

---

## DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE TRES POBLACIONES AFRODESCENDIENTES DEL SUROCCIDENTE COLOMBIANO A PARTIR DE 8 STR'S.

### Genetic Structure and Diversity of Three Colombian Southwest Afrodescendent Populations Using 8 STR's.

SANDRA GUAUQUE-OLARTE<sup>1</sup>, B.Sc.; ÁNGELA PATRICIA FUENTES-PARDO<sup>2</sup>, B.Sc.; HÉIBER CÁRDENAS-HENAO<sup>3</sup>, M.Sc.; GUILLERMO BARRETO<sup>4</sup>, Ph. D.

<sup>1</sup> Bióloga, Joven investigadora de COLCIENCIAS. Colombia. santemig@yahoo.com.

<sup>2</sup> Estudiante tesista de pregrado, Programa Académico de Biología, Universidad del Valle. Cali, Valle, Colombia. angela.fuentesparado@gmail.com

<sup>3</sup> Profesor Titular, Universidad del Valle. Cali, Valle, Colombia. hecarden@yahoo.es.

<sup>4</sup> Profesor Titular, Universidad del Valle. Cali, Valle, Colombia. Calle 13 # 100-00. AA. 25360. Cali-Colombia. Tel.: (+57-2) 321 21 52. guillermo.barreto@correounivalle.edu.co

Presentado 10 de marzo de 2009, aceptado 2 de septiembre de 2009, correcciones 9 de octubre de 2009.

#### RESUMEN

Con el objetivo de estimar la diversidad, la estructura y el flujo génico de tres poblaciones afrodescendientes del suroccidente colombiano (Buenaventura, Mulaló y Tumaco), se analizaron los alelos revelados por ocho *STR*'s autosómicos en 78 individuos no relacionados, mediante amplificación por PCR y comparación con escaleras alélicas de cada sistema corridas en geles de poliacrilamida al 8%. Los resultados se compararon con las poblaciones amerindias Awa-Kuaikier y Coyaima, y las mestizas del Valle del Cauca y de Cauca. Se encontró que las muestras afrodescendientes y amerindias fueron moderadamente diversas ( $h$  entre  $0,768 \pm 0,414$  y  $0,796 \pm 0,424$ ), mientras que las mestizas mostraron índices mayores ( $>0,803$ ), lo que puede ser consecuencia del mestizaje con amerindios, el cual puede explicar la alta endogamia observada para éstas. El AMOVA exhibió estructuración moderada entre las poblaciones afrodescendientes ( $F_{ST} = 0,098$ ;  $p < 0,05$ ), y alta entre los tres grupos étnicos comparados ( $F_{ST} = 0,26723$ ;  $p < 0,05$ ). Las distancias genéticas favorecieron la cercanía entre Tumaco y Buenaventura, soportada por la tasa de migración encontrada (34,298), al igual que al interior de las poblaciones amerindias y mestizas. Las diferencias observadas entre Mulaló y las otras poblaciones negras quizá se expliquen porque es un aislado poblacional más cerrado. El árbol NJ mostró la relación más cercana entre las poblaciones amerindias y mestizas, además del carácter ancestral de las afrodescendientes. Esto sustenta la idea del flujo genético mantenido entre las tres etnias, principalmente entre

las poblaciones amerindias y mestizas analizadas, soportado por las distancias genéticas, las tasas de migración y la matrilinealidad amerindia reportada en la literatura.

**Palabras clave:** *STR's*, afrodescendientes, diversidad genética, suroccidente colombiano.

### ABSTRACT

To estimate the diversity, structure and genetic flow in three colombian southwest afrodescendent populations (Buenaventura, Mulaló y Tumaco), the alleles revealed by 8 autosomal *STR's* were analyzed in 78 no-related individuals, by the use of PCR and comparison with specific allelic ladders for every system resolved by polyacrylamide gel (8%). The results were compared with 2 amerindian populations (Awa-Kuaikier and Coyaima) and 2 mixed colombian populations (Valle del Cauca and Cauca). For the afrodescendent and amerindian populations was found moderate diversity ( $h$  between  $0.768 \pm 0.414$  and  $0.796 \pm 0.424$ ), in contrast, the mixed population showed higher rates ( $>0.803$ ), which is probably caused by mixing with amerindians, that also can explain the high endogamy seen in mixed populations. The AMOVA exhibited moderate genetic structure between the afrodescendent populations ( $F_{ST} = 0.098$ ;  $p < 0.05$ ), but higher between the three ethnical groups compared ( $F_{ST} = 0.26723$ ;  $p < 0.05$ ). The closer genetics distances are in favor of Tumaco and Buenaventura, supported for the migration rate found (34.298), which was the same inside of amerindian and mixed populations. Maybe, because Mulaló is a closed isolated population, its differences in front others afrodescendent populations are explained. The neighbor-joining tree showed nearest relations among amerindian and mixed populations, furthermore, the ancestral character for the afrodescendents. That sustains the idea of genetic flow maintained between the 3 ethnical groups, principally between amerindian and mixed populations, supported because the genetic differences, migration rates and amerindian matrilineality reported in the literature.

**Key words:** *STR's*, afrodescendents, genetic diversity, colombian southwest.

### INTRODUCCIÓN

Colombia ha sido uno de los países latinoamericanos con mayores consecuencias socioculturales generadas por la llegada de los conquistadores españoles en 1492 al continente americano (Zapata, 1997). Este suceso dio lugar al encuentro de tres grupos étnicos, a saber: los amerindios, residentes en América; los caucásicos, provenientes de Europa; y africanos traídos como esclavos de la región occidental y central de este continente (Guinea, Senegal, El Congo, Sudán y Angola principalmente) (Barbary y Urrea, 2004). En dicho contexto se produjo mestizaje entre estas etnias, el cual se prolonga desde la época de la Conquista y la Colonia (siglos XVI al XIX) con importantes variaciones regionales hasta hoy día (Yunis *et al.*, 2000).

Actualmente, los descendientes de los esclavos africanos constituyen más del 10,62% de la sociedad colombiana, siendo uno de los grupos étnicos más representativos en las regiones occidental y norte del país, donde coexisten con diferentes grupos étnicos

amerindios y mestizo-caucazoides (Zapata, 1997). Pese a ello, se han efectuado pocos estudios enfocados a la caracterización genética de sus poblaciones y a la estimación de su diversidad en términos genéticos (Bravo *et al.*, 2001; Fuentes-Pardo, 2008), información fundamental a la hora de realizar inferencias sobre la historia evolutiva de estos grupos poblacionales, el seguimiento de enfermedades hereditarias, análisis forenses y de identificación de individuos, aspectos estos más preponderantes si se considera que numerosas investigaciones a nivel mundial han encontrado que las poblaciones humanas aisladas y las que cuentan con distintas contribuciones étnicas se diferencian respecto a su composición genética (Zhivotovsky *et al.* 2003), como se sabe es el caso de las poblaciones afrodescendientes de Colombia (Zapata, 1997). Además de ello, las pruebas de paternidad disputada y de identificación de individuos deben basar sus análisis en datos estadísticos relacionados con las frecuencias alélicas de los diferentes marcadores moleculares en las poblaciones y etnias de las cuales provienen (Cifuentes *et al.*, 2001; Moroni *et al.*, 2008).

Debido a la heterogeneidad genética de la población colombiana, se requieren bases de datos específicas para cada región del país y para cada etnia (Martínez *et al.*, 2005), por tanto, resulta prioritario incrementar las bases de datos que brinden información genética de las poblaciones negras de Colombia. Con base en lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar los alelos revelados por ocho sistemas microsatélites (*STR's*) autosómicos en tres muestras poblacionales afrodescendientes del suroccidente colombiano, a fin de estimar la diversidad, el grado de estructuración genética, los niveles de flujo génico y los parámetros poblacionales de interés forense y de paternidad disputada, teniendo en cuenta la importancia demográfica y sociocultural de los afrodescendientes en Colombia y la escasez de estudios que caractericen genéticamente sus poblaciones, particularmente, las asentadas en la región occidental del país.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### MUESTRAS POBLACIONALES ANALIZADAS

En total se estudiaron 78 individuos no relacionados (ausencia de parentesco entre individuos hasta el tercer grado de consanguinidad) pertenecientes a la etnia afrodescendiente de los municipios de Buenaventura (n=24), Mulaló (n=33) (Valle del Cauca), y Tumaco (n=21) (Nariño), localizados en el suroccidente colombiano (Fig. 1). Una vez se contó con el informe de consentimiento firmado por parte de los individuos interesados, se tomó 5 mL de sangre periférica a cada uno, a partir de la cual se extrajo el ADN total por el método de precipitación por sales (*Salting out*) (Miller *et al.*, 1988).

### AMPLIFICACION Y VISUALIZACION DE PRODUCTOS DE PCR

Se caracterizaron los alelos revelados por los sistemas *STR's* autosómicos TH01 (Kimpton *et al.*, 1993), FGA (Urquhart *et al.*, 1995), vWA (Urquhart *et al.*, 1995), D7S820 (Jin *et al.*, 1997), F13A01 (Kimpton *et al.*, 1993), D21S11 (Urquhart *et al.*, 1994), CSF1PO (Butler *et al.*, 2003) y LPL (Zuliani y Hobbs, 1990), de amplio uso en identificación filial, debido a su alto índice de heterocigosidad y baja probabilidad de inclusión (Cifuentes *et al.*, 2002). La caracterización de los alelos se realizó mediante amplificación por PCR utilizando las condiciones de reacción del sistema TH01



Figura 1. Localización geográfica de las siete muestras poblacionales analizadas en el presente estudio.

(Polymeropoulos *et al.*, 1991), con modificaciones propias del Laboratorio de Genética Molecular Humana de la Universidad del Valle. Los productos amplificados se separaron en geles de poliacrilamida no denaturante al 8% teñidos con nitrato de plata. La asignación alélica de los mismos se realizó mediante comparación con escaleras alélicas propias de cada sistema y con las del marcador de peso de 25 pares de bases, utilizando el sistema de análisis de imágenes UVISave (UVITec Limited, BL WA, Inglaterra).

#### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Con base en los genotipos individuales encontrados, se estimó el número de alelos y las frecuencias alélicas por locus para cada población bajo estudio. Asimismo, se construyó una matriz de datos para el programa computacional ARLEQUIN versión 3.11 (Excoffier *et al.*, 2005), con el cual se calculó la heterocigosidad observada y esperada por locus para cada una de las poblaciones estudiadas, valores que permitieron evaluar si las frecuencias genotípicas diferían estadísticamente de los valores esperados según el modelo de Equilibrio Hardy-Weinberg (EHW). También se calculó la diversidad genética promedio para cada población usando la heterogeneidad insesgada de Nei, 1978.

Con el programa ARLEQUIN versión 3.11 (Excoffier *et al.*, 2005) se evaluó la estructuración genética poblacional y la contribución de las principales fuentes de variación

mediante un Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) realizado bajo dos hipótesis, dentro de un solo grupo de poblaciones (Tabla 1); y dentro de varios grupos de poblaciones (Tabla 2).

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados (SDD)	Cuadrados medios esperados
Entre Poblaciones Entre Individuos/	P - 1	SDD(AP)	$n\sigma_a^2 + 2\sigma_b^2 + \sigma_c^2$
Dentro de Poblaciones	N - P	SDD(AI/WP)	$2\sigma_b^2 + \sigma_c^2$
Dentro de Individuos	N	SDD(WI)	$\sigma_c^2$
Total	2N - 1	SDD(T)	$\sigma_r^2$

Tabla 1. Modelo empleado para el AMOVA dentro de un grupo de poblaciones. P: Número total de poblaciones; N: Número total de individuos por dato genotípico o número total de copias de genes por dato haplotípico; SSD(AP): Suma de desviaciones cuadradas entre poblaciones; SSD(AI/WP): Suma de desviaciones cuadradas entre individuos dentro de poblaciones; SSD(WI): Suma de desviaciones cuadradas dentro de individuos; SSD(T): Desviaciones cuadradas de la suma total.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados (SDD)	Cuadrados medios esperados
Entre Poblaciones Entre Poblaciones/	G - 1	SDD(AG)	$n''\sigma_a^2 + n'\sigma_b^2 + 2\sigma_c^2 + \sigma_d^2$
Dentro de Grupos Entre Individuos/	P - G	SDD(AP/WG)	$n\sigma_b^2 + 2\sigma_c^2 + \sigma_d^2$
Dentro de Poblaciones	N - P	SSD(AI/WP)	$2\sigma_c^2 + \sigma_d^2$
Dentro de Individuos	N	SDD(WI)	$\sigma_d^2$
Total	2N - 1	SDD(T)	$\sigma_r^2$

Tabla 2. Modelo empleado para el AMOVA entre varios grupos de poblaciones. G: Número de grupos en la estructura; P: Número total de poblaciones; N: Número total de individuos por dato genotípico o número tal de copias de genes por dato haplotípico; SSD(AG): Suma de las desviaciones cuadradas entre grupos dentro de poblaciones; SSD(AP/WG): Suma de desviaciones cuadradas entre poblaciones dentro de grupos; SSD(AI/WP): Suma de desviaciones cuadradas entre individuos dentro de poblaciones; SSD(WI): Suma de desviaciones cuadradas dentro de individuos; SSD(T): Desviaciones cuadradas de la suma total.

Adicionalmente, se tuvieron en cuenta los valores FIS como los índices de endogamia específicos para cada población, y se efectuó la comparación de parejas de poblaciones por medio del método de distancias genéticas basadas en RST (Slatkin, 1995) ya que con este parámetro se puede estimar la fracción de la varianza total del tamaño de los alelos que esta presente entre las poblaciones. A partir de los valores de éste último análisis, con ayuda del programa computacional MEGA 4 (Tamura *et al.*, 2007) se construyó un árbol que ilustra las relaciones filéticas de las poblaciones estudiadas, con base en el método de agrupamiento del vecino más cercano (Neighbor-Joining, NJ). Además se realizó una prueba de desequilibrio de asociación, en busca de evidencia estadística sobre asociaciones no aleatorias de alelos de diferentes sistemas, y se estimó el flujo génico entre parejas de poblaciones, a partir de la tasa de migración efectiva por generación (Slatkin, 1995). Para calcular este valor se toma en cuenta que existe una relación de equilibrio entre la migración y la deriva, donde  $F_{ST} = 1/(2M+1)$ . Así, el número absoluto de migrantes intercambiados entre dos poblaciones (M) se puede estimar por  $M = (1 - F_{ST}) / (2 F_{ST})$ .

### PARAMETROS POBLACIONALES

Con base en las frecuencias alélicas obtenidas para cada sistema de STR, mediante el programa estadístico *Genetic Identity PowerStats* versión 1.2 (Promega Corporation) se calcularon algunos parámetros poblacionales de importancia en genética forense e identificación individual (Huston, 1998) como son: Heterocigosidad observada ( $h$ ), probabilidad de Exclusión (PE), definida como la fracción de individuos que tienen un perfil de ADN que es diferente del de un individuo seleccionado aleatoriamente en una muestra, representadas por,  $h = n_h/n$  y  $PE = h^2(1 - 2hH^2)$ , donde  $n_h$  es el número de individuos observados con dos alelos,  $n$  es el número total de individuos,  $H$  y  $h$  es el número de homocigotos y heterocigotos, respectivamente; Probabilidad de Identidad (pM) o número de individuos que pueden ser reconocidos antes de encontrar el mismo patrón de ADN de un individuo seleccionado aleatoriamente; Poder de Discriminación (Pd), así como [PE(c)] poder de exclusión para varios loci y el poder de discriminación para múltiples loci [Pd(c)].

Finalmente, se compararon los datos obtenidos en este estudio con los reportados para dos poblaciones amerindias y mestizas del suroccidente y centro de Colombia (Rondón *et al.* 2006).

## RESULTADOS

### ESTRUCTURA, DIVERSIDAD Y FLUJO GÉNICO ENTRE LAS POBLACIONES

#### AFRODESCENDIENTES BAJO ESTUDIO

El Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) mostró que la mayor proporción de la variación genética total observada entre las tres poblaciones consideradas residió en la variación presente entre individuos (83,41%) (Tabla 3). Por su parte, el  $F_{ST}$  indicó, de manera significativa, la existencia de estructuración poblacional moderada entre las muestras consideradas ( $F_{ST} = 0,098$ ;  $p < 0,05$ ) (Hartl y Clarck, 1997).

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación
Entre grupos	2	297,291	2,46239	9,82
Entre individuos dentro de poblaciones	74	1798,982	1,69749	6,77
Dentro de individuos	77	1610,500	20,91558	83,41
Total	153	3706,773	25,07547	
Índices de Fijación:	$F_{IS} = 0,07507$ ;	$F_{ST} = 0,09820$ ;	$F_{IT} = 0,16589$	

Tabla 3. Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) para las tres poblaciones afrodescendientes bajo estudio.  $p < 0,05$ .

Adicionalmente se realizó otro AMOVA bajo la hipótesis de tres agrupamientos, uno de ellos constituido por las tres muestras afrodescendientes bajo estudio, otro por dos poblaciones amerindias, Coyaima ( $n=43$ , Tolima) y Awa-Kuaikier ( $n=28$ , Nariño), y el otro por dos poblaciones mestizas de los departamentos del Valle del Cauca ( $n=41$ ) y de Cauca ( $n=19$ ), todas localizadas en la región suroccidente y centro de Colombia. Los resultados obtenidos mostraron que la mayor proporción de la variación genética total

se debió a la variación presente entre individuos (49,88%; Tabla 4). El valor de  $F_{ST}$  indicó que existe diferenciación genética alta entre los tres grupos étnicos analizados ( $F_{ST} = 0,26723$ ), según el criterio de Hartl y Clarck, 1997.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación
Entre grupos	2	2399,775	8,10346	22,75
Entre poblaciones dentro de grupos	4	378,930	1,09253	3,07
Entre individuos dentro de poblaciones	197	6909,842	8,65409	24,30
Dentro de individuos	204	3624,500	17,76716	49,88
Total	407	13313,047	35,61724	
Índices de Fijación:	$F_{IS} = 0,32754$ ;	$F_{SC} = 0,03971$ ;	$F_{CT} = 0,22752$ ;	$F_{IT} = 0,50116$
	$F_{ST} = F_{SC} + F_{CT} = 0,26723$			

Tabla 4. Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) bajo la hipótesis de tres grupos según la filiación étnica.  $p < 0,05$ .

El análisis de las distancias genéticas entre parejas de poblaciones evidenció que las muestras afrodescendientes de Tumaco y Buenaventura están más relacionadas (0,014) entre ellas respecto a Mulaló, al igual que Buenaventura y Mulaló respecto a Tumaco (0,09) (Tabla 5). El mismo comportamiento fue encontrado en las dos poblaciones amerindias entre sí, al igual que en las muestras mestizas analizadas (0,012 y 0,003 respectivamente), resultados sustentados por la mayor tasa de migración encontrada entre las parejas de poblaciones mencionadas (Tabla 5). Además se encontró en la comparación interétnica, que la población afrodescendiente de Tumaco es más cercana a la muestra de Mestizos del Valle (0,065), y que las poblaciones amerindias Coyaima y Awa son las más distantes de las afrodescendientes, en especial de la muestra de Mulaló (0,448 y 0,473 respectivamente).

De las tres muestras poblacionales afrodescendientes en consideración, el mayor índice de endogamia lo presentó Mulaló ( $F_{IS} = 0,166$ ) seguido por Buenaventura (0,049), mientras que en la población de Tumaco se obtuvo evidencia de que en esta se presentan apareamientos preferenciales entre individuos heterocigotos (Tabla 5). Las tres poblaciones exhibieron una diversidad genética promedio entre loci moderada, con valores entre  $0,768 \pm 0,414$  y  $0,796 \pm 0,424$  (Hammond *et al.*, 1994). De las siete muestras comparadas, las poblaciones mestizas del Valle del Cauca y de Cauca fueron las más diversas genéticamente ( $0,806 \pm 0,427$  y  $0,803 \pm 0,495$  respectivamente), por el contrario, las muestras amerindias mostraron los índices de diversidad genética más bajos, aunque indicaron diversidad genética moderada al igual que en las poblaciones afrodescendientes (Tabla 5).

#### ANÁLISIS DE AGRUPAMIENTO

A partir de las distancias genéticas pareadas (Tabla 5), se construyó un árbol con el método de agrupamiento de vecinos más cercanos NJ, el cual reflejó las relaciones filéticas de las poblaciones comparadas (Fig. 2). En este se identificaron dos agrupamientos bien diferenciados: en uno se encontraron en el nivel más ancestral las poblaciones afrodescendientes (Cluster 1), y en el otro se ubicaron las muestras amerindias y las mestizas

(Cluster 2). Este resultado da sustento a la idea del flujo genético ocurrido entre estos tres grupos étnicos, y en mayor cuantía entre el amerindio y el mestizo.

Población	<i>h</i>	F <sub>IS</sub>	Mulaló	B/ventura	Tumaco	Coyaima	Awa	Mestizos Valle	Mestizos Cauca
Mulaló	0,796±0,424	0,166	*	4,751	2,803	0,616	0,556	1,433	1,110
B/ventura	0,768±0,414	0,049	0,095	*	34,298	1,046	0,877	3,509	2,082
Tumaco	0,784±0,420	-0,083	0,151	0,014	*	1,609	1,193	7,162	4,476
Coyaima	0,741±0,434	0,548	0,448	0,323	0,237	*	40,494	3,747	2,845
Awa	0,727±0,405	0,434	0,473	0,363	0,295	0,012	*	2,665	1,734
Mestizos Valle	0,806±0,427	0,383	0,259	0,125	0,065	0,117	0,158	*	171,877
Mestizos Cauca	0,803±0,495	0,454	0,311	0,194	0,101	0,149	0,224	0,003	*

Tabla 5. Diversidad genética promedio entre loci (*h*), índice de endogamia (FIS), distancia genética RST (debajo de la diagonal) y tasa de migración entre parejas de poblaciones (sobre la diagonal) para siete aislados poblacionales del suroccidente y centro de Colombia, calculados a partir de las frecuencias alélicas de ocho sistemas de STR's autosómicos.

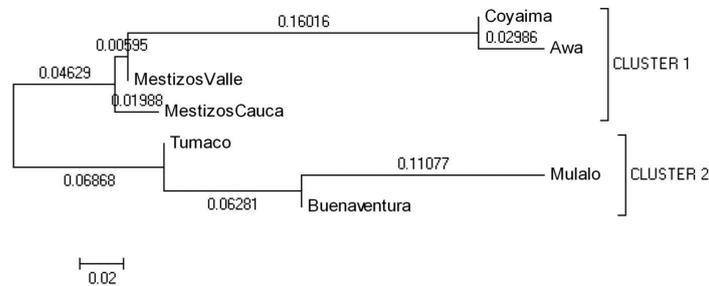


Figura 2. Árbol Neighbour-Joining (NJ) construido a partir del análisis pareado de distancias genéticas RST de siete aislados poblacionales del centro y suroccidente colombiano. Se destaca la ancestralidad afrodescendiente en el nivel más basal del árbol (Cluster 2).

**PRUEBA DE DESEQUILIBRIO DE ASOCIACIÓN**

La prueba de desequilibrio de asociación mostró que únicamente en la población amerindia de Coyaima existen dos parejas de loci (vWA-CSF1PO, P exacto: 0,00020; FGA-CSF1PO, P exacto: 0,00050) exhibiendo desviaciones significativas estadísticamente de los valores esperados bajo la hipótesis nula de independencia alélica ( $p < 0,001$ ), siendo común entre estas parejas el locus CSF1PO.

**PARÁMETROS POBLACIONALES**

En Mulaló el mayor valor de heterocigocidad observada (*h<sub>o</sub>*) lo presentó el sistema FGA y los menores valores fueron observados en CSF1PO y LPL (Tabla 6). En cuanto a la población de Tumaco, el sistema D21S11 mostró el mayor valor de *h<sub>o</sub>* y el menor fue para D7S820. Por su parte, en Buenaventura el sistema más diverso fue vWA y el menos diverso fue F13A01. Para las poblaciones mencionadas se encontró valores altos en el poder de discriminación combinado y en la probabilidad de exclusión combinada ( $> 0,9999999$  y  $> 0,99$  respectivamente) para los ocho sistemas de STR's caracterizados.

Locus	Mulaló				Buenaventura				Tumaco			
	h <sub>o</sub>	Pd	PE	P-value	h <sub>o</sub>	Pd	PE	P-value	h <sub>o</sub>	Pd	PE	P-value
TH01	0,781	0,881	0,565	0,706	0,750	0,861	0,510	0,454	0,714	0,889	0,451	0,361
D7S820	0,719	0,908	0,458	0,795	0,625	0,844	0,322	0,156	0,550	0,895	0,235	0,003*
vWA	0,781	0,924	0,565	0,827	0,958	0,865	0,915	0,407	0,850	0,885	0,695	0,456
FGA	0,875	0,983	0,745	0,662	0,792	0,934	0,584	0,051	0,619	0,889	0,314	0,015*
F13A01	0,813	0,926	0,622	0,006*	0,583	0,903	0,271	0,018*	0,810	0,925	0,617	0,988
D21S11	0,844	0,906	0,653	0,143	0,708	0,906	0,441	0,192	0,857	0,934	0,709	0,412
CSF1PO	0,625	0,918	0,322	0,063	0,833	0,913	0,662	0,928	0,650	0,865	0,355	0,222
LPL	0,625	0,848	0,322	0,244	0,875	0,858	0,745	0,643	0,810	0,848	0,617	0,224
(PE)c	0,9954135083337				0,9948277187585				0,9977838264202			
(Pd)c	0,999999987709				0,9999999782367				0,9999999848882			

Tabla 6. Parámetros poblacionales de tres poblaciones afrodescendientes del suroccidente colombiano a partir de ocho sistemas *STR*'s autosómicos. h<sub>o</sub>: heterocigosidad observada; Pd: Poder de discriminación; PE: Probabilidad de exclusión; P-value: Valor de probabilidad de la prueba de Equilibrio Hardy-Weinberg; (Pd)c: Poder de discriminación combinada; (PE)c: Probabilidad de exclusión combinada. \*  $p < 0,05$ .

## DISCUSIÓN

Tanto las muestras poblacionales afrodescendientes analizadas en el presente estudio como las poblaciones amerindias de Awa-Kuaikier y Coyaima pueden ser catalogadas como moderadamente diversas, dado que exhibieron valores de  $h$  entre  $0,768 \pm 0,414$  y  $0,796 \pm 0,424$ , para las primeras, y  $0,727 \pm 0,405$  y  $0,741 \pm 0,434$  para las segundas, a partir de los ocho sistemas *STR*'s autosómicos tipificados; en contraste, las poblaciones mestizas del Valle del Cauca y de Cauca mostraron índices de diversidad genética superiores ( $>0,803$ ) (Tabla 5). Este resultado podría ser explicado por el proceso de miscigenación que han venido presentando estas poblaciones mestizas con las comunidades indígenas Awa-Kuaikier y Coyaima, sustentado por las distancias genéticas obtenidas (Tabla 5) y por la matrilinealidad amerindia de las poblaciones mezcladas de Colombia, propuesta a partir de polimorfismos de ADNmt por Mesa *et al.*, 2000, la cual ha sido corroborada por Rondón *et al.*, 2006, Rondón *et al.*, 2007, Rondón *et al.*, 2008, en las poblaciones mestizas aquí consideradas. Probablemente esto también explique que de las siete poblaciones comparadas, las amerindias y las mestizas fueron las más endogámicas, a razón de que comparten un importante componente genético amerindio el cual presenta homocigosis causada por las prácticas matrimoniales que incluyen el establecimiento de castas, como sucede en Awa-Kuaikier en donde cada tres generaciones hay presencia de endogamia intensiva (Zapata, 1997). Sin embargo, no se debe desconocer la posibilidad de que algunos de estos valores puedan estar siendo influidos por el tamaño de muestra pequeño de las poblaciones estudiadas.

El AMOVA (Tablas 3 y 4) indicó que la mayor parte de la variación genética total observada fue atribuible a los individuos, tanto en el análisis realizado para las tres poblaciones afrodescendientes como para los tres grupos étnicos comparados, soportado en los valores de diversidad genética promedio hallados (Tabla 5) y en la heterocigosidad observada exhibida por cada sistema en todas las poblaciones (Tabla 6). Esta observación concuerda con el hecho, bien documentado, que la mayoría de la variación genética total

entre humanos es interindividual (80-90%), y tan solo el 10-20% de esta se debe a diferencias entre poblaciones (Shiver *et al.*, 1997). Adicionalmente, el AMOVA dio indicio de subestructuración genética moderada entre las tres poblaciones afrodescendientes bajo estudio ( $F_{ST}=0,098$ ;  $p<0,05$ ), posiblemente a causa del aislamiento genético presentado por la población de Mulaló respecto a las demás, corroborado por las bajas tasas de migración y distancias genéticas encontradas para esta (Tabla 5). Precisamente en Mulaló se obtuvo el valor más alto de endogamia entre las muestras afrodescendientes de este estudio, lo que puede ser explicado por registros históricos que indican su calidad de aislado poblacional conformado por descendientes directos de familias de esclavos africanos, el cual presentó matrimonios endogámicos principalmente hasta antes de la abolición de la esclavitud en 1851, por lo que permaneció cerrado al contacto con otras comunidades humanas (Garcés, 2007).

Adicionalmente se encontró subestructuración genética alta entre los tres grupos étnicos comparados ( $F_{ST}=0,26723$ ;  $p<0,05$ ), siendo este resultado acorde con lo esperado para estos linajes humanos que tienen distinta procedencia e historia demográfica, las cuales estarían reflejadas en acervos genéticos diferentes (Zapata, 1997); además coincide con estudios realizados por Yunis *et al.*, 1999, Yunis *et al.*, 2000 y Cifuentes *et al.*, 2002, los cuales encontraron diferencias significativas en la distribución de las frecuencias alélicas promedio para varios STR's en poblaciones pertenecientes a distinta filiación étnica del centro, noroccidente y suroccidente colombiano, al parecer, debido a algún tipo de aislamiento, ya sea por barreras geográficas, socioculturales o lingüísticas.

Las distancias genéticas pareadas favorecieron en mayor cuantía la relación entre Tumaco y Buenaventura (Tabla 5), sustentada en la mayor tasa de migración estimada para estas poblaciones (34,298), posiblemente facilitada por su ubicación costera y porque cuentan con los puertos marítimos más importantes del Pacífico colombiano. El mismo comportamiento fue encontrado al interior de las poblaciones amerindias y de las poblaciones mestizas, lo que podría responder a que comparten una misma filiación étnica y al flujo génico estimado entre estas (Tabla 5). Al respecto, el árbol NJ (Fig. 2) mostró la relación más cercana entre las muestras amerindias Coyaima y Awa-Kuaikier con las mestizas del Valle del Cauca y Cauca (Cluster 2), y el carácter ancestral de las poblaciones afrodescendientes (Cluster 1). Este resultado da sustento a la idea del flujo genético mantenido entre estos tres grupos étnicos y, en mayor cuantía, entre las poblaciones amerindias y mestizas analizadas, soportado por las distancias genéticas y las tasas de migración encontradas en el presente estudio (Tabla 5), además del indicio genético mencionado de matrilinealidad amerindia de estas poblaciones mestizas del suroccidente colombiano (Rondón *et al.* 2006).

Por su parte, la prueba de desequilibrio de asociación mostró que únicamente en la población amerindia de Coyaima existen dos parejas de loci (vWA-CSF1PO, P exacto: 0,00020; FGA-CSF1PO, P exacto: 0,00050) exhibiendo desviaciones estadísticamente de los valores esperados bajo la hipótesis nula de independencia alélica ( $p<0,001$ ), siendo común entre estas parejas el locus CSF1PO, lo que estaría mostrando una gran representatividad de loci asociados que se mantienen en esta población que pasan de una generación a otra por eventos aleatorios no relacionados a recombinación durante la formación de los gametos, dado que ninguna pareja de STR's se encuentra ubicado en el mismo cromosoma (Rondón *et al.*, 2006).

Finalmente, los altos valores obtenidos en los parámetros poblacionales poder de discriminación y probabilidad de exclusión combinados ( $>0,99$ ) calculados a partir de los ocho sistemas *STR*'s empleados, confirman su informatividad y utilidad para la realización de pruebas de identificación personal, de pruebas de paternidad disputada y en el estudio de las relaciones familiares de individuos afrodescendientes de la región suroccidente de Colombia, según los estándares internacionales que se han planteado para los valores de los parámetros mencionados (Vallejo de Torres, 2004).

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a las personas de las comunidades afrodescendientes del suroccidente colombiano que al donar su sangre hicieron posible el desarrollo de esta investigación. Al Grupo de Investigación en Genética Molecular Humana del Departamento de Biología de la Universidad del Valle, por la infraestructura facilitada y por la colaboración de sus integrantes. A la Armada Nacional de Colombia y al biólogo Fernando Rondón por la consecución de las muestras de sangre de la población de Tumaco, al biólogo Cristian Fong por las muestras de Buenaventura, y al biólogo Héctor Garcés por las de Mulaló. A la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Valle y a la Armada Nacional por la financiación parcial de este estudio. A COLCIENCIAS por el apoyo económico a la Joven Investigadora Sandra Guauque-Olarte.

### BIBLIOGRAFÍA

BARBARY O, URREA F, editores. Gente Negra en Colombia: Dinámicas Socio-políticas en Cali y el Pacífico. Colombia: Editorial Lealon CIDSE/UNIVALLE-IRD COLCIENCIAS; 2004.

BRAVO ML, MORENO MA, BUILES JJ, SALAS A, LAREU MV, CARRACEDO A. Autosomal STR genetic variation in negroid Chocó and Bogotá populations. *Int J Legal Med.* 2001;115:102-104.

BUTLER JM, SCHOSKE R, VALLONE PM, REDMAN JW, KLINE MC. Allele Frequencies for 15 Autosomal STR Loci on U.S. Caucasian, African American, and Hispanic Populations. *J Forensic Sci.* 2003;48(4):1-4.

CIFUENTES L F. Caracterización de las frecuencias alélicas de tres sistemas de secuencias cortas repetidas en tándem (*STR*'s) para poblaciones aisladas del centro y suroccidente colombiano [Trabajo de pregrado]. Cali: Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad del Valle; 2001.

CIFUENTES L, BONILLA V, CÁRDENAS H, BARRETO G. Análisis genético de diferentes grupos étnicos del suroccidente colombiano mediante 6 sistemas de *STR*'s en: II Congreso Internacional y V Congreso Colombiano de Genética. 23 al 26 de abril de 2002. Bogotá, Universidad Nacional de Colombia; 2002.

EXCOFFIER L, LAVAL G, SCHNEIDER S. Arlequin version 3.1: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinf Online* [serial online] 2005; 1: 47-50. Disponible en: <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3/>

FUENTES-PARDO AP. Composición genética de seis aislados poblacionales afrodescendientes de la costa pacífica colombiana mediante el análisis de seis sistemas

STR's autosómicos. [Trabajo de pregrado]. Cali: Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad del Valle; 2008.

GARCÉS HA. Caracterización de la estructura genética de una población aislada de afrodescendientes del Valle del Cauca. [Trabajo de pregrado]. Cali: Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad del Valle; 2007.

HAMMOND HA, JIN L, ZHONG Y, CASKEY C T, CHAKRABORTY R. Evaluation of 13 Short Tandem Repeat Loci for Use in Personal Identification Applications. *Am J Hum Genet.* 1994;55:175-189.

HARTL DL, CLARCK AG. Principles of population genetics. 3° ed. Massachusetts: Sinauer Associates Inc.; 1997.

HUSTON KA. Statistical Analysis of STR Data. *Profiles in DNA.* 1998;1(3):14-15.

JIN L, UNDERHILL PA, BUONCRISTIANI MR, ROBERTSON JM. Defining microsatellite alleles by genotyping global indigenous human populations and non-human primates. *J Forensic Sci.* 1997;42(3):496-499.

KIMPTON CP, WALTON A, URQUHART A, MILLICAN ES, ADAMS M. Automated DNA profiling employing multiplex amplification of short tandem repeat loci. *PCR Methods Appl.* 1993;3:13-22.

MARTÍNEZ B, CARABALLO L, GUSMÃO L, AMORIM A, CARRACEDO A. Autosomic STR population data in two Caribbean samples from Colombia. *Forensic Sci Int.* 2005;152:79-81.

MESA NR, MONDRAGON MC, SOTO ID, PARRA MV, DUQUE C, ORTIZ-BAYESTEROS D, *et al.* Autosomal, mtDNA and Y-chromosome diversity in amerinds: Pre- and Post-Columbian patterns of gene flow in south América. *Am J Hum Genet.* 2000;67:1277-1286.

MILLER SA, DYKES DD, POLESKY HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cell. *Nucl Acids Res.* 1988;12:1215.

NEI M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics.* 1978;89:583-590.

MORONI R, GASBARRA D, ARJAS E, LUKKA M, ULMANEN I. Effects of reference population and number of STR markers on paternity testing. *Forensic Sci Int. Genetics Supplement Series.* 2008; doi:10.1016/j.fsigss.2007.10.102.

POLYMERPOULOS MH, XIAO H, RATH DS, MERRIL CR. Tetranucleotide repeat polymorphism at the human tyrosine hydroxylase gene (TH). *Nucl Acids Res.* 1991;19(13):3753.

RONDÓN F, OROBIO R F, BRAGA YA, CÁRDENAS H, BARRETO G. Estudio de Diversidad Genética de Cuatro Poblaciones Aisladas del Centro y Suroccidente Colombiano. *Salud UIS.* 2006;38:12-20.

RONDÓN F, BRAGA Y, BARRETO G. Análisis de la diversidad y el grado de estructura genética presente en poblaciones humanas colombianas a partir del uso de marcadores RFLP's de mtDNA. *Rev Asoc Colom Cien Biol.* 2007;19:94-103.

RONDÓN F, OSORIO JC, PEÑA ÁV, GARCÉS HA, BARRETO G. Diversidad genética en poblaciones humanas de dos regiones colombianas. *Colombia Médica.* 2008;39(Abril-Junio)(Supl 2):52-60.

SHRIVER MD, SMITH M W, JIN L, MARCINI A, AKEY J M, DEKA R, *et al.* Ethnic-Affiliation Estimation by Use of Population-Specific DNA Markers. *Am J Hum Genet.* 1997;60:957-964.

SLATKIN M. A Measure of Population Subdivision Based on Microsatellite Allele Frequencies. *Genetics*. 1995;139:457-462.

TAMURA K, DUDAHEY J, NEI M, KUMAR S. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol*. 2007;24:1596-1599.

URQUHART A, KIMPTON C P, DOWNES T J, GILL P. Variation in short tandem repeat sequences—a survey of twelve microsatellite loci for use as forensic identification markers. *Int J Legal Med*. 1994;107:13-20.

URQUHART A, OLDROYD N J, KIMPTON C P, GILL P. Highly discriminating heptaplex short tandem repeat PCR system for forensic identification. *BioTechniques*. 1995;18(1):116-121.

VALLEJO DE TORRES G. La investigación biológica de la paternidad. (Informe técnico). Centro de Estudios Jurídicos, Ministerio de Justicia. España; 2004.

YUNIS J J, BAENA A, GARCÍA O, URIARTE I, YUNIS E. Population frequencies for CSF1PO, TPOX, TH01, F13A01, FES/FPS and vWA in seven amerindian populations from Colombia: The Ninth international symposium on human identification. Promega Corporation. Estados Unidos; 1999.

YUNIS J J, GARCÍA O, URIARTE I, YUNIS E J. Population data on 6 short tandem repeat loci in a sample of Caucasian-Mestizos from Colombia. *Int J Legal Med*. 2000; 113:175-178.

ZAPATA M. La rebelión de los genes: El mestizaje americano en la sociedad futura. Colombia: Ediciones Altamir; 1997.

ZHIVOTOVSKY L A, ROSENBERG N A, FELDMAN M W. Features of Evolution and Expansion of Modern Humans, Inferred from Genomewide Microsatellite Markers. *Am J Hum Genet*. 2003;72:1171-1186.

ZULIANI G, HOBBS H H. Tetranucleotide repeat polymorphism in the LPL gene. *Nucl Acids Res*. 1990;18:4958.

