió hallar 47 cambios nucleotídicos en la región control con respecto a la secuencia rCRS. Esto representa un 4.2% de la secuencia analizada, por lo que en el 95.8% restante no se detectaron polimorfismos. La región HVSI es la que presentó mayor número de polimorfismos con 21 (6.14% del total del segmento analizado), seguida de HVSII con 18 (6.72%) y HVSIII con 6 (4.38%). La región localizada entre HVSI y HVSII (16366-63) exhibió un total de 2 mutaciones, mientras que en la región entre HVSII-HVSIII (341-437) no se detectó ninguna. Al analizar conjuntamente HVSI y HVSII se identificaron un total de 39 polimorfismos (6.4%), y al añadir HVSIII el número aumentó a 45 (6.02%).

De los 47 polimorfismos identificados, 43 se hallaron en más de una secuencia, por lo tanto solo 4 fueron puntuales, afectando a un único individuo (Tabla 27). El número de transiciones observadas fue superior al de tranversiones en todos los segmentos analizados, destacando las transiciones A73G y A263G que se encontraron en la totalidad de individuos estudiados. En total, se hallaron 3 inserciones (en HVSII), siendo la inserción 315.1C la más frecuente (100% de las muestras). En cuanto a las 5 deleciones identificadas, 3 estaban en HVSII y 2 en HVSIII. Las deleciones más frecuentes se encontraron en las posiciones 523 y 524, con una frecuencia del 55.38%. Las deleciones 290, 291 y 249 se observaron en un 7.69% de las secuencias analizadas. Es de destacar que todas las muestras que presentaron la deleción en 249 lo hicieron también en las posiciones 290 y 291, lo que hace suponer que estos tres cambios se presentan conjuntamente.

Tabla 27. Posiciones polimórficas con su frecuencia absoluta (y relativa en %).

Posición	Polim.	N(%)	Posición	Polim.	N(%)	Posición	Polim.	N(%)
263	A>G	65(100)	16290	C>T	30(46.15)	249	del	5(7.69)
73	A>G	65(100)	16142	C>T	26(40)	290	del	5(7.69)
315	.1C	65(100)	16456	G>A	25(38.46)	291	del	5(7.69)
16223	C>T	63(96.92)	64	C>T	19(29.23)	16189	T>C	3(4.62)
16362	T>C	58(89.23)	16304	T>C	14(21.54)	16051	A>G	3(4.62)
524	del	36(55.38)	16293	A>G	14(21.54)	16217	T>C	2(3.07)
523	del	36(55.38)	207	G>A	14(21.54)	16183	A>C	2(3.07)
309	.1C	35(53.85)	215	A>G	12(18.46)	16093	T>C	2(3.07)
16519	T>C	33(50.77)	16352	T>C	12(18.46)	499	G>A	2(3.07)
16319	G>A	32(49.23)	309	.2C	8(12.31)	204	T>C	2(3.07)
16111	C>T	32(49.23)	16086	T>C	7(10.77)	16172	T>C	2(3.07)
235	A>G	32(49.23)	210	A>G	7(10.77)	16221	C>A	1(1.54)
153	A>G	32(49.23)	195	T>C	7(10.77)	574	A>G	1(1.54)
146	T>C	32(49.23)	16213	G>A	6(9.23)	493	A>G	1(1.54)
16325	T>C	31(47.69)	16327	C>T	5(7.69)	327	C>T	1(1.54)
489	T>C	31(47.69)	16298	T>C	5(7.69)			

Estudio de la región control en la población mestiza

Se estudió la región control completa de 42 individuos mestizos, obteniéndose los haplotipos recogidos en el Anexo III. En la tabla se muestra el número de haplotipos diferentes obtenidos en base al análisis de la región HVSI, HVSII, HVSIII (de forma conjunta o separada) o del D-loop completo.

Tabla 28. Número de haplotipos (diferentes, únicos y compartidos) hallados en la población mestiza

	HVSI	HVSII	HVSI+II	HVSIII	HVSI+II+III	D-LOOP
Haplotipos diferentes	27	21	30	7	30	30
Haplotipos únicos	17	13	23	0	23	23
Haplotipos compartidos por más de 1 individuo	10	8	7	7	7	7
% del Haplotipo más frecuente	14.29	23.81	14.29	33.33	14.29	14.29

El estudio de HVSI permitió identificar 27 haplotipos diferentes, de los cuales 17 estaban representados por un único individuo. El haplotipo más frecuente, caracterizado por los cambios 16142T, 16223T, 16325C y 16362C, se presentó en el 14.29% de la población. En cambio, tan solo se identificaron 21 haplotipos distintos mediante el estudio de HVSII. De estas secuencias, 13 fueron exclusivas de un único individuo. El haplotipo más frecuente (23.81% de las muestras) difirió de la secuencia de referencia en los polimorfismos 73G, 263G y 315.1C.

El análisis conjunto de HVSI y HVSII determinó la presencia de 30 haplotipos distintos en la población, 23 de los cuales eran únicos. El haplotipo más frecuente, con 7 diferencias respecto a la secuencia de referencia (16142T, 16223T, 16325C, 16362C, 73G, 263G y 315.1C), se encontró en el 14.29 % de los individuos.

Con el estudio del segmento HVSIII se distinguieron 7 haplotipos diferentes, todos presentes en más de un individuo. El haplotipo más frecuente (33.33%) presentó una delección entre las posiciones 523 y 524. La inclusión de esta región en el análisis no aportó un mayor poder de discriminación para los haplotipos HVSI-HVSII iguales, al igual que sucedió al analizar toda la región D-loop. En este caso el haplotipo más abundante en la población (14.29%), presentó los polimorfismos 16142T, 16223T, 16325C, 16362C, 16456A, 73G, 263G, 315.1C y 489C.

No obstante, si se hubiera considerado HVSII desde la posición 73 (Parson *et al.*, 2004) se habrían diferenciado más haplotipos con el D-loop completo que con HVSI-HVSII (30 vs 29), pues la presencia del polimorfismo 72C permite diferenciar entre dos haplotipos HVSI-II idénticos.

El número y tipo de polimorfismos hallados en el ADNmt de la población mestiza se detallan a continuación:

Tabla 29. Número y naturaleza de los polimorfismos presentes en las secuencias de ADNmt en la población mestiza.

	HVSI	HVSII	HVSI+II	HVSIII	HVSI+II+III	DLOOP
TRANSICIONES	38	24	62	5	67	71
C>T	14	2	16	-	16	16
T>C	14	10	24	1	25	28
A>G	6	9	15	2	17	17
G>A	4	3	7	2	9	10
TRANSVERSIONES	2	-	2	-	2	2
C>A	-	-	-	-	-	-
C>G	-	-	-	-	-	-
G>C	-	-	-	-	-	-
G>T	-	-	-	-	-	-
A>T	-	-	-	-	-	-
A>C	2	-	2	-	2	2
T>G	-	-	-	-	-	-
T>A	-	-	-	-	-	-
INSERCIONES	-	3	3	2	5	5
DELECCIONES	-	3	3	2	5	5
Total	40	30	70	9	79	83

Mediante el estudio de todo el D-loop se identificaron un total de 83 posiciones que exhibieron algún tipo de cambio con respecto a la secuencia rCRS. Esto representa el 7.39% de la secuencia analizada, el 92.61% restante por lo tanto no presentó cambios nucleotídicos detectables. La región con mayor número de polimorfismos detectados fue HVSI, con un total de 40 posiciones polimórficas (el 11.7% del segmento), seguido de HVSII con 30 (11.19%) y HVSIII con 9 (6.57%). La zona limitante entre HVSI y HVSII presentó un total de 4 posiciones variables, mientras que entre HVSII y HVSIII no se detectó ninguna. Analizando conjuntamente las dos primeras regiones hipervariables se detectaron 70 variaciones (11.47%), mientras que con el análisis conjunto de las tres regiones hipervariables fueron 79 las posiciones variables observadas (10.58%).

En la Tabla 30 se presentan los polimorfismos hallados junto con su frecuencia, ordenados de mayor a menor abundancia. Del total de polimorfismos, 26 fueron puntuales, mientras que los 57 restantes aparecieron en más de una ocasión entre las secuencias analizadas. Respecto a la naturaleza de los polimorfismos se observó que las transiciones presentaron un mayor grado de aparición (85.5% de los cambios detectados). Las sustituciones más frecuentes fueron las transiciones A263G y A73G, halladas en la totalidad de individuos estudiados. En total, en 5 posiciones se presentaron inserciones (3 en HVSII y 2 en HVSIII), aunque fue la inserción 315.1C la que presentó una mayor frecuencia (100% de las muestras). En cuanto a las delecciones, se detectaron 3 en HVSII y 2 en HVSIII, siendo especialmente frecuentes en las posiciones 523 y 524 (47.62% de las muestras). Las delecciones 290, 291 y 249 se observaron en un 9.52% de los individuos, y tal y como ocurrió en la otra población, en este caso también aparecieron conjuntamente.

Tabla 30. Posiciones polimórficas con su frecuencia absoluta (y relativa en %).

Posición	Polim.	N (%)	Posición	Polim.	N (%)	Posición	Polim.	N (%)
263	A>G	42(100)	16182	A>C	5(11.90)	574	A>G	2(4.76)
73	A>G	42(100)	16298	T>C	4(9.52)	103	G>A	1(2.38)
315.1	inser	42(100)	16327	C>T	4(9.52)	125	T>C	1(2.38)
309.1	inser	32(76.19)	249	del	4(9.52)	127	T>C	1(2.38)
16223	C>T	28(66.67)	290	del	4(9.52)	143	G>A	1(2.38)
16519	T>C	25(59.52)	291	del	4(9.52)	16124	T>C	1(2.38)
16362	T>C	24(57.14)	493	A>G	4(9.52)	16129	G>A	1(2.38)
523	del	20(47.62)	16092	T>C	4(9.52)	16134	C>T	1(2.38)
524	del	20(47.62)	16207	A>G	3(7.14)	16168	C>T	1(2.38)
16183	A>C	15(35.71)	16241	A>G	3(7.14)	16184	C>T	1(2.38)
16189	T>C	15(35.71)	16266	C>T	3(7.14)	16209	T>C	1(2.38)
16217	T>C	14(33.33)	16293	A>G	3(7.14)	16247	A>G	1(2.38)
499	G>A	14(33.33)	16304	T>C	3(7.14)	16249	T>C	1(2.38)
16111	C>T	14(33.33)	215	A>G	3(7.14)	16284	A>G	1(2.38)
16319	G>A	14(33.33)	239	T>C	3(7.14)	16292	C>T	1(2.38)
235	A>G	14(33.33)	513	G>A	3(7.14)	16301	C>T	1(2.38)
489	T>C	14(33.33)	524.1	inser	3(7.14)	16320	C>T	1(2.38)
146	T>C	13(30.95)	524.2	inser	3(7.14)	16342	T>C	1(2.38)
153	A>G	13(30.95)	16086	T>C	2(4.76)	16437	T>C	1(2.38)
16290	C>T	13(30.95)	16051	A>G	2(4.76)	16468	T>C	1(2.38)
16325	T>C	13(30.95)	16221	C>T	2(4.76)	183	A>G	1(2.38)
64	C>T	11(26.19)	16274	G>A	2(4.76)	189	A>G	1(2.38)
16142	C>T	9(21.43)	16352	T>C	2(4.76)	199	T>C	1(2.38)
207	G>A	7(16.67)	16356	T>C	2(4.76)	297	A>G	1(2.38)
16213	G>A	6(14.29)	16360	C>T	2(4.76)	318	T>C	1(2.38)
16456	G>A	6(14.29)	150	C>T	2(4.76)	319	T>C	1(2.38)
309.2	inser	6(14.29)	195	T>C	2(4.76)	72	T>C	1(2.38)
152	T>C	5(11.90)	210	A>G	2(4.76)			

1.2. Parámetros de diversidad y de interés forense

A continuación se muestran los resultados obtenidos al estimar los parámetros de diversidad y de interés forense. En primer lugar se presentan los resultados para cada una de las poblaciones ecuatorianas, y luego se presenta un análisis comparativo entre ellas. Finalmente se comparan los parámetros de diversidad con otras poblaciones del continente americano. Para realizar los siguientes análisis no se tuvieron en cuenta las inserciones presentes en las regiones homopoliméricas de citosinas.

1.2.1. Parámetros de diversidad: diversidad haplotípica y nucleotídica

Se determinaron los valores de diversidad haplotípica y nucleotídica para los tres grupos ecuatorianos.

Diversidad haplotípica y nucleotídica en la población waorani

En este caso, se calcularon los parámetros de diversidad a partir de las secuencias HVSI y HVSII, por separado y en conjunto (Tabla 31).

Tabla 31. Parámetros de diversidad de las secuencias de ADNmt de la población waorani

	HVSI	HVSII	HVSI+HVSII
Diversidad de secuencias (H)	0.1754 ± 0.0841	0.1754 ± 0.0841	0.1754 ± 0.0841
Diversidad nucleotídica (π_n)	0.0035 ± 0.0025	0.0094 ± 0.0057	0.0061 ± 0.0035

La diversidad de secuencias para HVSI y HVSII fue la misma, 0.1754 ± 0.0841 , ya que se identificaron el mismo número de haplotipos ($n=2$). El mismo valor de diversidad se obtuvo al estudiar las dos regiones conjuntamente, ya que no se logra diferenciar más haplotipos.

La diversidad nucleotídica de HVSII (0.0094 ± 0.0057) fue superior a HVSI (0.0035 ± 0.0025). El análisis conjunto de ambas regiones dio un valor intermedio de 0.0061 ± 0.0035 .

Diversidad haplotípica y nucleotídica en la población kichwa

En la tabla se muestran los parámetros estadísticos calculados para la población kichwa, en este caso para toda la región control completa y también para las regiones HVSI, HVSII y HVSIII juntas o por separado.

Tabla 32. Parámetros de diversidad de las secuencias de ADNmt de la población kichwa

	HVSI	HVSII	HVSI+II	HVSIII	HVSI+II+III	D-LOOP
Diversidad secuencias (H)	0.7832 ± 0.0372	0.7481 ± 0.0401	0.7909 ± 0.0389	0.5793 ± 0.0318	0.7909 ± 0.0389	0.8029 ± 0.0373
Diversidad nucleotídica (π_n)	0.0142 ± 0.0078	0.0135 ± 0.0076	0.0139 ± 0.0072	0.0119 ± 0.0079	0.0136 ± 0.007	0.0101 ± 0.0052

Respecto a la diversidad de secuencias (H), el segmento HVSI (0.7832 ± 0.0372) presentó un valor más elevado que los segmentos HVSII (0.7481 ± 0.0401) y HVSIII (0.5793 ± 0.0318). Esta diferencia se debe al mayor número de haplotipos identificados en la región HVSI. En cuanto al análisis en conjunto de los segmentos HVSI y HVSII, el valor de H (0.7909 ± 0.0389) fue superior que los obtenidos para cada segmento por separado. Dicho valor no aumentó al incluir HVSIII. En cambio, el análisis de toda la región D-loop completa permitió obtener los valores de diversidad más elevados (0.8029 ± 0.0373), lo que indica que será menos probable encontrar haplotipos idénticos para toda la región control.

En lo referente a la diversidad nucleotídica, la región HVSI (0.0142 ± 0.0078) también presentó los valores más altos de las tres regiones hipervariables analizadas (HVSII: 0.0135 ± 0.0076 ; HVSIII: 0.0119 ± 0.0079).

Diversidad haplotípica y nucleotídica en la población mestiza

Los índices de diversidad para las secuencias de ADNmt de la población mestiza se recogen en la siguiente tabla:

Tabla 33. Parámetros de diversidad de las secuencias de ADNmt de la población mestiza

	HVSI	HVSII	HVSI+II	HVSIII	HVSI+II+III	D-LOOP
Diversidad secuencias (H)	0.9686 ± 0.0144	0.9210 ± 0.0272	0.9733 ± 0.0144	0.8049 ± 0.0345	0.9733 ± 0.0144	0.9733 ± 0.0144
Diversidad nucleotídica (π_n)	0.0216 ± 0.0115	0.0138 ± 0.0079	0.0177 ± 0.0091	0.0171 ± 0.0106	0.0179 ± 0.0091	0.0128 ± 0.0065

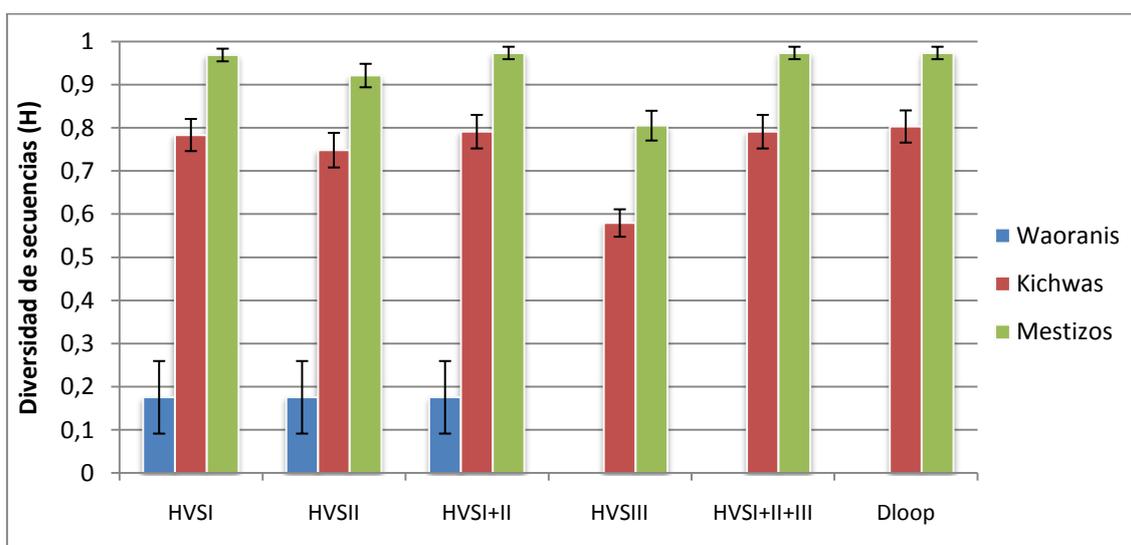
Al igual que en la población kichwa, la diversidad de secuencias fue mayor en el segmento HVSI (0.9686 ± 0.0144) que en los segmentos HVSII (0.9210 ± 0.0272) y HVSIII (0.8049 ± 0.0345). Este valor de diversidad incrementó al estudiar conjuntamente HVSI-HVSII (0.9733 ± 0.0144). En este caso, ni la inclusión de HVSIII ni el estudio de todo el D-loop completo, aumentó este valor de diversidad.

También la diversidad nucleotídica de HVSI (0.0216 ± 0.0115) fue superior a la de los segmentos HVSII (0.0138 ± 0.0079) y HVSIII (0.0171 ± 0.0106).

Comparación de los parámetros de diversidad entre las poblaciones objeto de estudio

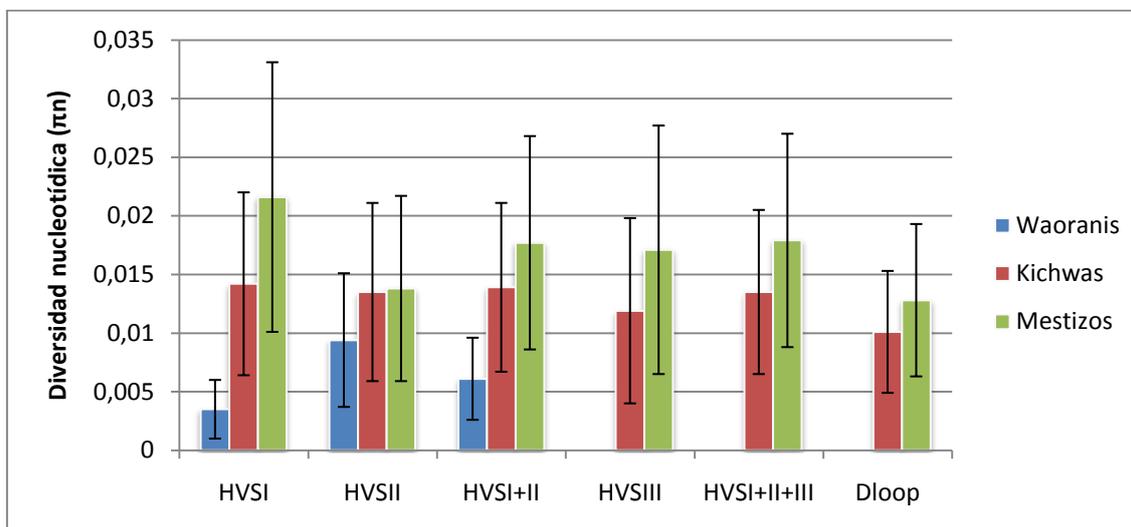
En el siguiente gráfico se compara la diversidad de secuencias (H) obtenidas en las tres poblaciones objeto de estudio para las distintas regiones de ADNmt. En la Figura 19 se puede observar que la población waorani es la que tiene menor diversidad para todas las regiones estudiadas. También la población kichwa presenta valores de H inferiores a la población mestiza para las distintas regiones analizadas.

Figura 19. Comparación interpoblacional de los valores de diversidad de secuencias obtenidos para los distintos segmentos del ADNmt.



Al comparar la diversidad nucleotídica de las poblaciones (Figura 20) se observa la misma situación que en el caso anterior. Así la población waorani presenta una diversidad muy baja respecto a los otros grupos ecuatorianos. Asimismo, la población mestiza presenta una variabilidad de nucleótidos igual o superior a la población kichwa.

Figura 20. Comparación interpoblacional de los valores de diversidad nucleotídica obtenidos para los distintos segmentos del ADNmt.



1.2.2. Otros parámetros de diversidad y de interés forense

A continuación se muestran los valores correspondientes al número promedio de diferencias entre pares de nucleótidos para cada población. También se presentan los resultados correspondientes a dos parámetros de gran interés en genética forense: probabilidad de coincidencia al azar y poder de discriminación.

Diferencias entre pares de nucleótidos y parámetros de interés forense en la población waorani

La Tabla 34 resume los valores obtenidos para el estudio de las diferencias entre pares de nucleótidos, probabilidad de coincidencia al azar y poder de discriminación en los Waorani.

Tabla 34. Número de diferencias medias entre pares de nucleótidos, probabilidad de coincidencia al azar y poder de discriminación.

	HVSI	HVSII	HVSI+HVSII
Diferencias medias observadas	1.2278 ± 0.8008	2.6311 ± 1.4429	3.8589 ± 1.9905
Probabilidad de coincidencia al azar	0.8301	0.8301	0.8301
Poder de discriminación	0.1699	0.1699	0.1699

En cuanto al número de diferencias entre pares de nucleótidos se reportaron valores superiores para HVSII (2.63) que para HVSI (1.23). Al considerar ambos segmentos de forma conjunta, el número medio de diferencias se convierte en la suma de los valores de HVSI y HVSII por separado, obteniéndose un valor de 3.86.

En este grupo ecuatoriano, la probabilidad de coincidencia al azar entre dos individuos es de 0.8301, tanto si se estudia HVSI o HVSII de forma independiente como conjuntamente. Consecuentemente el poder de discriminación del análisis del ADNmt será muy bajo, de 0.1699.

Diferencias entre pares de nucleótidos y parámetros de interés forense en la población kichwa

En la tabla se presenta los valores de diferencias promedio y los parámetros de interés forense para la población kichwa.

Tabla 35. Número de diferencias medias observadas entre pares de nucleótidos, probabilidad de coincidencia al azar y poder de discriminación del análisis del ADNmt en la población kichwa.

	HVSI	HVSII	HVSI+II	HVSIII	HVSI+II+III	D-LOOP
Diferencias medias observadas	4.8712 ± 2.4059	3.7433 ± 1.9133	8.6144 ± 4.0314	1.6327 ± 0.9766	10.2471 ± 4.7385	11.3567 ± 5.2188
Probabilidad de coincidencia al azar	0.2289	0.2634	0.2213	0.4296	0.2213	0.2095
Poder de discriminación	0.7711	0.7366	0.7787	0.5704	0.7787	0.7905

El número de diferencias entre pares de secuencias fue mayor en la región HVSI (4.87) que en HVSII (3.74) y HVSIII (1.63). Lógicamente estos valores aumentaron al analizar fragmentos más largos, obteniéndose el mayor número de variaciones al estudiar toda la región control (11.36).

El poder de discriminación de HVSI (0.7711) es superior al de HVSII (0.7366) y HVSIII (0.5704), o lo que es lo mismo, la probabilidad de que dos secuencias HVSI coincidan al azar será menor que en el caso de secuencias HVSII o HVSIII. El poder de discriminación más elevado, y por lo tanto la menor probabilidad de coincidencia al azar, se obtiene al estudiar toda la región control del ADNmt (0.7905 y 0.2095 respectivamente).

Diferencias entre pares de nucleótidos y parámetros de interés forense en la población mestiza

Los resultados obtenidos para el estudio de estos parámetros en la población mestiza se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 36. Número de diferencias medias observadas entre pares de nucleótidos, probabilidad de coincidencia al azar y poder de discriminación del análisis del ADNmt en la población mestiza.

	HVSI	HVSII	HVSI+II	HVSIII	HVSI+II+III	D-LOOP
Diferencias medias observadas	7.3879 ± 3.5248	3.8304± 1.9654	11.2184± 5.1961	2.3380± 1.3028	13.5563 ± 6.2149	14.3960± 6.581
Probabilidad de coincidencia al azar	0.0544	0.101	0.0499	0.2143	0.0499	0.0499
Poder de discriminación	0.9456	0.899	0.9501	0.7857	0.9501	0.9501

El número de diferencias entre pares de nucleótidos es mayor en la región HVSI (7.34) que en HVSII (3.8) y HVSIII (2.4). Este valor incrementa a medida que se estudian segmentos más grandes, obteniéndose una media de 11.22 diferencias si se estudia HVSI-II; de 13.56 para HVSI-II-III y de 14.40 para la región control completa.

En lo referente al poder de discriminación del análisis del ADNmt en esta población, la región HVSI es la que aportará mayor discriminación (0.9456) de las tres regiones hipervariables. Esta capacidad de discriminación aumenta ligeramente al analizar conjuntamente las regiones HVSI y HVSII (0.9501), obteniéndose el mismo valor tanto si se analiza HVSI-II-III como toda la región D-loop completa.

1.2.3. Comparación de los parámetros de diversidad con otras poblaciones de América

En la Tabla 37 se presentan los parámetros de diversidad obtenidos de los haplotipos de 42 poblaciones de América del Norte, Central y del Sur recopilados de la bibliografía. Se han realizado los cálculos teniendo en cuenta la región HVSI (16024-16365) de las secuencias correspondientes a haplotipos amerindios.

Tabla 37. Parámetros de diversidad calculados a partir de haplotipos de poblaciones americanas recopiladas de la bibliografía, agrupados por región continental. Se indica la diversidad de secuencias, diversidad nucleotídica y diferencias medias de cada población y región continental.

POBLACIÓN	N	K	DIVERSIDAD SECUENCIAS	DIVERSIDAD NUCLEOTÍDICA	DIFERENCIAS MEDIAS
NORTEAMÉRICA	588	143	0.9310 ± 0.0054	0.0171 ± 0.0094	5.7820 ± 2.7710
Dogrib	23	8	0.5257 ± 0.1262	0.0050 ± 0.0034	1.6996 ± 1.0310
Haida	41	9	0.6841 ± 0.0630	0.0066 ± 0.0041	2.4414 ± 1.2601
Aleut	163	24	0.7307 ± 0.0328	0.0936 ± 0.0054	3.1735 ± 1.6504
Apaches	177	40	0.8074 ± 0.0275	0.0150 ± 0.0084	5.0986 ± 2.4848
Navajo	142	42	0.9250 ± 0.0139	0.0175 ± 0.0093	5.9401 ± 2.8512
Yakima	42	20	0.8981 ± 0.0306	0.0147 ± 0.0081	4.9292 ± 2.4486
MESOAMÉRICA	720	354	0.9709 ± 0.0032	0.0182 ± 0.0096	6.1821 ± 2.9421
Maya	56	23	0.9305 ± 0.0185	0.0172 ± 0.0093	5.7823 ± 2.8327
Otomi	68	32	0.9666 ± 0.0082	0.0202 ± 0.0107	6.8621 ± 3.2697
Xochimilco	35	21	0.9277 ± 0.0338	0.0151 ± 0.0083	5.1261 ± 2.5453
Chihuahua	87	62	0.9885 ± 0.0041	0.0230 ± 0.012	7.7557 ± 3.6472

Huetar	27	7	0.7094 ± 0.0701	0.0116 ± 0.0067	3.9316 ± 2.0328
Cuba	81	36	0.9568 ± 0.0099	0.0167 ± 0.0090	5.6571 ± 2.7410
Nicaragua	145	87	0.9372 ± 0.0120	0.0155 ± 0.0084	5.6365 ± 2.7181
El Salvador	87	47	0.9134 ± 0.0263	0.0086 ± 0.0050	2.9014 ± 1.5383
Ngöbe	61	8	0.6613 ± 0.0668	0.0114 ± 0.0065	4.4065 ± 2.2051
Kuna	34	5	0.7112 ± 0.0816	0.0114 ± 0.0065	3.8717 ± 1.9930
Emberá	39	26	0.9730 ± 0.0133	0.0179 ± 0.0097	6.0567 ± 2.9473
SUDAMÉRICA	1104	509	0.9812 ± 0.0016	0.0194 ± 0.0101	6.5615 ± 3.1035
Salta	18	15	0.9673 ± 0.0298	0.0185 ± 0.0103	6.2550 ± 3.1151
Catamarca	24	11	0.8841 ± 0.0399	0.0161 ± 0.0088	5.4461 ± 2.7171
Aymara	96	48	0.9757 ± 0.0059	0.0147 ± 0.0080	4.9719 ± 2.4970
Quechua (Bolivia)	93	49	0.9834 ± 0.0044	0.0189 ± 0.0100	6.3918 ± 3.0561
La paz	97	75	0.9860 ± 0.0062	0.0198 ± 0.0104	6.6985 ± 3.1869
Gaviao	27	7	0.8624 ± 0.0266	0.0124 ± 0.0071	4.2116 ± 2.1551
Xavante	44	18	0.8911 ± 0.0275	0.0148 ± 0.0081	5.0032 ± 2.4788
Zoro	29	8	0.7586 ± 0.0661	0.0113 ± 0.0065	3.8325 ± 1.9843
Yanomami	71	29	0.8596 ± 0.0390	0.0112 ± 0.0063	3.8028 ± 1.9373
Yagán	15	7	0.8857 ± 0.0501	0.0156 ± 0.009	5.2952 ± 2.7092
Mapuche (Chile)	58	20	0.8748 ± 0.0356	0.0167 ± 0.0090	5.6685 ± 2.7573
Arsario	48	7	0.7518 ± 0.0289	0.0131 ± 0.0073	4.4273 ± 2.2225
Coreguaje	27	11	0.8575 ± 0.0609	0.017 ± 0.0093	5.7493 ± 2.8403
Ijka	29	4	0.4138 ± 0.1054	0.0052 ± 0.0034	1.7536 ± 1.0482
Kogui	48	7	0.6188 ± 0.0453	0.0128 ± 0.0072	4.3493 ± 2.1883
Wayúu	42	17	0.8548 ± 0.0383	0.0162 ± 0.0088	5.4204 ± 2.6640
Colombia	98	58	0.9748 ± 0.0072	0.0194 ± 0.0102	6.5700 ± 3.1311
Cayapa	33	15	0.9072 ± 0.0310	0.0191 ± 0.0103	6.4470 ± 3.1309
Secoya-Siona	12	5	0.8182 ± 0.0703	0.0150 ± 0.0088	5.0758 ± 2.6490
Cofán	4	3	0.8333 ± 0.2224	0.0172 ± 0.0124	5.8333 ± 3.5266
Achés	63	3	0.2038 ± 0.0639	0.0032 ± 0.0024	1.0824 ± 0.7223
San Martín	22	15	0.9394 ± 0.0367	0.0152 ± 0.0085	5.1429 ± 2.5904
Arequipa	22	18	0.9784 ± 0.0213	0.0149 ± 0.0084	5.0477 ± 2.5478
Tayacaja	61	42	0.9678 ± 0.0144	0.0177 ± 0.0094	6.0098 ± 2.9039
Quechua (Perú)	23	22	0.9960 ± 0.0142	0.0216 ± 0.0117	7.3044 ± 3.5485

En comparación con el resto de poblaciones recopiladas, los Waorani constituyen el grupo poblacional con la diversidad de secuencias más baja descrita hasta ahora (0.1754 ± 0.0841). Se trata de un valor muy por debajo de la diversidad media hallada a lo largo del continente americano. La población con un valor de diversidad más parecido son los Achés de Paraguay (0.2038 ± 0.0639). Los waorani también presentan, junto con los Aché, los valores más bajos del continente en cuanto a diversidad nucleotídica (0.0035 ± 0.0025) y número promedios de diferencias entre pares de nucleótidos (1.23).

Asimismo la población kichwa presenta unos valores de diversidad haplotípica (0.7832 ± 0.0372), nucleotídica (0.0142 ± 0.0078) y número de diferencias (4.87) para HVSI por debajo de las medias calculadas para las poblaciones nativas americanas. Estos valores también se

encuentran por debajo los valores descritos para otros grupos étnicos ecuatorianos como los Cayapa, Siona-Secoja y Cofán.

Por su parte, la población mestiza presenta una diversidad de secuencias (0.9686 ± 0.0144) y nucleotídica (0.0216 ± 0.0115) próxima a la media calculada para las poblaciones sudamericanas. Respecto al número promedio de diferencias nucleotídicas presenta de los valores más altos del continente americano (7.39).

1.3. Determinación haplogrupos de ADNmt

Se han clasificado los haplotipos obtenidos a partir del análisis de HVSI y HVSII en haplogrupos (Tabla 38). Todos los individuos estudiados de las tres poblaciones ecuatorianas presentaron un haplotipo perteneciente a uno de los 4 haplogrupos americanos principales: A, B, C o D. No se observaron, por lo tanto, individuos pertenecientes al haplogrupo minoritario americano X, ni tampoco a linajes europeos o africanos.

Tabla 38. Distribución de los haplogrupos en las tres poblaciones ecuatorianas. *Incluye los individuos que no pudieron ser clasificados de forma más específica.

Haplogrupo	Waorani (%)	Kichwa (%)	Mestiza (%)
A	29 (90.625)	32 (49.23)	14 (33.33)
A2*	29 (90.625)	14 (21.54)	11 (26.19)
A2p		18 (27.69)	3 (7.14)
B		2 (3.08)	14 (33.33)
B4b		2 (3.08)	13 (30.95)
B2h			1 (2.38)
C		5 (7.69)	4 (9.52)
C1*		2 (3.08)	
C1b		1 (1.54)	4 (9.52)
C1d		2 (3.08)	
D	3 (9.375)	26 (40)	10 (23.81)
D1*	3 (9.375)		
D1f		26 (40)	9 (21.43)
D4h3a			1 (2.38)

En la población waorani se distinguen dos únicos haplogrupos: A y D. El 90.625% de los individuos analizados presentan el haplogrupo A, más específicamente el subhaplogrupo A2. El resto de individuos se asignan dentro del subhaplogrupo D1 (9.375).

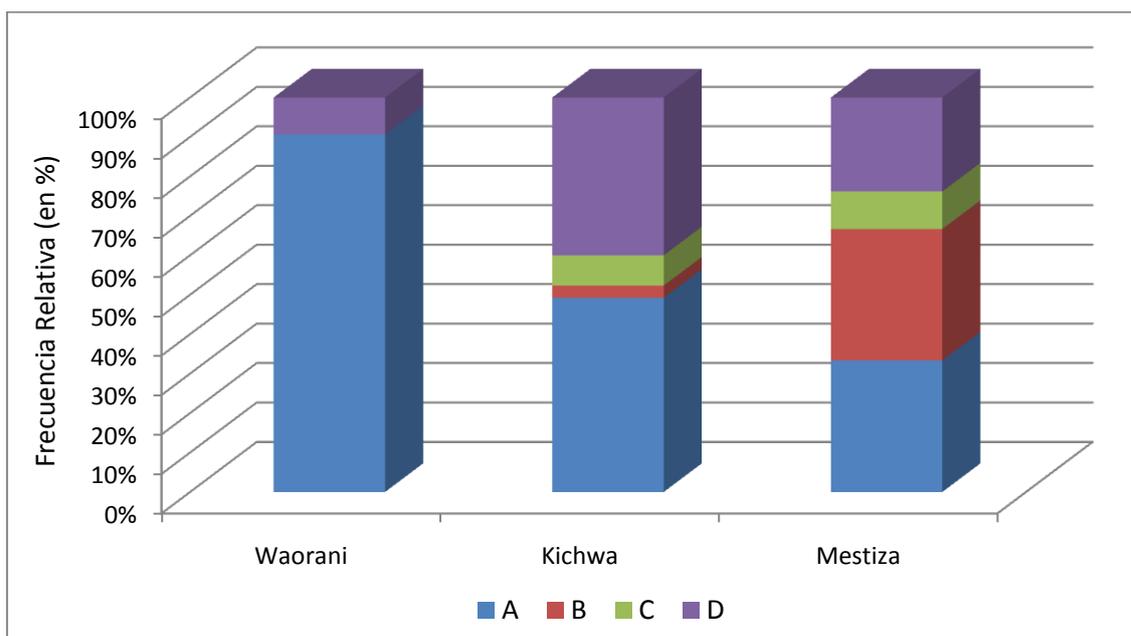
En la población kichwa están representados los cuatro linajes mitocondriales americanos. Casi la mitad pertenecen al haplogrupo A (49.23%), más específicamente al subhaplogrupo A2. De estos individuos, más de la mitad pudieron subclasificarse como A2p (presentan A215G). El segundo haplogrupo más abundante es el haplogrupo D (40%), más concretamente el subhaplogrupo D1f (C16142T). Los individuos con haplogrupo C (7.69%), pertenecen al subhaplogrupo C1. Dentro de este grupo, dos individuos pudieron ser subclasificados como

C1d (A16051G) y uno como C1b (A493G), el resto no presentó mutaciones específicas de otros sublinajes. El haplogrupo menos frecuente fue el B con una frecuencia del 3.08%, más específicamente el linaje mitocondrial B4b*. Seguramente el análisis adicional de posiciones en la zona codificante del ADNmt permitiría clasificar a estos individuos B4b* como pertenecientes al linaje americano B2.

También en el grupo étnico mestizo pudieron observarse los cuatro haplogrupos americanos principales. Pero en este caso el haplogrupo A y el haplogrupo B fueron los más abundantes, con una frecuencia del 33.3% cada uno. Todos los individuos del linaje A pertenecían al subhaplogrupo A2, y de estos 3 pudieron ser incluidos dentro de A2p. Por otra parte, de los 14 haplotipos identificados como del haplogrupo B, tan solo uno pudo ser subclasificado como B2h (T16468C), el resto fueron designados como B4b* (aunque probablemente sean B2). El tercer haplogrupo más abundante en este grupo étnico fue el D (23.81%), incluyendo 9 individuos con el linaje D1f y 1 con el D4h3a. Por último, se identificó el haplogrupo C en el 9.5% de los individuos, que presentaron el subhaplogrupo C1b.

En la gráfica pueden visualizarse las distribuciones de los haplogrupos en los 3 grupos étnicos ecuatorianos.

Figura 21. Representación de los haplogrupos hallados en las 3 poblaciones en estudio, con su frecuencia relativa.



Los resultados obtenidos en las poblaciones ecuatorianas se compararon con los porcentajes de los haplogrupos A, B, C y D de las poblaciones americanas recopiladas, recogidos en la Tabla 39. Observando la distribución geográfica de los haplogrupos mitocondriales en el continente americano, se pueden trazar patrones de distribución de frecuencias distintos para cada uno de los haplogrupos americanos.

Tabla 39. Frecuencias de los haplogrupos principales americanos en las poblaciones americanas recopiladas

POBLACIÓN	A	B	C	D	POBLACIÓN	A	B	C	D
SUDAMÉRICA	23.57	33.92	24.11	18.39	MESOAMÉRICA	64.64	21.99	9.71	3.66
Salta	22.22	38.89	27.78	11.11	Maya	61.54	17.31	15.38	5.77
Catamarca	24	4	24	48	Otomí	39.71	25	29.41	5.88
Aymara	7	81	6	5	Xochimilco	77.14	14.29	8.57	-
Quechua (Bolivia)	15	61	19	4	Chihuahua	25	51.56	21.88	1.56
La paz	11.54	60.57	20.19	7.7	Huetar	70.37	-	-	29.63
Gaviao	14.81	14.81	-	70.37	Nicaragua	82.88	15.75	-	1.37
Xavante	16	84	-	-	El Salvador	95.4	2.3	2.3	-
Yanomami	-	4.08	63.27	32.65	Ngöbe	63.64	36.36	-	-
Zoro	20	6.67	13.33	60	Kuna	61.76	38.24	-	-
Yagán	-	-	40	60	Emberá	23.08	53.85	23.08	-
Mapuche (Chile)	-	23.53	35.29	41.18	Cuba	67.9	6.17	16.05	9.88
Arsario	90.91	-	9.09	-	NORTEAMÉRICA	61.84	27.54	8.45	2.17
Coreguaje	3.7	18.52	66.67	11.11	Dogrib	100	-	-	-
Ijka	89.66	3.45	6.9	-	Haida	90.24	-	9.76	-
Kogui	56.25	-	43.75	-	Aleut	28.5	-	-	71.5
Wayúu	38.1	26.19	35.71	-	Apaches	75.3	15.06	9.64	-
Colombia	37.76	39.8	12.24	10.2	Navajo	47.22	43.75	7.64	1.39
Secoya-Siona	8.33	25	66.67	-	Yakima	7.5	65	10	17.5
Cayapa	33.33	33.33	33.33	-					
Cofan	-	25	75	-					
Achés	9.52	90.48	-	-					
San Martín	9.52	57.14	4.76	28.57					
Arequipa	8.7	69.57	13.04	8.7					
Tayacaja	22.03	33.9	13.56	30.51					
Quechua (Perú)	22.73	31.82	9.09	36.36					

El haplogrupo A se encuentra ampliamente distribuido por todo el continente americano, aunque presenta una clina decreciente de norte a sur. Las frecuencias de este linaje en Kichwas y Mestizos (>33%) está por encima de la media estimada para el continente sudamericano (23.57%), pero acorde con otras poblaciones del norte de Sudamérica como los Wayuús (38.1%) y población general (37.76%) de Colombia, y la población ecuatoriana de los Cayapa (33.3%). La elevada frecuencia de A2 descrita en los Waorani también se observa en determinados grupos colombianos como los Ijka (89.66%) y Arsario (90.91 %).

El haplogrupo B se halla en mayores frecuencias al sur del continente, aunque también en determinadas poblaciones del norte y centro de América. La prevalencia de este linaje en Kichwas y Mestizos, por encima del 30%, se ajusta a la media hallada en el continente sudamericano (33.92%) y sobre todo a poblaciones como los Cayapa (33.3%); Tayacaja (33.9%) y Quechua de Perú (31.82%). Este haplogrupo se halla ausente en los Waorani, como también sucede en grupos como los Arsario y Kogui de Colombia o los Huetar de Costa Rica.

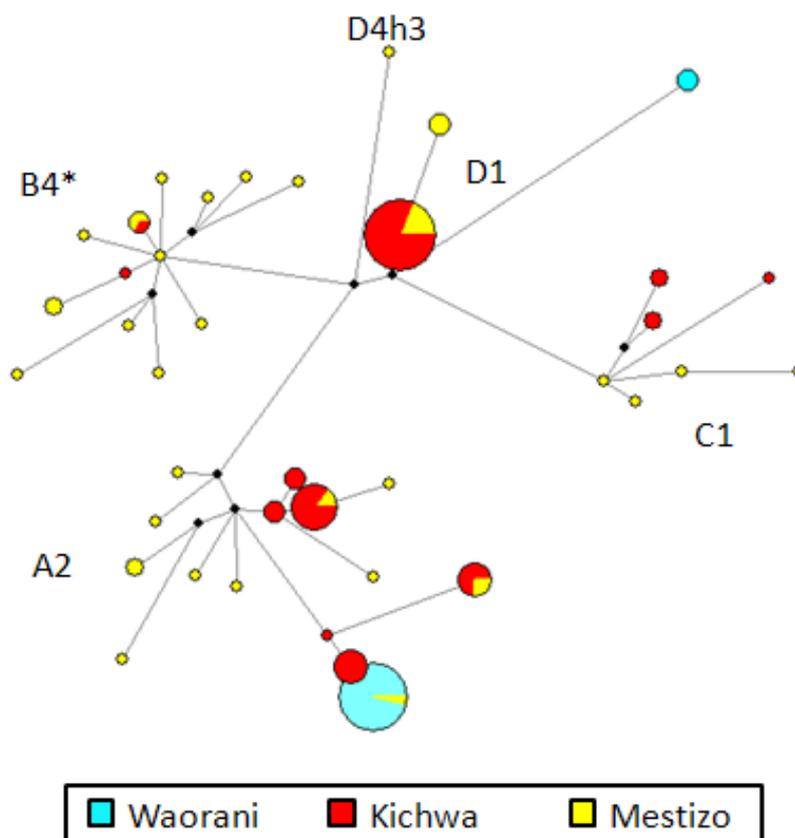
Por lo que respecta al haplogrupo C, éste predomina en el sur del continente. No obstante, no ha sido identificado en los Waorani, y se ha hallado en frecuencias por debajo del 10% en los otros dos grupos ecuatorianos. Esta baja frecuencia de C contrasta por ejemplo con los Cayapa, con frecuencias alrededor del 33%. No obstante, vuelve a ser acorde con poblaciones cercanas como las colombianas Ijka (6.9%) y Arsario (9.09%); o los Quechua de Perú (9.09%). Otras poblaciones como las brasileñas Gaviao o Xavante, y varios grupos de Centroamérica también se caracterizan por la ausencia de este linaje.

Finalmente el haplogrupo D presenta elevada prevalencia en el sur del continente, aunque en poblaciones del Norte como los Aleuts también es altamente frecuente. Mientras en los Waorani y los Mestizos el haplogrupo D se encuentra en frecuencias por debajo de 10 y 20 %, y por lo tanto cerca de la media observada para el conjunto de Sudamérica (18.39%), en los Kichwa se halla por encima de dicha media, con frecuencias del 40%. Es de destacar la ausencia de este linaje en tres grupos ecuatorianos Cayapa, Secoya-Siona y Cofán.

1.4. Red promedio de las poblaciones ecuatorianas

La Figura 22 muestra la red promedio (*Median Joining network*) obtenida para los 139 individuos pertenecientes a los tres grupos ecuatorianos objeto de este estudio.

Figura 22. Red promedio resultante para los haplogrupos identificados en los grupos Waorani (azul), Kichwa (rojo) y Mestizo (amarillo). El tamaño del círculo es proporcional al número de individuos que poseen dicho haplotipo.



En la red promedio obtenida se pueden diferenciar los cuatro haplogrupos mayoritarios de las poblaciones amerindias: A2, B4*, C1 y D1, así como el linaje minoritario D4h3. Los nodos intermedios (*median vectors*) representan haplotipos no detectados en las muestras analizadas pero que son necesarios para construir correctamente la red. Para el análisis no se han tenido en cuenta las inserciones en las regiones homopoliméricas de citosinas.

El haplogrupo más complejo y también el más frecuente en las poblaciones estudiadas es el A2. Está compuesto por individuos de las tres poblaciones ecuatorianas, que presentan varios haplotipos en común, en especial los Kichwas y los Mestizos. El nodo principal, con las mutaciones 16111T, 16223T, 16290T, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 153G, 235G y 263G, no se halla presente en estas poblaciones. Tampoco se puede identificar el nodo secundario que además de las mutaciones anteriores también presentaría la 146C. De este segundo nodo derivan la mayor parte de haplotipos.

El haplogrupo B4* presenta una clara distribución en estrella a partir de un único nodo o haplotipo central (16183C, 16189C, 16217C, 73G y 263G), que se ha podido identificar en la población mestiza. También la distribución del haplogrupo C1 es estrellada, con un haplotipo central (16223T, 16298C, 16325C, 16327T, 73G, 249d, 263G y 290-291d) presente entre los mestizos, del cual derivarían las otras variantes. Finalmente el haplogrupo D, formado únicamente por 4 haplotipos distintos, es el que presenta un patrón más simple, por un lado se diferencia la rama con los haplotipos pertenecientes a D1, y por otro, la variante correspondiente al haplogrupo minoritario D4h3.

1.5 Análisis inter poblacional

Haplotipos compartidos entre poblaciones de estudio y otras poblaciones de América

Tal y como se ha observado en el *network*, las tres poblaciones ecuatorianas presentan haplotipos en común. A continuación se presenta un estudio más detallado sobre los haplotipos compartidos que se realizó comparando los haplotipos HVSI y HVSII de los Waorani, Kichwa y Mestizos, primero por separado, y luego conjuntamente. Dicho análisis se amplió para la región HVSIII y el D-loop completo en el caso de estas dos últimas poblaciones.

El análisis de HVSI permitió identificar el haplotipo mayoritario de los Waorani en 8 individuos kichwas y 1 individuo mestizo. Al ampliar el análisis a HVSI y HVSII, el haplotipo waorani sólo fue hallado en el individuo mestizo, pues los individuos kichwas, anteriormente mencionados, presentaron un haplotipo HVSII que difería en una o dos posiciones (ausencia de C64T, y de A189G) respecto al haplotipo waorani. Este haplotipo mayoritario también fue hallado en otros individuos waorani estudiados en Cardoso *et al* (2008). En el caso del otro haplotipo caracterizado por la delección no mostró coincidencias con otros individuos ecuatorianos.

Por otro lado, la comparación de los haplotipos correspondientes a Kichwas y Mestizos presentó un mayor número de coincidencias. Entre ambas poblaciones se hallaron varios haplotipos en común para HVSI (n=6), HVSII (n=4) y HVSIII (n=5). El análisis en conjunto de HVSI y HVSII, permitió identificar 4 haplotipos comunes, al igual que analizando las tres regiones hipervariables o la región completa del D-Loop.

También se compararon los haplotipos de las poblaciones estudiadas con otros grupos recopilados de América del Norte, Central y Sur, considerándose únicamente HVSI. A pesar del gran número de secuencias incluidas en dicho análisis, no pudo hallarse ninguna coincidencia para los haplotipos presentes en la población waorani. No obstante tanto los Kichwa como los Mestizos presentaron haplotipos en común con otros grupos americanos.

La población kichwa compartió un total de 4 haplotipos HVSI distintos con otras poblaciones del continente americano, de los cuales 2 fueron exclusivos de poblaciones sudamericanas y 1 de mesoamericanas (Tabla 40).

Tabla 40. Número de coincidencias entre haplotipos HVSI observados en la población kichwa (n) y otros grupos de Norteamérica (NA), Mesoamérica (MA) y Sudamérica (SA). ID: identificación del haplotipo.

ID	HAPLOTIPOS KICHWAS	n	NA	MA	SA
H1	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	6	90	54	22
H2	16051G 16183C 16189C 16217C	1	-	1	-
H3	16172C 16223T 16298C 16325C 16327T	2	-	-	2
H4	16051G 16093C 16223T 16298C 16325C 16327T	2	-	-	1
	TOTAL	11	90	54	26

El haplotipo H1, presente en 6 individuos kichwa, se halló en grupos poblacionales de lo largo del continente, en especial de América del Norte. En el caso de poblaciones sudamericanas se halló entre las poblaciones de Bolivia (Aymara, Quechua y La Paz), Colombia (Coreguaje y población general), Argentina (Catamarca, Salta), Ecuador (Cayapa), Perú (San Martín, Tayacaja), Brasil (Xavante) y Paraguay (Aché). El haplotipo H2 en cambio fue únicamente identificado en los Emberá de Panamá-Colombia. El resto de haplotipos tan solo mostraron coincidencias con poblaciones de América del Sur, el haplotipo H3 con poblaciones de Colombia (Coreguaje y población general) y H4 con la población peruana de Tayacaja.

El mayor número de haplotipos compartidos se ha dado con las poblaciones de Colombia (Coreguaje, y población general), de Perú (Tayacaja) y Panamá (Emberá) con un total de 2. También señalar el hecho de tan solo haber encontrado un único linaje mitocondrial en común con otras poblaciones Quechua parlantes del continente (Quechuas de Bolivia), cuando por afinidad lingüística sería de esperar que compartieran un importante sustrato genético común. Es destacable que de los 10 haplotipos HVSI distintos identificados en la población kichwa tan solo uno es exclusivo, es decir, no presente en otras poblaciones ecuatorianas o americanas.

Por otro lado, los mestizos comparten un total de 11 haplotipos diferentes con otras poblaciones americanas: 9 con Sudamérica, 7 con Mesoamérica y 3 con Norteamérica (Tabla 41).

De estos haplotipos, 4 mostraron coincidencias exclusivamente con poblaciones sudamericanas: H5 con la población de la Paz; H6 con Cayapas y población general colombiana; ésta última también presentó H7 y H8. Otros 2 haplotipos fueron hallados únicamente en poblaciones de Mesoamérica: H9 en Nicaragua, el Salvador y población Maya; y H10 en la población de Chihuahua.

Tabla 41. Número de coincidencias entre haplotipos HVSI observados en la población mestiza (n) y otras poblaciones de Norteamérica (NA), Mesoamérica (MA) y Sudamérica (SA).

ID	HAPLOTIPOS MESTIZOS	n	NA	MA	SA
H1	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	1	90	54	22
H5	16092C 16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	1	-	-	1
H6	16111T 16213A 16223T 16290T 16319A 16356C 16362C	2	-	-	3
H7	16142T 16207G 16223T 16325C 16362C	3	-	-	1
H8	16209C 16223T 16298C 16325C 16327T	1	-	-	1
H9	16111T 16182C 16183C 16189C 16223T 16290T 16319A 16362C	1	-	6	-
H10	16183C 16189C 16217C 16266T	2	-	1	-
H11	16182C 16183C 16189C 16217C	1	-	10	12
H12	16223T 16274A 16298C 16325C 16327T	1	-	1	1
H13	16223T 16298C 16325C 16327T	1	11	8	68
H14	16183C 16189C 16217C	2	6	19	26
	TOTAL	16	107	99	116

Otras 2 secuencias presentes en los mestizos de Ecuador fueron identificadas tanto en grupos de América Central como del Sur: H11 (Xochimilco, La Paz, Quechua de Perú y Bolivia, Aymara y Salta); y H12 (Colombia y Cuba). El resto de haplotipos se hallaron en las 3 regiones del continente. Así el haplotipo H1, también presente en los Kichwa, fue el más observado a lo largo del continente, tal y como se ha comentado anteriormente. Otro linaje muy frecuente (H13) se halló en poblaciones del norte y centro del continente, pero sobretodo en poblaciones sudamericanas (Arsario, Coreguaje, Colombia, Wayúu, Arequipa, Quechua de Perú y Bolivia, Aymara, Tayacaja, Mapuche de Chile, Yagán, La Paz, Salta, Yanomami y en los grupos ecuatorianos de los Cayapa y Secoya). Finalmente, el haplotipo H14 fue identificado entre los Navajos, pero especialmente en grupos de Mesoamérica (Emberá, Nicaragua, Salvador, Otomi, Chihuahua y Xochimilco) y Sudamérica (Colombia, Wayúu, La Paz, Salta, Aymara y Quechua de Perú y Bolivia).

El grupo que compartió más haplotipos con los Mestizos de Ecuador fue la población colombiana con un total de 7 haplotipos distintos en común, seguida de la boliviana de la Paz y la mexicana de Chihuahua con 5. Contando los haplotipos compartidos con los Kichwa, de los 27 haplotipos HVSI hallados en la población mestiza, 16 pudieron ser identificados en otras poblaciones.

En general, las poblaciones ecuatorianas presentan una mayor similitud genética, en cuanto a linajes maternos, con otras poblaciones del norte de Sudamérica y de Centroamérica que con las del cono sur del continente.

Test exacto de diferenciación poblacional

Para determinar el grado de diferenciación que presentaban las poblaciones ecuatorianas se calculó el test exacto de diferenciación poblacional, en base a los haplotipos HVSI-HVSII. Los resultados (Tabla 42) confirmaron la diferenciación poblacional entre los tres grupos estudiados, ya que en todos los casos se obtuvieron diferencias significativas ($P < 0.05$). Se obtuvieron los mismos resultados cuando se realizó el análisis empleando únicamente HVSI o HVSII, detectándose diferencias significativas en todos los tests.

Tabla 42. Test exacto de diferenciación poblacional entre las tres poblaciones ecuatorianas. Bajo la diagonal: valor exacto de P (asociado al test); sobre la diagonal: diferencias significativas (+) con un nivel de significación de 0.05.

	WAO	KICHWA	MESTIZA
WAO	*	+	+
KICHWA	0.000	*	+
MESTIZO	0.000	0.000	*

Al incluir las poblaciones americanas recopiladas de la bibliografía al análisis no se detectaron afinidades genéticas entre las poblaciones ecuatorianas en estudio y el resto de grupos, pues todos los resultados arrojaron diferencias significativas ($p < 0.05$) (Datos no mostrados).

Análisis de Varianza Molecular (AMOVA)

Para conocer la distribución de la variabilidad genética en la población ecuatoriana, se aplicó el Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) bajo diversas hipótesis.

En primer lugar se realizó el AMOVA considerando los tres grupos étnicos estudiados en un único agrupamiento. Los resultados mostraron que la mayor proporción de la variación genética total observada entre dichas poblaciones residía en la variación presente entre los individuos de cada población, con un 75.8%. Por lo tanto, el 24.2% restante se debía a diferencias interpopulacionales ($P < 0.0001$). Se repitió el análisis incluyendo muestras de otros grupos étnicos de Ecuador (Cayapa, Cofán y Siona-Secoya) recopiladas de la bibliografía para representar mejor la situación multiétnica de Ecuador. Los resultados obtenidos en el análisis fueron muy parecidos a los anteriores, con una variación intrapoblacional del 76% y una variación entre las poblaciones del 24% ($P < 0.0001$).

También se estudió la estructura genética de cada población respecto al conjunto de series ecuatorianas. Así se separó cada población de una a una cada vez que se realizó el análisis. El mayor porcentaje de variación intergrupala se obtuvo al separar en otro grupo la población waorani. Cuando no se tuvo en cuenta este grupo étnico, la variación genética intrapoblacional se elevó hasta el 90.7% al considerar únicamente las muestras kichwas y mestizas, mientras que la interpopulacional disminuyó hasta el 9.3 % aunque siguió siendo significativa ($P < 0.0001$). Este cambio también ocurrió, cuando se analizaron todos los grupos ecuatorianos excepto el Waorani, la variación entre las poblaciones del grupo bajó al 12.6%, incrementándose la variación intrapoblacional hasta el 87.4% ($P < 0.0001$).

Distancias genéticas entre poblaciones

Se realizó el análisis comparativo de los tres grupos ecuatorianos con otras 42 poblaciones de América recopiladas de la bibliografía calculando las distancias genéticas basadas en *Fst*. En la Tabla 43 se recogen las distancias pareadas basadas en *Fst* obtenidas en este análisis realizado para el segmento HVSI.

Tabla 43. Distancias basadas en *Fst* entre las poblaciones ecuatorianas y otras poblaciones americanas * $P > 0.05$

	Waorani	Kichwa	Mestiza		Waorani	Kichwa	Mestiza
Kichwa	0.3258	0.0000	0.0979	Quechua (Bolivia)	0.5271	0.3123	0.0845
Mestiza	0.3972	0.0979	0.0000	La Paz	0.5061	0.2894	0.0723
Aleut	0.4694	0.3293	0.3819	Gaviao	0.5908	0.1652	0.0954
Apache	0.4315	0.3037	0.2491	Xavante	0.5364	0.2067	0.0487
Dogrib	0.5612	0.2500	0.2725	Zoro	0.5909	0.1201	0.1128
Haida	0.4668	0.1753	0.2379	Yanomami	0.6800	0.3640	0.2609
Navajo	0.3942	0.2120	0.0630	Yagán	0.6933	0.2607	0.1615
Yakima	0.6058	0.3112	0.0969	Mapuche (Chile)	0.5479	0.2372	0.0961
Maya	0.3874	0.1226	0.0320	Arsario	0.4434	0.1786	0.1786
Chihuahua	0.4200	0.2112	0.0341	Coreguaje	0.6471	0.3178	0.2020
Otomi	0.3809	0.1142	0.0195*	Ijka	0.6278	0.3096	0.3074
Xochimilco	0.3663	0.1162	0.1053	Kogui	0.4891	0.2147	0.1894
Ngöbe	0.4243	0.1675	0.1209	Wayúu	0.5021	0.1863	0.0598
Kuna	0.5600	0.2329	0.1085	Colombia	0.3809	0.1061	0.0503
Chibcha	0.4795	0.1513	0.1357	Cayapa	0.4809	0.1562	0.0415
Emberá	0.5486	0.2570	0.0560	Secoya-Siona	0.7283	0.3171	0.1569
Nicaragua	0.3259	0.1434	0.1273	Cofán	0.8174	0.3733	0.1660
Cuba	0.3287	0.1073	0.1004	Aché	0.8428	0.5195	0.3058
Salvador	0.4041	0.2221	0.2730	San Martín	0.6265	0.2527	0.0541
Salta	0.5953	0.2215	0.015*	Arequipa	0.6750	0.3416	0.1072
Catamarca	0.5599	0.1400	0.1052	Tayacaja	0.4679	0.1526	0.0310
Aymara	0.6268	0.4296	0.1787	Quechua (Perú)	0.4873	0.1308	-0.0047*

En la comparación entre pares de poblaciones se observaron diferencias significativas en todas las comparaciones realizadas entre la población waorani y el resto de poblaciones, obteniéndose distancias elevadas ($Fst > 0.3$). En la población kichwa también se hallaron distancias significativas en todos los casos, siendo las poblaciones ecuatoriana mestiza ($Fst=0.0979$ $P=0.00030 \pm 0.0002$) y la colombiana las relativamente más cercanas ($Fst= 0.1061$ $P= 0$). Por su parte, la población mestiza presentó distancias significativas con todos los grupos poblacionales, excepto con la población Quechua de Perú ($Fst= -0.0047$ $P=0.4805 \pm 0.0139$), la población argentina de Salta ($Fst= 0.015$ $P=0.2193 \pm 0.0158$) y la mexicana Otomi ($Fst=0.0195$ $P=0.0664 \pm 0.006$).

Para facilitar la interpretación, las distancias basadas en *Fst* se representaron en un MDS (Stress: 0.027) (Figura 23).

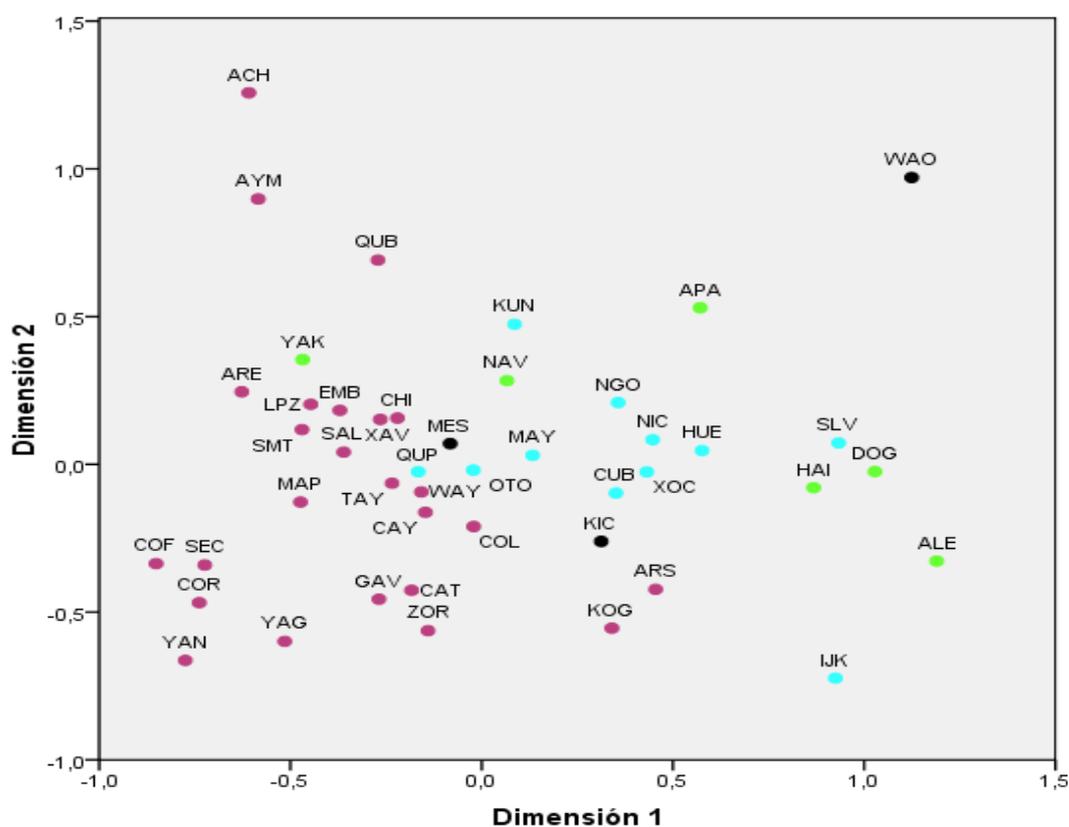


Figura 23. Representación MDS de las distancias genéticas basadas en *FST* entre pares de poblaciones: grupos ecuatorianos objeto del estudio (en negro), de Norteamérica (en verde), Mesoamérica (azul) y Sudamérica (en granate). ACH: Aché; ALE: Aleut; APA: Apache; ARE: Arequipa; ARS: Arsario; AYM: Aymara; CAT: Catamarca; CAY: Cayapa; CHI: Chile; COF: Cofán; COL: Colombia; COR: Coreguaje; CUB: Cuba; DOG: Dogrib; EMB: Emberá; GAV: Gaviao; HAI: Haida; HUE: Huetar; IJK: Ijka; KIC: Kichwa; KOG: Kogui; KUN: Kuna; LPZ: La Paz; MAP: Mapuche; MAY: Maya; MES: Mestiza; NAV: Navajo; NGO: Ngöbe; NIC: Nicaragua; OTO: Otomi; QUB: Quechua (Bolivia); QUP: Quechua (Perú); SAL: Salta; SLV: Salvador; SEC: Secoya-Siona; SMT: San Martín; TAY: Tayacapa; WAO: Waorani; WAY: Wayúu; XAV: Xavante; XOC: Xochimilco; YAG: Yagán; YAK: Yakima; YAN: Yanomami; ZOR: Zoro.

Aunque en el gráfico MDS no se identifican clusters que diferencien claramente las poblaciones del norte, centro y sur del continente, sí que pueden deducirse ciertos patrones en la distribución. En líneas generales, puede observarse que las poblaciones con una elevada prevalencia del haplogrupo A, como las poblaciones Haida, Dogrib, El Salvador o Waorani, entre otros; se sitúan en el cuadrante positivo del eje X. En cambio las poblaciones con elevada prevalencia del haplogrupo B se localizan mayoritariamente en el cuadrante superior izquierdo (Aymara, Quechua de Bolivia y Aché), mientras los que presentan una mayor frecuencia de C (Cofán, Yanomami, Secoya, Coreguaje) y D (Gaviao, Zoro, Catamarca) predominan en el cuadrante inferior izquierdo.

En cuanto a los grupos ecuatorianos, las tres poblaciones aparecen separadas entre sí. El grupo mestizo se sitúa más cercano a grupos de Colombia (Wayúu) y de México (Otomi), mientras que los Kichwa no muestran un claro agrupamiento con otros grupos, aunque puede verse una cierta proximidad con los Arsario de Colombia o con la población cubana. Finalmente, a destacar la posición relativamente lejana de los Waorani respecto al resto de poblaciones, reflejando su singularidad.

2. CROMOSOMA Y

Se realizó el análisis genético poblacional del cromosoma Y de un total de 55 individuos ecuatorianos no emparentados, 26 individuos kichwas y 27 individuos mestizos. Todos estos individuos fueron estudiados para 17 STRs del cromosoma Y (DYS19, **DYS389I**, **DYS389II**, **DYS390**, **DYS391**, **DYS392**, **DYS393**, **DYS385a/b**, **DYS438**, **DYS439**, **DYS437**, **DYS448**, **DYS456**, **DYS458**, **DYS635** y **GATAH4**). El estudio fue complementado con el análisis de Y-SNPs. El estudio del cromosoma Y en los individuos waoranis caracterizados para ADNmt y cromosoma X en este trabajo, puede hallarse en Geppert *et al.* (2011).

A continuación se presentan los resultados obtenidos tras la determinación de los Y-STRs e Y-SNPs seleccionados en las poblaciones kichwa y mestiza de Ecuador.

2.1. Parámetros de diversidad.

Se estimó la distribución de las frecuencias alélicas para cada uno de los marcadores del cromosoma Y en los dos grupos étnicos (Tabla 44). La distribución de las frecuencias alélicas obtenidas para los 17 Y-STRs en cada una de las poblaciones analizadas reveló que la mayor parte de los marcadores presentaban una distribución unimodal. De estos marcadores, 11 (**DYS19**, **DYS389I**, **DYS390**, **DYS391**, **DYS392**, **DYS393**, **DYS438**, **DYS439**, **DYS437**, **DYS456**, **GATAH4**) mostraron la misma moda (alelo más común) para las 2 poblaciones.

Tabla 44. Frecuencias alélicas de los 17 Y-STRs analizados para la población kichwa (n=27) y mestiza (n=28). En negrita se indica la frecuencia del alelo más frecuente.

		DYS19				DYS385	
		Kichwa	Mestiza			Kichwa	Mestiza
12		-	0.0357	11,11		-	0.0357
13		0.5185	0.3929	11,12		-	0.0357
14		0.1111	0.3571	11,14		-	0.1071
15		-	0.1786	11,16		-	0.0357
16		0.3704	0.0357	11,18		0.0370	-
				12,13		-	-
				12,14		0.3333	0.0357
				12,18		0.0370	-
				13		0.0370	-
				13,15		-	0.1071
				13,18		0.0741	0.0357
				13,22		-	0.0357
				14		0.0370	-
				14,15		-	0.0357
				14,16		-	0.0714
				14,17		0.0741	0.0714
				14,19		-	0.0714
				15,15		-	-
				15,16		0.0741	-
				15,17		0.2222	0.0357
				15,18		0.0370	-

		DYS389I	
		Kichwa	Mestiza
12		0.0370	0.1071
13		0.8519	0.7143
14		0.1111	0.1786

		DYS389II	
		Kichwa	Mestiza
27		-	-
28		0.1111	0.0714
29		0.0370	0.3571
30		0.6667	0.3571
31		0.1481	0.1786
32		0.0370	0.0357

DYS390		
	Kichwa	Mestiza
21	-	0.0714
22	0.0370	0.0714
23	0.1111	0.2857
24	0.6296	0.3929
25	0.1481	0.1429
26	0.0741	0.0357

DYS391		
	Kichwa	Mestiza
9	0.2593	0.0714
10	0.4815	0.6429
11	0.2593	0.2857

DYS392		
	Kichwa	Mestiza
11	0.3704	0.2500
13	0.1481	0.2500
14	0.4444	0.4643
15	-	0.0357
16	0.0370	-

DYS393		
	Kichwa	Mestiza
12	0.0741	0.1786
13	0.8148	0.6071
14	0.1111	0.1429
15	-	0.0714

DYS438		
	Kichwa	Mestiza
8	0.0370	0.0357
9	-	0.1429
10	0.4074	0.2143
11	0.5556	0.3214
12	-	0.2857

DYS439		
	Kichwa	Mestiza
10	-	0.0357
11	-	0.2857
12	0.5926	0.4286
13	0.2963	0.2500
14	0.1111	-

DYS437		
	Kichwa	Mestiza
13	0.0741	0.0357
14	0.9259	0.5357
15	-	0.2857
16	-	0.1429

16	0.0370	0.0714
16,17	-	0.0714
16,19	-	0.0357
17	-	0.0714
17,18	-	0.0357

DYS448		
	Kichwa	Mestiza
18	-	0.0714
19	0.2222	0.4286
20	0.3704	0.3214
21	0.4074	0.0714
22	-	0.0714
23	-	0.0357

DYS456		
	Kichwa	Mestiza
13	-	0.0357
14	-	0.0357
15	0.6667	0.5357
16	0.2963	0.3214
17	0.0370	0.0714

DYS458		
	Kichwa	Mestiza
15	0.1481	0.0714
16	0.0741	0.3214
17	0.2593	0.3571
18	0.2222	0.1786
19	0.2593	0.0714
20	0.0370	-

DYS635		
	Kichwa	Mestiza
20	0	0
21	0.0370	0.2500
22	0.8148	0.3214
23	0.1481	0.3571
24	-	0.0357
25	-	0.0357

GATAH4		
	Kichwa	Mestiza
9	-	0.0357
10	0.0370	0.1429
11	0.6667	0.2857
12	0.2963	0.5000
13	-	0.0357

En cuanto a la diversidad génica (Tabla 45), el marcador DYS385 presentó la mayor variabilidad en los dos grupos, debido a la duplicación génica que presenta. Del resto de marcadores, los que presentaron una mayor variabilidad fueron DYS458 en los varones kichwa (0.8177) y DYS438 en mestizos (0.7751). Contrariamente, los sistemas DYS437 y DYS389I mostraron la diversidad más baja en Kichwas (0.14245) y Mestizos (0.46296) respectivamente.

Tabla 45. Diversidad génica (D) para los 17 Y-STRs analizados. En negrita se indica el valor de diversidad más elevado en cada población, y subrayado el más bajo.

Locus	Kichwa	Mestiza
DYS19	0.6040	0.7090
DYS389I	0.2707	<u>0.4630</u>
DYS389II	0.5385	0.7328
DYS390	0.5841	0.7593
DYS391	0.6581	0.5185
DYS392	0.6667	0.6825
DYS393	0.3305	0.5952
DYS385	0.8462	0.9683
DYS438	0.5442	0.7751
DYS439	0.5698	0.6958
DYS437	<u>0.1425</u>	0.6323
DYS448	0.6724	0.7222
DYS456	0.4843	0.6243
DYS458	0.8177	0.7540
DYS635	0.3248	0.7302
GATAH4	0.4843	0.6693

Determinación Haplotípica

Los haplotipos obtenidos para el conjunto de microsatélites analizados en las poblaciones kichwa y mestiza se recogen en el Anexo IV y V respectivamente. Estos haplotipos están constituidos por los 17 Y-STRs analizados siguiendo el orden: DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS385 a/b, DYS438, DYS439, DYS437, DYS448, DYS456, DYS458, DYS635 y GATAH4.

A partir de los haplotipos se calcularon los siguientes parámetros estadísticos:

Tabla 46. Parámetros de diversidad calculados en cada población.

	Kichwa	Mestiza
Tamaño de la muestra	27	28
Nº Haplotipos diferentes	17	26
Poder de discriminación	0.6296	0.9286
Diversidad Haplotípica	0.9516±0.0251	0.9947± 0.0112
Diferencias <i>pairwise</i>	9.2336 ± 4.3805	11.6825 ± 5.4545

En la población kichwa, el sistema de Y-STRs permitió diferenciar un total de 17 haplotipos diferentes a partir de las 27 muestras analizadas. De estos haplotipos, 11 fueron observados en un único individuo. El haplotipo más frecuente se halló en 5 individuos (16-13-30-24-9-11-

13-12,14-10-12-14-21-15-19-22-11). Del resto de haplotipos, uno fue hallado en tres individuos y otros cuatro haplotipos en dos personas. La diversidad haplotípica observada del sistema fue de 0.9516 con un poder de discriminación (haplotipos/total muestra x 100) del 62.96%.

Cuando se determinaron los haplotipos teniendo en cuenta para su análisis únicamente los marcadores del Haplotipo Mínimo Europeo (DYS19, DYS385 a y b, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392 y DYS393), se obtuvieron valores ligeramente inferiores de diversidad haplotípica (0.9231) y de poder de discriminación (59.25%), ya que se diferenció un haplotipo menos que con el uso de todos los Y-STRs.

En el caso de la población mestiza, el análisis de los 17 Y-STRs permitió detectar 26 haplotipos diferentes en las 28 muestras analizadas. Se determinaron un total de 24 haplotipos únicos, hallándose únicamente dos haplotipos repetidos dos veces (13-13-30-25-11-14-13-14,19-11-11-14-20-15-16-22-11 y 14-13-29-23-10-11-12-14,16-9-12-15-22-15-16-21-12). La diversidad haplotípica y el poder de discriminación del sistema presentaron valores de 0.9947 y del 92.86%, respectivamente. En este caso, el análisis basado en los marcadores del haplotipo mínimo no supuso una reducción de la capacidad discriminativa del cromosoma Y, ya que se diferenció el mismo número de haplotipos que cuando se empleó el set completo de Y-STRs.

De los dos grupos ecuatorianos analizados, la población mestiza presentó los valores más elevados de diversidad haplotípica y de poder de discriminación, así como el mayor número de diferencias por pares de haplotipos (11.68 vs 9.23).

Comparación de los parámetros de diversidad con otras poblaciones americanas

Se compararon los índices de diversidad obtenidos para las dos poblaciones con los calculados para diferentes poblaciones americanas (Tabla 47).

Los parámetros de diversidad observados en la población mestiza y kichwa se encuentran dentro del rango obtenido para otras poblaciones de América estudiadas para el mismo set de marcadores. Pero mientras la variabilidad de los mestizos se corresponde con los valores más altos observados en otras poblaciones también mestizas del continente (México, Colombia o Brasil), los valores obtenidos para los Kichwas son más acordes a la variabilidad más baja descrita para otras poblaciones amerindias (Maya, Quechua o Emberá). No obstante, ambos grupos presentan valores superiores a la otra población ecuatoriana incluida en la comparación, la Waorani, que se caracteriza por presentar los valores de diversidad haplotípica y número de diferencias entre pares de haplotipos más bajos dentro de esta recopilación.

También se compararon los datos obtenidos en las dos poblaciones ecuatorianas con otros grupos de Ecuador, estudiados anteriormente para un menor número de marcadores (Baeza *et al.*, 2007; González-Andrade *et al.*, 2008a). En este caso, se han obtenido valores de diversidad genética intrapoblacional similares (en términos de número de diferencias *pairwise*) al realizar la comparación entre grupos del mismo origen étnico (Datos no mostrados).

Tabla 47. Índices de diversidad de los 17 Y-STRs en poblaciones americanas (ordenadas en función del número de diferencias *pairwise*). N: número de individuos, K= número de haplotipos distintos

Población	n	k	Diversidad haplotípica	Número de diferencias <i>pairwise</i>
Waoorani (Ecuador)	34	7	0.7077 ± 0.0545	7.1390 ± 3.4249
Toba (Argentina)	49	34	0.9769 ± 0.0100	7.8299 ± 3.7014
Aymara (Bolivia)	58	43	0.9879 ± 0.0058	7.9946 ± 3.7638
Emberá (Colombia)	21	10	0.9000 ± 0.0390	9.0571 ± 4.3272
Quechua (Bolivia)	55	44	0.9879 ± 0.0073	9.0815 ± 4.238
Maya (Guatemala)	110	101	0.9983 ± 0.0015	9.3935 ± 4.3429
Beni (Colombia)	87	56	0.9808 ± 0.0067	10.0075 ± 4.6196
Inupiat (Alaska, EEUU)	151	97	0.9870 ± 0.0032	10.5374 ± 4.8262
Yupik (Alaska, EEUU)	150	109	0.9900 ± 0.0018	10.5537 ± 4.8334
Colla (Argentina)	29	16	0.9497 ± 0.020	10.7069 ± 5.0061
Athabaskan (Alaska, EEUU)	153	122	0.9968 ± 0.0012	10.7784 ± 4.9294
Afroamericanos (EEUU)	259	259	0.9999 ± 0.0004	10.9801 ± 5.0059
Mestizos (Nicaragua)	165	156	0.9993 ± 0.0008	11.0025 ± 5.0238
Bogotá (Colombia)	201	196	0.9998 ± 0.0005	11.0473 ± 5.039
Santa Catarina (Brasil)	109	103	0.9990 ± 0.0014	11.0613 ± 5.061
Santander (Colombia)	205	192	0.9993 ± 0.0006	11.1132 ± 5.0668
Mestizos (Guatemala)	115	112	0.9995 ± 0.0012	11.1837 ± 5.1118
Caribe (Colombia)	305	293	0.9996 ± 0.0003	11.3576 ± 5.1654
Yucatán (México)	170	169	0.9999 ± 0.0006	11.5983 ± 5.2788

2.2. Determinación de haplogrupos

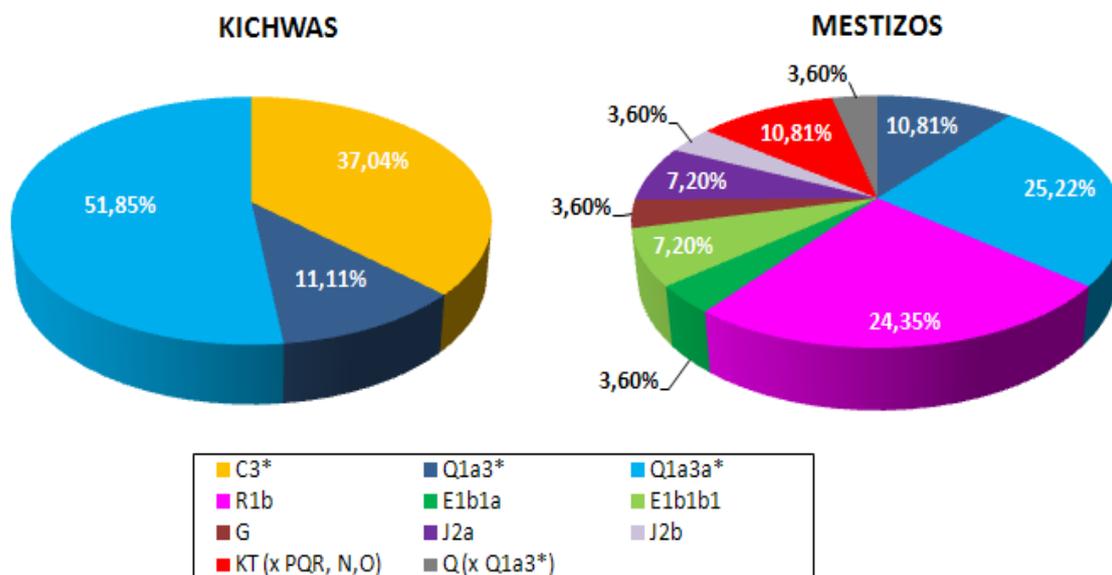
Mediante el análisis de los SNPs del cromosoma Y se determinaron los haplogrupos de los varones ecuatorianos analizados (Anexo VI). En la Tabla 48 se muestra su frecuencia de aparición en cada grupo étnico.

Tabla 48. Frecuencia relativa en % (frecuencia absoluta) de los haplogrupos y subhaplogrupos identificados en Kichwas y Mestizos

	Kichwas (n=27)	Mestizos (n=28)
C3* (C-M217)	37.04 (10)	-
E1b1a (E-M2)	-	3.57 (1)
E1b1b1 (E-M35)	-	7.14 (2)
G (G-M201)	-	3.57 (1)
J2a (J-M410)	-	7.14 (2)
J2b (J-M102)	-	3.57 (1)
KT (M9) (x PQR, N,O)	-	10.71 (3)
Q* (Q-M242) (xQ1a3)	-	3.57 (1)
Q1a3* (Q-M346)	11.11 (3)	10.71 (3)
Q1a3a* (Q-M3)	51.85 (14)	25 (7)
R1b (R-M343)	-	25 (7)

El estudio de 41 SNPs distintos permitió diferenciar un total de 11 haplogrupos o sublinajes diferentes en las dos poblaciones analizadas. Los mestizos son los que presentan mayor número de haplogrupos y sublinajes distintos, tal y como puede observarse en la Figura 24.

Figura 24. Frecuencia de los haplogrupos del cromosoma Y presentes en Kichwas y Mestizos.



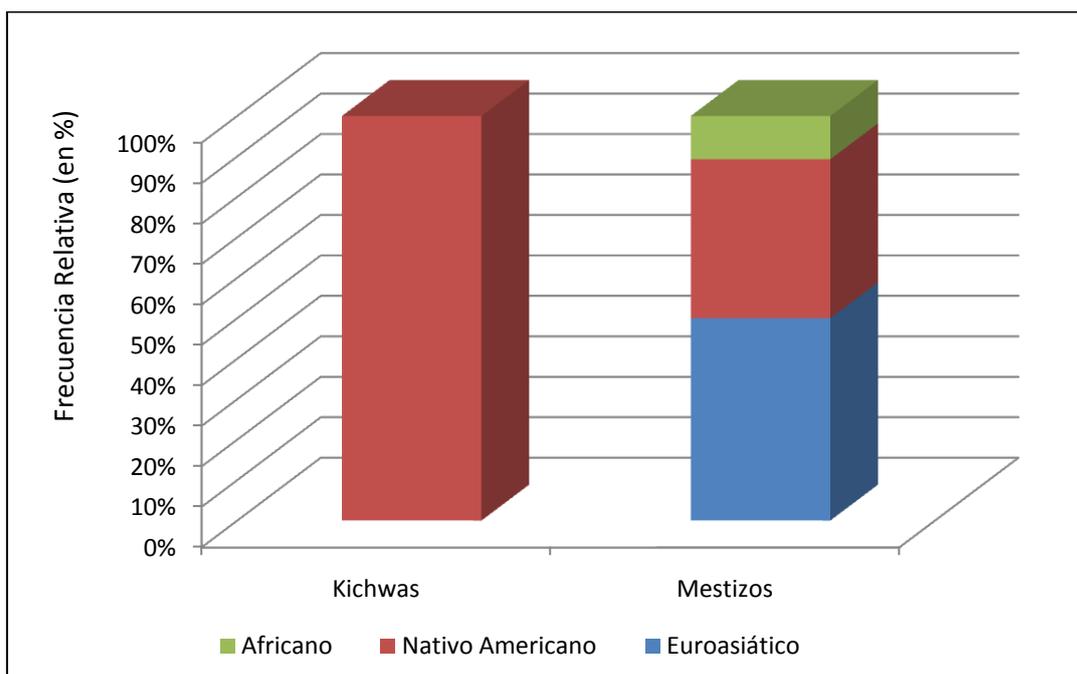
Dentro de la población kichwa se diferenciaron dos haplogrupos principales: Q1a3 y C3*. El haplogrupo Q1a3 (M346) fue el más abundante entre los varones kichwa, presentándose en el 62.96% de los casos. Más concretamente el 51.85 % de la población presentó el sublinaje Q1a3a* (Q-M3) característico de las poblaciones amerindias, el resto de individuos solo pudieron ser clasificados como Q1a*(x M3). El otro haplogrupo hallado en esta población fue el C3* (M217), presente en el 37.04% de los individuos. Mediante el tipado de SNPs específicos para todos los sublinajes del C3, se pudo descartar que este linaje perteneciera a los subhaplogrupos C3a (M93), C3b (P39), C3c (M48, M86), C3d (M407), C3e (P53.1) y C3f (P62).

La población mestiza presentó una mayor número de linajes del cromosoma Y. El linaje más abundante fue el haplogrupo Q1a3 (con un 35.71 %), incluyendo el sublinaje Q1a3a* presente en el 25% de la población. Un 3.57% presentó un linaje Q* que no pudo ser subclasificado como Q1a3, pero que podría pertenecer a otros sublinajes como Q1* (Bisso-Machado *et al.*, 2011).

El haplogrupo europeo R1b se presentó también en el 25% de este grupo étnico. En esta población además se pudieron identificar los sublinajes del haplogrupo E, E1b1b1 (7.14%) y E1b1a (3.57%), y del J, J2a (7.14%) y J2b (3.57%). El 3.57% de los varones presentaron el haplogrupo G (3.57%). Por último, un 10.71% de la población presentó haplogrupos incluidos en el clado K-T (M9), descartándose su pertenencia a los linajes N (M231), O (M175), P, Q y R (M45), cuyos marcadores resultaron ancestrales en el análisis de las muestras.

Teniendo en cuenta el origen más frecuente de los haplogrupos identificados, se estimó la proporción de mezcla presente en los linajes del cromosoma Y, determinando el porcentaje de linajes de origen nativo americano (haplogrupos Q y C), euroasiático (G; J; R1b y K-T xN, O, PQR) y africano (E) en las dos poblaciones.

Figura 25. Origen de los haplotipos del cromosoma Y.

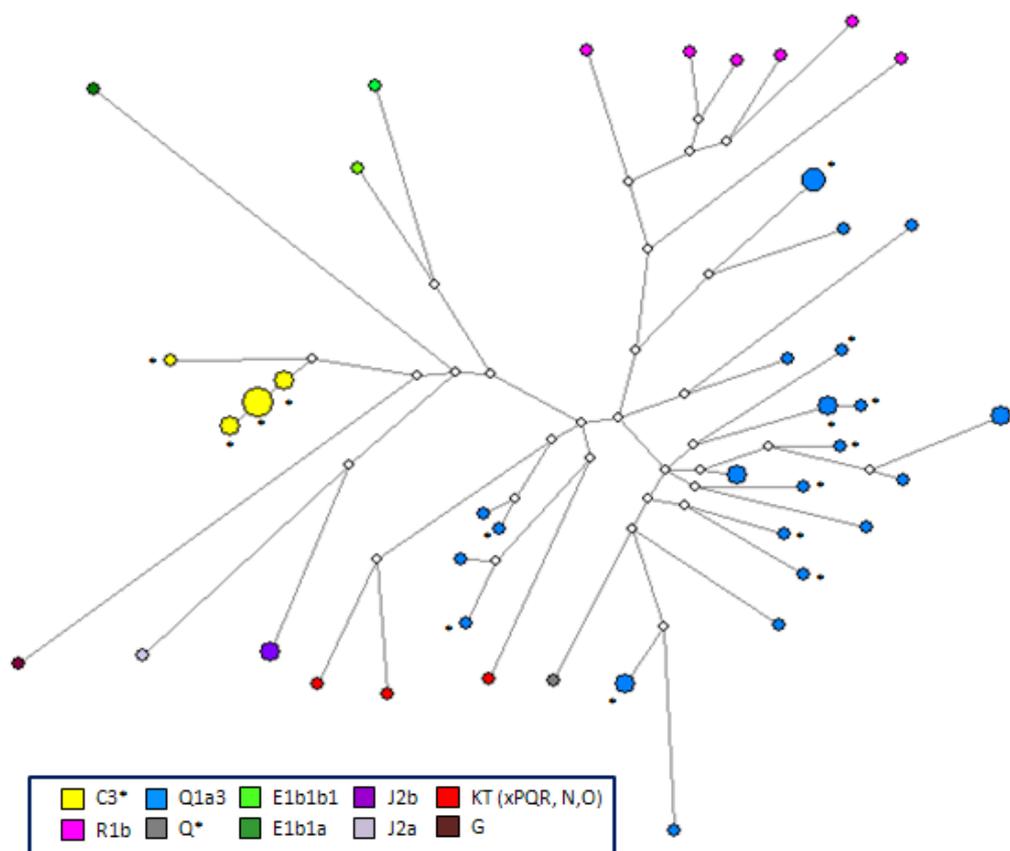


Con esta aproximación se estimó que el 100% de los individuos kichwas presentaban linajes del cromosoma Y de origen nativo americano. En cambio, en mestizos se determinó que los linajes europeos alcanzaban un 50 % de la población, los nativos americanos un 39.29% y los africanos un 10.71%.

2.3. Red promedio de las poblaciones ecuatorianas

Se construyó un *network* de haplotipos de las dos poblaciones ecuatorianas a partir de los Y-STRs. En él se puede observar bastante claramente como se distribuyen los haplotipos según su haplogrupo. En lo referente a los haplotipos pertenecientes al haplogrupo Q1a3 no se observa una clara diferenciación entre haplotipos kichwas y mestizos, al contrario, varios de ellos están separados por solo algunos pasos mutacionales. Dentro del haplogrupo C, hay un haplotipo más frecuente y otros dos separados de éste por un único paso mutacional, también aparece un cuarto haplotipo pero éste ya tiene un mayor número de mutaciones respecto a los otros. Por otro lado, en relación al haplogrupo R1b, su topología parece indicar la presencia de un haplotipo fundador (no presente en estas poblaciones), del cual surgirían la mayor parte de los haplotipos.

Figura 26. *Network* de los haplotipos kichwas (*) y mestizos obtenidos. El tamaño de los círculos es proporcional al número de individuos que portan ese haplotipo.



2.4. Análisis interpoblacional

Haplotipos compartidos

No se observaron haplotipos compartidos entre los grupos étnicos ecuatorianos estudiados. Tampoco se hallaron coincidencias al realizar la comparación usando únicamente los haplotipos mínimos.

Por otra parte, la búsqueda de los haplotipos 17 Y-STRs obtenidos en la base de datos YHRD mostró coincidencias en el caso de dos haplotipos mestizos, más concretamente con dos individuos mestizos de Colombia. En cambio, en el caso de los haplotipos kichwas no se halló ninguna coincidencia completa. Esta falta de coincidencias podría deberse, en parte, a la falta de estudios poblacionales realizados para los 17 Y-STRs aquí analizados. Es por ello que se repitió la comparación reduciendo el número de marcadores incluidos, más concretamente se emplearon únicamente los haplotipos mínimos. En este caso, se pudieron identificar 2 haplotipos kichwas en poblaciones mestizas de Latinoamérica: un haplotipo (Hg Q1a3*) coincidió con un individuo hispano de EEUU y otro (Hg C3*) con un individuo ecuatoriano. Otro haplotipo mínimo kichwa (Hg C3*) mostró 5 coincidencias con individuos de poblaciones euroasiáticas (República Checa, Polonia y Eslovaquia).

El número de coincidencias se incrementó considerablemente en el caso de los haplotipos mínimos mestizos, un total de 19 haplotipos distintos fueron identificados en otras poblaciones de diversas regiones del mundo. El mayor número de coincidencias se dio con haplotipos de origen caucásico (con un total de 538 coincidencias) y mestizo (297), y en un número menor de coincidencias con haplotipos africanos (39), y nativo americanos (10), entre otros. Profundizando un poco más en las coincidencias con la metapoblación nativa americana, vemos que éstas se dan con individuos kichwas de Ecuador (descritos previamente en González-Andrade *et al.* 2009), de Bolivia (Beni), Argentina (Diaguaita, Mapuche), Brasil (Mato Grosso do Sul) y de EEUU (Athabaskan, Cherokee/Cheyenne y Chippewa/Sioux).

Test exacto de diferenciación poblacional

Se realizó el test exacto de diferenciación poblacional incluyendo las dos poblaciones estudiadas, así como datos de otros 6 grupos ecuatorianos analizados en estudios previos (2 grupos mestizos, 1 afroecuatoriano, 2 waorani y 1 kichwa). Dicho análisis se realizó a partir de los 12 loci en común. Como era de esperar, dada la heterogeneidad del conjunto de poblaciones, el valor global del Test Exacto fue significativo ($P= 0.000$). Se pudo determinar que los tres grupos mestizos analizados no mostraban diferencias significativas entre sí ($P > 0.05$), pero en los otros casos, todas las diferencias fueron significativas, incluso cuando se compararon entre sí los dos grupos kichwas o los dos grupos waorani. Esto último puede deberse a que el número de individuos para alguno de estos grupos amerindios es bajo, por lo que podríamos estar viendo desviaciones derivadas al bajo tamaño muestral.

Análisis Molecular de Varianza (AMOVA)

Para evaluar la diferenciación genética que presenta la población ecuatoriana se realizó el análisis molecular de varianza. Se incluyeron también los grupos ecuatorianos disponibles en la bibliografía. El mayor porcentaje de variabilidad se halló dentro de las poblaciones (89.22%), aunque no deja de ser significativa la variación identificada entre las poblaciones (10.78% $P=0.000$).

Distancias genéticas entre poblaciones

A partir de las frecuencias de haplotipos se calculó la matriz de distancias genéticas basada en valores R_{st} para pares de poblaciones. Se incluyeron las poblaciones recogidas en la Tabla 21, analizadas para el mismo conjunto de marcadores que las poblaciones de este estudio.

La población kichwa presentó distancias significativas respecto a todas las poblaciones ($P < 0.05$), siendo los grupos mestizos de Ecuador ($R_{st}= 0.044$ $P=0.034$) y de Yucatán ($R_{st} =0.087$ $P=0$) los más cercanos a ella. No se aprecia una proximidad genética con los Quechuas de Bolivia, lingüísticamente afines.

Por su parte la población mestiza no presentó distancias significativas respecto a poblaciones americanas como Yucatán ($R_{st}= 0.017$ $P=0.055$), Nicaragua ($R_{st} = 0.015$ $P=0.08$), Bogotá ($R_{st}= 0.014$ $P= 0.095$), Santander ($R_{st}= 0.019$ $P=0.05$), Athabaskan ($R_{st} = 0.017$ $P=0.07$) y Guatemala ($R_{st}= 0.003$ $P= 0.559$). Respecto al resto de poblaciones la distancia más grande la presentó

con la población africana de Guinea ($R_{st} = 0.273$ $P = 0$), aunque esta resulta inferior a la que muestran otros grupos americanos respecto a este grupo africano.

Al representar gráficamente (Figura 27) las distancias genéticas basadas en R_{st} mediante un MDS ($\text{stress}=0.0229$) se puede observar un grupo bastante homogéneo que incluye poblaciones europeas y mestizas de Latinoamérica. En cambio, las poblaciones amerindias muestran una menor homogeneidad y se localizan más o menos separadas, presentando distancias significativas entre sí en la mayoría de los casos. Por lo que respecta a las poblaciones africana y afroamericana ambas se encuentran diferenciadas del resto, al igual que los grupos asiáticos. En lo referente a los dos grupos étnicos ecuatorianos de este estudio, la población mestiza se sitúa dentro del grupo europeo-americano, mientras que la población kichwa presenta cierto distanciamiento del resto. Aunque puede resultar llamativa la lejanía de la población kichwa respecto a los otros grupos amerindios, este distanciamiento se debe a la presencia de individuos con haplotipos C3. La falta de estos haplotipos en las otras poblaciones amerindias incluiría esta separación. Así pues cuando se repitió el análisis sin tener en cuenta estos individuos, el grupo kichwa se situó más cercano a los otros grupos amerindios, aunque las diferencias siguieron siendo significativas (datos no mostrados). En relación a las poblaciones africanas, la población mestiza presenta una menor distancia que en el caso de la población kichwa y otras poblaciones amerindias.

Figura 27. Representación MDS de los valores R_{st} obtenidos para Y-STRs entre poblaciones ecuatorianas en estudio (negras), americanas (rojas); europeas (azules), africanas (verdes) y asiáticas (naranjas).

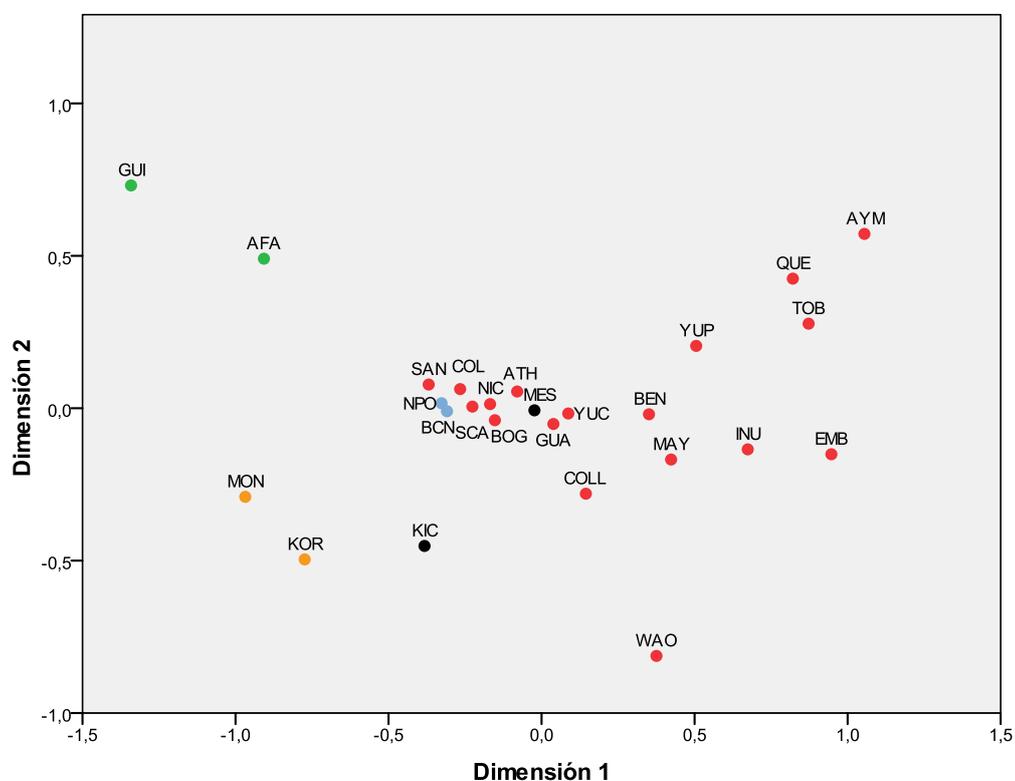


Tabla 49. Valores Rst (por debajo de la diagonal) y sus correspondientes valores P (por encima de la diagonal) a partir los Y-STRs.

	KIC	MES	WAO	AYM	QUE	YUC	NIC	COLL	BEN	TOB	NPO	COL	BCN	AFA	SCA	EMB	BOG	SAN	GUI	KOR	MON	INU	YUP	ATH	MAY	GUA
KIC	*	0.034	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MES	0.044	*	0	0	0	0.055	0.08	0.001	0.009	0	0.01	0.017	0.002	0	0.006	0	0.095	0.05	0	0	0	0	0	0.07	0	0.559
WAO	0.312	0.164	*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AYM	0.322	0.233	0.281	*	0.382	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
QUE	0.243	0.156	0.216	0	*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.006	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
YUC	0.087	0.017	0.134	0.208	0.158	*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.007
NIC	0.116	0.015	0.169	0.291	0.228	0.031	*	0	0	0	0.017	0.188	0.008	0	0.034	0	0.339	0.438	0	0	0	0	0	0.075	0	0.005
COLL	0.214	0.081	0.206	0.262	0.179	0.06	0.068	*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.001	0	0.001
BEN	0.175	0.034	0.136	0.17	0.117	0.034	0.089	0.105	*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.001	0
TOB	0.252	0.176	0.294	0.157	0.106	0.122	0.209	0.147	0.137	*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NPO	0.15	0.037	0.207	0.338	0.276	0.069	0.01	0.103	0.144	0.247	*	0.161	0.035	0	0.239	0	0.018	0.364	0	0	0	0	0	0	0	0
COL	0.115	0.031	0.195	0.309	0.253	0.059	0.002	0.087	0.123	0.227	0.002	*	0.04	0	0.327	0	0.01	0.252	0	0	0	0	0	0	0	0
BCN	0.148	0.052	0.232	0.349	0.285	0.074	0.011	0.109	0.15	0.271	0.007	0.005	*	0	0.011	0	0.003	0.009	0	0	0	0	0	0	0	0
AFA	0.219	0.185	0.334	0.419	0.38	0.208	0.157	0.25	0.284	0.358	0.164	0.141	0.196	*	0	0	0	0	0.01	0	0	0	0	0	0	0
SCA	0.129	0.042	0.233	0.356	0.29	0.071	0.009	0.115	0.146	0.273	0.002	0.001	0.013	0.133	*	0	0.008	0.139	0	0	0	0	0	0	0	0
EMB	0.312	0.17	0.23	0.131	0.079	0.134	0.219	0.19	0.091	0.164	0.263	0.253	0.279	0.429	0.281	*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BOG	0.111	0.014	0.181	0.295	0.234	0.035	0.001	0.079	0.092	0.206	0.008	0.008	0.013	0.191	0.013	0.216	*	0.416	0	0	0	0	0	0.005	0	0.012
SAN	0.112	0.019	0.183	0.308	0.249	0.047	0	0.086	0.109	0.223	0	0.001	0.01	0.162	0.004	0.237	0	*	0	0	0	0	0	0.004	0	0
GUI	0.301	0.273	0.482	0.559	0.495	0.321	0.269	0.371	0.428	0.518	0.261	0.242	0.316	0.036	0.23	0.553	0.308	0.27	*	0	0	0	0	0	0	0
KOR	0.182	0.17	0.3	0.373	0.313	0.19	0.155	0.245	0.252	0.315	0.161	0.155	0.174	0.216	0.152	0.348	0.167	0.16	0.264	*	0	0	0	0	0	0
MON	0.145	0.145	0.307	0.481	0.408	0.187	0.152	0.286	0.286	0.411	0.124	0.138	0.184	0.199	0.13	0.418	0.154	0.138	0.242	0.13	*	0	0	0	0	0
INU	0.260	0.117	0.23	0.191	0.153	0.148	0.162	0.192	0.104	0.267	0.211	0.187	0.195	0.359	0.205	0.137	0.16	0.181	0.462	0.314	0.366	*	0.026	0	0	0
YUP	0.203	0.081	0.214	0.165	0.129	0.125	0.146	0.181	0.081	0.224	0.189	0.171	0.183	0.346	0.192	0.113	0.14	0.162	0.45	0.303	0.336	0.011	*	0	0	0
ATH	0.125	0.017	0.164	0.271	0.215	0.029	0.005	0.062	0.076	0.209	0.028	0.017	0.024	0.181	0.03	0.2	0.012	0.013	0.297	0.206	0.192	0.132	0.116	*	0	0.009
MAY	0.191	0.069	0.172	0.19	0.124	0.038	0.104	0.088	0.026	0.11	0.158	0.137	0.151	0.334	0.175	0.084	0.101	0.127	0.489	0.249	0.319	0.135	0.11	0.096	*	0
GUA	0.103	0.003	0.132	0.233	0.173	0.013	0.015	0.059	0.034	0.159	0.044	0.038	0.048	0.225	0.052	0.144	0.011	0.025	0.344	0.193	0.179	0.119	0.092	0.013	0.044	*

KIC: Kichwa; **MES:** Mestizo; **WAO:** Waorani; **AYM:** Aymara; **QUE:** Quechua; **YUC:** Yucatán; **NIC:** Nicaragua; **COLL:** Colla; **BEN:** Beni; **TOB:** Toba; **NPO:** Norte Portugal; **BCN:** Barcelona; **AFA:** Afroamericano; **SCA:** Sta. Catarina; **EMB:** Emberá; **BOG:** Bogotá; **SAN:** Santander; **GUI:** Guinea; **KOR:** Korea; **MONG:** Mongolia; **INU:** Inupiat; **YUP:** Yupik; **ATH:** Athabaskan; **MAY:** Maya; **GUA:** Guatemala.

3. CROMOSOMA X

Se determinó el genotipo de 10 X-STRs en la totalidad de individuos kichwas (38 mujeres y 27 hombres) e individuos mestizos (14 mujeres y 28 hombres). En el caso de la población waorani, se seleccionaron 32 individuos no emparentados (15 mujeres y 17 hombres) para realizar este estudio. Los resultados obtenidos se adjuntan en los Anexos VIII-IX.

3.1. Parámetros de diversidad

Distribución de frecuencias alélicas y diversidad génica de los marcadores analizados

El test exacto de diferenciación ha permitido determinar la ausencia de diferencias significativas entre la distribución de la frecuencias alélicas de los hombres y de las mujeres de cada población (tras aplicar la corrección de Bonferroni para tests múltiples, nivel de significación de 0.005) (Tabla 50). Consecuentemente se han podido considerar las frecuencias alélicas de ambos sexos de forma conjunta para cada locus.

Tabla 50. Valores de P obtenidos tras la aplicación del test exacto de diferenciación poblacional entre hombres y mujeres de las tres poblaciones (Valores significativos para una P de 0.005)

	Waorani	Kichwa	Mestiza
DXS6789	0.44415	0.76590	0.32670
DXS6809	0.54645	0.38490	0.88230
DXS7132	0.41750	0.03235	0.63125
DXS7133	0.41290	0.31910	0.64685
DXS7423	1.00000	0.91125	0.36670
DXS8378	0.19880	0.89740	0.64365
DXS9898	0.47915	0.35210	0.36680
DXS9902	0.05885	0.10775	0.08875
GATA172D05	0.01395	0.88730	0.01290
GATA31E08	1.00000	0.95220	0.73940

En la Tabla 51 se recogen las frecuencias alélicas obtenidas en los 10 X-STRs para las tres poblaciones.

Tabla 51. Distribución alélica de 10 loci X-STRs en las tres poblaciones ecuatorianas. En negrita se indica la frecuencia del alelo más común en cada población.

DXS8378				DXS7133			
	Waorani	Kichwa	Mestiza		Waorani	Kichwa	Mestiza
10	0.8298	0.8058	0.6964	9	0.2128	0.6505	0.6786
11	0.0425	0.1651	0.2321	10	0.5319	0.3301	0.2500
12	0.1277	0.0291	0.0714	11	0.2553	0.0194	0.0714

DXS7423				DXS9902			
	Waorani	Kichwa	Mestiza		Waorani	Kichwa	Mestiza
13	-	-	0.0179	10	-	-	0.0179
14	0.5106	0.4369	0.2857	11	0.5745	0.4660	0.3036
15	0.2979	0.4175	0.4107	12	0.3404	0.3884	0.4643
16	-	-	0.0714	13	0.0851	0.1456	0.1964
17	0.1915	0.1456	0.2143	14	-	-	0.0179

DXS9898				GATA172D05			
	Waorani	Kichwa	Mestiza		Waorani	Kichwa	Mestiza
8.3	-	-	0.0714	6	0.1064	0.0194	0.1250
11	-	-	0.0357	8	-	0.0291	0.1250
12	0.2340	0.2039	0.3571	9	-	0.0194	0.0357
13	0.3617	0.4757	0.3214	10	0.0851	0.3010	0.3214
14	0.3830	0.3204	0.2143	11	0.6596	0.5922	0.3750
15	0.0213	-	-	12	0.1489	0.0388	0.0179

DXS6789				GATA31E08			
	Waorani	Kichwa	Mestiza		Waorani	Kichwa	Mestiza
16	0.2553	0.3204	0.0714	9	-	0.1068	0.0536
18	-	0.0097	-	10	-	0.1359	-
19	0.0638	0.1456	0.0714	11	0.2979	0.0388	0.1250
20	0.4043	0.3884	0.5536	12	0.5532	0.6311	0.5179
21	0.2766	0.1165	0.1964	13	0.1489	0.0777	0.1786
22	-	0.0194	0.1071	14	-	0.0097	0.1071
				15	-	-	0.0179

DXS7132				DXS6809			
	Waorani	Kichwa	Mestiza		Waorani	Kichwa	Mestiza
12	-	0.0194	0.1071	28	-	-	0.0179
13	0.1915	0.2136	0.1964	30	-	-	0.0179
14	0.0851	0.3010	0.1607	31	-	0.1261	0.0714
15	0.5957	0.2524	0.3571	32	0.1702	0.0971	0.1607
16	0.1277	0.1165	0.1250	33	0.4468	0.3398	0.3393
16.3	-	0.0194	0.0357	34	0.0638	0.2039	0.1071
17	-	0.0680	-	35	0.3192	0.1262	0.2679
17.3	-	-	0.0179	36	-	0.0291	0.0179
18.3	-	0.0097	-	37	-	0.0583	-
				38	-	0.0194	-

En total se hallaron 60 alelos diferentes en los 10 marcadores analizados y de 3 a 10 alelos por sistema, siendo los marcadores DXS6809 y DXS7132 los que mostraron el mayor número de alelos. Asimismo, la población mestiza fue la que presentó un mayor número de alelos diferentes.

Todos los marcadores mostraron una distribución alélica unimodal, y en 5 de ellos se repitió la misma moda para las tres poblaciones (DXS8378, DXS6789, DXS6809, GATA172D05 y GATA31E08). Por otro lado, se pudieron identificar un total de 17 alelos exclusivos (presentes en una única población).

La diversidad genética calculada para los 10 marcadores en cada población se recoge en la Tabla 52. En las tres poblaciones el marcador que presentó una diversidad génica menor fue DXS8378, obteniéndose valores de 0.2997, 0.3257 y 0.4643 en Waoranis, Kichwas y Mestizos respectivamente. En cambio, el sistema con mayor diversidad fue distinto en cada grupo, DXS6789 en Waoranis (0.7058), DXS6809 en Kichwas (0.8049) y DXS7132 en Mestizos (0.7935).

La diversidad media hallada en el conjunto de loci fue superior en Mestizos (0.6691) y Kichwas (0.6113), que en Waoranis (0.5902). No obstante, estos valores de diversidad fueron inferiores a otras poblaciones sudamericanas mestizas estudiadas para estos mismos marcadores (con valores de diversidad > 0.72) (Gusmao *et al.*, 2009). No obstante, se encuentran dentro del rango observado en poblaciones amerindias como los Colla (0.6355) y Toba (0.5792) (Toscanini *et al.*, 2009).

Tabla 52. Diversidad genética determinada para cada locus en las 3 poblaciones. En negrita se indica el valor de diversidad más elevado en cada población, y subrayado el valor más bajo.

	Waorani	Kichwa	Mestiza
DXS6789	0.7058	0.7183	0.6448
DXS6809	0.6799	0.8049	0.7838
DXS7132	0.5976	0.7887	0.7935
DXS7133	0.6198	0.4721	0.4805
DXS7423	0.6272	0.6197	0.7110
DXS8378	<u>0.2997</u>	<u>0.3257</u>	<u>0.4643</u>
DXS9898	0.6818	0.6356	0.7299
DXS9902	0.5587	0.6168	0.6649
GATA172D05	0.5356	0.5610	0.7364
GATA31E08	0.5957	0.5698	0.6818

Distribución de los haplotipos

Todos los haplotipos de individuos varones fueron únicos dentro de las poblaciones kichwa y mestiza. Por lo tanto, la diversidad haplotípica para estos grupos es igual a 1. En el caso de la población waorani se halló un haplotipo compartido entre 3 individuos. Asimismo, la comparación de los haplotipos entre varones de las 3 poblaciones, permitió identificar un haplotipo compartido entre un individuo mestizo y otro kichwa.

3.2. Equilibrio de Hardy- Weinberg

Se calcularon las posibles desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) en las muestras femeninas (Tabla 53).

Tabla 53. Valores P para HWE en las muestras femeninas de las tres poblaciones. En negrita se indican valores P inferiores a 0.05 pero superiores a 0.005.

	Woorani	Kichwa	Mestiza
DXS6789	0.0197±0.0002	0.7942±0.0005	0.7261±0.0004
DXS6809	0.8663±0.0003	0.0347±0.0002	0.9769±0.0002
DXS7132	0.2342±0.0004	0.4141±0.0005	0.4881±0.0005
DXS7133	0.2353±0.0004	1.0000±0.0000	0.1440±0.0003
DXS7423	0.1670±0.0004	1.0000±0.0000	0.1263±0.0003
DXS8378	0.1458±0.0003	0.2190±0.0004	1.0000±0.0000
DXS9898	0.7724±0.0004	0.2347±0.0004	0.6482±0.0005
DXS9902	0.0567±0.0002	0.7395±0.0004	0.6470±0.0004
GATA172D05	0.3353±0.0005	0.9635±0.0002	0.8011±0.0004
GATA31E08	0.6010±0.0005	0.2137±0.0003	0.5864±0.0005

En ninguno de los loci se obtuvieron desviaciones significativas ($P < 0.05$), excepto en los marcadores DXS6789 ($P = 0.019$) de la población waorani, y DXS6809 ($P = 0.0347$) de la población kichwa. No obstante, después de aplicar la corrección de Bonferroni para pruebas múltiples ($P < 0.005$), estos valores no resultaron estadísticamente significativos.

3.3. Análisis de desequilibrio de ligamiento

Se ha calculado el desequilibrio de ligamiento entre cada par de loci en las muestras de varones estudiados. Los resultados para las tres poblaciones se recogen en la siguiente tabla:

Tabla 54. Valores de P de desequilibrio de ligamiento entre pares de loci. En negrita se indican los valores significativos para una p de 0.0011 (45 comparaciones por población).

Par de STRs	Woorani	Kichwa	Mestiza
DXS6789-DXS6809	0.0028±0.0005	0.0035±0.0004	0.4854±0.0047
DXS6789-DXS7132	0.1628±0.0026	0.0596±0.0019	0.6857±0.0033
DXS6809-DXS7132	0.0092±0.0009	0.1910±0.0027	0.1363±0.0017
DXS6789-DXS7133	0.1136±0.0041	0.4070±0.0037	0.1778±0.0028
DXS6809-DXS7133	0.0010±0.0003	0.7600±0.0037	0.8859±0.0028
DXS7132-DXS7133	0.0392±0.0018	1.0000±0.0000	0.5223±0.0037
DXS6789-DXS7423	0.6256±0.0045	0.4610±0.0056	0.9422±0.0021
DXS6809-DXS7423	0.1543±0.0029	0.1340±0.0027	0.6679±0.0041
DXS7132-DXS7423	0.5460±0.0042	0.6850±0.004	0.7640±0.0023
DXS7133-DXS7423	0.3684±0.0048	0.7820±0.0032	0.2999±0.0033
DXS6789-DXS8378	1.0000±0.0000	0.3900±0.0040	0.6988±0.0030
DXS6809-DXS8378	0.8302±0.0029	0.1230±0.0021	0.2029±0.0034
DXS7132-DXS8378	1.0000±0.0000	0.1360±0.0021	0.8621±0.0026
DXS7133-DXS8378	0.1697±0.0036	0.3270±0.0028	0.6557±0.0042
DXS7423-DXS8378	0.0000±0.0000	0.4470±0.0046	0.1252±0.0030

DXS6789-DXS9898	0.0098±0.0009	0.1560±0.0038	0.2709±0.0048
DXS6809-DXS9898	0.0218±0.0014	0.6210±0.0030	0.2424±0.0025
DXS7132-DXS9898	0.4696±0.0052	0.4330±0.0064	0.9314±0.0019
DXS7133-DXS9898	0.0147±0.0010	0.5550±0.0043	0.1008±0.0028
DXS7423-DXS9898	1.0000±0.0000	0.8230±0.0039	0.6232±0.0061
DXS8378-DXS9898	1.0000±0.0000	0.8440±0.0045	0.0864±0.0026
DXS6789-DXS9902	1.0000±0.0000	0.3330±0.0041	0.0157±0.0010
DXS6809-DXS9902	0.8269±0.0035	0.0294±0.0015	0.6183±0.0036
DXS7132-DXS9902	0.7865±0.0029	0.0203±0.0010	0.0745±0.0018
DXS7133-DXS9902	0.4415±0.0045	0.4650±0.0058	0.1785±0.0032
DXS7423-DXS9902	0.3340±0.0042	0.609±0.0044	0.4688±0.0040
DXS8378-DXS9902	0.2892±0.0043	0.5290±0.004	0.6666±0.0030
DXS9898-DXS9902	0.3671±0.0048	1.000±0.0000	0.6527±0.0042
DXS6789-GATA172D05	0.2850±0.0044	0.9840±0.0001	0.2777±0.0025
DXS6809-GATA172D05	0.8184±0.0034	0.8750±0.0021	0.4333±0.0025
DXS7132-GATA172D05	1.0000±0.0000	0.2090±0.0022	0.2743±0.0028
DXS7133-GATA172D05	0.3024±0.0041	0.4300±0.0048	0.1900±0.0034
DXS7423-GATA172D05	0.2939±0.0058	0.0732±0.0022	0.3689±0.0027
DXS8378-GATA172D05	1.0000±0.0000	0.2450±0.00353	0.5759±0.0039
DXS9898-GATA172D05	0.1505±0.0029	0.4240±0.0040	0.2438±0.0028
DXS9902-GATA172D05	0.8685±0.0029	0.5450±0.0059	0.1091±0.0018
DXS6789-GATA31E08	0.1614±0.0033	0.9630±0.0017	0.0394±0.0014
DXS6809-GATA31E08	0.1381±0.0033	0.9530±0.0011	0.0121±0.0008
DXS7132-GATA31E08	0.3168±0.0033	0.8690±0.0015	0.0586±0.0013
DXS7133-GATA31E08	0.0285±0.0014	1.0000±0.0000	0.0869±0.0029
DXS7423-GATA31E08	0.0176±0.0013	0.2420±0.0033	0.8377±0.0039
DXS8378-GATA31E08	0.1812±0.0035	0.525±0.0061	0.7191±0.0036
DXS9898-GATA31E08	0.4118±0.0036	0.743±0.0035	0.0989±0.0020
DXS9902-GATA31E08	0.7380±0.0041	0.0496±0.0025	0.0707±0.0018
GATA172D05-GATA31E08	0.2688±0.0048	0.0422±0.0013	0.3508±0.0035

En la mayoría de pares de loci analizados se obtuvieron valores de P superiores a 0.05, que indican la independencia entre estos marcadores. No obstante, se hallaron algunas parejas con valores P inferiores a 0.05, incluso en determinados casos con valores P por debajo del umbral tras el ajuste de Bonferroni para comparaciones múltiples (P de 0.0011, 45 comparaciones por población), tal y como se detalla a continuación.

En la población waorani, 8 de los 45 pares de loci mostraron valores significativos ($P < 0.05$) pero no por debajo del umbral fijado tras la corrección de Bonferroni: DXS6789-DXS6809 ($P=0.0028$), DXS6809-DXS7132 ($P=0.0092$), DXS7132-DX7133 ($P=0.0392$), DXS6789-DXS9898 ($P=0.0098$), DXS6809-DXS9898 ($P=0.0218$), DXS7133-DXS9898 ($P=0.0147$), DXS7133-GATA31E08 ($P=0.0285$) y DXS7423-GATA31E08 ($P=0.0176$). Tan solo las parejas DXS6809-DXS7132 ($P=0.0010$) y DXS7423-DXS8378 ($P=0$) mostraron valores significativos de asociación tras la corrección.

En el caso de los individuos kichwa, se observan cinco pares de loci con valores significativos para $P < 0.05$, DXS6789-DXS6809 ($P=0.0035$), DXS6809-DXS9902 ($P=0.0294$), DXS7132-DXS9902

($P=0.0203$), DXS9902-GATA31E08 ($P=0.0496$) y GATA172D05-GATA31E08 ($P=0.0422$). No obstante ninguno de ellos presenta un valor inferior a $P<0.0011$.

En la población mestiza estudiada únicamente las parejas DXS6789-DXS9902 ($P=0.0157$), DXS6789-GATA31E08 ($P=0.0394$) y DXS6809-GATA31E08 ($P=0.0121$) han presentado valores de $P<0.05$, pero aún están lejos del valor de 0.0011 para resultar significativo.

3.4. Parámetros de eficiencia forense

Se ha evaluado la eficiencia forense de los 10 X-STRs estudiados mediante el cálculo de los parámetros de Poder de Discriminación en hombres (PD_m) y en mujeres (PD_f), y la Probabilidad de Exclusión de la Paternidad “a priori” para tríos de padre-madre-hija (MECT) y para dúos sin presencia de la madre (MECD).

Poder de Discriminación

Los valores de poder de discriminación obtenidos en las tres poblaciones fueron los siguientes:

Tabla 55. Poder de discriminación (PD) de los 10 X-STRs en mujeres y hombres de las tres poblaciones ecuatorianas. Se indican los valores más altos (en negrita) y los más bajos (subrayados) para cada población

Locus	PODER DE DISCRIMINACIÓN EN MUJERES			PODER DE DISCRIMINACIÓN EN HOMBRES		
	Waorani	Kichwa	Mestiza	Waorani	Kichwa	Mestiza
DXS6789	0.8456	0.8672	0.8266	0.6908	0.7113	0.6333
DXS6809	0.8273	0.9333	0.9132	0.6655	0.7971	0.7698
DXS7132	0.7830	0.9187	0.9214	0.5849	0.7810	0.7793
DXS7133	0.7769	0.6239	0.6583	0.6067	0.4675	0.4719
DXS7423	0.7790	0.7687	0.8553	0.6139	0.6136	0.6983
DXS8378	<u>0.4756</u>	<u>0.5045</u>	<u>0.6463</u>	<u>0.2933</u>	<u>0.3226</u>	<u>0.4560</u>
DXS9898	0.8202	0.7889	0.8687	0.6673	0.6295	0.7168
DXS9902	0.7117	0.7674	0.8162	0.5469	0.6108	0.6534
GATA172D05	0.7372	0.7362	0.8777	0.5242	0.5556	0.7232
GATA31E08	0.7544	0.7793	0.8550	0.5831	0.5642	0.6696
PD comb	0.9999995	0.9999991	0.9999991	0.99986216	0.99995006	0.99998551

El Poder de Discriminación para todos los microsatélites del cromosoma X fue mayor en mujeres que en los hombres.

En la población waorani los marcadores con menor y mayor poder de discriminación, tanto para hombres como para mujeres, fueron respectivamente DXS8378 y DXS6789. El poder de discriminación combinado fue de 0.9999995 para mujeres y 0.9998 para hombres.

En el caso del grupo poblacional kichwa, los sistemas DXS8378 y DXS6809 resultaron ser respectivamente los marcadores con menor y mayor poder discriminativo para ambos sexos. En este caso los valores de poder de discriminación combinado fueron 0.9999991 para mujeres y 0.99995 para hombres.

Finalmente, en la población mestiza los sistemas con menor y mayor discriminación fueron respectivamente DXS8378 y DXS7132, tanto para hombres como para mujeres. Se calculó un poder de discriminación combinado de 0.999999991 para mujeres y 0.99998 para hombres.

Probabilidad de Exclusión de la Paternidad “a priori”

A continuación se recogen los resultados obtenidos del cálculo de la Probabilidad de exclusión de la paternidad “a priori” en casos de trío (PE_{trio}) y dúos (PE_{duo}).

Tabla 56. Valores obtenidos para la Probabilidad de exclusión de la paternidad a priori en tríos y dúos.

Locus	PE_{trio}			PE_{duo}		
	Waorani	Kichwa	Mestiza	Waorani	Kichwa	Mestiza
DXS6789	0.6320	0.6618	0.5944	0.4858	0.5187	0.4457
DXS6809	0.6046	0.7715	0.7360	0.4578	0.6470	0.6036
DXS7132	0.5402	0.7476	0.7494	0.3909	0.6171	0.6192
DXS7133	0.5383	0.3749	0.4090	0.3901	0.2463	0.2723
DXS7423	0.5420	0.5316	0.6446	0.3943	0.3865	0.4995
DXS8378	0.2684	0.2860	0.3982	0.1602	0.1729	0.2626
DXS9902	0.4639	0.5297	0.5897	0.3234	0.3845	0.4424
DXS9898	0.5982	0.5557	0.6657	0.4509	0.4080	0.5227
GATA172D05	0.4878	0.4893	0.6775	0.3405	0.3462	0.5363
GATA31E08	0.5113	0.5335	0.6338	0.3652	0.3841	0.4872
PE combinado	0.999442	0.999797	0.999945	0.991804	0.996348	0.999728

En todos los casos el valor de probabilidad de exclusión en priori fue superior en los casos de parentesco de tríos (padre, madre e hija) que en dúos (padre e hija).

En las tres poblaciones estudiadas, el locus DXS8378 fue el que presentó menor probabilidad de exclusión, tanto en tríos como en casos donde la madre está ausente. En cuanto a los marcadores que ofrecieron mayor probabilidad de exclusión entre los estudiados destacan DXS6789, DXS6809 y DXS7132 en la población waorani, kichwa y mestiza, respectivamente, tanto en tríos como en dúos.

El valor de PE combinado obtenido con el análisis del decaplex en la población waorani fue de 0.99944 en el caso de tríos padre-madre-hija, mientras que este valor decreció a 0.991804 en casos donde la madre está ausente. Por su parte, en las poblaciones kichwa y mestiza se obtuvieron respectivamente valores de 0.99979 y 0.99995 para casos de tríos y de 0.99635 y 0.99973 en dúos.

3.5. Comparación interpoblacional

Comparación entre poblaciones ecuatorianas

Se realizó la comparación de las tres poblaciones ecuatorianas, tanto entre loci individuales (mediante el test exacto de diferenciación y análisis de distancias genéticas basadas en F_{st}), como entre el conjunto de marcadores (mediante AMOVA y análisis de distancias genéticas basadas en F_{st}).

Los resultados obtenidos para los loci individuales con el test exacto de diferenciación poblacional y los valores F_{st} con su P asociada se muestran en la Tabla 57.

Tabla 57. Comparaciones pareadas para cada locus entre las poblaciones ecuatorianas. Distancias genéticas pareadas F_{st} (1ª línea) y su correspondiente valor p (2ª línea), y valores P del test exacto de diferenciación poblacional (3ª línea). *Valores significativos $P < 0.005$

Locus	Waorani-Kichwa	Waorani-Mestiza	Kichwa-Mestiza
DXS6789	0.0105	0.0343	0.0609
	0.1609	0.0431	0.0015*
	0.1455	0.0081	0.0001*
DXS6809	0.0440	-0.0045	0.0118
	0.0040*	0.5105	0.0999
	0.0000*	0.407	0.04435
DXS7132	0.0921	0.0331	0.0139
	0.0000*	0.0337	0.0832
	0.0034*	0.0309	0.0181
DXS7133	0.2079	0.2219	-0.0034
	0.0000*	0.0000*	0.4638
	0.0000*	0.0000*	0.2077
DXS7423	0.0021	0.0309	0.0114
	0.3268	0.0665	0.1536
	0.3528	0.0484	0.0185
DXS8378	0.0237	0.0578	0.0105
	0.0957	0.0314	0.1875
	0.0100	0.013	0.216
DXS9902	-0.0007	0.0592	0.0139
	0.3980	0.0160	0.1392
	0.4185	0.0307	0.0685
DXS9898	-0.0014	0.0169	0.0336
	0.3976	0.1351	0.0287
	0.3031	0.0516	0.0017*
GATA172D05	0.0473	0.1017	0.0397
	0.0154	0.0004*	0.0186
	0.0004*	0.0005*	0.0027*
GATA31E08	0.0725	0.0165	0.0354
	0.001*	0.1291	0.0119
	0.0000*	0.0216	0.0001*

Los resultados obtenidos mostraron una contribución heterogénea de los marcadores a la diferenciación genética poblacional. En este sentido, 6 de los 10 loci analizados presentaron diferencias significativas con ambos métodos: DXS6789, DXS6809, DXS7132, DXS7133, GATA17D05 y GATA31E08 ($P < 0.005$). El resto de marcadores no mostraron diferenciación entre poblaciones.

Cuando se consideraron el conjunto de marcadores, se hallaron distancias genéticas pareadas significativas ($P < 0.005$) entre los tres grupos étnicos ecuatorianos (Tabla 58). El valor global F_{st} calculado por AMOVA para las tres poblaciones juntas corroboró la diferenciación existente dentro de la población ecuatoriana ($F_{st} = 0.04077$, $P = 0$).

Comparación con otras poblaciones

Se amplió el análisis de distancias basadas en F_{st} incluyendo otras 18 poblaciones de América, Europa y África, analizadas con el mismo set de marcadores. Los resultados se adjuntan en la Tabla 58.

Como se ha comentado anteriormente, las tres poblaciones ecuatorianas mostraron distancias basadas en F_{st} significativas entre sí, pero también con el resto de grupos poblacionales estudiados. Las distancias más bajas para los grupos ecuatorianos se obtuvieron al comparar estos grupos entre sí. Así la población waorani mostró los valores F_{st} más pequeños, aunque significativos, respecto a la población kichwa ($F_{st} = 0.0522$ $P = 0$) y mestiza ($F_{st} = 0.0561$ $P = 0$). Entre la población kichwa y la mestiza los valores fueron incluso menores ($F_{st} = 0.0241$ $P = 0.0003$).

En relación al resto de poblaciones incluidas en el análisis, pudo verse que las poblaciones de la Península Ibérica mostraban distancias bajas (y no significativas en algunos casos) entre sí y respecto a algunas poblaciones americanas. En cambio la población africana de Uganda mostró diferencias significativas con todos los grupos poblacionales, aunque presentó las menores distancias respecto a las poblaciones brasileñas afrodescendientes. Por su parte, los grupos amerindios Colla y Toba también mostraron distancias significativas respecto al resto de poblaciones, en algunos casos (y en especial la población Toba) con valores F_{st} más grandes que los presentados por los grupos ecuatorianos.

Respecto a estos grupos, la población waorani fue el grupo ecuatoriano que mostró el mayor distanciamiento genético en el mayor parte de los casos. En cambio la población mestiza fue la que presentó distancias menores, tanto respecto a las poblaciones americanas como a las europeas. También en el caso de la población africana incluida, los Mestizos mostraron estar genéticamente más cercanos que los otros dos grupos ecuatorianos, aunque a una distancia significativa y superior a la descrita para otros grupos americanos. Estos resultados son consistentes con el hecho de que esta población presenta una composición genética con cierta contribución europea, amerindia y también africana. De todas las poblaciones incluidas en el estudio, tanto los Kichwa ($F_{st} = 0.0503$) como los Mestizos ($F_{st} = 0.0186$) mostraron los valores F_{st} más pequeños respecto a la población colombiana de Antioquia, aunque en ambos casos las diferencias fueron significativas ($P = 0$). En el caso de los Waorani, el menor valor F_{st} respecto a un grupo no ecuatoriano lo presentó en relación a Costa Rica ($F_{st} = 0.084$ $P = 0$).

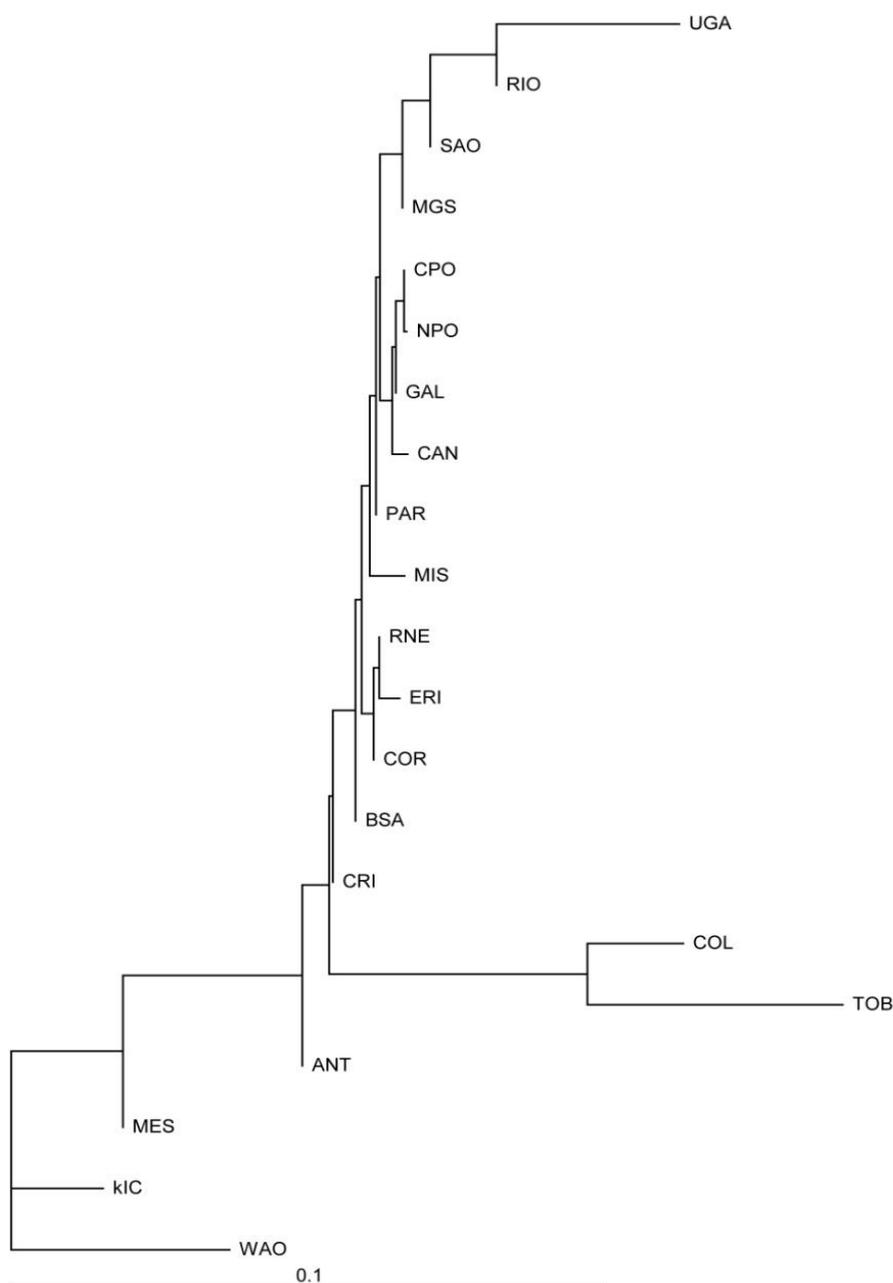
Tabla 58. Distancias genéticas basadas en Fst (por debajo de la diagonal), y sus correspondientes valores de significación p (por encima de la diagonal) entre poblaciones ecuatorianas y otras poblaciones.

	WAO	KIC	MES	NPO	GAL	SAO	CAN	CPO	MGS	ERI	MIS	RNE	CRI	ANT	RIO	PAR	COR	BSA	UGA	COL	TOB		
WAO	*	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	
KIC	0.0522	*	0.0003	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
MES	0.0561	0.0241	*	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0001	0.0000	0.003	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
NPO	0.1098	0.0968	0.0530	*	0.1182	0.0001	0.0000	0.5752	0.0000	0.0115	0.0000	0.0003	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
GAL	0.1008	0.0886	0.0446	0.0008	*	0.0000	0.0168	0.2273	0.00020	0.0288	0.0003	0.0068	0.0000	0.0041	0.0000	0.0597	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
SAO	0.0957	0.0806	0.0425	0.0034	0.0044	*	0.0000	0.0101	0.4122	0.0064	0.0003	0.0132	0.0000	0.0071	0.00010	0.0004	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
CAN	0.1192	0.1002	0.0485	0.0049	0.0027	0.0087	*	0.0021	0.0000	0.0238	0.0005	0.0003	0.0000	0.0005	0.0000	0.0024	0.00010	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
CPO	0.1084	0.0946	0.0497	-0.0002	0.0006	0.0024	0.0036	*	0.0001	0.0228	0.0000	0.001	0.0000	0.0006	0.0000	0.0212	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
MGS	0.0885	0.0711	0.0344	0.0048	0.0041	0.0001	0.0095	0.0038	*	0.0228	0.0003	0.0891	0.0000	0.0473	0.0000	0.0217	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
ERI	0.1304	0.1056	0.0519	0.0088	0.0076	0.0099	0.0080	0.0081	0.0075	*	0.0009	0.2806	0.0096	0.0083	0.00010	0.0850	0.1819	0.0784	0.00010	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
MIS	0.0895	0.0748	0.0290	0.0145	0.0122	0.0104	0.0118	0.0135	0.0100	0.0196	*	0.0083	0.0004	0.0471	0.0000	0.0221	0.0059	0.0233	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
RNE	0.0854	0.0585	0.0233	0.0111	0.0074	0.0056	0.0127	0.0095	0.0030	0.0025	0.0110	*	0.1039	0.2656	0.0000	0.0452	0.5600	0.1101	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
CRI	0.0840	0.0592	0.0256	0.0131	0.0089	0.0127	0.0139	0.0118	0.0065	0.0095	0.0098	0.0026	*	0.0781	0.0000	0.0000	0.0011	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
ANT	0.0902	0.0503	0.0186	0.0142	0.0098	0.0081	0.0150	0.0122	0.0050	0.0165	0.0081	0.0024	0.0039	*	0.0000	0.0387	0.1361	0.1286	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
RIO	0.0962	0.0975	0.0610	0.0109	0.0140	0.0061	0.0201	0.0133	0.0091	0.0181	0.0179	0.0171	0.0230	0.0271	*	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
PAR	0.0972	0.0753	0.0359	0.0036	0.0015	0.0036	0.0039	0.0020	0.0019	0.0048	0.0054	0.0041	0.0056	0.0055	0.0136	*	0.0082	0.0007	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
COR	0.0962	0.0690	0.0294	0.0093	0.0059	0.0083	0.0062	0.0081	0.0068	0.0031	0.0083	-0.0006	0.0035	0.0033	0.0213	0.0031	*	0.0280	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
BSA	0.0897	0.0694	0.0268	0.0075	0.0041	0.0065	0.0064	0.0061	0.0044	0.0048	0.0049	0.0026	0.0051	0.0029	0.0194	0.0028	0.0019	*	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
UGA	0.1485	0.1531	0.1158	0.0397	0.0473	0.0297	0.0569	0.0442	0.0376	0.0568	0.0537	0.0584	0.0633	0.0618	0.0250	0.0471	0.0622	0.0591	*	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
COL	0.1597	0.1299	0.0996	0.0721	0.0642	0.0695	0.0701	0.0705	0.0648	0.0906	0.0728	0.0715	0.0590	0.0624	0.0822	0.0600	0.0628	0.0616	0.1142	*	0.0066	0.0000	0.0000
TOB	0.1814	0.1254	0.1037	0.1032	0.0993	0.0962	0.0968	0.1034	0.0923	0.1138	0.1037	0.0957	0.0850	0.0853	0.1153	0.0980	0.0850	0.0795	0.1649	0.0590	*	0.0000	0.0000

WAO: Waorani (Ecuador); **KIC:** Kichwa (Ecuador); **MES:** Mestizo (Ecuador); **NPO:** Norte de Portugal; **GAL:** Galicia (España); **SAO:** Sao Paulo (Brasil); **CAN:** Cantabria (España); **CPO:** Centro Portugal; **MGS:** Mato Grosso do Sul (Brasil); **ERI:** Entre Ríos (Argentina); **MIS:** Misiones (Argentina); **RNE:** Río Negro (Argentina); **CRI:** Costa Rica; **ANT:** Antioquía (Colombia); **RIO:** Rio de Janeiro (Brasil); **PAR:** Paraná (Brasil); **COR:** Córdoba (Argentina); **BSA:** Buenos Aires (Argentina); **UGA:** Uganda; **COL:** Colla (Argentina); **TOB:** Toba (Argentina).

Estos resultados se visualizan gráficamente en el árbol *Neighbor Joining* (Figura 28). En él, se identifica un grupo formado por las muestras europeas, que se encuentra cercano a la mayor parte de las muestras americanas. Los grupos amerindios, Colla y Toba, muestran cierto alejamiento respecto al resto de grupos, como también sucede con las poblaciones afrodescendientes de Brasil, pero que en este caso se ubican más o menos cercanas a la población africana de Uganda. Por lo que respecta a los grupos ecuatorianos, se muestran diferenciadas respecto al resto de poblaciones, siendo la población mestiza la más cercana a éstas, tal y como previamente se ha comentado.

Figura 28. Árbol *Neighbor-Joining* representando las distancias basadas en *Fst* entre las poblaciones objeto de estudio y las recopiladas de la bibliografía.



V. DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

A partir de los resultados obtenidos se va a proceder a su discusión, en función del sistema genético estudiado, desde los puntos de vista antropológico y médico-legal.

1. ADN MITOCONDRIAL

1.1. Parámetros de diversidad

Se ha valorado la variabilidad del acervo genético mitocondrial de las tres poblaciones ecuatorianas a través de diferentes índices de diversidad genética. Esto ha permitido observar diferencias importantes entre los grupos estudiados que se pueden correlacionar con los distintos eventos histórico-demográficos ocurridos en estas poblaciones.

De los tres grupos ecuatorianos estudiados, la población waorani, caracterizada por la presencia de dos únicos haplotipos mitocondriales, ha mostrado los valores más bajos de diversidad nucleotídica y de secuencias para HVSI-HVSII ($\pi_n = 0.0061 \pm 0.0035$ y $H = 0.1754 \pm 0.0841$). En el caso de la otra población amerindia, la Kichwa, ha presentado valores de diversidad más elevados ($\pi_n = 0.0139 \pm 0.0072$ y $H = 0.7909 \pm 0.0389$), aunque siguen siendo inferiores a los estimados para la población mestiza ($\pi_n = 0.0177 \pm 0.0091$ y $H = 0.9733 \pm 0.0144$). Este gradiente de variabilidad también se ha visto reflejado en el número promedio de diferencias entre pares de nucleótidos. Así mientras la población waorani ha presentado una media de 3.86, la kichwa y la mestiza han mostrado valores de 8.61 y 11.22 respectivamente.

La mayor diversidad observada en la población mestiza ecuatoriana respecto a las dos poblaciones amerindias es un patrón que generalmente parece repetirse a lo largo del continente americano (tal y como se recoge en la Tabla 37). En el contexto americano, según el análisis independiente de HVSI, los Waorani constituyen el grupo poblacional con la diversidad de secuencias más baja descrita hasta ahora (0.1754 ± 0.0841). Se trata de un valor muy por debajo de la diversidad media hallada a lo largo del continente sudamericano (0.9812 ± 0.0016), solo parecido a la diversidad descrita para los Achés de Paraguay (0.2038 ± 0.0639) (Schmitt *et al.*, 2004). También en cuanto a diversidad nucleotídica (0.035 ± 0.0025) y número de diferencias pareadas (1.23) los Waorani, junto con los Achés de Paraguay (0.0032 ± 0.0024 y 1.08), vuelven a presentar los valores más bajos del continente americano. Por otra parte, la población kichwa presenta valores de diversidad para HVSI ($\pi_n = 0.0142 \pm 0.0078$ y $H = 0.7832 \pm 0.0372$) dentro del rango observado para otras poblaciones amerindias. No obstante, dichos valores son inferiores a los descritos para otros grupos amerindios ecuatorianos como los Cayapa ($\pi_n = 0.0191 \pm 0.0103$ y $H = 0.9072 \pm 0.031$), Secoya- Siona ($\pi_n = 0.015 \pm 0.0088$ y $H = 0.8182 \pm 0.0703$) y Cofán ($\pi_n = 0.0172 \pm 0.012$ y $H = 0.8333 \pm 0.2224$) (Tamm *et al.*, 2007). En lo referente a la población mestiza, ésta muestra una variabilidad para HVSI ($\pi_n = 0.0216 \pm 0.0115$ y $H = 0.9686 \pm 0.0144$) concorde a la descrita para otras poblaciones mestizas del continente, y constituye el grupo de Ecuador con mayor variabilidad.

Para valorar las diferencias entre los grupos étnicos en cuanto a la variabilidad genética observada, hay que tener en cuenta las características particulares de cada uno de ellos. Así, la baja variabilidad descrita en la población waorani probablemente refleja el impacto que el prolongado aislamiento, elevada endogamia y escaso mestizaje, puede haber tenido en el

acervo genético de este grupo. Estos factores, junto con procesos de deriva genética, probablemente intensificados por el pequeño tamaño poblacional del grupo, parecen haber disminuido drásticamente el número de haplotipos presentes en la población. En cambio, el otro grupo amerindio en estudio, los Kichwa, ha mantenido un acervo moderadamente diverso, seguramente consecuencia de un mayor flujo génico con otros grupos indígenas, mayor tamaño poblacional y menor protagonismo de la deriva genética. Por otro lado, la mayor variabilidad observada en los linajes mitocondriales de la población mestiza está en concordancia con la historia de este grupo en el que han confluído individuos de todo el país, y que por lo tanto, ha recibido aportes genéticos de diversos orígenes y etnias, incrementando así su diversidad genética.

1.2. Potencial del análisis del D-loop completo

Una de las principales limitaciones del ADNmt es su bajo poder de discriminación cuando se compara con la elevada discriminación obtenida a través de marcadores autosómicos. Es por ello que en los últimos años se ha puesto especial interés en el uso de SNPs localizados en la zona codificante del ADNmt (van Oven *et al.*, 2007) y/o en el estudio de toda la región control (o D-loop), con la finalidad de incrementar la capacidad discriminativa del análisis (Parson *et al.*, 2004).

En este sentido, el estudio de la región control completa del ADNmt permitiría en principio identificar un mayor número de haplotipos diferentes dentro de una población, ya que aumenta el número potencial de mutaciones que pueden ser detectadas. Varios estudios han demostrado que mediante el análisis adicional de la región HVSIII o del D-loop completo (Bini *et al.*, 2003; Mabuchi *et al.*, 2007), se pueden discriminar algunos haplotipos que por el estudio únicamente de HVS I-HVS II son idénticos. Adicionalmente el estudio de todo el D-loop aporta información para la interpretación filogenética de las secuencias, lo que permite una clasificación más precisa en haplogrupos. Por otro lado, se reduce el riesgo de contaminación al trabajar con una única reacción inicial de PCR y secuenciar con primers internos.

Por todas estas razones, en este trabajo se decidió analizar la región control completa de las poblaciones kichwa y mestiza, siguiendo las recomendaciones más recientes respecto a los estudios poblacionales mediante ADNmt (Carracedo *et al.*, 2010). En el caso de la población waorani, el análisis se basó en las regiones HVS I y II por haberse realizado en un periodo anterior a la publicación de estas recomendaciones. Aunque difícilmente el análisis de todo el D-loop completo habría aumentado el número de haplotipos observados, tal y como ha sucedido en los análisis de otras poblaciones aisladas (Cardoso *et al.*, 2010), donde el estudio de la región control completa no aportó una mayor discriminación.

En el caso de las dos poblaciones ecuatorianas en las que se analizó todo el D-loop, tan solo en la población kichwa se ha visto un incremento del poder de discriminación. Así, mediante el análisis de la región control completa se ha obtenido un número total de haplotipos distintos (n=13) ligeramente superior al obtenido mediante HVS I-HVS II (n=12). En el caso de la población mestiza no se observó dicho incremento (n=30).

No obstante, se debe tener en cuenta que en este estudio se ha considerado la región HVSII desde la posición 64. Si se hubiera considerado dicha región a partir de la posición 73 (Parson *et al.*, 2004), en ambas poblaciones se habrían diferenciado más haplotipos con el D-loop completo que con HVSI-HVSII (Kichwa: 13 vs 11; Mestiza: 30 vs 29), pues la región 64-72 contiene mutaciones que aportan una mayor discriminación.

1.3. Determinación de haplogrupos

La mayoría de las poblaciones nativas americanas presentan cuatro haplogrupos fundadores, inicialmente nombrados A, B, C y D (Torroni *et al.*, 1993a) y posteriormente caracterizados como A2, B2, C1 y D1; y cinco linajes menores, C4C, D2a, D3, D4h3 y X2a (Tamm *et al.*, 2007). No obstante, también es común observar linajes de origen europeo o africano entre los individuos americanos fruto de procesos de mestizaje.

En el caso de las tres poblaciones ecuatorianas estudiadas se han observado exclusivamente linajes de origen nativo americano. El grupo waorani resultó ser un caso especialmente interesante, ya que en él sólo se encontraron dos haplogrupos distintos (A2: 90.625% y D1 en el 9.375%), sugiriendo un importante efecto fundador. En cambio, tanto en la población kichwa como en la mestiza están representados los cuatro linajes mitocondriales americanos principales, pero con una frecuencia distinta. En Kichwas se hallan principalmente los haplogrupos A2 (49.23%) y D1 (40%), mientras que C1 (7.69%) y B4* (3.08%) se presentan en bajas frecuencias. En cambio en Mestizos A2 (33.3%) y B4* (33.3%) son los haplogrupos mayoritarios, seguidos por D1 (21.43%) y C1 (9.52%). En este último grupo también se ha detectado la presencia del linaje menor D4h3a en un 2.38% de los individuos.

Es interesante analizar la ausencia de haplogrupos mitocondriales de origen europeo y africano en los distintos grupos étnicos ecuatorianos estudiados. En la población waorani, esta ausencia se correlaciona con el largo aislamiento geográfico y cultural de este grupo, que habría dificultado la entrada de aporte genético foráneo. En el caso de la población kichwa también es congruente que no se vean reflejadas posibles contribuciones de linajes europeos o africanos, ya que a pesar de que en este grupo sí que se han dado relaciones interétnicas, éstas se han producido básicamente con individuos de otros grupos indígenas. En el caso de la población mestiza, la presencia únicamente de linajes amerindios resulta muy interesante, pues debido a la naturaleza mestiza de esta población sería lógico esperar la presencia de linajes maternos caucásicos o africanos derivados de la colonización europea del continente americano y la subsecuente llegada de esclavos. No obstante, tal y como se ha descrito en otros grupos mestizos, la contribución europea se evidencia principalmente en el cromosoma Y, y en menor grado en el ADN mitocondrial, debido al patrón de asimetría sexual que caracterizó el mestizaje durante el periodo colonial, tal y como se comentará posteriormente con más detalle.

A pesar de los resultados obtenidos, no puede excluirse completamente la presencia de linajes de origen no amerindio a lo largo de la historia de estos grupos, ya que estos linajes podrían haber desaparecido debido al efecto de la deriva genética, o bien puede que sus portadoras no hubieran tenido descendientes o sencillamente que no hayan sido muestreadas. En todo caso, sigue siendo evidente el elevado componente amerindio en el acervo genético femenino de estas poblaciones ecuatorianas.

1.4. Origen de los linajes maternos

Los tres grupos ecuatorianos estudiados presentan haplotipos comunes. Se ha podido identificar el haplotipo mayoritario HVSI de los Waorani en un individuo mestizo y en varios individuos kichwa. Cuando el análisis se amplió al haplotipo HVSI-HVSII tan solo el individuo mestizo mostró plena coincidencia, pues los Kichwa carecían de la mutación 64T (y un caso también la mutación 189G) presente en el haplotipo waorani. El otro haplotipo hallado entre los Waorani no mostró ninguna coincidencia. Así, los resultados parecen indicar que estos haplotipos son específicos de la población waorani, y que seguramente estas coincidencias totales o parciales se deben a que estos individuos son descendientes waorani por parte materna, aunque ellos se identificaran como pertenecientes a otros grupos étnicos. Por otro lado, se identificaron un mayor número de coincidencias entre individuos kichwas y mestizos (HVSI: 6, HVSI-II: 4, D-loop: 4), tal y como es esperable por la convivencia de estos dos grupos y consecuente flujo génico.

Con el propósito de realizar una aproximación acerca del origen geográfico de los linajes mitocondriales de los tres grupos ecuatorianos, se han comparado estos haplotipos con los recopilados de 42 poblaciones del continente americano (usando únicamente HVSI). Tanto la población kichwa como la mestiza presentaron varios haplotipos en común con otros grupos americanos. En el caso de los Kichwas, estos compartieron un total de 4 haplotipos con otros grupos: dos resultaron ser específicos de Sudamérica y uno de Mesoamérica. El mayor número de haplotipos en común (2) se dio con poblaciones cercanas geográficamente (Colombia, Perú y Panamá). Por otro lado, los mestizos presentaron 11 haplotipos en común con otros grupos, de los cuales 4 fueron específicos de poblaciones sudamericanas y 2 de mesoamericanas. En lo referente a poblaciones concretas, compartió un total de 7 haplotipos distintos con la población colombiana.

Estos resultados resaltan la mayor proximidad de la población ecuatoriana con grupos del norte de Sudamérica y Mesoamérica, más que con el cono sur del continente sudamericano. Esto está de acuerdo con las corrientes que apuntan que la región ecuatoriana podría haber constituido un punto de convergencia cultural entre pueblos de Mesoamérica y Sudamérica. En el caso de la población waorani este análisis no ha aportado nuevos datos que ayuden a esclarecer el origen de este grupo amerindio, ya que no se ha hallado ninguna otra población no ecuatoriana con sus haplotipos.

1.5. Análisis interpoblacional

Los tests de diferenciación poblacional indican la existencia de heterogeneidad genética en cuanto a linajes maternos entre los grupos ecuatorianos estudiados. También en los análisis de AMOVA se aprecia que, aunque la mayor parte de la variabilidad se encuentra entre los individuos de cada población (75.8%), existe un porcentaje significativo que se debe a variabilidad interpoblacional (24.2%) (a la que contribuye fuertemente la inclusión de la población waorani al análisis). Esta observación concuerda con el hecho de que la mayoría de la variación genética total entre humanos es interindividual (80-90%), y tan solo el 10-20% de ésta se debe a diferencias entre poblaciones (Shriver *et al.*, 1997).

La comparación de estas poblaciones con otros grupos de América, mediante la determinación de distancias basadas en *Fst*, ha mostrado diferencias significativas en todas las comparaciones realizadas con la población waorani, con valores *Fst* por encima de 0.34. Este grupo se diferencia claramente del resto, ocupando una posición marginal en la representación MDS. Por otro lado, la población kichwa también ha mostrado diferencias significativas con todos los grupos estudiados, pero con distancias más cortas a las observadas para los Waorani. Resulta interesante destacar el distanciamiento que ha mostrado con grupos lingüísticamente afines, como los Quechuas de Perú (Sandoval *et al* 2009) y Bolivia (Gaya-Vidal *et al.*, 2010), con los que comparte un bajo número de haplotipos. Aunque esto podría ser resultado del papel que la deriva genética puede haber jugado en la composición del acervo genético de las poblaciones amerindias (influyendo más que el flujo génico entre ellas), más bien parece indicar que la expansión Quechua fue más cultural que genética en este grupo estudiado. En el caso de la población mestiza se ha determinado la ausencia de diferenciación genética con algunas poblaciones americanas como los Quechua de Perú (Sandoval *et al* 2009), Salta de Argentina (Tamm *et al.*, 2007) y Otomi de México (Sandoval *et al.*, 2009). No obstante, estos resultados no fueron respaldados por el test exacto de diferenciación poblacional, que mostró diferenciación para dichas comparaciones.

2. CROMOSOMA Y

2.1. Parámetros de diversidad y de interés forense

La determinación de los haplotipos 17 Y-STRs en las poblaciones kichwa y mestiza ha permitido el estudio de la diversidad genética y de parámetros de interés forense del cromosoma Y, así como comparar los resultados con los descritos para los individuos waorani en Geppert *et al.* (2011).

La población mestiza ha presentado una variabilidad genética, en términos de diversidad haplotípica (0.9947) y número de diferencias entre pares de haplotipos (11.68), superior a los Kichwa (0.9516 y 9.23 respectivamente). Esta mayor diversidad era de esperar debido al origen más heterogéneo de los linajes masculinos presentes en la población mestiza.

La variabilidad observada para ambas poblaciones se enmarca dentro del rango descrito para otras poblaciones mestizas y amerindias del continente americano. Pero en ambos casos estos valores son bastante superiores a la diversidad observada en la población waorani (Geppert *et al.*, 2011), que presenta los valores más bajos observados (0.7077 y 7.14) en las poblaciones recopiladas.

Por otro lado, el poder de discriminación y la consecuente eficacia del sistema genético para el ámbito forense también fueron superiores en la población mestiza (0.9286) respecto a la kichwa (0.6296). Además, se ha puesto de relevancia la importancia de usar un elevado número de Y-STRs con la finalidad de aumentar la discriminación del análisis. Así en la población kichwa se ha visto que, a medida que se incrementa el número de marcadores Y-STRs incluidos en el análisis (haplotipo mínimo de 9 Y-STRs vs haplotipo de 17 Y-STRs), la diversidad haplotípica también aumenta. En cambio, en la población mestiza no se han observado diferencias, al presentar una diversidad con el haplotipo mínimo ya de por sí muy alta.

2.2. Determinación de haplogrupos

La determinación de haplogrupos ha permitido asignar un origen geográfico a los distintos linajes presentes en las poblaciones actuales.

En la población amerindia kichwa, el haplogrupo mayoritario fue Q1a3*(62.96%) y más concretamente su sublinaje Q1a3a*, presente en el 51.85% de los individuos. Este sublinaje, específico del continente americano, constituye el haplogrupo más abundante entre los nativos americanos (Bisso-Machado *et al.*, 2011; Lell *et al.*, 2002).

También se ha identificado el haplogrupo C3* en 10 individuos kichwas (37.04%), excluyendo su pertenencia a los subhaplogrupos de C3 descritos (C3a, C3b, C3c, C3d, C3e o C3f). Si descartamos migraciones recientes que hayan traído este linaje, este hallazgo resulta muy interesante. Hasta ahora, básicamente se había hallado la presencia de un linaje derivado de C3, C3b, en poblaciones del Norte de América (Hammer *et al.*, 2006; Zegura *et al.*, 2004). En vista de la hipótesis del poblamiento de América del Sur por la migración desde Asia a través de América del Norte, sería de esperar hallar en el sur del continente el mismo linaje C3 o en todo caso derivados de los identificados en el norte. No obstante, entre los individuos kichwas

estudiados se ha hallado la presencia del linaje C3*(M217), más antiguo que C3b. Dicho linaje tan solo ha sido descrito en otros individuos sudamericanos, más concretamente en otros 4 ecuatorianos (Geppert *et al.*, 2011) y 2 wayuús de Colombia (Zegura *et al.*, 2004). Estos hallazgos abren la puerta a posibles especulaciones sobre nuevos modelos de poblamiento. Aunque una explicación más simple de la identificación de C3* únicamente en determinadas poblaciones sudamericanas, sería que este linaje, poco frecuente, hubiese disminuido en frecuencia hasta perderse en la mayoría de poblaciones, por lo que su muestreo resultaría difícil. Asimismo es posible que el linaje C3* detectado en estos individuos forme parte de una rama de C3 no identificada hasta ahora (Zhong *et al.*, 2011), tal y como ha sido propuesto para otras poblaciones (asiáticas) en las que también se han encontrado linajes de C3 no pertenecientes a los subgrupos hasta ahora descritos (Malyarchuk *et al.*, 2010). Por lo tanto, es conveniente realizar estudios filogenéticos más extensos y detallados del haplogrupo C3.

Consecuentemente, todos los individuos kichwas aquí analizados pertenecerían a haplogrupos fundadores de las poblaciones nativas americanas. Aunque en un estudio previo se estimó la presencia de un 10% de haplotipos de origen putativo europeo en la población kichwa (estimación a partir de 12 Y-STRs) (González-Andrade *et al.*, 2009), en ambos casos es indudable la escasa influencia europea y africana en esta población amerindia.

Por el contrario, en la población mestiza sí que se ha determinado una importante contribución de linajes europeos a su acervo genético, a través de la presencia principalmente del haplogrupo R1b. Este linaje hallado en el 25% de los mestizos, es el haplogrupo más abundante entre los habitantes de Europa Occidental, presentándose en una elevada frecuencia en la Península Ibérica (~40-60%) (Adams *et al.*, 2008).

En la muestra también se han identificado los linajes J2a (7.14%) y J2b (3.57%). Estos haplogrupos, de origen mesopotámico, se hallan en poblaciones del este de Europa (Cáucaso) y de la costa del Mediterráneo (centro y sur de Italia y Grecia; y costa Oriental de España, <15%) (López Parra, 2008). Otro haplogrupo hallado entre los individuos mestizos es el G (3.57%). Este linaje se halla principalmente en Europa oriental, aunque también se presenta en menores porcentajes en países mediterráneos, como España (8-10%) (Flores *et al.*, 2004). Por otro lado, se han encontrado dos sublinajes del haplogrupo africano E, E1b1a (3.57%) y E1b1b1 (7.14%). Mientras el primero es característico de poblaciones africanas subsaharianas, el segundo se habría expandido alrededor del Mediterráneo, desde el noreste africano u Oriente Medio.

La presencia de estos linajes eurasiáticos y africanos en la población mestiza sería el resultado de la introducción de linajes paternos a raíz de la conquista española, por parte de los europeos colonizadores y de los esclavos africanos. Asimismo, el elevado porcentaje de linajes paternos europeos en la población mestiza, junto con los resultados descritos para los linajes mitocondriales (de origen amerindio), está reflejando la asimetría sexual que se produjo durante el periodo colonial, con un predominio de enlaces entre mujeres amerindias y varones europeos. Este patrón asimétrico también ha sido descrito para otras poblaciones mestizas del continente americano (Bolnick *et al.*, 2006; Núñez *et al.*, 2010).

En este sentido, también es importante señalar que entre los mestizos también se han hallado linajes del cromosoma Y de origen amerindio, el haplogrupo Q1a3* (Q-M346) y su sublinaje Q1a3a*(Q-M3), en un porcentaje elevado de la población mestiza (35.71%). Por lo tanto, en estos individuos (que también presentan linajes mitocondriales amerindios) no se ve reflejado el aporte europeo que se presupone a los individuos de este grupo étnico.

En definitiva, a través del estudio del cromosoma Y se ha podido observar la gran heterogeneidad existente en este grupo étnico, con un 50% de linajes de origen europeo, 39.29% de amerindios y 10.71% de africanos. Estos valores varían con los reportados para el mismo grupo étnico por González-Andrade *et al.* (2007) (70% europeo, 28% amerindio y 2% africano), aunque estos fueron calculados con la predicción de haplogrupos a partir de Y-STRs. No obstante, en ambos estudios se observa una composición trihíbrida de los linajes del cromosoma Y, con una mayor predominancia del componente euroasiático, seguido por el nativo americano y africano.

En la valoración de estos resultados debe tenerse siempre en consideración la posibilidad de que migraciones más recientes hayan contribuido también a la actual composición genética de los grupos estudiados.

La búsqueda de los haplotipos (mínimos) en la base de datos YHRD corrobora los resultados anteriormente descritos. En el caso de los Kichwa se ha hallado coincidencias entre dos haplotipos mínimos y otras poblaciones mestizas americanas. Pero el resultado más llamativo ha sido la coincidencia de un haplotipo mínimo kichwa (Hg C3*) con poblaciones eurasiáticas. No obstante esto puede tener su explicación en el origen y consecuentes migraciones de este haplogrupo. Se cree que el linaje C3 (M217) se originó en el sureste o centro de Asia, dispersándose posteriormente hacia el norte asiático y hacia América. La presencia de este haplogrupo en el este y centro europeo puede deberse a antiguas expansiones que desde territorio asiático pudieron haber llevado el marcador M217 a Europa (probablemente durante las conquistas mongólicas de Gengis Kan y sus descendientes entre los s. XII-XIII) (ISOGG).

Por otro lado, en el caso de la población mestiza se ha hallado el mayor número de coincidencias con poblaciones caucásicas, seguida de las mestizas, africanas y nativas americanas, en este orden. El menor número de coincidencias con poblaciones nativas americanas puede deberse a la menor representación de estos grupos en la base de datos en cuestión.

2.3. Análisis interpoblacional

Para determinar la estructura genética de la población ecuatoriana, se han comparado los dos grupos étnicos objeto de este estudio con otros grupos de Ecuador previamente estudiados. Mediante el test exacto de diferenciación y el análisis AMOVA se observa la existencia de diferenciación genética dentro de la población ecuatoriana. Por lo tanto estamos delante de una población heterogénea en cuanto al cromosoma Y, tal y como se ha podido observar también para el ADNmt.

Por otro lado, se ha querido estudiar las dos poblaciones ecuatorianas en un contexto más global, para ello se realizó el análisis de las distancias genéticas a partir de *Rst*, entre dichos grupos y otras poblaciones de América, Europa y África, y posteriormente se representó mediante un MDS.

Desde una perspectiva general, este análisis ha permitido identificar varios grupos claramente diferenciados. Se observa un grupo homogéneo formado por series europeas y latinoamericanas que presentan distancias muy bajas entre sí, tal y como era de esperar debido a la importante presencia de linajes europeos en estas poblaciones americanas. También se han distinguido claramente las poblaciones africanas, así como las asiáticas. En cambio, las poblaciones nativas americanas han mostrado una mayor heterogeneidad sin llegar a formar claramente un clúster compacto. Esta heterogeneidad se corresponde a la importante diferenciación genética existente entre estas poblaciones (Salzano, 2002), en la que la deriva genética tuvo posiblemente un papel destacado.

Centrándonos en los dos grupos étnicos ecuatorianos objeto de este estudio, observamos el distinto comportamiento de estas poblaciones. En lo referente a la población kichwa, resultan significativas las diferencias halladas entre este grupo amerindio y otros grupos nativos americanos. Tampoco se ha observado una mayor cercanía genética con el grupo lingüísticamente afín de los Quechuas de Bolivia (Gaya-Vidal et al., 2011). La población más cercana ha resultado ser la población mestiza de Ecuador, cuya proximidad geográfica facilitó un posible flujo génico entre ambas poblaciones, ya que a pesar de no haber encontrado haplotipos en común, si se han observado algunos haplotipos separados por pocos pasos mutacionales, tal y como puede observarse en el *network* (Figura 26).

Por otro lado, la población mestiza de Ecuador se ha situado en el grupo formado por las series europeas y americanas mestizas. Respecto a las poblaciones europeas ha mostrado distancias genéticas bajas, por la presencia de un importante componente europeo en esta población, tal y como se ha visto al analizar los haplogrupos. No obstante, los valores *Rst* más bajos, y en algunos casos no significativos, se han obtenido respecto a otras poblaciones mestizas, como Bogotá (Díaz Sarmiento, 2010), Yucatán (Rangel-Villalobos et al., 2009) o Guatemala (Martínez-González et al., 2011). Esta proximidad genética entre la población mestiza de Ecuador y otros grupos mestizos americanos es coherente si se considera que estas poblaciones han vivido sucesos histórico-demográficos parecidos a raíz de la llegada de los colonos españoles, que se verán reflejados en sus acervos genéticos. En relación a las poblaciones africanas incluidas, la población mestiza muestra valores que aunque son relativamente elevados, resultan más bajos que para otras poblaciones americanas, incluida la Kichwa. Esto se debe a la presencia de linajes paternos de origen africano en esta población mestiza.

3. CROMOSOMA X

3.1. Parámetros de diversidad

Se ha determinado la variabilidad genética de los tres grupos ecuatorianos a partir del análisis de 10 STRs del cromosoma X.

El locus con mayor diversidad genética ha variado en función del grupo ecuatoriano estudiado: DXS6789 en Waoranis, DXS6809 en Kichwas y DXS7132 en Mestizos. En cambio, el locus DXS8378 ha mostrado la menor variabilidad en las tres poblaciones.

De los tres grupos ecuatorianos, la población mestiza fue la que presentó la diversidad genética más alta para el conjunto de marcadores (0.669), por delante de la kichwa (0.611) y waorani (0.590). En lo referente a la diversidad haplotípica en varones kichwas y mestizos fue igual a 1 (no se hallaron haplotipos compartidos), mientras que en los individuos waoranis se halló un haplotipo compartido por varios varones.

Estas diferencias en cuanto a la diversidad observada entre los tres grupos ecuatorianos para el cromosoma X, concuerda con lo anteriormente descrito para los otros marcadores genéticos.

No obstante los valores de diversidad genética obtenidos en estas poblaciones son inferiores a los descritos para otras poblaciones sudamericanas (mestizas) con el mismo decaplex (Gusmao *et al.*, 2009), aunque similares en su variabilidad a la observada en otros grupos amerindios (Toscanini *et al.*, 2009).

3.2. Equilibrio de Hardy-Weinberg

La ley Hardy-Weinberg establece que en una población grande, bajo apareamiento aleatorio, sin procesos de selección, mutación o migración, las frecuencias alélicas y genotípicas permanecen constantes generación tras generación. Para comprobar el equilibrio Hardy Weinberg (HWE) dentro de una población se comparan los datos observados y esperados para dicha muestra. Si la proporción de genotipos para un locus no está en HWE podría deberse a un efecto de la selección en la población o bien a la existencia de alelos nulos. Este no parece ser el caso en las tres poblaciones ecuatorianas analizadas ya que no se han hallado evidencias de una desviación del HWE tras la aplicación de la corrección de Bonferroni para tests múltiples.

3.3. Ligamiento entre los loci del cromosoma X estudiados

El estudio de marcadores situados en el mismo cromosoma requiere conocer el posible ligamiento entre estos loci. Para ello se determina el desequilibrio de ligamiento (LD) que permite medir la asociación no aleatoria de alelos en dos o más loci.

En este trabajo se han analizado 10 microsatélites del cromosoma X que se encuentran a distancias superiores a 5 Mb, con excepción de DXS6809 y DXS6789, por lo que en principio se trata de loci independientes. No obstante varios estudios realizados con estos marcadores han reportado algunos casos de asociación de alelos, en especial entre la pareja DXS6809-DXS6789 (separados por 0.5Mb) (Pereira *et al.*, 2007; Szibor *et al.*, 2005).

Pero es importante tener en cuenta que el LD no depende únicamente de la distancia entre los loci, sino que también puede estar influido por procesos demográficos que dan lugar a deriva genética, efectos fundadores, mezclas poblacionales recientes o estratificación poblacional, tal y como se ha descrito en Leite *et al.* (2009) y Martins *et al.* (2010b). En dichos estudios han constatado fenómenos de LD entre marcadores distantes, inclusive entre loci situados a 142 Mb (DXS9895 y DXS7423), en determinadas poblaciones del continente americano.

En este estudio se han obtenido resultados variables en cuanto a la posible presencia de LD. Así, en la población waorani se han hallado evidencias de desequilibrio de ligamiento entre los pares de loci DXS6809-DXS7133 y DXS7423-DXS8378. Los loci de la primera pareja están separados por más de 14 Mb, mientras que los de la segunda distan más de 100Mb. La elevada distancia entre ellos así como la falta de ligamiento entre otros loci intermedios, podría señalar como posibles causantes del LD observado a procesos demográficos (subestructura poblacional, endogamia, cuellos de botella, etc.) o bien a efectos de muestreo (Gomes *et al.*, 2007b). En cambio, en las poblaciones kichwa y mestiza no se han hallado evidencias de ligamiento entre los loci analizados (por debajo del umbral de $P < 0.011$).

Los patrones LD observados en estas poblaciones están en concordancia con lo reportado en otros estudios, en los que también se aprecia un mayor LD en grupos amerindios aislados en comparación a poblaciones americanas mestizas (Amorim *et al.*, 2009; Leite *et al.*, 2009).

Desde un punto de vista forense, es importante tener en cuenta que cuando los marcadores son independientes se podrá estimar la frecuencia del haplotipo identificado a partir del producto de las frecuencias alélicas, pero en casos en los que se halla cierto ligamiento entre ellos se deberá trabajar con los haplotipos. Es por ello que es importante la realización de análisis de segregación para comprobar si realmente hay ligamiento entre los loci del decaplex, tal y como ha propuesto el GHEP-ISFG (GHEP-ISFG, 2010).

3.4. Parámetros de eficiencia forense

Para poder determinar si los marcadores analizados son ampliamente informativos y útiles en la práctica forense, se analizó su poder de discriminación y probabilidad de exclusión a priori.

En concordancia con sus elevados valores de variabilidad genética comentados anteriormente, los loci DXS6789, DXS6809 y DXS7132 son los que presentan mayor poder de discriminación (en hombres y mujeres) y también mayor probabilidad de exclusión (tanto para tríos como para dúos) en las poblaciones waorani, kichwa y mestiza, respectivamente. Por otro lado, el locus con menor poder de discriminación y menor probabilidad de exclusión ha sido el DXS8378 en las tres poblaciones analizadas.

En los tres grupos, el poder de discriminación logrado a partir de los 10 marcadores alcanzó valores elevados tanto en mujeres y en hombres, en especial en las poblaciones mestiza y kichwa.

3.5. Análisis interpoblacional

La comparación entre las 3 poblaciones ecuatorianas ha evidenciado la existencia de diferenciación del cromosoma X entre estos grupos, ratificando los resultados obtenidos para los otros marcadores genéticos estudiados. En esta diferenciación intergrupala, los procesos de deriva genética han jugado probablemente un papel clave, especialmente en los grupos amerindios pequeños, dando lugar a la reducción de variabilidad dentro de cada grupo y al aumento de la diferenciación entre ellos.

Es interesante destacar que los X-STRs estudiados contribuyen de forma heterogénea a dicha diferenciación, con algunos marcadores mostrando una elevada diferenciación entre estas poblaciones (por ejemplo DXS7133), mientras que otros no muestran diferencias significativas (por ejemplo DXS7423), tras la corrección de Bonferroni.

Adicionalmente, se ha realizado la comparación de las poblaciones ecuatorianas con otras poblaciones del continente americano, así como de Europa y África, para poder situarlas en un contexto genético, geográfico e histórico más amplio. Hubiera sido de gran interés incluir en dichas comparaciones poblaciones del continente asiático, en particular del centro y extremo noroccidental de este continente, ya que el sustrato genético de las poblaciones nativas americanas tendría su origen en Asia (Karafet *et al* 1999, Bonatto *et al* 1997). Sin embargo, la ausencia de datos de las distribuciones de frecuencias en las poblaciones asiáticas, no ha permitido su estudio conjunto con las poblaciones americanas, europeas y africanas.

En la matriz de distancias basadas en *Fst* y en su representación en el árbol *Neighbor Joining* se observa que la mayoría de poblaciones del continente americano se sitúan genéticamente cercanas a las poblaciones europeas, y en algunos casos a la población africana incluida, reflejando el importante componente europeo (y/o africano) que poseen. En lo referente a las poblaciones ecuatorianas, se pone en evidencia la existencia de una separación entre estos grupos y el resto de poblaciones. De los tres grupos ecuatorianos estudiados, la población mestiza es la que se sitúa más próxima al grupo europeo-latinoamericano, en especial a la población colombiana de Antioquia (Gusmao *et al.*, 2009). Esta mayor proximidad del grupo mestizo es acorde al aporte genético de origen europeo que posee (evidenciado en el cromosoma Y). No obstante, esta contribución no llega a ser tan importante como en el resto de poblaciones americanas incluidas. En el caso de los Waoranis y los Kichwas, el distanciamiento se hace aún más evidente, debido al alto componente genético amerindio que presentan, sin prácticamente aporte europeo o africano, tal y como se ha observado en el estudio del ADNmt y cromosoma Y.

A la hora de valorar estos datos se debe tener en cuenta que sólo se han podido incluir, por falta de estudios con estos marcadores genéticos, dos poblaciones con elevado componente amerindio (Colla y Toba) (Toscanini *et al.*, 2009). Esto puede haber contribuido en parte al distanciamiento observado entre los grupos ecuatorianos y el resto de grupos del continente americano, aunque también se debe tener en cuenta que las poblaciones amerindias suelen caracterizarse por una importante diferenciación genética respecto a otros grupos. Por otro lado, también debe considerarse la aportación genética de origen africano existente en determinadas poblaciones americanas, que puede llegar a ser muy importante, tal y como ocurre en el caso de Rio de Janeiro. Esto contrasta con la baja o nula aportación africana en las

comunidades ecuatorianas estudiadas, lo que también podría haber contribuido a este distanciamiento. En este sentido, sería interesante estudiar grupos afroecuatorianos para poder observar su disposición respecto a los grupos africanos y ecuatorianos aquí estudiados.

4. Consideraciones finales

Los resultados obtenidos para los diversos marcadores estudiados muestran la existencia de una importante heterogeneidad genética entre los grupos étnicos de Ecuador. Este nivel de estratificación dentro de la población ecuatoriana pone de manifiesto la necesidad de actuar con gran exigencia a la hora de realizar los cálculos estadísticos sobre los que se basa la identificación individual en medicina forense. El uso de bases de datos que no reflejen la variabilidad real de la población puede llevar a errores de elevada trascendencia judicial y social. Es por ello que siempre que sea posible se deberán emplear bases de datos locales que recojan lo más fielmente posible la heterogeneidad genética de las poblaciones y de sus grupos étnicos.

No obstante, también es necesario tener en cuenta que, como se ha podido ver, no siempre la ancestralidad basada en la autodefinición de la etnicidad concuerda con la ancestralidad genética. Así, individuos que se han autodefinido como mestizos han presentado linajes del cromosoma Y y mitocondriales de origen amerindio, cuando sería esperable una contribución genética europea. Esto puede tener importantes repercusiones a la hora de generar bases de datos, pues se incluirán dentro de un mismo grupo, individuos con origen étnico distinto. Por lo tanto, es necesario proceder con cautela a la hora de usar criterios étnicos en las investigaciones policiales, pues pueden llevar a conclusiones erróneas.

En definitiva, es necesario recordar que a pesar de la aparente homogeneidad que pueden presentar las poblaciones latinoamericanas desde una perspectiva cultural, lingüística, toponímica o incluso fenotípica, a nivel genético puede existir una gran diversidad que debe tenerse en cuenta para la práctica forense.

VI. CONCLUSIONES/CONCLUSIONS

CONCLUSIONES

- 1) El estudio de los marcadores genéticos incluidos en este trabajo ha demostrado una elevada heterogeneidad genética dentro de la población ecuatoriana. Las diferencias en el acervo genético de los tres grupos étnicos estudiados pueden correlacionarse con los diferentes sucesos históricos y demográficos acontecidos en estas poblaciones.
- 2) La población waorani se ha caracterizado por su baja diversidad genética, consecuencia de una historia marcada por un prolongado aislamiento geográfico y cultural, elevada endogamia y escaso mestizaje con otros grupos. Estos factores, junto con procesos de deriva genética intensificados probablemente por el pequeño tamaño poblacional del grupo, disminuyeron drásticamente la variabilidad en el acervo genético de esta población.
- 3) El grupo amerindio kichwa presenta una posición intermedia de diversidad entre los grupos ecuatorianos estudiados, y se halla acorde con los valores observados en otras poblaciones amerindias del continente americano. La presencia de individuos de distinto origen dentro de este grupo favoreció su variabilidad genética.
- 4) La población mestiza es la población más diversa y heterogénea de las estudiadas. Su amplio acervo genético es el reflejo de la compleja historia de este grupo, que se inició a raíz de la llegada de los europeos al continente americano.
- 5) El estudio del ADNmt ha evidenciado el origen nativo americano de la totalidad de linajes maternos identificados en los tres grupos ecuatorianos. Por lo tanto, en el ADNmt no se ve reflejada contribución alguna de origen caucásico o africano.
- 6) La falta de coincidencias entre los linajes mitocondriales observados en los Waorani con otros grupos americanos no ecuatorianos, sugiere la especificidad de estos haplotipos propios de la población waorani. En cambio, los grupos kichwa y mestizo han mostrado una similitud genética con grupos americanos del norte de Sudamérica y Mesoamérica.
- 7) Mediante el estudio de marcadores del cromosoma Y se ha confirmado la naturaleza trihíbrida de los mestizos, que muestran un 50% de linajes de origen europeo, 39% nativo americano y 11% africano. En cambio, los grupos amerindios waorani y kichwa únicamente han presentado linajes paternos de origen amerindio, evidenciando la escasa influencia genética dejada por grupos no indígenas en estas poblaciones.
- 8) La presencia de linajes maternos exclusivamente amerindios, así como el importante porcentaje de linajes paternos de origen europeo en la población mestiza, refleja el asimétrico patrón de apareamiento entre hombres europeos y mujeres indígenas que se dio en esta población durante el periodo colonial.

- 9) Los marcadores del cromosoma X han mostrado una clara diferenciación entre los grupos ecuatorianos y el resto de poblaciones americanas incluidas, siendo el grupo ecuatoriano mestizo el que ha mostrado mayor proximidad genética al resto de poblaciones.
- 10) Los parámetros de interés forense determinados han demostrado una elevada eficacia de los sistemas genéticos en las poblaciones mestizas y kichwa, siendo más limitados en el caso de la población waorani.
- 11) Dada la fuerte subestructuración existente en la población ecuatoriana no es recomendable usar una única base de datos genéticos con fines forenses, sino que es necesario crear bases de datos locales que recojan la gran diversidad genética existente entre grupos poblacionales y étnicos, para poder realizar la correcta valoración estadística en estudios forenses y de parentesco.

CONCLUSIONS

- 1) The study of the genetic markers included in this work has evidenced a high genetic heterogeneity within the Ecuadorian population. The differences detected in the genetic pool of the three ethnic groups studied can be correlated to the different historical and demographic events occurred in these populations.
- 2) The Waorani population is characterized by low levels of genetic diversity, consequence of a history that was marked by a prolonged geographic and cultural isolation, high endogamy and low admixture with other ethnic groups. These factors together with genetic drift episodes, reinforced by a low effective population, would have drastically reduced the genetic diversity of this population.
- 3) The Kichwa population shows intermediate genetic diversity compared to the other studied Ecuadorian groups, with values concordant with other Amerindian populations. The confluence of people of different origins in this group would have favored its gene pool diversity.
- 4) The Mestizo population is the most diverse and heterogeneous Ecuadorian group studied. Its rich genetic pool reflects the complex history of this group, which started with the European arrival to the American continent.
- 5) All the mitochondrial lineages identified in the Ecuadorian groups are of Native American origin. Subsequently, no specific European or African contribution was detected in the maternal gene pool.
- 6) The lack of coincidences of mtDNA lineages with non- Ecuadorian groups suggests the existence of "Waorani-specific" lineages. On the other hand, Kichwa and Mestizo groups have showed genetic similarity with northern South American and Mesoamerican populations.
- 7) Y chromosome study reveals the trihybrid nature of the Mestizo group, with variable proportion of Eurasian (50%), Native American (39%) and African (11%) lineages. Contrarily, the Waorani and Kichwa Amerindian groups have exclusively presented Native American Y chromosome lineages.
- 8) The determination of Native American maternal lineages and a high proportion of European paternal lineages in the Mestizo population evidenced the asymmetric pattern of mating that occurred during the colonial period, involving mostly immigrant men and local native women.
- 9) Results based on X-STRs show an important differentiation among the Ecuadorian groups and the other American population included in the analysis. The Mestizo population resulted to be the closest Ecuadorian group to the rest of populations.

- 10) The calculated forensic parameters point out the high efficiency of the studied genetic systems in Mestizo and Kichwa populations, although they are more limited in the Waorani group.

- 11) Because of the intense population substructure in Ecuador, it is not advisable to use a single genetic database for forensic purposes. In actual fact, it is necessary to create local databases that collect the genetic diversity existing among populations and/or ethnic groups, in order to do the statistical evaluation of the evidence in paternity testing and forensic casework.

VI. BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía

Achilli, A., Perego, U. A., Bravi, C. M., Coble, M. D., Kong, Q. P., Woodward, S. R., Salas, A., Torroni, A. y Bandelt, H. J. (2008). The phylogeny of the four pan-American MtDNA haplogroups: implications for evolutionary and disease studies. *PLoS ONE* 3, e1764.

Adams, S. M., Bosch, E., Balaesque, P. L., Ballereau, S. J., Lee, A. C., Arroyo, E., Lopez-Parra, A. M., Aler, M., Grifo, M. S., Brion, M. *et al.* (2008). The genetic legacy of religious diversity and intolerance: paternal lineages of Christians, Jews, and Muslims in the Iberian Peninsula. *Am J Hum Genet* 83, 725-36.

Álvarez-Iglesias, V., Jaime, J. C., Carracedo, A. y Salas, A. (2007). Coding region mitochondrial DNA SNPs: Targeting East Asian and Native American haplogroups. *Forensic Sci Int Genet* 1, 44-55.

Amorim, C. E. G., Wang, S., Marrero, A. R., Salzano, F. M., Ruiz-Linares, A. y Bortolini, M. C. (2009). X-chromosomal genetic diversity and linkage disequilibrium patterns in Amerindians and non-Amerindian populations. *Am J Hum Biol* 23, 299-304.

Anderson, S., Bankier, A. T., Barrell, B. G., de Bruijn, M. H., Coulson, A. R., Drouin, J., Eperon, I. C., Nierlich, D. P., Roe, B. A., Sanger, F. *et al.* (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290, 457-65.

Andrews, R. M., Kubacka, I., Chinnery, P. F., Lightowlers, R. N., Turnbull, D. M. y Howell, N. (1999). Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nat Genet* 23, 147.

Ankel-Simons, F. y Cummins, J. M. (1996). Misconceptions about mitochondria and mammalian fertilization: Implications for theories on human evolution. *Proc Natl Acad Sci USA* 93, 13859-13863.

Arroyo-Pardo, E., Gusmao, L., Lopez-Parra, A. M., Baeza, C., Mesa, M. S. y Amorim, A. (2005). Genetic variability of 16 Y-chromosome STRs in a sample from Equatorial Guinea (Central Africa). *Forensic Sci Int* 149, 109-13.

Athey, T. (2005). Haplogroup Prediction from Y-STR Values Using an Allele-Frequency Approach. *J Genet Geneal* 1, 1-7.

Baeta, M., Núñez, C., Sosa, C., Gascón, S., González-Andrade, F. y Martínez-Jarreta, B. (2009). Analysis of reduced size STR amplicons as tools for the study of degraded DNA. *Forensic Genetic Research Progress*; 1 – 17.

Baeza, C., Guzman, R., Tirado, M., Lopez-Parra, A. M., Rodriguez, T., Mesa, M. S., Fernandez, E. y Arroyo-Pardo, E. (2007). Population data for 15 Y-chromosome STRs in a population sample from Quito (Ecuador). *Forensic Sci Int* 173, 214-9.

Bailliet, G., Rothhammer, F., Carnese, F. R., Bravi, C. M. y Bianchi, N. O. (1994). Founder mitochondrial haplotypes in Amerindian populations. *Am J Hum Genet* 55, 27-33.

- Becker, D., Rodig, H., Augustin, C., Edelmann, J., Gotz, F., Hering, S., Szibor, R. y Brabetz, W. (2008). Population genetic evaluation of eight X-chromosomal short tandem repeat loci using Mentype Argus X-8 PCR amplification kit. *Forensic Sci Int Genet* 2, 69-74.
- Bekada, A., Benhamamouch, S., Boudjema, A., Fodil, M., Menegon, S., Torre, C. y Robino, C. (2010). Analysis of 21 X-chromosomal STRs in an Algerian population sample. *Int J Legal Med* 124, 287-94.
- Bendall, K. E., Macaulay, V. A., Baker, J. R. y Sykes, B. C. (1996). Heteroplasmic point mutations in the human mtDNA control region. *Am J Hum Genet* 59, 1276-87.
- Bianchi, N. O., Catanesi, C. I., Bailliet, G., Martínez-Marignac, V. L., Bravi, C. M., Vidal-Rioja, L. B., Herrera, R. J. y Lopez-Camelo, J. S. (1998). Characterization of ancestral and derived Y-chromosome haplotypes of New World native populations. *Am J Hum Genet* 63, 1862-71.
- Bini, C., Ceccardi, S., Luiselli, D., Ferri, G., Pelotti, S., Colalongo, C., Falconi, M. y Pappalardo, G. (2003). Different informativeness of the three hypervariable mitochondrial DNA regions in the population of Bologna (Italy). *Forensic Sci Int* 135(1), 48-52.
- Bisso-Machado, R., Jota, M. S., Ramallo, V., Paixao-Cortes, V. R., Lacerda, D. R., Salzano, F. M., Bonatto, S. L., Santos, F. R. y Bortolini, M. C. (2011). Distribution of Y-chromosome Q lineages in Native Americans. *Am J Hum Biol* 23, 563-6.
- Bobillo, C., Sala, A., Gusmao, L. y Corach, D. (2011). Genetic analysis of 10 X-STRs in Argentinian population. *Forensic Sci Int Genet* 5, e14-6.
- Bogenhagen, D. F. (1999). Repair of mtDNA in Vertebrates. *Am J Hum Gen* 64, 1276-1281.
- Bolnick, D. A., Bolnick, D. I. y Smith, D. G. (2006). Asymmetric Male and Female Genetic Histories among Native Americans from Eastern North America. *Mol Bio Evol* 23, 2161-2174.
- Bonatto, S. L. y Salzano, F. M. (1997). Diversity and age of the four major mtDNA haplogroups, and their implications for the peopling of the New World. *Am J Hum Genet* 61, 1413-23.
- Bortolini, M. C., Salzano, F. M., Thomas, M. G., Stuart, S., Nasanen, S. P., Bau, C. H., Hutz, M. H., Layrisse, Z., Petzl-Erler, M. L., Tsuneto, L. T. *et al.* (2003). Y-chromosome evidence for differing ancient demographic histories in the Americas. *Am J Hum Genet* 73, 524-39.
- Bosch, E., Calafell, F., Rosser, Z. H., Norby, S., Lynnerup, N., Hurles, M. E. y Jobling, M. A. (2003). High level of male-biased Scandinavian admixture in Greenlandic Inuit shown by Y-chromosomal analysis. *Hum Genet* 112, 353-63.
- Brandstätter, A., Niederstatter, H. y Parson, W. (2004). Monitoring the inheritance of heteroplasmy by computer-assisted detection of mixed basecalls in the entire human mitochondrial DNA control region. *Int J Legal Med* 118, 47-54.
- Brinkmann, B., Klitsch, M., Neuhuber, F., Huhne, J. y Rolf, B. (1998). Mutation rate in human microsatellites: influence of the structure and length of the tandem repeat. *Am J Hum Genet* 62, 1408-15.

- Brown, M. D., Hosseini, S. H., Torroni, A., Bandelt, H. J., Allen, J. C., Schurr, T. G., Scozzari, R., Cruciani, F. y Wallace, D. C. (1998). mtDNA haplogroup X: An ancient link between Europe/Western Asia and North America? *Am J Hum Genet* 63, 1852-61.
- Brown, W. M. (1980). Polymorphism in mitochondrial DNA of humans as revealed by restriction endonuclease analysis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 77, 3605-9.
- Burgoyne, P. S. (1982). Genetic homology and crossing over in the X and Y chromosomes of Mammals. *Hum Genet* 61, 85-90.
- Burton, M. L., Moore, C. C., Whiting, J. W. M. y Romney, A. K. (1996). Regions based on Social Structure. *Current Anthropology* 37, 87-123.
- Butler, J., Decker, A., Kline, M. y Vallone, P. (2005). Chromosomal duplications along the Y-chromosome and their potential impact on Y-STR interpretation. *J Forensic Sci* 50, 853-9.
- Cabodevilla, M. A. (1994). Los Huaorani en la historia de los pueblos del Oriente. CICAME-Coca. Edit. Navarra. España
- Caine, L. M., de Pancorbo, M. M. y Pinheiro, F. (2010). Y-chromosomal STR haplotype diversity in males from Santa Catarina, Brazil. *J Forensic Leg Med* 17, 92-5.
- Capelli, C., Wilson, J. F., Richards, M., Stumpf, M. P., Gratrix, F., Oppenheimer, S., Underhill, P., Pascali, V. L., Ko, T. M. y Goldstein, D. B. (2001). A predominantly indigenous paternal heritage for the Austronesian-speaking peoples of insular Southeast Asia and Oceania. *Am J Hum Genet* 68, 432-43.
- Cardoso, S., Alfonso-Sánchez, M. A., González-Andrade, F., Valverde, L., Odriozola, A., Pérez-Miranda, A. M., Peña, J. A., Martínez-Jarreta, B. y de Pancorbo, M. M. (2008). Mitochondrial DNA in Huaorani (Ecuadorian amerindians): A new variant in haplogroup A2. *Forensic Sci Int Genet Suppl Series* 1, 269-270.
- Cardoso, S., Zarrabeitia, M. T., Valverde, L., Odriozola, A., Alfonso-Sánchez, M. Á. y De Pancorbo, M. M. (2010). Variability of the Entire Mitochondrial DNA Control Region in a Human Isolate from the Pas Valley (Northern Spain). *J Forensic Sci* 55, 1196-1201.
- Carracedo, A., Butler, J. M., Gusmao, L., Parson, W., Roewer, L. y Schneider, P. M. (2010). Publication of population data for forensic purposes. *Forensic Sci Int Genet* 4, 145-7.
- Carracedo, A., Bar, W., Lincoln, P., Mayr, W., Morling, N., Olaisen, B., Schneider, P., Budowle, B., Brinkmann, B., Gill, P. *et al.* (2000). DNA commission of the international society for forensic genetics: guidelines for mitochondrial DNA typing. *Forensic Sci Int* 110, 79-85.
- Carvalho, M., Brito, P., Lopes, V., Andrade, L., Anjos, M. J. o., Real, F. C. y Gusmao, L. (2010). Analysis of paternal lineages in Brazilian and African populations. *Genet Mol Biol* 33, 422-427.
- Casanova, M., Leroy, P., Boucekkine, C., Weissenbach, J., Bishop, C., Fellous, M., Purrello, M., Fiori, G. y Siniscalco, M. (1985). A human Y-linked DNA polymorphism and its potential for estimating genetic and evolutionary distance. *Science* 230, 1403-6.

- Casto, A. M., Li, J. Z., Absher, D., Myers, R., Ramachandran, S. y Feldman, M. W. (2010). Characterization of X-linked SNP genotypic variation in globally distributed human populations. *Genome Biol* 11, R10.
- Chen, X., Prosser, R., Simonetti, S., Sadlock, J., Jagiello, G. y Schon, E. A. (1995a). Rearranged mitochondrial genomes are present in human oocytes. *Am J Hum Genet* 57, 239-47.
- Chen, Y. S., Torroni, A., Excoffier, L., Santachiara-Benerecetti, A. S. y Wallace, D. C. (1995b). Analysis of mtDNA variation in African populations reveals the most ancient of all human continent-specific haplogroups. *Am J Hum Genet* 57, 133-49.
- CODENPE. Consejo de Desarrollo de las Nacionalidades y Pueblos del Ecuador Ecuador. <http://www.codenpe.gov.ec/>
- Comas, D. (2010). Biodiversidad en poblaciones humanas. *SEBBM (Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular)* 165, 24-28.
- Comas, D., Paabo, S. y Bertranpetit, J. (1995). Heteroplasmy in the control region of human mitochondrial DNA. *Genome Res* 5, 89-90.
- D'Aurelio, M., Gajewski, C. D., Lin, M. T., Mauck, W. M., Shao, L. Z., Lenaz, G., Moraes, C. T. y Manfredi, G. (2004). Heterologous mitochondrial DNA recombination in human cells. *Hum Mol Genet* 13, 3171-3179.
- Davis, C., Ge, J., Chidambaram, A., King, J., Turnbough, M., Collins, M., Dym, O., Chakraborty, R., Eisenberg, A. J. y Budowle, B. (2011). Y-STR loci diversity in native Alaskan populations. *Int J Legal Med* 125, 559-63.
- de Knijff, P. (2000). Messages through bottlenecks: on the combined use of slow and fast evolving polymorphic markers on the human Y chromosome. *Am J Hum Genet* 67, 1055-61.
- de Salle, R. y Yudell, M. (2002). *The Genomic Revolution: Unveiling the Unity of Life*: Joseph Henry Press. Washington, DC.
- Derenko, M., Malyarchuk, B., Grzybowski, T., Denisova, G., Dambueva, I., Perkova, M., Dorzhu, C., Luzina, F., Lee, H. K., Vanecek, T. *et al.* (2007). Phylogeographic analysis of mitochondrial DNA in northern Asian populations. *Am J Hum Genet* 81, 1025-41.
- Diaz Sarmiento, L. F. (2010). Analisis de 17 loci de STR de cromosoma Y en las poblaciones de Bogota y Santander con fines genético poblacionales y forenses. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Biologicas. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.
- Dillehay, T. D. (1999). The late Pleistocene cultures of South America. *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews* 7, 206-216.
- Dillehay, T. D., Calderón, G. A. y Politis, G. (1992). Earliest hunters and gatherers of South America. *Journal of World Prehistory* 6, 145-204.

Edelmann, J., Deichsel, D., Hering, S., Plate, I. y Szibor, R. (2002a). Sequence variation and allele nomenclature for the X-linked STRs DXS9895, DXS8378, DXS7132, DXS6800, DXS7133, GATA172D05, DXS7423 and DXS8377. *Forensic Sci Int* 129, 99-103.

Edelmann, J., Hering, S., Kuhlisch, E. y Szibor, R. (2002b). Validation of the STR DXS7424 and the linkage situation on the X-chromosome. *Forensic Sci Int* 125, 217-22.

Elson, J. L., Andrews, R. M., Chinnery, P. F., Lightowlers, R. N., Turnbull, D. M. y Howell, N. (2001). Analysis of European mtDNAs for recombination. *Am J Hum Genet* 68, 145-153.

Excoffier, L. G. Laval, y S. Schneider (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform Online* 1:47-50.

Eyre-Walker, A. y Awadalla, P. (2001). Does human mtDNA recombine? *J Mol Evol* 53, 430-5.

FBI Supplementary Homicide Reports, 1976-2005. <http://bjs.ojp.usdoj.gov/content/homicide/>

Felsenstein, J. (1989). PHYLIP: phylogeny inference package (Version 3.2). *Cladistics* 5: 164-166.

Filosto, M., Mancuso, M., Vives-Bauza, C., Vila, M. R., Shanske, S., Hirano, M., Andreu, A. L. y DiMauro, S. (2003). Lack of paternal inheritance of muscle mitochondrial DNA in sporadic mitochondrial myopathies. *Ann Neurol* 54, 524-6.

Finnila, S., Lehtonen, M. S. y Majamaa, K. (2001). Phylogenetic network for European mtDNA. *Am J Hum Genet* 68, 1475-84.

Flores, C., Maca-Meyer, N., González, A. M., Oefner, P. J., Shen, P., Perez, J. A., Rojas, A., Larruga, J. M. y Underhill, P. A. (2004). Reduced genetic structure of the Iberian peninsula revealed by Y-chromosome analysis: implications for population demography. *Eur J Hum Genet* 12, 855-63.

Forster, P., Harding, R., Torroni, A. y Bandelt, H. J. (1996). Origin and evolution of Native American mtDNA variation: a reappraisal. *Am J Hum Genet* 59, 935-45.

Fuentes, B. C. (1997). Huaomoni, huarani, cowudi: una aproximación a los Huaorani en la práctica política multi-étnica ecuatoriana. *Series Pueblos de Ecuador*. Abya Yala.

Gartler, S. M. y Goldman, M. A. (2005). X-Chromosome Inactivation. In *Encyclopedia of Life Sciences*, 2001: 1-5.

Gartler, S. M. y Goldman, M. A. (2001). Biology of the X chromosome. *Curr Opin Pediatr* 13, 340-5.

Gaya-Vidal, M., Moral, P., Saenz-Ruales, N., Gerbault, P., Tonasso, L., Villena, M., Vasquez, R., Bravi, C. M. y Dugoujon, J. M. (2011). mtDNA and Y-chromosome diversity in Aymaras and Quechuas from Bolivia: different stories and special genetic traits of the Andean Altiplano populations. *Am J Phys Anthropol* 145, 215-30.

Geppert, M., Baeta, M., Nunez, C., Martínez-Jarreta, B., Zweynert, S., Cruz, O. W., González-Andrade, F., González-Solorzano, J., Nagy, M. y Roewer, L. (2011). Hierarchical Y-SNP assay to

study the hidden diversity and phylogenetic relationship of native populations in South America. *Forensic Sci Int Genet* 5, 100-4.

GHEP-ISFG (2010). Análisis de segregación de X-STRs del decaplex. Granada. <http://www.gep-isfg.org/documentos/Propuesta%20Ejercicio%20Crom%20X%202011.pdf>

Giles, R. E., Blanc, H., Cann, H. M. y Wallace, D. C. (1980). Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 77, 6715-6719.

Goebel, T., Waters, M. R. y O'Rourke, D. H. (2008). The late Pleistocene dispersal of modern humans in the Americas. *Science* 319, 1497-502.

Gomes, V., Sánchez-Diz, P., Amorim, A., Carracedo, A. y Gusmao, L. (2010). Digging deeper into East African human Y chromosome lineages. *Hum Genet* 127, 603-13.

Gomes, I., Pereira, V., Gomes, V., Prata, M. J., Pinto, N., Carracedo, A., Amorim, A. y Gusmao, L. (2009). The Karimojong from Uganda: genetic characterization using an X-STR decaplex system. *Forensic Sci Int Genet* 3, e127-8.

Gomes, I., Alves, C., Maxzud, K., Pereira, R., Prata, M. J., Sánchez-Diz, P., Carracedo, A., Amorim, A. y Gusmao, L. (2007a). Analysis of 10 X-STRs in three African populations. *Forensic Sci Int Genet* 1, 208-11.

Gomes, I., Prinz, M., Pereira, R., Meyers, C., Mikulasovich, R. S., Amorim, A., Carracedo, A. y Gusmao, L. (2007b). Genetic analysis of three US population groups using an X-chromosomal STR decaplex. *Int J Legal Med* 121, 198-203.

Gomez-Perez, L., Alfonso-Sánchez, M. A., Sánchez, D., Garcia-Obregon, S., Espinosa, I., Martínez-Jarreta, B., De Pancorbo, M. M. y Pena, J. A. (2011). Alu polymorphisms in the Waorani tribe from the Ecuadorian Amazon reflect the effects of isolation and genetic drift. *Am J Hum Biol*. In press.

González-Andrade, F., Roewer, L., Willuweit, S., Sánchez, D. y Martínez-Jarreta, B. (2009). Y-STR variation among ethnic groups from Ecuador: Mestizos, Kichwas, Afro-Ecuadorians and Waoranis. *Forensic Sci Int Genet* 3, e83-91.

González-Andrade, F., Sánchez, D., Martínez-Jarreta, B. y Budowle, B. (2008a). Y-chromosome STR haplotypes in three different population groups from Ecuador (South America). *J Forensic Sci* 53, 512-4.

González-Andrade, F., Sánchez, D. y Martínez-Jarreta, B. (2008b). Mestizos, Ethnic Admixture and DNA: Local Approach to the Reality of a Continent. In *Population Genetics Research Progress.*, (ed. K. V): Nova Science Publishers, Inc.

González-Andrade, F., Sánchez, D., González-Solorzano, J., Gascón, S. y Martínez-Jarreta, B. (2007). Sex-specific genetic admixture of Mestizos, Amerindian Kichwas, and Afro-Ecuadorans from Ecuador. *Hum Biol* 79, 51-77.

González-Andrade, F. (2006a). Análisis molecular de variación de polimorfismos STR autosómicos y de cromosoma Y en grupos étnicos de Ecuador. Tesis Doctoral. Departamento de Medicina Legal. Universidad de Zaragoza. Zaragoza.

González-Andrade, F., Sánchez, Q. D. y Martínez-Jarreta, B. (2006b). Genetic analysis of the Amerindian Kichwas and Afroamerican descendents populations from Ecuador characterised by 15 STR-PCR polymorphisms. *Forensic Sci Int* 160, 231-5.

González-Andrade, F., Sánchez, D. y 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* 135, 64-6.

Greenberg, B. D., Newbold, J. E. y Sugino, A. (1983). Intraspecific nucleotide sequence variability surrounding the origin of replication in human mitochondrial DNA. *Gene* 21, 33-49.

Gusmao, L., Sánchez-Diz, P., Alves, C., Gomes, I., Zarrabeitia, M. T., Abovich, M., Atmetlla, I., Bobillo, C., Bravo, L., Builes, J. *et al.* (2009). A GEP-ISFG collaborative study on the optimization of an X-STR decaplex: data on 15 Iberian and Latin American populations. *Int J Legal Med* 123, 227-34.

Gusmao, L., Alves, C., Sánchez-Diz, P., Zarrabeitia, M. T. y Abovich, M. (2008). Results of GEP-ISFG collaborative study on a X-STR Decaplex. *Forensic Sci Genet Suppl Series 1*, 677-679.

Gusmao, L., Butler, J. M., Carracedo, A., Gill, P., Kayser, M., Mayr, W. R., Morling, N., Prinz, M., Roewer, L., Tyler-Smith, C. *et al.* (2006). DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics (ISFG): an update of the recommendations on the use of Y-STRs in forensic analysis. *Forensic Sci Int* 157, 187-97.

Hammer, M. F., Mendez, F. L., Cox, M. P., Woerner, A. E. y Wall, J. D. (2008). Sex-biased evolutionary forces shape genomic patterns of human diversity. *PLoS Genet* 4, e1000202.

Hammer, M. F., Chamberlain, V. F., Kearney, V. F., Stover, D., Zhang, G., Karafet, T., Walsh, B. y Redd, A. J. (2006). Population structure of Y chromosome SNP haplogroups in the United States and forensic implications for constructing Y chromosome STR databases. *Forensic Sci Int* 164, 45-55.

Hammer, M. F., Karafet, T. M., Redd, A. J., Jarjanazi, H., Santachiara-Benerecetti, S., Soodyall, H. y Zegura, S. L. (2001). Hierarchical patterns of global human Y-chromosome diversity. *Mol Biol Evol* 18, 1189-203.

Hammer, M. F. (1994). A recent insertion of an alu element on the Y chromosome is a useful marker for human population studies. *Mol Biol Evol* 11, 749-61.

Handt O, Krings M, Ward RH, y Pääbo S (1996). The retrieval of ancient human DNA sequences. *Am J Hum Genet* 59, 368-376.

Hauswirth, W. W. y Laipis, P. J. (1982). Mitochondrial DNA polymorphism in a maternal lineage of Holstein cows. *Proc Natl Acad Sci USA* 79, 4686-90.

Heyer, E. y Segurel, L. (2010). Looking for signatures of sex-specific demography and local adaptation on the X chromosome. *Genome Biol* 11, 203.

Horai, S., Kondo, R., Nakagawa-Hattori, Y., Hayashi, S., Sonoda, S. y Tajima, K. (1993). Peopling of the Americas, founded by four major lineages of mitochondrial DNA. *Mol Biol Evol* 10, 23-47.

Ingman, M., Kaessmann, H., Paabo, S. y Gyllensten, U. (2000). Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans. *Nature* 408, 708-13.

INEC (2010). Instituto Nacional de Estadística y Censos. Ecuador. <http://www.inec.gov.ec/home/>

ISOGG. International Society of Genetic Genealogy. <http://www.isogg.org/tree/index08.html>

Jansen, R. P. (2000). Germline passage of mitochondria: quantitative considerations and possible embryological sequelae. *Hum Reprod* 15 Suppl 2, 112-28.

Jobling, M. A. (2001). Y-chromosomal SNP haplotype diversity in forensic analysis. *Forensic Sci Int* 118, 158-162.

Jobling, M. A., Pandya, A. y Tyler-Smith, C. (1997). The Y chromosome in forensic analysis and paternity testing. *Int J Legal Med* 110, 118-24.

Jobling, M. A. y Tyler-Smith, C. (1995). Fathers and sons: the Y chromosome and human evolution. *Trends Genet* 11, 449-56.

Jones, M. (2003). Ancient DNA in pre-Columbian archaeology: a review. *J Archaeol Sci.* 30, 629-35.

Jorde, L. B. y Wooding, S. P. (2004). Genetic variation, classification and 'race'. *Nat Genet* 36, S28-33.

Kaestle, F. A. y Smith, D. G. (2001). Ancient mitochondrial DNA evidence for prehistoric population movement: the Numic expansion. *Am J Phys Anthropol* 115, 1-12.

Karafet, T. M., Mendez, F. L., Meilerman, M. B., Underhill, P. A., Zegura, S. L. y Hammer, M. F. (2008). New binary polymorphisms reshape and increase resolution of the human Y chromosomal haplogroup tree. *Genome Res* 18, 830-8.

Karafet, T. M., Osipova, L. P., Gubina, M. A., Posukh, O. L., Zegura, S. L. y Hammer, M. F. (2002). High levels of Y-chromosome differentiation among native Siberian populations and the genetic signature of a boreal hunter-gatherer way of life. *Hum Biol* 74, 761-89.

Karafet, T. M., Zegura, S. L., Posukh, O., Osipova, L., Bergen, A., Long, J., Goldman, D., Klitz, W., Harihara, S., de Knijff, P. *et al.* (1999). Ancestral Asian source(s) of new world Y-chromosome founder haplotypes. *Am J Hum Genet* 64, 817-31.

Karafet, T., Zegura, S. L., Vuturo-Brady, J., Posukh, O., Osipova, L., Wiebe, V., Romero, F., Long, J. C., Harihara, S., Jin, F. *et al.* (1997). Y chromosome markers and Trans-Bering Strait dispersals. *Am J Phys Anthropol* 102, 301-14.

Kay, G. F. (1998). Xist and X chromosome inactivation. *Mol Cell Endocrinol* 140, 71-6.

Kayser, M., Brauer, S., Weiss, G., Schiefenhovel, W., Underhill, P., Shen, P., Oefner, P., Tommaseo-Ponzetta, M. y Stoneking, M. (2003). Reduced Y-chromosome, but not mitochondrial DNA, diversity in human populations from West New Guinea. *Am J Hum Genet* 72, 281-302.

Kayser, M., Roewer, L., Hedman, M., Henke, L., Henke, J., Brauer, S., Kruger, C., Krawczak, M., Nagy, M., Dobosz, T. *et al.* (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 Hum Genet* 66, 1580-8.

Kayser, M., Caglia, A., Corach, D., Fretwell, N., Gehrig, C., Graziosi, G., Heidorn, F., Herrmann, S., Herzog, B., Hidding, M. *et al.* (1997). Evaluation of Y-chromosomal STRs: a multicenter study. *Int J Legal Med* 110, 125-33, 141-9.

Ke, Y., Su, B., Song, X., Lu, D., Chen, L., Li, H., Qi, C., Marzuki, S., Deka, R., Underhill, P. *et al.* (2001). African origin of modern humans in East Asia: a tale of 12,000 Y chromosomes. *Science* 292, 1151-3.

Keinan, A., Mullikin, J. C., Patterson, N. y Reich, D. (2009). Accelerated genetic drift on chromosome X during the human dispersal out of Africa. *Nat Genet* 41, 66-70.

Keyeux, G., Rodas, C., Gelvez, N. y Carter, D. (2002). Possible migration routes into South America deduced from mitochondrial DNA studies in Colombian Amerindian populations. *Hum Biol* 74, 211-33.

Kivisild, T., Rootsi, S., Metspalu, M., Mastana, S., Kaldma, K., Parik, J., Metspalu, E., Adojaan, M., Tolk, H. V., Stepanov, V. *et al.* (2003). The genetic heritage of the earliest settlers persists both in Indian tribal and caste populations. *Am J Hum Genet* 72, 313-32.

Kloss-Brandstätter A., Pacher D., Schoenherr S., Weissensteiner H., Binna R., Specht G. y F., K. (2010). HaploGrep: a fast and reliable algorithm for automatic classification of mitochondrial DNA haplogroups. <http://www.haplogrep.uibk.ac.at>

Kolman, C. J., Sambuughin, N. y Bermingham, E. (1996). Mitochondrial DNA analysis of Mongolian populations and implications for the origin of New World founders. *Genetics* 142, 1321-34.

Kolman, C. J., Bermingham, E., Cooke, R., Ward, R. H., Arias, T. D. y Guionneau-Sinclair, F. (1995). Reduced mtDNA diversity in the Ngobe Amerinds of Panama. *Genetics* 140, 275-83.

Kong, Q. P., Yao, Y. G., Sun, C., Bandelt, H. J., Zhu, C. L. y Zhang, Y. P. (2003). Phylogeny of east Asian mitochondrial DNA lineages inferred from complete sequences. *Am J Hum Genet* 73, 671-6.

- Kraytsberg, Y., Schwartz, M., Brown, T. A., Ebralidse, K., Kunz, W. S., Clayton, D. A., Vissing, J. y Khrapko, K. (2004). Recombination of human mitochondrial DNA. *Science* 304, 981.
- Kumar, V., Langstieh, B. T., Madhavi, K. V., Naidu, V. M., Singh, H. P., Biswas, S., Thangaraj, K., Singh, L. y Reddy, B. M. (2006). Global patterns in human mitochondrial DNA and Y-chromosome variation caused by spatial instability of the local cultural processes. *PLoS Genet* 2, e53.
- Lahn, B. T. y Page, D. C. (1999). Four evolutionary strata on the human X chromosome. *Science* 286, 964-7.
- Lalueza, C., Perez-Perez, A., Prats, E., Cornudella, L. y Turbon, D. (1997). Lack of founding Amerindian mitochondrial DNA lineages in extinct aborigines from Tierra del Fuego-Patagonia. *Hum Mol Genet* 6, 41-6.
- Lambert, C. A., Connelly, C. F., Madeoy, J., Qiu, R., Olson, M. V. y Akey, J. M. (2010). Highly punctuated patterns of population structure on the X chromosome and implications for African evolutionary history. *Am J Hum Genet* 86, 34-44.
- Lappalainen, T., Koivumaki, S., Salmela, E., Huoponen, K., Sistonen, P., Savontaus, M. L. y Lahermo, P. (2006). Regional differences among the Finns: a Y-chromosomal perspective. *Gene* 376, 207-15.
- Lathrap, D. y Marcos, J. G. (1975). Informe preliminar sobre las excavaciones del sitio Real Alto por la Misión Antropológica de la Universidad de Illinois. *Revista de la Universidad Católica III-10*, Quito.
- Leite, F. P., Santos, S. E., Rodriguez, E. M., Callegari-Jacques, S. M., Demarchi, D. A., Tsuneto, L. T., Petzl-Erler, M. L., Salzano, F. M. y Hutz, M. H. (2009). Linkage disequilibrium patterns and genetic structure of Amerindian and non-Amerindian Brazilian populations revealed by long-range X-STR markers. *Am J Phys Anthropol* 139, 404-12.
- Lell, J. T., Sukernik, R. I., Starikovskaya, Y. B., Su, B., Jin, L., Schurr, T. G., Underhill, P. A. y Wallace, D. C. (2002). The dual origin and Siberian affinities of Native American Y chromosomes. *Am J Hum Genet* 70, 192-206.
- Li, W. H., Yi, S. y Makova, K. (2002). Male-driven evolution. *Curr Opin Genet Dev* 12, 650-6.
- López Parra, A. M. (2008). *Genética y Geografía: estudio de cinco poblaciones de los Pirineos en el contexto de la Península Ibérica para marcadores del cromosoma Y*. Tesis doctoral. Universidad Complutense. Madrid.
- Lucotte, G. y Ngo, N. Y. (1985). p49f, A highly polymorphic probe, that detects Taq1 RFLPs on the human Y chromosome. *Nucleic Acids Res* 13, 8285.
- Luis, J. R., Rowold, D. J., Regueiro, M., Caeiro, B., Cinnioglu, C., Roseman, C., Underhill, P. A., Cavalli-Sforza, L. L. y Herrera, R. J. (2004). The Levant versus the Horn of Africa: evidence for bidirectional corridors of human migrations. *Am J Hum Genet* 74, 532-44.

- Lutz, S., Weisser, H. J., Heizmann, J. y Pollak, S. (2000a). Mitochondrial heteroplasmy among maternally related individuals. *Int J Legal Med* 113, 155-61.
- Lutz, S., Wittig, H., Weisser, H. J., Heizmann, J., Junge, A., Dimo-Simonin, N., Parson, W., Edelman, J., Anslinger, K., Jung, S. *et al.* (2000b). Is it possible to differentiate mtDNA by means of HVIII in samples that cannot be distinguished by sequencing the HVI and HVII regions? *Forensic Sci Int* 113, 97-101.
- Lyon, M. (1961). Gene action in the X-chromosome of the mouse. *Nature* 190, 372-373.
- Mabuchi, T., Susukida, R., Kido, A. y Oya, M. (2007). Typing the 1.1 kb Control Region of Human Mitochondrial DNA in Japanese Individuals. *J Forensic Sci* 52, 355-363.
- Malhi, R. S. y Smith, D. G. (2002). Brief communication: Haplogroup X confirmed in prehistoric North America. *Am J Phys Anthropol* 119, 84-6.
- Malhi, R. S., González-Oliver, A., Schroeder, K. B., Kemp, B. M., Greenberg, J. A., Dobrowski, S. Z., Smith, D. G., Resendez, A., Karafet, T., Hammer, M. *et al.* (2008). Distribution of Y chromosomes among native North Americans: a study of Athapaskan population history. *Am J Phys Anthropol* 137, 412-24.
- Margulis, L. (1981). *Symbiosis in cell evolution*. W. H. Freeman Ed. New York.
- Martínez-González, L. J., Saiz, M., Álvarez-Cubero, M. J., Gómez-Martín, A., Álvarez, J. C., Martínez-Labarga, C. y Lorente, J. A. (2011). Distribution of Y chromosomal STRs loci in Mayan and Mestizo populations from Guatemala. *Forensic Sci Int Genet*. In press.
- Martinez-Jarreta, B., Nievas, P., Abecia, E., Hinojal, R. y Budowle, B. (2003). Haplotype distribution of nine Y-chromosome STR-loci in two northern Spanish populations (Asturias and Aragon). *J Forensic Sci* 48, 204-5.
- Martínez-Jarreta, B. (1999). *La Prueba del ADN en Medicina Forense. La Genética al Servicio de la Ley en el Análisis de los Indicios Criminales y la Investigación Biológica de la Paternidad*. Ed Masson. Barcelona.
- Martins, J. A., Costa, J. C., Paneto, G. G., Figueiredo, R. F., Gusmao, L., Sánchez-Diz, P., Carracedo, A. y Cicarelli, R. M. (2010a). Genetic profile characterization of 10 X-STRs in four populations of the southeastern region of Brazil. *Int J Legal Med* 124, 427-32.
- Martins, J. A., Silva, R. H., Freschi, A., Paneto, G. G., Oliveira, R. N. y Cicarelli, R. M. (2010b). X-chromosome genetic variation in Sao Paulo State (Brazil) population. *Ann Hum Biol* 37, 598-603.
- McDonald J. D. 2005 <http://www.scs.illinois.edu/~mcdonald/WorldHaplogroupsMaps.pdf>
- Medina-Acosta, E. (2011). Evidence of partial and weak gametic disequilibrium across clusters of pericentromeric short tandem repeats loci on human X chromosome: Proceed with caution in forensic genetics. *Forensic Sci Int Genet* 5 (5):545-7.

- Mendes-Junior, C. T. y Simoes, A. L. (2009). Mitochondrial DNA variability among eight Tikuna villages: Evidence for an intratribal genetic heterogeneity pattern. *Am J Phys Anthropol* 140 (3): 526-31.
- Mesa, N. R., Mondragon, M. C., Soto, I. D., Parra, M. V., Duque, C., Ortiz-Barrientos, D., Garcia, L. F., Velez, I. D., Bravo, M. L., Munera, J. G. *et al.* (2000). Autosomal, mtDNA, and Y-chromosome diversity in Amerinds: pre- and post-Columbian patterns of gene flow in South America. *Am J Hum Genet* 67, 1277-86.
- Mishmar, D., Ruiz-Pesini, E., Golik, P., Macaulay, V., Clark, A. G., Hosseini, S., Brandon, M., Easley, K., Chen, E., Brown, M. D. *et al.* (2003). Natural selection shaped regional mtDNA variation in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 100, 171-6.
- Monnat, R. J., Jr. y Loeb, L. A. (1985). Nucleotide sequence preservation of human mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 82, 2895-9.
- Moraga, M. L., Rocco, P., Miquel, J. F., Nervi, F., Llop, E., Chakraborty, R., Rothhammer, F. y Carvalho, P. (2000). Mitochondrial DNA polymorphisms in Chilean aboriginal populations: implications for the peopling of the southern cone of the continent. *Am J Phys Anthropol* 113, 19-29.
- Moreira de Mello, J. C., de Araujo, E. S., Stabellini, R., Fraga, A. M., de Souza, J. E., Sumita, D. R., Camargo, A. A. y Pereira, L. V. (2010). Random X inactivation and extensive mosaicism in human placenta revealed by analysis of allele-specific gene expression along the X chromosome. *PLoS ONE* 5, e10947.
- Morris, A. A. y Lightowlers, R. N. (2000). Can paternal mtDNA be inherited? *Lancet* 355, 1290-1.
- Morton, N. E. (1991). Parameters of the human genome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88, 7474-6.
- Muzzio, M., Ramallo, V., Motti, J., Santos, M., López Camelo, J. y Bailliet, G. (2010). Software for Y-haplogroup predictions: a word of caution. *Int J Legal Med* 125, 143-147.
- Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York.
- Nuñez, C., Sosa, C., Baeta, M., Geppert, M., Turnbough, M., Phillips, N., Casalod, Y., Bolea, M., Roby, R., Budowle, B. *et al.* (2011). Genetic analysis of 7 medieval skeletons from the Aragonese Pyrenees. *Croat Med J* 52, 336-43.
- Nuñez, C., Baeta, M., Sosa, C., Casalod, Y., Ge, J., Budowle, B. y Martínez-Jarreta, B. (2010). Reconstructing the population history of Nicaragua by means of mtDNA, Y-chromosome STRs, and autosomal STR markers. *Am J Phys Anthropol* 143, 591-600.
- Oliva, R., Ballesta, F., Oriola, J. y Clàira, J. (2004). *Genética Médica*. Ediciones Universidad de Barcelona. Barcelona.
- Paez-Riberos, L. A., Munoz-Valle, J. F., Figuera, L. E., Nuno-Arana, I., Sandoval-Ramirez, L., González-Martin, A., Ibarra, B. y Rangel-Villalobos, H. (2006). Y-linked haplotypes in Amerindian chromosomes from Mexican populations: genetic evidence to the dual origin of the Huichol tribe. *Leg Med* 8, 220-5.

- Page, R. (1996). Treeview: an application to display phylogenetic on personal computers. *Computer applications in the biosciences : CABIOS* 12 (4): 357–358.
- Pakendorf, B. y Stoneking, M. (2005). Mitochondrial DNA and human evolution. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 6, 165-83.
- Palanichamy, M. G., Sun, C., Agrawal, S., Bandelt, H. J., Kong, Q. P., Khan, F., Wang, C. Y., Chaudhuri, T. K., Palla, V. y Zhang, Y. P. (2004). Phylogeny of mitochondrial DNA macrohaplogroup N in India, based on complete sequencing: implications for the peopling of South Asia. *Am J Hum Genet* 75, 966-78.
- Parson, W., Fendt, L., Ballard, D., Børsting, C., Brinkmann, B., Carracedo, Á., Carvalho, M., Coble, M. D., Real, F. C., Desmyter, S. *et al.* (2008). Identification of West Eurasian mitochondrial haplogroups by mtDNA SNP screening: Results of the 2006–2007 EDNAP collaborative exercise. *Forensic Sci Int Genet* 2, 61-68.
- Parson, W., Brandstätter, A., Alonso, A., Brandt, N., Brinkmann, B., Carracedo, A., Corach, D., Froment, O., Furac, I., Grzybowski, T. *et al.* (2004). The EDNAP mitochondrial DNA population database (EMPOP) collaborative exercises: organisation, results and perspectives. *Forensic Sci Int* 139, 215-226.
- Parsons, T. J. y Coble, M. D. (2001). Increasing the forensic discrimination of mitochondrial DNA testing through analysis of the entire mitochondrial DNA genome. *Croat Med J* 42, 304-9.
- Perego, U. A., Achilli, A., Angerhofer, N., Accetturo, M., Pala, M., Olivieri, A., Kashani, B. H., Ritchie, K. H., Scozzari, R., Kong, Q. P. *et al.* (2009). Distinctive Paleo-Indian migration routes from Beringia marked by two rare mtDNA haplogroups. *Curr Biol* 19, 1-8.
- Pereira, R., Gomes, I., Amorim, A. y Gusmao, L. (2007). Genetic diversity of 10 X chromosome STRs in northern Portugal. *Int J Legal Med* 121, 192-7.
- Perez-Lezaun, A., Calafell, F., Seielstad, M., Mateu, E., Comas, D., Bosch, E. y Bertranpetit, J. (1997). Population genetics of Y-chromosome short tandem repeats in humans. *J Mol Evol* 45, 265-70.
- Pitulko, V. V., Nikolsky, P. A., Girya, E. Y., Basilyan, A. E., Tumskoy, V. E., Koulakov, S. A., Astakhov, S. N., Pavlova, E. Y. y Anisimov, M. A. (2004). The Yana RHS site: humans in the Arctic before the last glacial maximum. *Science* 303, 52-6.
- Pontes, M. L., Cainé L., Abrantes, D., Lima, G. y Pinheiro, M. F. (2007). Allele frequencies and population data for 17 Y-STR loci (AmpFSTR® Y-filer) in a Northern Portuguese population sample. *Forensic Sci Int* 170, 62-67.
- Poulton, J., Macaulay, V. y Marchington, D. R. (1998). Mitochondrial genetics '98 is the bottleneck cracked? *Am J Hum Genet* 62, 752-7.
- Ramachandran, S., Rosenberg, N. A., Zhivotovsky, L. A. y Feldman, M. W. (2004). Robustness of the inference of human population structure: a comparison of X-chromosomal and autosomal microsatellites. *Hum Genomics* 1, 87-97.

- Rangel-Villalobos, H., Salazar-Flores, J., Dondiego, R., Anaya-Palafox, M., Nuño-Arana, I., Canseco-Ávila, L. M., Flores-Flores, G., Romero-Rentería, O., Morales-Vallejo, M. E., Muñoz-Valle, J. F. *et al.* (2009). South to North increasing gradient of paternal European ancestry throughout the Mexican territory: Evidence of Y-linked short tandem repeats. *Forensic Sci Genet Suppl Series 2*, 448-450.
- Raymond, M. y Rousset, F. (1995). An exact test for population differentiation. *Evolution* 49, 1280-1283.
- Reich, D. E., Cargill, M., Bolk, S., Ireland, J., Sabeti, P. C., Richter, D. J., Lavery, T., Kouyoumjian, R., Farhadian, S. F., Ward, R. *et al.* (2001). Linkage disequilibrium in the human genome. *Nature* 411, 199-204.
- Richter, C., Park, J. W. y Ames, B. N. (1988). Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc Natl Acad Sci USA* 85, 6465-6467.
- Rickards, O., Martínez-Labarga, C., Lum, J. K., De Stefano, G. F. y Cann, R. L. (1999). mtDNA history of the Cayapa Amerinds of Ecuador: detection of additional founding lineages for the Native American populations. *Am J Hum Genet* 65, 519-30.
- Rodas, C., Gelvez, N. y Keyeux, G. (2003). Mitochondrial DNA studies show asymmetrical Amerindian admixture in Afro-Colombian and Mestizo populations. *Hum Biol* 75, 13-30.
- Rodriguez-Delfin, L. A., Rubin-de-Celis, V. E. y Zago, M. A. (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.
- Roewer, L., Croucher, P., Willuweit, S., Lu, T., Kayser, M., Lessig, R., de Knijff, P., Jobling, M., Tyler-Smith, C. y Krawczak, M. (2005). Signature of recent historical events in the European Y-chromosomal STR haplotype distribution. *Hum Genetics* 116, 279-291.
- Roewer, L., Krawczak, M., Willuweit, S., Nagy, M., Alves, C., Amorim, A., Anslinger, K., Augustin, C., Betz, A., Bosch, E. *et al.* (2001). Online reference database of European Y-chromosomal short tandem repeat (STR) haplotypes. *Forensic Sci Int* 118, 106-13.
- Roewer, L., Arnemann, J., Spurr, N. K., Grzeschik, K. H. y Epplen, J. T. (1992). Simple repeat sequences on the human Y chromosome are equally polymorphic as their autosomal counterparts. *Hum Genet* 89, 389-94.
- Rogers, A. y Harpending, H. (1992). Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molec Biol Evol* 9:552-569.
- Romero, R. E., Briceno, I., Lizarazo Rdel, P., Willuweit, S., Roewer, L. y Gomez, A. (2008). A Colombian Caribbean population study of 16 Y-chromosome STR loci. *Forensic Sci Int Genet* 2, e5-8.
- Rootsi, S., Zhivotovsky, L. A., Baldovic, M., Kayser, M., Kutuev, I. A., Khusainova, R., Bermisheva, M. A., Gubina, M., Fedorova, S. A., Ilumae, A. M. *et al.* (2007). A counter-clockwise

northern route of the Y-chromosome haplogroup N from Southeast Asia towards Europe. *Eur J Hum Genet* 15, 204-11.

Rootsi, S., Magri, C., Kivisild, T., Benuzzi, G., Help, H., Bermisheva, M., Kutuev, I., Barac, L., Pericic, M., Balanovsky, O. *et al.* (2004). Phylogeography of Y-chromosome haplogroup I reveals distinct domains of prehistoric gene flow in Europe. *Am J Hum Genet* 75, 128-37.

Ross, M. T., Grafham, D. V., Coffey, A. J., Scherer, S., McLay, K., Muzny, D., Platzer, M., Howell, G. R., Burrows, C., Bird, C. P. *et al.* (2005). The DNA sequence of the human X chromosome. *Nature* 434, 325-37.

Rosser, Z. H., Zerjal, T., Hurler, M. E., Adojaan, M., Alavantic, D., Amorim, A., Amos, W., Armenteros, M., Arroyo, E., Barbujani, G. *et al.* (2000). Y-chromosomal diversity in Europe is clinal and influenced primarily by geography, rather than by language. *Am J Hum Genet* 67, 1526-43.

Ruiz-Linares, A., Ortiz-Barrientos, D., Figueroa, M., Mesa, N., Munera, J. G., Bedoya, G., Velez, I. D., Garcia, L. F., Perez-Lezaun, A., Bertranpetit, J. *et al.* (1999). Microsatellites provide evidence for Y chromosome diversity among the founders of the New World. *Proc Natl Acad Sci USA* 96, 6312-7.

Salas, A., Acosta, A., Alvarez-Iglesias, V., Cerezo, M., Phillips, C., Lareu, M. V. y Carracedo, A. (2008). The mtDNA ancestry of admixed Colombian populations. *Am J Hum Biol* 20, 584-91.

Salas, A., Carracedo, A., Richards, M. y Macaulay, V. (2005). Charting the ancestry of African Americans. *Am J Hum Genet* 77, 676-80.

Salzano, F. M. (2002). Molecular variability in Amerindians: widespread but uneven information. *An Acad Bras Cienc* 74, 223-63.

Sánchez, C., Barrot, C., Xifro, A., Ortega, M., de Aranda, I. G., Huguet, E., Corbella, J. y Gene, M. (2007). Haplotype frequencies of 16 Y-chromosome STR loci in the Barcelona metropolitan area population using Y-Filer kit. *Forensic Sci Int* 172, 211-7.

Santos, M., Ward, R. H. y Barrantes, R. (1994). mtDNA variation in the Chibcha Amerindian Huetar from Costa Rica. *Hum Biol* 66, 963-77.

Santos-Lopes, S. S., Pereira, R. W., Wilson, I. J. y Pena, S. D. (2007). A worldwide phylogeography for the human X chromosome. *PLoS ONE* 2, e557.

Schaffner, S. F. (2004). The X chromosome in population genetics. *Nat Rev Genet* 5, 43-51.

Schoske, R., Vallone, P. M., Kline, M. C., Redman, J. W. y Butler, J. M. (2004). High-throughput Y-STR typing of U.S. populations with 27 regions of the Y chromosome using two multiplex PCR assays. *Forensic Sci Int* 139, 107-21.

Schurr, T. G. (2002). A molecular anthropological f the peopling of the Americas. *Athena Review* 3(2):59-77

- Schurr, T. G. (2004). The peopling of the new world: Perspectives from Molecular Anthropology. *Annu Rev Anthropol* 33, 551-583.
- Schurr, T. G., Ballinger, S. W., Gan, Y. Y., Hodge, J. A., Merriwether, D. A., Lawrence, D. N., Knowler, W. C., Weiss, K. M. y Wallace, D. C. (1990). Amerindian mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies, suggesting they derived from four primary maternal lineages. *Am J Hum Genet* 46, 613-23.
- Schwartz, M. y Vissing, J. (2002). Paternal Inheritance of Mitochondrial DNA. *N Engl J Med* 347, 576-580.
- Schwartz, M. y Vissing, J. (2004). No evidence for paternal inheritance of mtDNA in patients with sporadic mtDNA mutations. *J Neurol Sci* 218, 99-101.
- Seielstad, M. T., Minch, E. y Cavalli-Sforza, L. L. (1998). Genetic evidence for a higher female migration rate in humans. *Nat Genet* 20, 278-80.
- Semino, O., Santachiara-Benerecetti, A. S., Falaschi, F., Cavalli-Sforza, L. L. y Underhill, P. A. (2002). Ethiopians and Khoisan share the deepest clades of the human Y-chromosome phylogeny. *Am J Hum Genet* 70, 265-8.
- Semino, O., Passarino, G., Oefner, P. J., Lin, A. A., Arbuzova, S., Beckman, L. E., De Benedictis, G., Francalacci, P., Kouvatsi, A., Limborska, S. *et al.* (2000). The genetic legacy of Paleolithic Homo sapiens sapiens in extant Europeans: a Y chromosome perspective. *Science* 290, 1155-9.
- Shriver, M. D., Smith, M. W., Jin, L., Marcini, A., Akey, J. M., Deka, R. y Ferrell, R. E. (1997). Ethnic-affiliation estimation by use of population-specific DNA markers. *Am J Hum Genet* 60, 957-64.
- Sinclair, A. H., Berta, P., Palmer, M. S., Hawkins, J. R., Griffiths, B. L., Smith, M. J., Foster, J. W., Frischauf, A. M., Lovell-Badge, R. y Goodfellow, P. N. (1990). A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature* 346, 240-4.
- Slatkin, M. (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139, 457-62.
- Smith, R. (1996). *Drama Bajo El Manto Amazónico: El Turismo Y Otros Problemas de Los Huaorani en la Actualidad*. Ed Abya Yala. Quito.
- Solano, A., Playán, A., López-Pérez, M. J. y Montoya, J. (2001). Enfermedades genéticas del ADN mitocondrial humano. *Salud Pública de México* 43, 151-161.
- Starikovskaya, Y. B., Sukernik, R. I., Schurr, T. G., Kogelnik, A. M. y Wallace, D. C. (1998). mtDNA diversity in Chukchi and Siberian Eskimos: implications for the genetic history of Ancient Beringia and the peopling of the New World. *Am J Hum Genet* 63, 1473-91.
- Stoneking, M. y Soodyall, H. (1996). Human evolution and the mitochondrial genome. *Curr Opin Genet Dev* 6, 731-6.

- Stoneking, M., Jorde, L. B., Bhatia, K. y Wilson, A. C. (1990). Geographic variation in human mitochondrial DNA from Papua New Guinea. *Genetics* 124, 717-33.
- Stoother, K. E., Piperno, D. R. y Andres, T. C. (2003). Terminal Pleistocene/Early Holocene human adaptation in coastal Ecuador: the Las Vegas evidence. *Quat Int* 109-110, 23-43.
- Su, B., Xiao, J., Underhill, P., Deka, R., Zhang, W., Akey, J., Huang, W., Shen, D., Lu, D., Luo, J. *et al.* (1999). Y-Chromosome evidence for a northward migration of modern humans into Eastern Asia during the last Ice Age. *Am J Hum Genet* 65, 1718-24.
- Sutovsky, P., Moreno, R. D., Ramalho-Santos, J., Dominko, T., Simerly, C. y Schatten, G. (1999). Ubiquitin tag for sperm mitochondria. *Nature* 402, 371-2.
- Szibor, R. (2007). X-chromosomal markers: past, present and future. *Forensic Sci Int Genet* 1, 93-9.
- Szibor, R., Hering, S., Kuhlisch, E., Plate, I., Demberger, S., Krawczak, M. y Edelman, J. (2005). Haplotyping of STR cluster DXS6801-DXS6809-DXS6789 on Xq21 provides a powerful tool for kinship testing. *Int J Legal Med* 119, 363-9.
- Szibor, R., Krawczak, M., Hering, S., Edelman, J., Kuhlisch, E. y Krause, D. (2003). Use of X-linked markers for forensic purposes. *Int J Legal Med* 117, 67-74.
- Tajima, F. (1993). Simple methods for testing molecular clock hypothesis. *Genetics* 135, 599-607.
- Tamm, E., Kivisild, T., Reidla, M., Metspalu, M., Smith, D. G., Mulligan, C. J., Bravi, C. M., Rickards, O., Martínez-Labarga, C., Khusnutdinova, E. K. *et al.* (2007). Beringian Standstill and Spread of Native American Founders. *PLoS ONE* 2, e829.
- Tarazona-Santos, E., Carvalho-Silva, D. R., Pettener, D., Luiselli, D., De Stefano, G. F., Labarga, C. M., Rickards, O., Tyler-Smith, C., Pena, S. D. y Santos, F. R. (2001). Genetic differentiation in South Amerindians is related to environmental and cultural diversity: evidence from the Y chromosome. *Am J Hum Genet* 68, 1485-96.
- Thompson, W. E., Ramalho-Santos, J. o. y Sutovsky, P. (2003). Ubiquitination of Prohibitin in Mammalian Sperm Mitochondria: Possible Roles in the Regulation of Mitochondrial Inheritance and Sperm Quality Control. *Biology of Reproduction* 69, 254-260.
- Thomson, R., Pritchard, J. K., Shen, P., Oefner, P. J. y Feldman, M. W. (2000). Recent common ancestry of human Y chromosomes: evidence from DNA sequence data. *Proc Natl Acad Sci USA* 97, 7360-5.
- Tirado, M., Lopez-Parra, A. M., Baeza, C., Bert, F., Corella, A., Perez-Perez, A., Turbon, D. y Arroyo-Pardo, E. (2009). Y-chromosome haplotypes defined by 17 STRs included in AmpFISTR Yfiler PCR Amplification Kit in a multi ethnical population from El Beni Department (North Bolivia). *Leg Med (Tokyo)* 11, 101-3.

- Torrioni, A., Chen, Y. S., Semino, O., Santachiara-Beneceretti, A. S., Scott, C. R., Lott, M. T., Winter, M. y Wallace, D. C. (1994a). mtDNA and Y-chromosome polymorphisms in four Native American populations from southern Mexico. *Am J Hum Genet* 54, 303-18.
- Torrioni, A., Lott, M. T., Cabell, M. F., Chen, Y. S., Laverigne, L. y Wallace, D. C. (1994b). mtDNA and the origin of Caucasians: identification of ancient Caucasian-specific haplogroups, one of which is prone to a recurrent somatic duplication in the D-loop region. *Am J Hum Genet* 55, 760-76.
- Torrioni, A., Schurr, T. G., Cabell, M. F., Brown, M. D., Neel, J. V., Larsen, M., Smith, D. G., Vullo, C. M. y Wallace, D. C. (1993a). Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNAs. *Am J Hum Genet* 53, 563-90.
- Torrioni, A., Sukernik, R. I., Schurr, T. G., Starikorskaya, Y. B., Cabell, M. F., Crawford, M. H., Comuzzie, A. G. y Wallace, D. C. (1993b). mtDNA variation of aboriginal Siberians reveals distinct genetic affinities with Native Americans. *Am J Hum Genet* 53, 591-608.
- Toscanini, U., Gusmao, L., Berardi, G., Gomes, V., Amorim, A., Salas, A. y Raimondi, E. (2011). Male lineages in South American native groups: Evidence of M19 traveling south. *Am J Phys Anthropol*.
- Toscanini, U., Gusmao, L., Berardi, G. y Raimondi, E. (2009). Genetic data of 10 X-STR in two Native American populations of Argentina. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 2, 405-406.
- Tully, L. A., Parsons, T. J., Steighner, R. J., Holland, M. M., Marino, M. A. y Prenger, V. L. (2000). A sensitive denaturing gradient-Gel electrophoresis assay reveals a high frequency of heteroplasmy in hypervariable region 1 of the human mtDNA control region. *Am J Hum Genet* 67, 432-43.
- Underhill, P. A., Myres, N. M., Rootsi, S., Metspalu, M., Zhivotovsky, L. A., King, R. J., Lin, A. A., Chow, C. E., Semino, O., Battaglia, V. *et al.* (2010). Separating the post-Glacial coancestry of European and Asian Y chromosomes within haplogroup R1a. *Eur J Hum Genet* 18, 479-84.
- Underhill, P. A. y Kivisild, T. (2007). Use of y chromosome and mitochondrial DNA population structure in tracing human migrations. *Annu Rev Genet* 41, 539-64.
- Underhill, P. A. (2003). Inferring human history: clues from Y-chromosome haplotypes. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 68, 487-93.
- Underhill, P. A., Passarino, G., Lin, A. A., Shen, P., Mirazon Lahr, M., Foley, R. A., Oefner, P. J. y Cavalli-Sforza, L. L. (2001). The phylogeography of Y chromosome binary haplotypes and the origins of modern human populations. *Ann Hum Genet* 65, 43-62.
- Underhill, P. A., Shen, P., Lin, A. A., Jin, L., Passarino, G., Yang, W. H., Kauffman, E., Bonne-Tamir, B., Bertranpetit, J., Francalacci, P. *et al.* (2000). Y chromosome sequence variation and the history of human populations. *Nat Genet* 26, 358-61.

- Underhill, P. A., Jin, L., Lin, A. A., Mehdi, S. Q., Jenkins, T., Vollrath, D., Davis, R. W., Cavalli-Sforza, L. L. y Oefner, P. J. (1997). Detection of numerous Y chromosome biallelic polymorphisms by denaturing high-performance liquid chromatography. *Genome Res* 7, 996-1005.
- Vallone, P. M. y Butler, J. M. (2004). Y-SNP typing of U.S. African American and Caucasian samples using allele-specific hybridization and primer extension. *J Forensic Sci* 49, 723-32.
- van Oven, M. y Kayser, M. (2009). Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. *Hum Mutat* 30, E386-94.
- van Oven, M., Vermeulen, M. y Kayser, M. (2007). Multiplex genotyping system for efficient inference of matrilineal genetic ancestry with continental resolution. *Investig Genet* 2, 6.
- Vanecek, T., Vorel, F. y Sip, M. (2004). Mitochondrial DNA D-loop hypervariable regions: Czech population data. *Int J Legal Med* 118, 14-8.
- Vicoso, B. y Charlesworth, B. (2006). Evolution on the X chromosome: unusual patterns and processes. *Nat Rev Genet* 7, 645-53.
- Vigilant, L., Pennington, R., Harpending, H., Kocher, T. D. y Wilson, A. C. (1989). Mitochondrial DNA sequences in single hairs from a southern African population. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86, 9350-4.
- Walsh, P. S., Metzger, D. A. y Higuchi, R. (1991). Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques* 10, 506-13.
- Ward, R. H., Redd, A., Valencia, D., Frazier, B. y Paabo, S. (1993). Genetic and linguistic differentiation in the Americas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90, 10663-7.
- Weber, J. L. y Wong, C. (1993). Mutation of human short tandem repeats. *Hum Mol Genet* 2, 1123-8.
- Wilder, J. A., Kingan, S. B., Mobasher, Z., Pilkington, M. M. y Hammer, M. F. (2004). Global patterns of human mitochondrial DNA and Y-chromosome structure are not influenced by higher migration rates of females versus males. *Nat Genet* 36, 1122-5.
- Wilson, M. R., Allard, M. W., Monson, K., Miller, K. W. P. y Budowle, B. (2002). Recommendations for consistent treatment of length variants in the human mitochondrial DNA control region. *Forensic Sci Int* 129, 35-42.
- Xue, Y., Wang, Q., Long, Q., Ng, B. L., Swerdlow, H., Burton, J., Skuce, C., Taylor, R., Abdellah, Z., Zhao, Y. *et al.* (2009). Human Y chromosome base-substitution mutation rate measured by direct sequencing in a deep-rooting pedigree. *Curr Biol* 19, 1453-7.
- Y-Chromosome-Consortium. (2002). A nomenclature system for the tree of human Y-chromosomal binary haplogroups. *Genome Res* 12, 339-48.

Yost, J. y Paabo, S. (1981). Twenty years of contact: the mechanisms of change in Huao (Auca) culture. En *Cultural transformations and ethnicity in modern Ecuador*. 677–704. University of Illinois Press.

Zarrabeitia, M. T., Pinheiro, F., de Pancorbo, M. M., Caine, L., Cardoso, S., Gusmao, L. y Riancho, J. A. (2009). Analysis of 10 X-linked tetranucleotide markers in mixed and isolated populations. *Forensic Sci Int Genet* 3, 63-6.

Zegura, S. L., Karafet, T. M., Zhivotovsky, L. A. y Hammer, M. F. (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.

Zhong, H., Shi, H., Qi, X. B., Duan, Z. Y., Tan, P. P., Jin, L., Su, B. y Ma, R. Z. (2011). Extended Y chromosome investigation suggests postglacial migrations of modern humans into East Asia via the northern route. *Mol Biol Evol* 28, 717-27.

Zsurka, G., Kraytsberg, Y., Kudina, T., Kornblum, C., Elger, C. E., Khrapko, K. y Kunz, W. S. (2005). Recombination of mitochondrial DNA in skeletal muscle of individuals with multiple mitochondrial DNA heteroplasmy. *Nat Genet* 37, 873-7.

VII. ANEXOS

ANEXO II. Haplotipos de la región control completa de 65 individuos kichwas.

ID	Hap	16024-16519	1-437	438-576
Ec01	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec02	C1b	16086C 16189C 16223T 16298C 16325C 16327T	73G 195C 210G 249d 263G 290d 291d 309.1C 315.1C 327T	489C 493G 523d 524d
Ec04	C1d	16051G 16093C 16223T 16298C 16325C 16327T 16519C	73G 249d 263G 290d 291d 309.1C 315.1C	489C 523d 524d
Ec10	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C 16519C	73G 146C 153G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec12	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16352C 16362C	64T 73G 146C 153G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec13	A2	16111T 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C	73G 146C 153G 207A 235G 263G 309.1C 309.2C 315.1C	523d 524d
Ec14	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16352C 16362C	64T 73G 146C 153G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec18	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec24	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec25	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec26	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16352C 16362C	64T 73G 146C 153G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec29	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C 16519C	73G 146C 153G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec30	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16352C 16362C	64T 73G 146C 153G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec32	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec33	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec34	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec35	A2	16111T 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C	73G 146C 153G 189G 207A 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec36	A2	16111T 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C	73G 146C 153G 189G 207A 235G 263G 309.1C 309.2C 315.1C	523d 524d
Ec37	A2	16111T 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C	73G 146C 153G 189G 207A 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec38	A2	16111T 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C	73G 146C 153G 189G 207A 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec40	A2	16086C 16111T 16213A 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C	73G 146C 153G 195C 207A 210G 235G 263G 315.1C	523d 524d
Ec41	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec43	A2	16086C 16111T 16213A 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C	73G 146C 153G 195C 207A 210G 235G 263G 315.1C	523d 524d
Ec44	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec45	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16352C 16362C	64T 73G 146C 153G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec46	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16352C 16362C	64T 73G 146C 153G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec49	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec50	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16352C 16362C	64T 73G 146C 153G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec55	C1	16172C 16223T 16298C 16325C 16327T	73G 204C 249d 263G 290d 291d 309.1C 309.2C 315.1C	489C
Ec60	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec66	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec67	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	64T 73G 146C 153G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec72	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec77	A2	16111T 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C	73G 146C 153G 189G 207A 235G 263G 309.1C 309.2C 315.1C	523d 524d
Ec78	A2	16111T 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C	73G 146C 153G 189G 207A 235G 263G 309.1C 309.2C 315.1C	523d 524d

ANEXO II. Continuación.

Ec79	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec80	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec85	B4b*	16183C 16189C 16217C 16221A 16519C	73G 263G 309.1C 315.1C	499A 574G
Ec86	A2	16086C 16111T 16213A 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C	73G 146C 153G 195C 207A 210G 235G 263G 315.1C	523d 524d
Ec87	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C 16519C	73G 146C 153G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec88	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16352C 16362C	64T 73G 146C 153G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec89	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	64T 73G 146C 153G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec90	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16352C 16362C	64T 73G 146C 153G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec91	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16352C 16362C	64T 73G 146C 153G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec92	A2	16086C 16111T 16213A 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C	73G 146C 153G 195C 207A 210G 235G 263G 315.1C	523d 524d
Ec96	A2	16111T 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C	73G 146C 153G 189G 207A 235G 263G 309.1C 309.2C 315.1C	523d 524d
Ec101	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec102	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec103	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec105	A2	16086C 16111T 16213A 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C	73G 146C 153G 195C 207A 210G 235G 263G 315.1C	523d 524d
Ec106	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16352C 16362C	64T 73G 146C 153G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec108	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec109	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec112	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	64T 73G 146C 153G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec113	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec114	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec116	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec117	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec119	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16352C 16362C	64T 73G 146C 153G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec100	B4b*	16051G 16183C 16189C 16217C 16519C	73G 263G 309.1C 309.2C 315.1C	499A 523d 524d
Ec121	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec122	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
TO93	C1	16172C 16223T 16298C 16325C 16327T	73G 204C 249d 263G 290d 291d 309.1C 309.2C 315.1C	489C
BA17	C1d	16051G 16093C 16223T 16298C 16325C 16327T 16519C	73G 249d 263G 290d 291d 309.1C 315.1C	489C 523d 524d
BA51	A2	16086C 16111T 16213A 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C	73G 146C 153G 195C 207A 210G 235G 263G 315.1C	523d 524d

ANEXO III. Haplotipos de la región control completa de 42 individuos mestizos.

ID	Hap	16024-16519	1-437	438-576
Ec03	B4b*	16092C 16182C 16183C 16189C 16217C 16241G 16519C	73G 152C 263G 315.1C	499A
Ec06	D1f	16142T 16207G 16223T 16325C 16362C 16519C	73G 207A 239C 263G 309.1C 315.1C	489C 513A 524.1C 524.2A
Ec07	A2	16111T 16213A 16223T 16290T 16319A 16356C 16362C	64T 73G 146C 153G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec08	B4b*	16183C 16189C 16217C 16266T 16519C	73G 103A 263G 309.1C 315.1C 318C	499A
Ec09	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec15	A2	16111T 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C	64T 73G 146C 153G 189G 207A 235G 263G 309.1C 309.2C 315.1C	523d 524d
Ec16	B4b*	16124C 16182C 16183C 16189C 16217C 16247G 16266T	73G 263G 309.1C 309.2C 315.1C	499A
Ec17	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 309.1C 315.1C	489C
Ec19	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	64T 73G 146C 153G 183G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec20	A2	16111T 16213A 16223T 16290T 16319A 16356C 16362C	64T 73G 146C 153G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec21	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16352C 16362C	64T 73G 146C 153G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec22	B2h	16183C 16189C 16217C 16468C 16519C	72C 73G 263G 309.1C 315.1C	499A
Ec23	A2	16111T 16129A 16213A 16223T 16290T 16319A 16362C	64T 73G 146C 153G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec42	D4h3a	16223T 16241G 16249C 16301T 16342C 16362C	73G 152C 263G 297G 309.1C 315.1C	489C
Ec53	A2	16086C 16111T 16213A 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C	73G 146C 153G 195C 207A 210G 235G 263G 315.1C	523d 524d
Ec54	C1b	16209C 16223T 16298C 16325C 16327T	73G 249d 263G 290d 291d 309.1C 315.1C	489C 493G 523d 524d
Ec56	B4b*	16183C 16189C 16217C 16266T 16519C	73G 263G 309.1C 315.1C 319C	499A
Ec57	D1f	16142T 16207G 16223T 16325C 16362C 16519C	73G 207A 239C 263G 309.1C 315.1C	489C 513A 524.1C 524.2A
Ec58	B4b*	16183C 16189C 16217C 16519C	73G 125C 127C 263G 315.1C	499A
Ec59	C1b	16092C 16223T 16274A 16298C 16320T 16325C 16327T 16519C	73G 150T 249d 263G 290d 291d 309.1C 315.1C	489C 493G 523d 524d
Ec61	B4b*	16182C 16183C 16189C 16217C 16519C	73G 207A 263G 309.1C 309.2C 315.1C	499A
Ec64	B4b*	16168T 16182C 16183C 16189C 16217C 16519C	73G 199C 263G 309.1C 315.1C	499A
Ec65	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec68	C1b	16223T 16274A 16298C 16325C 16327T 16519C	73G 150T 249d 263G 290d 291d 309.1C 315.1C	489C 493G 523d 524d
Ec69	C1b	16223T 16298C 16325C 16327T	73G 249d 263G 290d 291d 309.1C 315.1C	489C 493G 523d 524d
Ec70	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec73	A2p	16111T 16223T 16290T 16319A 16352C 16362C	64T 73G 146C 153G 215G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec74	A2	16111T 16182C 16183C 16189C 16223T 16290T 16319A 16362C	64T 73G 146C 153G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec75	B4b*	16183C 16189C 16217C 16437C 16519C	73G 263G 309.1C 315.1C	499A
Ec81	B4b*	16183C 16189C 16217C 16221A 16519C	73G 263G 309.1C 315.1C	499A 574G

ANEXO III. Continuación.

Ec82	D1f	16142T 16207G 16223T 16325C 16362C 16519C	73G 207A 239C 263G 309.1C 315.1C	489C 513A 524.1C 524.2A
Ec83	B4b*	16183C 16189C 16217C 16221A 16519C	73G 263G 309.1C 315.1C	499A 574G
Ec93	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec94	D1f	16142T 16223T 16325C 16362C 16456A 16519C	73G 263G 315.1C	489C
Ec95	B4b*	16183C 16189C 16217C 16241G 16519C	73G 152C 263G 309.1C 309.2C 315.1C	499A
Ec97	A2	16111T 16184T 16213A 16223T 16284G 16290T 16319A 16362C	64T 73G 146C 153G 235G 263G 315.1C	523d 524d
Ec98	B4b*	16051G 16183C 16189C 16217C 16360T 16519C	73G 152C 263G 309.1C 309.2C 315.1C	499A 523d 524d
Ec99	B4b*	16051G 16183C 16189C 16217C 16360T 16519C	73G 152C 263G 309.1C 309.2C 315.1C	499A 523d 524d
Ec104	A2	16086C 16111T 16213A 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C	73G 146C 153G 195C 207A 210G 235G 263G 315.1C	523d 524d
Ec107	A2	16111T 16134T 16223T 16290T 16319A 16362C	64T 73G 143A 146C 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec115	A2	16092C 16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	64T 73G 153G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d
Ec118	A2	16111T 16223T 16292T 16319A 16362C 16519C	73G 146C 153G 235G 263G 309.1C 315.1C	523d 524d

ANEXO IV. Haplotipos 17 Y-STRS de 27 individuos kichwas.

ID	DYS 19	DYS 389I	DYS 389II	DYS 390	DYS 391	DYS 392	DYS 393	DYS 385	DYS 438	DYS 439	DYS 437	DYS 448	DYS 456	DYS 458	DYS 635	GATA H4
Ec02	13	13	31	24	10	13	14	16,16	8	12	14	20	15	17	23	12
Ec04	16	13	30	24	9	11	13	12,14	10	12	14	21	15	19	22	11
Ec24	13	13	30	25	10	13	13	15,17	11	14	14	19	16	18	23	12
Ec25	13	13	30	26	10	14	14	15,16	11	12	14	19	16	15	22	12
Ec26	13	13	30	25	10	13	13	15,17	11	14	14	19	16	18	23	12
Ec29	13	13	30	23	10	14	12	15,17	11	13	13	21	15	17	22	11
Ec30	13	13	30	26	10	14	14	15,16	11	12	14	19	16	15	22	12
Ec32	13	13	30	25	10	13	13	15,17	11	14	14	19	16	18	23	12
Ec41	16	13	30	24	10	11	13	12,14	10	12	14	21	15	19	22	11
Ec44	13	13	29	23	11	14	13	14,14	11	12	14	20	16	15	22	12
Ec50	13	13	31	22	11	14	13	14,17	11	12	14	19	15	17	22	12
Ec60	16	13	30	24	10	11	13	12,14	10	12	14	21	15	19	22	11
Ec66	16	13	30	24	9	11	13	12,14	10	12	14	21	15	19	22	11
Ec67	16	13	30	24	9	11	13	12,14	10	12	14	21	15	19	22	11
Ec80	14	13	28	24	11	14	13	15,17	11	13	14	20	15	17	22	11
Ec85	16	13	30	24	9	11	13	12,14	10	12	14	21	15	18	22	11
Ec87	13	14	32	24	11	14	13	12,18	11	13	14	20	16	16	22	11
Ec88	16	13	30	24	9	11	13	12,14	10	12	14	21	15	19	22	11
Ec103	13	13	31	24	10	14	13	13,18	10	13	14	20	16	17	22	10
Ec105	16	13	30	24	9	11	13	12,14	10	12	14	21	15	18	22	11
Ec106	16	13	30	24	9	11	13	12,14	10	12	14	21	15	19	22	11
Ec112	14	13	28	24	11	14	13	15,17	11	13	14	20	15	17	22	11
Ec114	13	13	30	23	10	14	12	15,18	11	13	13	21	15	17	22	11
Ec116	16	14	31	24	10	11	13	13,13	10	13	14	20	15	20	21	11
Ec119	13	14	30	24	11	16	13	11,18	11	12	14	20	17	16	22	11
Ec121	14	13	28	24	11	14	13	14,17	11	13	14	20	15	18	22	11
Ec122	13	12	30	25	10	14	13	13,18	11	12	14	20	15	15	22	11

ANEXO V. Haplotipos 17 Y-STRS de 28 individuos mestizos.

ID	DYS 19	DYS 389I	DYS 389II	DYS 390	DYS 391	DYS 392	DYS 393	DYS 385	DYS 438	DYS 439	DYS 437	DYS 448	DYS 456	DYS 458	DYS 635	GATA H4
Ec03	15	12	29	21	10	11	15	13,15	10	13	16	23	15	16	21	11
Ec07	14	13	29	23	10	11	12	14,16	9	12	15	22	15	16	21	12
Ec16	13	13	31	23	10	14	13	16,16	11	12	14	19	16	15	23	11
Ec17	15	13	30	22	10	13	13	11,14	12	12	16	19	15	17	23	12
Ec19	14	14	30	23	10	14	12	16,19	10	12	16	19	15	18	23	10
Ec21	14	13	29	23	10	11	12	14,16	9	12	15	22	15	16	21	12
Ec22	13	14	31	24	11	14	13	13,15	11	11	14	20	15	19	23	11
Ec23	13	14	30	23	9	11	13	13,15	10	10	14	20	16	17	21	12
Ec42	12	13	32	23	10	14	13	16,17	11	13	13	20	16	18	22	12
Ec56	14	14	30	24	11	13	13	11,14	12	11	14	18	16	19	24	11
Ec57	13	13	30	25	11	14	13	14,19	11	11	14	20	15	16	22	11
Ec58	14	13	29	24	10	13	13	11,16	12	11	15	19	15	18	25	13
Ec59	16	13	31	21	10	11	15	17,17	11	12	14	21	16	15	22	11
Ec61	14	13	29	23	10	13	13	12,14	12	11	15	19	17	17	23	12
Ec64	13	13	30	24	10	14	13	13,22	12	13	14	21	15	16	22	12
Ec65	13	13	31	24	10	14	14	16,16	8	12	14	20	15	17	23	12
Ec68	14	13	29	26	11	14	13	11,12	12	12	15	19	15	17	23	12
Ec69	13	13	29	22	10	15	13	14,17	11	12	14	19	15	16	22	10
Ec70	13	13	30	24	9	11	14	17,17	10	13	14	20	17	17	23	12
Ec73	15	13	29	24	10	14	13	14,15	9	11	14	19	15	17	21	12
Ec82	15	13	29	24	11	13	14	11,11	12	13	15	19	15	18	23	12
Ec94	13	13	30	24	11	14	13	13,18	10	13	14	20	16	17	22	10
Ec95	14	13	31	25	10	14	13	15,17	11	12	14	19	16	16	22	12
Ec97	15	12	28	24	10	11	12	17,18	9	12	14	18	14	18	21	9
Ec98	13	14	30	25	10	13	14	14,17	11	13	15	19	16	17	22	11
Ec104	13	13	30	25	11	14	13	14,19	11	11	14	20	15	16	22	11
Ec107	14	12	28	24	11	13	13	11,14	12	11	15	19	16	17	23	12
Ec115	14	13	29	23	10	14	12	16,17	10	12	16	20	13	16	21	10

ANEXO VI. Haplotipos de Y-SNPs de los individuos kichwas (K) y mestizos (M) pertenecientes al haplogrupo Q.

	ID	BT M42	CT M168	DE M145	D M174	E P170	C RPS4Y ₇₁₁	FT M213	KT M9	PQR M45	Q M242	Q1a3 M346	Q1a3a M3	Q1a3a1 M19	Q1a3a2 M194	Q1a3a3 M199	Q1a3a3 P292	R M207	FINAL	HG
K	Ec02	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	M346	Q1a3*
K	Ec25	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	M346	Q1a3*
K	Ec30	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	M346	Q1a3*
K	Ec24	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	M3	Q1a3a*
K	Ec26	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	M3	Q1a3a*
K	Ec29	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	M3	Q1a3a*
K	Ec32	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	M3	Q1a3a*
K	Ec44	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	M3	Q1a3a*
K	Ec50	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	M3	Q1a3a*
K	Ec80	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	M3	Q1a3a*
K	Ec87	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	M3	Q1a3a*
K	Ec103	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	M3	Q1a3a*
K	Ec112	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	M3	Q1a3a*
K	Ec114	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	M3	Q1a3a*
K	Ec119	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-1	+	-	-	-	-	M3	Q1a3a*
K	Ec121	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	M3	Q1a3a*
K	Ec122	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-1	+	-	-	-	-	M3	Q1a3a*
M	Ec16	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	M346	Q1a3*
M	Ec65	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	M346	Q1a3*
M	Ec98	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	M346	Q1a3*
M	Ec69	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	M242	Q
M	Ec22	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	M3	Q1a3a*
M	Ec57	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	M3	Q1a3a*
M	Ec64	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	M3	Q1a3a*
M	Ec94	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	M3	Q1a3a*

ANEXO VI. Continuación

	ID	BT M42	CT M168	DE M145	D M174	E P170	C RPS4Y ₇₁₁	FT M213	KT M9	PQR M45	Q M242	Q1a3 M346	Q1a3a M3	Q1a3a1 M19	Q1a3a2 M194	Q1a3a3 M199	Q1a3a3 P292	R M207	FINAL	HG
M	Ec95	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	M3	Q1a3a*
M	Ec104	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	M3	Q1a3a*
M	Ec42	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-1	+	-	-	-	-	-	M3	Q1a3a*

Haplotipos de Y-SNPs de los individuos kichwas (K) pertenecientes al haplogrupo C.

	ID	BT M42	CT M168	DE M145	D M174	E P170	C RPS4Y ₇₁₁	C3 M217	C3a M93	C3b P39	C3c M48	C3c M86	C3d M407	C3e P53.1	C3f P62	FT M213	KT M9	PQR M45	Q M242	Q1a3a M3	R M207	FINAL	HG
K	Ec04	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M217	C3*
K	Ec41	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M217	C3*
K	Ec60	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M217	C3*
K	Ec66	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M217	C3*
K	Ec67	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M217	C3*
K	Ec85	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M217	C3*
K	Ec88	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M217	C3*
K	Ec105	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M217	C3*
K	Ec106	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M217	C3*
K	Ec116	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M217	C3*

Haplotipos de Y-SNPs de los individuos mestizos (M) pertenecientes al haplogrupo E.

	ID	BT M42	CT M168	DE M145	D M174	E P170	E1a M33	E1b1 P2	E1b1a M2	E1b1b1 M35	E2 M75	C RPS4Y ₇₁₁	FT M213	KT M9	PQR M45	Q M242	Q1a3a M3	R M207	FINAL	HG
M	Ec23	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	M35	E1b1b1
M	Ec70	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	M35	E1b1b1
M	Ec59	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M2	E1b1a

ANEXO VI. Continuación

Haplotipos de Y-SNPs de los individuos mestizos (M) pertenecientes al haplogrupo R o KT.

	ID	BT M42	CT M168	DE M145	D M174	E P170	C RPS4Y ₇₁₁	FT M213	KT M9	N M231	N1c TAT	O M175	PQR M45	Q M242	Q1a3a M3	R M207	R1a1a M198	R1b M343	FINAL	HG
M	Ec17	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	M343	R1B
M	Ec56	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	M343	R1B
M	Ec58	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	M343	R1B
M	Ec61	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	M343	R1B
M	Ec68	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	M343	R1B
M	Ec82	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	M343	R1B
M	Ec107	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	M343	R1B
M	Ec19	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M9	KT (x PQR, N,O)
M	Ec73	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M9	KT (x PQR, N,O)
M	Ec115	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M9	KT (x PQR, N,O)

Haplotipos de Y-SNPs de los individuos mestizos (M) pertenecientes al haplogrupo G o J.

	ID	BT M42	CT M168	DE M145	D M174	E P170	C RPS4Y ₇₁₁	FT M213	G M201	J P209	J1 M267	J2 M172	J2a M410	J2b M102	KT M9	PQR M45	Q M242	Q1a3a M3	R M207	I M170	FINAL	HG
M	Ec03	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-1	-1	-1	-1	-	-	-	-	-	-	M201	G
M	Ec07	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	M410	J2a
M	Ec97	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	M410	J2a
M	Ec21	+	+	-	-1	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-1	-	-	-	M102	J2b

ANEXO VII. Perfiles 10 X-STRs obtenidos en 32 individuos waoranis.

ID	DXS 6789		DXS 6809		DXS 7132		DXS 7133		DXS 7423		DXS 8378		DXS 9898		DXS 9902		GATA 172D05		GATA 31E08	
BA06	16	21	33	35	15	15	10	11	14	14	10	10	14	14	11	11	6	11	12	12
BA23	16	21	33	35	14	15	10	11	14	14	10	10	14	14	11	11	6	11	12	12
BA26	16	21	33	35	14	14	10	11	14	14	10	10	12	14	11	11	6	11	12	12
BA29	20	20	32	35	13	15	10	11	14	15	10	10	13	14	12	13	10	11	11	12
BA54	16	21	33	35	15	15	10	11	14	14	10	10	14	14	11	11	11	11	12	12
TO02	19	21	33	33	15	16	10	10	15	17	10	10	13	14	12	12	11	11	11	12
TO33	20	20	33	33	15	16	10	10	14	15	10	10	12	13	11	11	11	11	11	12
TO40	16	21	35	35	13	15	9	10	15	15	12	12	13	14	12	12	11	11	11	12
TO42	16	16	35	35	15	15	9	9	14	15	10	12	13	13	12	12	11	11	12	13
TO57	16	20	32	35	13	15	9	9	17	17	10	10	13	13	11	13	11	11	11	13
TO58	20	20	32	33	15	16	10	10	15	17	11	12	14	15	12	12	11	11	11	12
TO61	19	19	33	33	15	16	9	10	14	17	10	11	13	13	12	13	10	11	11	13
TO68	20	21	33	34	15	16	10	10	15	15	10	10	12	14	11	12	6	11	12	13
TO91	16	20	32	33	15	15	9	10	14	14	10	12	13	14	11	12	10	12	11	12
TO99	20	20	33	33	15	15	10	10	14	14	10	10	14	14	11	11	11	11	11	12
BA07	21	x	35	x	13	x	11	x	14	x	10	x	12	x	11	x	12	x	12	x
BA09	20	x	32	x	15	x	9	x	15	x	10	x	13	x	11	x	10	x	12	x
BA16	21	x	35	x	13	x	11	x	14	x	10	x	12	x	11	x	12	x	12	x
BA30	21	x	35	x	14	x	11	x	14	x	10	x	12	x	11	x	11	x	12	x
BA42	21	x	35	x	13	x	11	x	14	x	10	x	12	x	11	x	12	x	12	x
BA43	21	x	33	x	15	x	10	x	17	x	10	x	14	x	11	x	6	x	11	x
TO39	16	x	33	x	15	x	10	x	14	x	10	x	14	x	12	x	12	x	12	x
TO43	20	x	32	x	15	x	11	x	15	x	10	x	12	x	12	x	11	x	13	x
TO45	16	x	33	x	15	x	10	x	15	x	10	x	14	x	11	x	12	x	13	x
TO56	20	x	34	x	16	x	10	x	14	x	10	x	13	x	11	x	11	x	11	x
TO67	20	x	32	x	15	x	11	x	15	x	10	x	13	x	11	x	12	x	12	x
TO71	20	x	32	x	13	x	9	x	17	x	10	x	13	x	13	x	11	x	11	x
TO75	20	x	33	x	15	x	10	x	14	x	10	x	13	x	11	x	11	x	11	x
TO81	21	x	35	x	13	x	11	x	15	x	10	x	12	x	12	x	11	x	12	x
TO88	20	x	34	x	15	x	10	x	17	x	10	x	12	x	11	x	11	x	13	x
TO89	20	x	33	x	15	x	10	x	17	x	12	x	12	x	12	x	11	x	11	x
TO95	16	x	33	x	13	x	9	x	14	x	10	x	13	x	11	x	11	x	12	x

ANEXO VIII. Perfiles 10 X-STRs obtenidos en 65 individuos kichwas.

ID	DXS 6789		DXS 6809		DXS 7132		DXS 7133		DXS 7423		DXS 8378		DXS 9898		DXS 9902		GATA 172D05		GATA 31E08	
Ec01	16	21	36	37	13	16	9	10	14	15	10	11	12	13	12	13	10	11	12	12
Ec10	20	21	31	34	15	16	9	11	14	15	10	11	13	14	11	13	10	11	12	12
Ec12	16	21	33	33	14	14	9	9	15	15	10	10	13	14	11	12	8	11	10	11
Ec13	19	21	32	33	14	14	9	10	14	14	10	10	13	13	11	13	11	12	12	13
Ec14	19	20	32	33	14	14	9	9	15	17	10	11	12	12	11	12	10	11	10	11
Ec18	16	16	31	38	12	17	9	9	14	15	10	12	13	13	11	11	10	11	12	12
Ec33	20	20	31	34	13	14	9	10	14	14	10	10	12	14	11	12	11	11	9	12
Ec34	20	20	33	35	13	14	9	10	15	15	10	10	13	13	11	12	11	11	10	12
Ec35	16	20	31	34	14	15	9	10	14	14	10	10	12	13	12	12	10	11	12	12
Ec36	16	19	34	35	13	15	9	9	14	15	10	10	13	13	11	12	10	11	12	12
Ec37	16	16	34	34	14	14	9	9	15	15	10	10	13	13	12	12	10	11	12	12
Ec38	16	16	34	37	13	13	9	9	14	15	10	11	12	12	11	11	11	11	12	12
Ec40	19	20	31	32	15	15	9	9	14	15	10	10	13	14	11	12	11	11	12	13
Ec43	18	20	34	35	13	16.3	9	10	15	17	10	11	12	13	11	12	11	11	12	12
Ec45	16	16	33	37	16	17	9	9	14	15	10	10	13	14	11	11	11	11	12	12
Ec46	16	20	32	33	14	17	9	9	14	14	10	10	12	14	11	11	10	11	12	12
Ec49	20	20	33	35	13	14	9	10	15	15	10	10	13	13	11	12	11	11	10	12
Ec55	16	20	33	33	15	16	9	10	14	17	10	10	13	14	12	12	10	10	12	13
Ec72	20	21	33	34	15	18.3	9	10	14	17	10	11	14	14	11	12	9	11	9	12
Ec77	16	22	34	35	13	15	9	9	14	15	10	11	12	12	11	12	8	11	12	12
Ec78	16	21	36	37	13	14	9	9	14	15	10	11	12	14	11	12	10	11	12	12
Ec79	16	20	34	36	14	16.3	9	10	15	17	10	11	12	14	11	11	8	10	9	12
Ec86	16	20	33	34	16	17	10	10	14	15	10	11	13	14	13	13	10	12	12	13
Ec89	19	20	31	34	15	15	9	9	14	15	10	10	14	14	11	11	11	11	10	12
Ec90	19	19	33	33	15	16	9	9	15	17	10	10	13	14	11	12	11	11	12	12
Ec91	16	19	33	34	15	15	9	10	15	15	10	10	13	14	12	12	10	11	10	12
Ec92	16	20	32	33	15	17	9	9	14	14	10	10	13	14	11	12	11	11	12	12
Ec96	20	21	33	35	14	15	9	10	14	17	10	10	14	14	11	12	10	11	9	12
Ec100	20	20	32	33	13	14	9	9	14	17	10	10	12	12	12	12	11	12	11	12
Ec101	16	16	31	34	14	14	9	10	17	17	10	10	13	13	11	11	10	11	12	12
Ec102	16	16	31	34	14	14	9	10	15	17	10	10	13	13	11	11	10	11	12	12
Ec108	21	22	33	35	14	15	10	10	14	14	10	11	12	14	12	13	10	11	9	12
Ec109	19	21	31	33	14	16	9	10	14	15	10	10	12	14	11	13	11	11	9	10
Ec113	20	21	32	33	14	15	10	10	15	15	10	10	12	14	11	13	6	10	9	14
Ec117	20	20	32	35	13	13	9	9	14	15	10	10	12	13	12	13	6	11	12	13
BA17	16	20	34	35	14	16	9	10	14	14	11	12	13	14	11	12	10	11	10	12
BA51	16	19	31	33	15	17	9	9	14	15	10	10	13	14	11	12	11	11	9	10
TO93	20	20	33	33	15	16	9	10	14	17	10	10	13	14	12	12	10	10	12	13
Ec02	20	x	33	x	13	x	9	x	17	x	11	x	13	x	12	x	9	x	11	x
Ec04	16	x	37	x	15	x	9	x	14	x	11	x	13	x	12	x	11	x	9	x

ANEXO VIII. Continuación.

ID	DXS 6789		DXS 6809		DXS 7132		DXS 7133		DXS 7423		DXS 8378		DXS 9898		DXS 9902		GATA 172D05		GATA 31E08	
Ec24	20	x	33	x	13	x	10	x	14	x	11	x	14	x	13	x	11	x	12	x
Ec25	16	x	38	x	12	x	9	x	15	x	12	x	13	x	11	x	10	x	12	x
Ec26	20	x	32	x	15	x	10	x	15	x	10	x	14	x	12	x	11	x	12	x
Ec29	20	x	34	x	16	x	9	x	14	x	10	x	14	x	11	x	11	x	12	x
Ec30	16	x	33	x	17	x	9	x	14	x	10	x	13	x	12	x	11	x	12	x
Ec32	21	x	33	x	14	x	10	x	14	x	10	x	14	x	11	x	11	x	12	x
Ec41	20	x	33	x	13	x	10	x	15	x	10	x	13	x	13	x	11	x	9	x
Ec44	19	x	35	x	13	x	9	x	15	x	10	x	13	x	13	x	11	x	9	x
Ec50	20	x	32	x	14	x	9	x	15	x	10	x	12	x	11	x	10	x	10	x
Ec60	20	x	35	x	13	x	9	x	15	x	10	x	13	x	12	x	11	x	12	x
Ec66	19	x	31	x	13	x	9	x	14	x	10	x	13	x	11	x	11	x	13	x
Ec67	19	x	31	x	15	x	9	x	15	x	10	x	14	x	11	x	11	x	10	x
Ec80	20	x	35	x	13	x	10	x	15	x	10	x	13	x	13	x	11	x	10	x
Ec85	20	x	33	x	16	x	10	x	14	x	10	x	14	x	13	x	12	x	13	x
Ec87	20	x	33	x	13	x	11	x	14	x	11	x	13	x	11	x	10	x	12	x
Ec88	20	x	33	x	14	x	9	x	15	x	10	x	13	x	13	x	10	x	10	x
Ec103	16	x	34	x	14	x	9	x	14	x	10	x	13	x	11	x	11	x	12	x
Ec105	19	x	35	x	15	x	10	x	17	x	10	x	14	x	12	x	10	x	12	x
Ec106	20	x	33	x	13	x	10	x	15	x	10	x	12	x	12	x	11	x	12	x
Ec112	19	x	31	x	15	x	9	x	15	x	10	x	14	x	11	x	11	x	12	x
Ec114	21	x	33	x	15	x	10	x	15	x	11	x	13	x	12	x	10	x	12	x
Ec116	16	x	34	x	14	x	10	x	14	x	10	x	13	x	11	x	10	x	10	x
Ec119	16	x	37	x	16	x	9	x	14	x	10	x	13	x	11	x	11	x	12	x
Ec121	20	x	33	x	15	x	9	x	14	x	10	x	13	x	12	x	10	x	12	x
Ec122	16	x	34	x	14	x	10	x	17	x	10	x	13	x	11	x	10	x	12	x

ANEXO IX. Perfiles 10 X-STRs obtenidos en 42 individuos mestizos.

ID	DXS 6789		DXS 6809		DXS 7132		DXS 7133		DXS 7423		DXS 8378		DXS 9898		DXS 9902		GATA 172D05		GATA 31E08	
EC06	20	20	32	35	13	15	9	9	16	16	10	11	12	14	12	13	8	10	12	14
EC08	20	22	30	31	13	15	9	10	14	15	10	11	8.3	12	12	13	8	11	11	12
EC09	19	20	33	35	13	14	10	10	14	14	10	10	13	13	12	13	10	11	12	13
EC118	20	20	32	32	13	15	9	9	15	15	10	11	11	12	12	12	8	10	12	13
EC15	20	20	33	33	15	15	10	10	15	15	10	12	13	14	11	12	11	11	11	12
EC20	16	20	33	35	15	15	9	9	15	16	10	11	8.3	12	12	12	8	11	11	14
EC53	22	22	32	33	14	15	9	9	14	14	10	10	12	13	12	13	10	11	9	11
EC54	20	22	33	36	14	16.3	9	9	15	17	11	11	13	13	10	11	6	11	14	14
EC74	20	21	31	35	13	13	9	9	15	17	10	10	11	13	11	12	6	11	12	12
EC75	20	21	32	35	13	16.3	9	9	13	15	11	12	12	14	11	12	11	11	13	15
EC81	21	21	31	33	12	14	9	9	14	14	10	10	8.3	13	12	12	11	11	12	12
EC83	20	21	33	34	12	12	9	11	14	15	10	11	13	13	12	12	8	11	12	13
EC93	20	20	35	35	15	16	9	10	14	15	10	10	14	14	11	12	10	11	12	12
EC99	20	21	34	35	14	14	9	11	17	17	10	10	12	12	11	13	9	10	9	12
EC03	19	x	33	x	13	x	9	x	17	x	10	x	13	x	13	x	6	x	12	x
EC07	20	x	31	x	15	x	9	x	15	x	10	x	14	x	12	x	10	x	9	x
EC16	20	x	35	x	13	x	9	x	14	x	10	x	14	x	11	x	10	x	12	x
EC17	20	x	34	x	16	x	10	x	15	x	10	x	14	x	12	x	11	x	12	x
EC19	19	x	33	x	12	x	10	x	15	x	10	x	13	x	11	x	10	x	13	x
EC21	20	x	35	x	13	x	9	x	16	x	10	x	12	x	13	x	8	x	12	x
EC22	20	x	33	x	14	x	9	x	15	x	10	x	13	x	11	x	10	x	13	x
EC23	22	x	28	x	15	x	9	x	14	x	11	x	12	x	12	x	6	x	11	x
EC42	20	x	35	x	16	x	9	x	17	x	10	x	14	x	11	x	10	x	12	x
EC56	20	x	33	x	12	x	9	x	14	x	10	x	12	x	11	x	8	x	13	x
EC57	16	x	33	x	13	x	10	x	15	x	12	x	13	x	11	x	10	x	12	x
EC58	21	x	32	x	16	x	9	x	15	x	10	x	12	x	12	x	6	x	12	x
EC59	20	x	34	x	16	x	9	x	17	x	11	x	13	x	12	x	11	x	12	x
EC61	20	x	34	x	16	x	9	x	17	x	10	x	13	x	12	x	6	x	12	x
EC64	16	x	32	x	15	x	9	x	17	x	10	x	13	x	11	x	11	x	12	x
Ec65	16	x	32	x	15	x	9	x	15	x	10	x	12	x	13	x	10	x	13	x
EC68	22	x	33	x	15	x	10	x	15	x	10	x	12	x	12	x	10	x	11	x
EC69	20	x	33	x	15	x	9	x	14	x	12	x	13	x	11	x	11	x	13	x
EC70	21	x	35	x	17.3	x	11	x	15	x	10	x	12	x	14	x	6	x	11	x
EC73	20	x	33	x	15	x	9	x	14	x	10	x	12	x	11	x	10	x	12	x
EC82	21	x	33	x	12	x	10	x	15	x	10	x	14	x	13	x	10	x	14	x
EC94	20	x	35	x	16	x	10	x	15	x	10	x	14	x	11	x	11	x	12	x
EC95	20	x	34	x	14	x	10	x	14	x	11	x	12	x	11	x	11	x	12	x
EC97	20	x	32	x	15	x	9	x	15	x	10	x	12	x	12	x	11	x	12	x
EC98	21	x	35	x	14	x	9	x	17	x	10	x	12	x	13	x	9	x	12	x

ANEXO IX. Continuación

	DXS 6789		DXS 6809		DXS 7132		DXS 7133		DXS 7423		DXS 8378		DXS 9898		DXS 9902		GATA 172D05		GATA 31E08	
EC104	19	x	35	x	15	x	10	x	17	x	10	x	14	x	12	x	10	x	12	x
EC107	21	x	33	x	15	x	11	x	14	x	11	x	8.3	x	13	x	12	x	14	x
EC115	20	x	33	x	15	x	9	x	17	x	11	x	12	x	12	x	10	x	13	x