

**ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA POBLACIÓN  
HUMANA DE LA CIUDAD DE TRUJILLO, PERÚ, A PARTIR DE MARCADORES  
MOLECULARES DEL CROMOSOMA Y.**



**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales.  
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.**

Pergamino, 31 de octubre de 2016

**ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA POBLACIÓN  
HUMANA DE LA CIUDAD DE TRUJILLO, PERÚ, A PARTIR DE MARCADORES  
MOLECULARES DEL CROMOSOMA Y.**

Trabajo Final de Grado

de la alumna

**CAMILA SALA**

Aprobada por el Tribunal Evaluador

Susana Pistorale  
**Evaluador**

Gabriela Fernández  
**Evaluador**

Laura Jurado Medina  
**Evaluador**

Natalia Ronci  
**Co-Directora**

Graciela Bailliet  
**Directora**

**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales,  
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires**

Pergamino, 31 de octubre de 2016

## **AGRADECIMIENTOS**

Con este trabajo se cierra una etapa muy importante en mi vida, un período de mucho aprendizaje y crecimiento. Quiero dar las gracias a todas las personas que formaron parte de este proceso, a las que estuvieron siempre, a las que me fui cruzando en el camino y a las que se sumaron en este último tiempo.

En primera instancia, quiero agradecer a Graciela por brindarme no solo la oportunidad y el lugar para realizar este trabajo, sino también por el apoyo y la paciencia.

A Natalia, por aceptar ser mi co-directora, por la predisposición y la ayuda en la realización del trabajo.

A Mariela, Marisol y Paula, Claudio, Daniela, Eliana, Laura, Rita y Marina, por todos los momentos compartidos y porque aprendí mucho de cada uno de ellos.

A todas las personas que trabajan en el IMBICE por la buena onda diaria.

A mi familia que ha apoyado incondicionalmente mis decisiones desde el inicio de la carrera.

A mis compañeros y amigos, por hacer más amenas las cursadas y las largas horas de estudio, por los mates, las salidas y las palabras de aliento en momentos difíciles; muy especialmente a Antonella, Rocío, Manuela y Belén.

A la UNNOBA, no sólo por la formación académica, sino también por las oportunidades ofrecidas durante estos años y a todos los docentes de la carrera por su dedicación.

## INDICE

Introducción.....	1
Cromosoma Y.....	2
Filogenia.....	4
Geografía, Cultura y Sociedad.....	7
Hipótesis.....	11
Objetivos.....	12
Materiales y Métodos	
Consideraciones éticas.....	13
Obtención de la muestra.....	13
Extracción del ADN por precipitación salina.....	14
Tipificación de los haplogrupos del cromosoma Y.....	14
Métodos de análisis.....	18
Resultados	
Frecuencia de haplogrupos del cromosoma Y.....	20
Estructuración poblacional.....	21
Distancias genéticas.....	22
Discusión.....	25

Conclusiones.....	30
-------------------	----

Bibliografía.....	31
-------------------	----

## Anexos

I - Constancia de aprobación del proyecto por el comité de Ética del IMBICE.....	40
II – Información para el potencial donante.....	41
III - Encuesta genealógica.....	44
IV – Consentimiento Informado.....	46
V – Composición de los <i>Buffers</i> de extracción.....	48
VI- . Oligonucleótidos empleados para el método de caracterización por AFLP, agregados por grupos de múltiplex.....	49

# **INTRODUCCIÓN.**

El poblamiento de América es un hecho histórico de gran importancia que se ha ido esclareciendo gracias a los diferentes aportes de la antropología, la arqueología y la genética de poblaciones.

El continente americano fue el último en ser habitado por los humanos modernos. Se cree que el inicio de este poblamiento comenzó hace al menos 15.000 años, durante el Pleistoceno tardío (Marangoni y col. 2014). A través de datos genéticos se ha demostrado que los nativos americanos descienden de al menos 3 corrientes migratorias provenientes de Asia. La mayoría de ellos sería descendiente de una única población ancestral que luego de su ingreso a América a través del actual estrecho de Bering, habría experimentado una rápida expansión hacia el sur, a lo largo de la costa del Pacífico hasta colonizar todo el continente. Las poblaciones que llegaron luego, sólo influyeron en la constitución genética de algunas poblaciones de Canadá y Alaska. (Reich y col., 2012).

La escasa variabilidad genética y los datos arqueológicos sugieren que todas las poblaciones nativas de América del Sur descienden de una única población de origen. Si bien no se conocen con exactitud las rutas de dispersión de los primeros habitantes a lo largo de Sudamérica, la hipótesis más aceptada es que la población primitiva habría atravesado el Istmo de Panamá para luego dividirse en dos subpoblaciones. El primer grupo se habría desplazado a lo largo de la costa del Pacífico hacia el extremo sur del continente, y el segundo habría colonizado primero la llanura amazónica y luego habría poblado las serranías andinas desde el este (Fehren-Schmitz y col., 2012).

Se cree que los humanos se dispersaron rápidamente a lo largo de América del Sur, pero manteniendo tamaños poblacionales pequeños. Recién hace alrededor de 5.000 años, con el surgimiento de la agricultura y el sedentarismo, se registran crecimientos exponenciales en determinados puntos del subcontinente (Goldberg y col. 2016). Estas primeras poblaciones habrían ido evolucionando desde cazadores-recolectores hasta dar origen a pueblos que forjaron grandes culturas con un amplio desarrollo tecnológico, en diferentes puntos del subcontinente (Hunefeldt, 2004).

A partir del Siglo XVI, como consecuencia de la conquista española, comenzó un proceso de inmigración y mestizaje que tuvo como resultado la formación de sociedades multiétnicas y multiculturales.

En el Perú moderno se considera mestizas a aquellas personas que hablan español y se comportan de acuerdo a patrones socioculturales que históricamente han sido identificados con los sectores hispánicos de la sociedad. Esto significa que individuos cuyo origen genético sea puramente indígena pueden ser considerados mestizos por su estilo de vida, idioma o comportamiento. De la misma manera, una persona que porta genes provenientes de diferentes etnias, pero vive en una comunidad aborígen y habla Quechua, es considerado indígena (Hunefeldt, 2004). Como consecuencia, los datos obtenidos de censos o encuestas no reflejan la composición genética real de la población, sino más bien un aspecto sociocultural de la misma.

Con base en lo anterior, en el presente trabajo se propone, a través de los linajes del cromosoma Y, determinar la estructura genética por vía paterna de la población actual de Trujillo. Además se propone estimar el grado de diversidad, compararla con la de otras poblaciones del continente y, en particular del norte de Argentina en busca de una posible correlación. Finalmente, se harán inferencias sobre el nivel de mestizaje actual.

### Cromosoma Y

El cromosoma Y, junto con el X, conforman el par sexual en mamíferos y se cree que han evolucionado a partir de un par de autosomas. Evidencia del origen autosómico de los cromosomas sexuales son las regiones pseudoautosómicas localizadas en los extremos de ambos cromosomas. En estas zonas mapean genes homólogos que permiten el apareamiento y recombinación de los cromosoma X e Y durante la meiosis en los machos (Lahn y Page, 1999).

Las regiones no recombinantes de ambos cromosomas se han diferenciado



altamente a lo largo de la evolución y sólo persiste una pequeña similitud de secuencia entre ellos. En el cromosoma X, la mayoría de los genes compartidos con el Y se localizan en el extremo distal del brazo corto, mientras que en el cromosoma Y, se encuentran aislados, o formando pequeños grupos a lo largo de la porción eucromática.

Se postula que la evolución de los cromosomas sexuales humanos se llevó a cabo mediante al menos cuatro eventos, presumiblemente inversiones en el cromosoma Y. Cada uno de estos eventos suprimió la recombinación en una región específica del par de cromosomas. Una vez que cesó la recombinación, los genes de la región afectada en el cromosoma Y comenzaron a decaer y la mayoría de ellos fueron obliterados. Como una respuesta adaptativa, los genes homólogos en el cromosoma X quedaron sujetos a inactivación por compensación de dosis (Lahn y Page, 1999).

Inicialmente se creía que el cromosoma Y sólo era portador del gen SRY (del inglés *sex-determining region of the Y*) que codifica la proteína TDF ("*testis-determining factor*"), factor de diferenciación de testículos. Este gen es el encargado de determinar el sexo de los embriones humanos. A lo largo del tiempo se fueron descubriendo otros genes (alrededor de 20) situados en este pequeño cromosoma (Tilford y col., 2001), cuyas funciones se relacionan con el proceso de espermatogénesis y el desarrollo de caracteres secundarios masculinos (López y Jones, 2006).

El estudio de la región exclusiva del cromosoma Y, como consecuencia de la ausencia de recombinación, se ha transformado en una herramienta inestimable para dilucidar eventos históricos de las poblaciones humanas actuales. Debido a la tasa mutacional intermedia entre los autosomas y el cromosoma X, permite la detección de diferenciaciones genéticas a nivel regional (Jobling y Tyler-Smith, 2003).

El análisis de la región no recombinante del cromosoma Y humano ha sido aplicado en disciplinas como la genética evolutiva, la genética forense, la genética médica y

la reconstrucción genealógica.

## Filogenia

A partir de 243 marcadores bialélicos (marcadores de polimorfismo de nucleótido simple; *single nucleotide polymorphism*, SNPs) del cromosoma Y, fue construida una filogenia por parsimonia y se generó una nomenclatura de referencia (Underhill y col., 2001; *Y Chromosome Consortium*, 2002). Cuando se combinan los marcadores bialélicos, que determinan los haplogrupos, con los microsatélites, que determinan los haplotipos, se logra definir en forma confiable los linajes del cromosoma Y relacionados filogenéticamente. La abundancia de publicaciones ha permitido definir, dentro de ciertos límites de confianza, la tasa mutacional de cada *locus* de microsatélite (Gusmao y col., 2005). De esta manera se puede estimar la escala temporal para los distintos clados a considerar (Seielstad y col., 2003). Mediante este sistema se han descrito los linajes paternos de distintas áreas geográficas: Asia (Zerjal y col., 2003), África (Tishkoff y col., 2007), Europa (Rootsi y col., 2004) y América (Bolnick y col., 2006; Bortolini y col., 2003). Se ha utilizado también para identificar linajes alóctonos en poblaciones endogámicas (King y col., 2007), y para analizar la concordancia entre los apellidos y los linajes paternos (Immel y col., 2006; Bailliet y col., 2001).

Karafet y colaboradores (2008) realizaron una revisión de la filogenia, reconfiguraron algunos linajes y los re-denominaron siguiendo las premisas de la nomenclatura vigente, a partir del análisis de 600 marcadores bialélicos (SNPs). Posteriormente, en respuesta a la gran cantidad de datos y trabajos publicados gracias a la utilización de nuevas tecnologías de secuenciación, se publicó una filogenia de referencia. Esta última es más concisa y propone nuevos estándares en relación con los marcadores en el cromosoma Y, así como también con la nomenclatura de los haplogrupos (van Oven y col., 2014).

El clado (o haplogrupo) A, considerado uno de los más basales está definido por las mutaciones M91 y P97; el clado B, por su parte se caracteriza por cuatro mutaciones

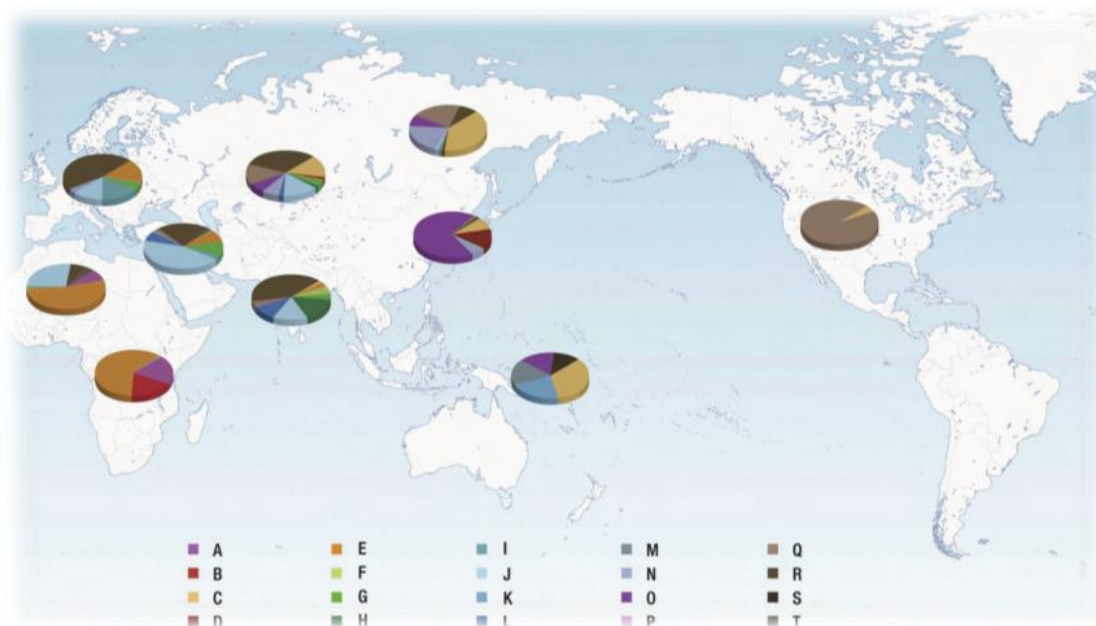
(M60, M181, P85 y P90). Ambos son prácticamente exclusivos de la región de África Subsahariana. El haplogrupo C, que se define por las mutaciones RPS4Y711, M216, P184, P255 y P260 no ha sido detectado en poblaciones de África Subsahariana, lo que sugiere que se originó en Asia luego de la migración de los humanos modernos fuera de África. El paragrupo ancestral del haplogrupo C, y la mayoría de sus sublinajes se encuentran comúnmente en Asia y Oceanía, pero se encontró que el subclado C3b es exclusivo de poblaciones de América del Norte. No se han encontrado cromosomas pertenecientes al haplogrupo D fuera de Asia, lugar donde probablemente se originó. Los linajes D son hallados comúnmente en Asia central y Japón y también en el sudeste asiático, aunque en baja frecuencia. Este haplogrupo cuenta con dos mutaciones que lo definen: M174 y JST021355. El clado E está definido por 18 mutaciones (SRY4064, M96, P29, P150, P152, P154, P155, P156, P162, P168, P169, P170, P171, P172, P173, P174, P175, and P176) y se encuentra en altas frecuencias en África, en proporciones moderadas en Medio Oriente y el sur de Europa y ocasionalmente en el centro y sur de Asia.

El haplogrupo F se caracteriza por el estado derivado del marcador M89 y su distribución se asocia con la colonización de Eurasia por los humanos modernos. Dentro de este clado se encuentran los subhaplogrupos G, H, I, J y K. El haplogrupo G a su vez se divide en G1 (definido por M285 y M342) y G2 (caracterizado por P287) y ambos se encuentran presentes en Medio Oriente, el Mediterráneo y las montañas del Cáucaso. El haplogrupo H presenta estado derivado para el marcador M69 y su distribución geográfica se encuentra casi completamente restringida al subcontinente indio. El clado I se divide en dos subclados mayores: I1, caracterizado por los marcadores P30, P40, M253, M307 y M450; e I2, definido por el estado derivado para P215. Este haplogrupo es uno de los más representados en los cromosomas Y europeos y se encuentra virtualmente ausente en el resto del mundo, el subclado I1 es más común en el norte del continente mientras que I2 prevalece en el este de Europa y los Balcanes. Las mutaciones 12f2a, M304 y P209 definen al haplogrupo J. Además del paragrupo (J\*), existen los subclados J1 y J2, que presentan estado derivado para los marcadores M267 y M172, respectivamente. Estos linajes se encuentran presentes en altas frecuencias en poblaciones de Medio

Oriente, norte de África, Europa, Asia central, Pakistán y la India.

El clado K se define por el estado derivado en el sitio M9 y contiene a los linajes L, M, N, O, P, Q, R, S y T. Se han definido cuatro subclados diferentes, además del paragrupo (K\*), presentes en poblaciones de la India, Oceanía e Indonesia. El haplogrupo L se define a través de seis mutaciones (M11, M20, M22, M61, M185, and M295), y existe además el paragrupo (L\*). La mayoría de los cromosomas Y pertenecientes a este haplogrupo fueron hallados en el subcontinente indio, pero también está presente en Medio Oriente, Asia central, el norte de África y a lo largo de la costa del Mediterráneo. El haplogrupo M se encuentra conformado por los subclados M1 (definido por M4, M5=P73, M106, M186, M189, M296 y P35), M2 (caracterizado por M353 y M387) y M3 (con estado derivado para P117 y P118). Este haplogrupo se encuentra restringido geográficamente a Oceanía y al este de Indonesia. La mutación M231 define al clado N, el cual se encuentra principalmente en el norte de Eurasia. El clado O, caracterizado por las mutaciones M175, P186, P191 y P196, es el haplogrupo mayoritario en el este de Asia, pero también ha sido encontrado en Asia central y Oceanía, con frecuencias moderadas o bajas. El linaje P consiste en dos haplogrupos ampliamente distribuidos: Q y R. Q, caracterizado por la mutación M242 cuenta con 13 subclados y se distribuye ampliamente en el norte de Eurasia. Presenta altas frecuencias en grupos siberianos y bajas en Europa, este de Asia y Medio Oriente; es además el linaje mayoritario entre los nativos americanos. El paragrupo indiferenciado Q\* se observa en bajas frecuencias en la India y Pakistán y además fue identificado en poblaciones del continente americano (Grugni y col., 2012; Dulik y col., 2012). El subhaplogrupo Q1a2a1a1, caracterizado por la transición C-T en el marcador M3 (Underhill y col., 2001), es prácticamente exclusivo del continente americano (Underhill y col., 1996; Bianchi y col., 1997, Bortolini y col., 2003; Zegura y col., 2004). El clado R se identifica a través de ocho mutaciones: M207, M306, P224, P227, P229, P232, P280 y P285 y comprende un total de 28 subclados. La mayoría de los cromosomas Y europeos pertenecen a este haplogrupo. Las mutaciones M230, P202 y P204 caracterizan al clado S, el cual se encuentra predominantemente en Oceanía e Indonesia. El haplogrupo T, se caracteriza por cuatro marcadores: M70, M193, M272, and USP9Y + M184 y fue

hallado en bajas frecuencias en Medio Oriente, África y Europa.



**Figura 1.** Diagrama de la distribución geográfica de los haplogrupos del cromosoma Y en todo el mundo. Tomado de Karafet y col. (2008).

### Geografía, Cultura y Sociedad

Se estima que en el actual territorio de Perú, se han desarrollado diferentes culturas desde aproximadamente el año 10.000 AP (antes del presente). Estudios arqueológicos aportan evidencias del establecimiento de civilizaciones con altos niveles de organización social y desarrollo tecnológico. El máximo exponente fue el gran Imperio Inca, que experimentó su máximo apogeo entre los siglos XV y XVI (Hunefeldt, 2004).

En 1532, el conquistador español Francisco Pizarro y sus hombres arribaron al actual Perú y se encontraron con un imperio Inca políticamente debilitado y fragmentado a causa de una guerra civil. En este contexto, la conquista, esclavización y exterminio de los nativos fueron justificados por considerarlos una cultura inferior. Las mujeres aborígenes fueron obligadas a satisfacer las demandas sexuales de los españoles y de esas uniones surgieron los primeros mestizos (Hunefeldt, 2004).

Con la creación del Virreinato del Perú, en 1542, y a lo largo de la etapa colonial continuó la explotación aborigen en beneficio de la corona española y el número de nativos disminuyó drásticamente. Durante este período, Perú recibió dos tipos principales de inmigrantes: por un lado europeos, en su mayoría españoles, y por otro, esclavos procedentes de África que fueron radicados preferentemente en la costa para ocuparse de las plantaciones de caña (Hunefeldt, 2004).

Si bien la libertad de vientres fue decretada por San Martín en 1821, luego de proclamar la independencia política del Perú, no fue hasta la década de 1850, cuando el gobierno adquirió poder económico a causa de la exportación de guano (un fertilizante natural obtenido de la acumulación de heces de aves, muy utilizado a nivel mundial) que se decidió terminar finalmente con la esclavitud. En esta misma época (1854-1885) también fueron suspendidos los impuestos que históricamente se habían cobrado a los indígenas por su trabajo. Estas acciones combinadas llevaron un déficit de mano de obra en las plantaciones de la costa. Ante esta situación, las autoridades primero optaron por incentivar la inmigración de europeos, pero resultaron demasiado demandantes para las labores en las que se los requería. Fue entonces que realizaron un convenio con el gobierno de China, para favorecer la inmigración de trabajadores provenientes de ese país. Entre 1840 y 1847, unos 100.000 chinos arribaron a Perú y para realizar las tareas que previamente llevaban a cabo los esclavos. Con el tiempo, estos trabajadores fueron migrando hacia las ciudades (Hunefeldt, 2004).

El progreso económico trajo aparejado un desarrollo socio-cultural y el surgimiento de nuevas ideas inspiradas en el crecimiento de otros países (en especial, Estados Unidos), se llevaron a cabo proyectos de expansión territorial, y se dictaron leyes para promover la inmigración europea. Para 1876, Perú había recibido más de 18.000 inmigrantes provenientes de Europa central (Italia, Francia, España y Alemania). Estas medidas tuvieron poco éxito debido a que existían mejores ofertas por parte de otros países, tales como Argentina, Chile o Estados Unidos, para aquellos que quisieran inmigrar a América (Hunefeldt, 2004).

Mientras que se llevaban a cabo diferentes reformas en relación a los pueblos originarios, los terratenientes requerían mano de obra barata. A fines del siglo XIX llegaron inmigrantes japoneses a suplir esa carencia. Sin embargo, estos trabajadores contaban con contratos de trabajo preestablecidos. Una vez cumplidos sus contratos, muchos se radicaron en la región amazónica y otros continuaron en la costa, llegando a convertirse en propietarios de fincas productoras de algodón y frutales (Hunefeldt, 2004).

Entre 1876 y 1940, la población de Perú creció considerablemente, pero este incremento se vio reflejado casi exclusivamente en la zona de la costa y en las grandes ciudades (Lima, Arequipa, Cuzco y Trujillo). A partir de la década de 1920, comenzó un período de migraciones internas, desde el campo a las ciudades, el porcentaje de la población que residía en zonas rurales cayó de un 65% en 1940 al 30% en 1970 (Hunefeldt, 2004).

La ciudad de Trujillo, capital del departamento de La Libertad, constituye la tercer área metropolitana más poblada del país, después de Lima y Arequipa (Instituto Nacional de Estadística e Informática, 2012). Se localiza sobre la costa del Pacífico, 550 Km al norte de la capital nacional, en el antiguo valle de "Chimo", hoy Valle de Moche o Santa Catalina (Jack y col., 2010)

Hoy en día, la mayor parte de los habitantes de Perú viven en la costa. Una gran proporción de la actividad económica relacionada tanto con la agricultura como la producción de aceite se lleva a cabo en esta región, la cual ha sido históricamente fuente de valiosos recursos (Jack y col., 2010).

Trujillo fue escenario de importantes fenómenos culturales como el de la civilización Moche, que forjó un notable sistema hidráulico y una producción artística excepcional. Luego se erigió Chan Chan, la ciudad de barro más grande del mundo, capital del reino Chimú. La moderna ciudad de Trujillo fue sede importante del gobierno colonial, fundada antes que Lima en 1534, fue capital de Obispado y de la

Intendencia Trujillo, lugar de encuentro y centro de tráfico. Con la independencia del Perú, Trujillo emerge como núcleo de libertad y ahora es un importante centro de desarrollo, en continuo crecimiento que se destaca en el norte peruano (Jack y col., 2010).



**HIPÓTESIS.**

Teniendo en cuenta datos censales, registros históricos y publicaciones anteriores (Carbajal Caballero y col., 2005; Cabana y col., 2015), se plantean las siguientes hipótesis:

- La frecuencia de los linajes autóctonos en la población de Trujillo sería cercana al 40%.
- La frecuencia de los linajes alóctonos en la población estudiada sería cercana al 60%, con mayor proporción de aquellos característicos de España.
- Existirían semejanzas entre la población de Trujillo y las del norte de Argentina.

**OBJETIVOS.**

- Identificar y caracterizar linajes autóctonos y alóctonos para la población de Trujillo, a través del análisis de SNPs que permiten diferenciar a los linajes propios de América, Europa, Medio Oriente y África.
- Determinar las relaciones filogenéticas entre la población urbana de la ciudad de Trujillo con otras poblaciones sudamericanas, en especial del norte de Argentina.
- Evidenciar fenómenos del poblamiento y contacto entre la población en estudio y poblaciones de Argentina a partir de las bases de la genética molecular poblacional. Correlacionar los resultados con datos moleculares comparables obtenidos por otros profesionales de la disciplina Antropología Biológica.

**MATERIALES Y MÉTODOS.**

## Consideraciones éticas

Los donantes son personas que asisten al centro de salud y que voluntariamente expresan el consentimiento de participar del proyecto. Ellos aportan material biológico e información básica del lugar de nacimiento de sus padres y abuelos. Las muestras biológicas son anonimizadas al llegar al laboratorio. El proyecto consta de la aprobación del Comité de Ética del IMBICE y la aprobación de la unidad de Salud a partir de la cual se contactaron los donantes (Anexo I).

## Obtención de la muestra

La toma de muestras se llevó a cabo en el año 2013, previo al comienzo del presente trabajo. Los donantes fueron contactados a través de diferentes centros de salud, tanto públicos como privados.

Antes de la toma de muestra se colocaron 50-100  $\mu$ L de anticoagulante EDTA 0,5M en tubos cónicos de 15 mL debidamente rotulados y se entrevistó al potencial donante respecto de la posibilidad de participar en el proyecto (Anexo II). A aquellos que aceptaron, se les tomaron encuestas genealógicas (Anexo III) y se les pidió completar un formulario de Consentimiento Informado (CI) (Anexo IV).

Se extrajeron muestras de sangre total de entre 8 y 12 mL. Esas muestras fueron posteriormente centrifugadas hasta separar claramente tres fases correspondientes a plasma, glóbulos blancos y glóbulos rojos (desde arriba hacia abajo).

El paquete de glóbulos blancos fue trasvasado a un tubo de 15 mL con *Red Cell Lysis Buffer* (RBLC, Anexo V). Se centrifugó hasta precipitar las células y dejar el sobrenadante limpio de partículas. Ese sobrenadante fue descartado y los glóbulos blancos se resuspendieron en el pequeño volumen de RBLC remanente. Finalmente se agregaron 2-3 mL de *White Cell Lysis Buffer* (WCLB, Anexo V).

Los glóbulos blancos así tratados pudieron permanecer en condiciones de campo

sin alterarse. Para ahorrar espacio se transfirió el lisado a tubos con tapa a rosca de 2 mL.

De esta forma se obtuvieron en total 288 muestras correspondientes a individuos de ambos sexos, residentes de la ciudad de Trujillo.

#### Extracción del ADN por precipitación salina

Una vez en el laboratorio, el extracto de glóbulos blancos de cada muestra se trasvasó a un tubo de 15 mL, se llevó a 4 mL con WCLB y se añadieron 20 µl de SDS para terminar de lisar las células. Se dejó rotando hasta obtener un lisado homogéneo.

Luego se procedió a agregar solución saturada de cloruro de sodio y centrifugar a máxima velocidad para precipitar las proteínas. Se recuperó el sobrenadante, se le añadió un volumen de isopropanol frío, se mezcló por inversión y se centrifugó a máxima velocidad para obtener un precipitado de ADN.

Por último, se realizó un lavado con etanol 70%, se secó y se resuspendió en 500 µl de TE.

Una vez finalizada la extracción del material genético del total de muestras, en base a la información proporcionada por los donantes, se seleccionaron aquellas pertenecientes a individuos de sexo masculino para continuar con el estudio. Aquellas correspondientes a individuos de sexo femenino fueron conservadas en la colección de ADN del IMBICE para futuras investigaciones.

#### Tipificación de los haplogrupos del cromosoma Y

Se recurrió a un método de amplificación alelo-específica para la identificación de un total de 17 marcadores bialélicos (SNPs) que determinan haplogrupos autóctonos y alóctonos para América en reacciones PCR-AFLP multiplex (Jurado Medina y col.,

2014).

Fueron utilizados un conjunto de oligonucleótidos previamente diseñados para identificar los haplogrupos reportados como los más frecuentes en poblaciones de Argentina (Bailliet y col., 2011): E, F, G1, G2, I1, J1, J2, K, Q, R y R1, mediante la tipificación de los SNPs P152, M89, M285, P87, M253, M267, M172, M9, M242, M207 y M173 respectivamente. Se tipificaron además Q1a2 y Q1a2a1a1, subhaplogrupos del clado Q por medio de los SNPs M346 y M3 y los subhaplogrupos R1a, R1b, R1b1b y R1b1c, utilizando los marcadores SRY10831.2, M343, P297 y M335.

El método utilizado consiste en emplear para cada SNP un trío de oligonucleótidos o cebadores: dos de ellos reconocen alternativamente la secuencia para el carácter derivado y ancestral. Éstos se diferencian por tamaño mediante la adición de una cola de nucleótidos no complementaria. El tercero que delimita el tamaño del fragmento.

Los marcadores se organizaron en 4 reacciones de PCR múltiplex y un monoplex (Anexo VI).

Cada grupo de cebadores o *primers* se amplificó en un volumen final de reacción de 10 µL, con aproximadamente 1 ng de ADN molde, 0,025 U de polimerasa de ADN (*Platinum™ Taq DNA Polymerase*, Invitrogen), 0,75 mM de MgCl<sub>2</sub>, tampón (*Buffer*) de reacción 1x, iniciadores o '*primers*' (Anexo VI), 100 µM de deoxinucleósido trifosfato (dNTPs) y agua ultrapura, para completar el volumen final.

Las reacciones se llevaron a cabo en un termociclador T3000 (Biometra), con el siguiente programa: después de 4 minutos de desnaturalización a 94°C, se llevaron a cabo 33 ciclos de amplificación (1 minuto a 94°C, 1 minuto a 56°C, y 1,5 minutos a 72°C), seguidos por una extensión final a 72°C por 10 minutos.

Todas las muestras fueron inicialmente amplificadas por el múltiplex I (Figura 4.2-A).



Aquellos individuos que fueron asignados al haplogrupo Q por medio del múltiplex I (estado derivado para M242), se amplificaron a través del multiplex II para discriminar los diferentes subhaplogrupos del mismo (Figura 4.2-B).

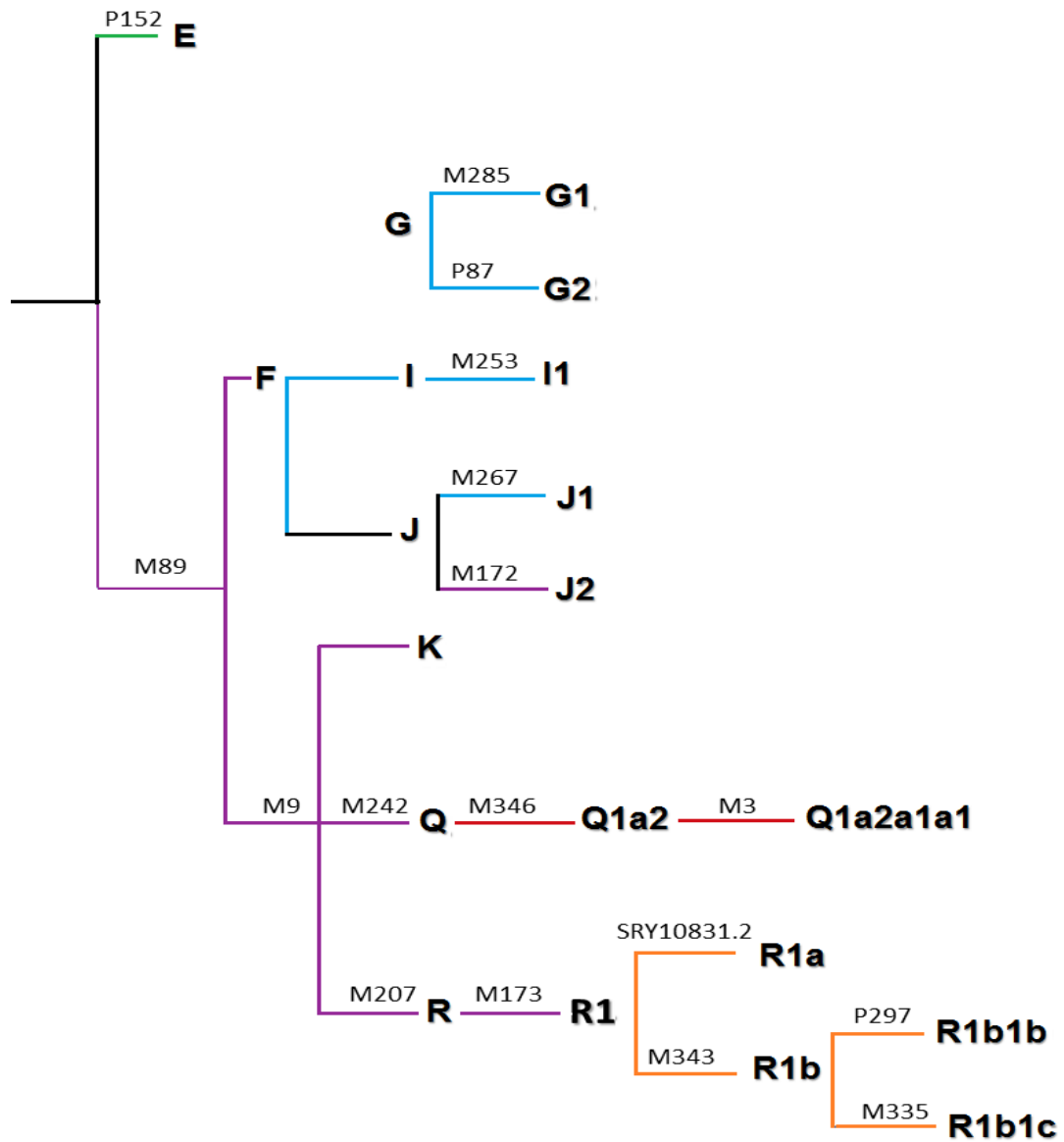
En el caso de las muestras que mostraban un estado derivado para M89, pero ancestral para M9 y M172, fueron asignadas al haplogrupo F y luego se amplificaron con el múltiplex III para identificar los subhaplogrupos G1, G2, I1 y J1 (Figura 4.2-C).

Cuando se detectó el estado derivado de M207 y M173, indicando la presencia del haplogrupo R1, se analizó el múltiplex IV, para indagar acerca de la presencia de mutaciones que identifiquen los subhabplogrupos R1a, R1b, R1b1b, o R1b1c (Figura 4.2-D).

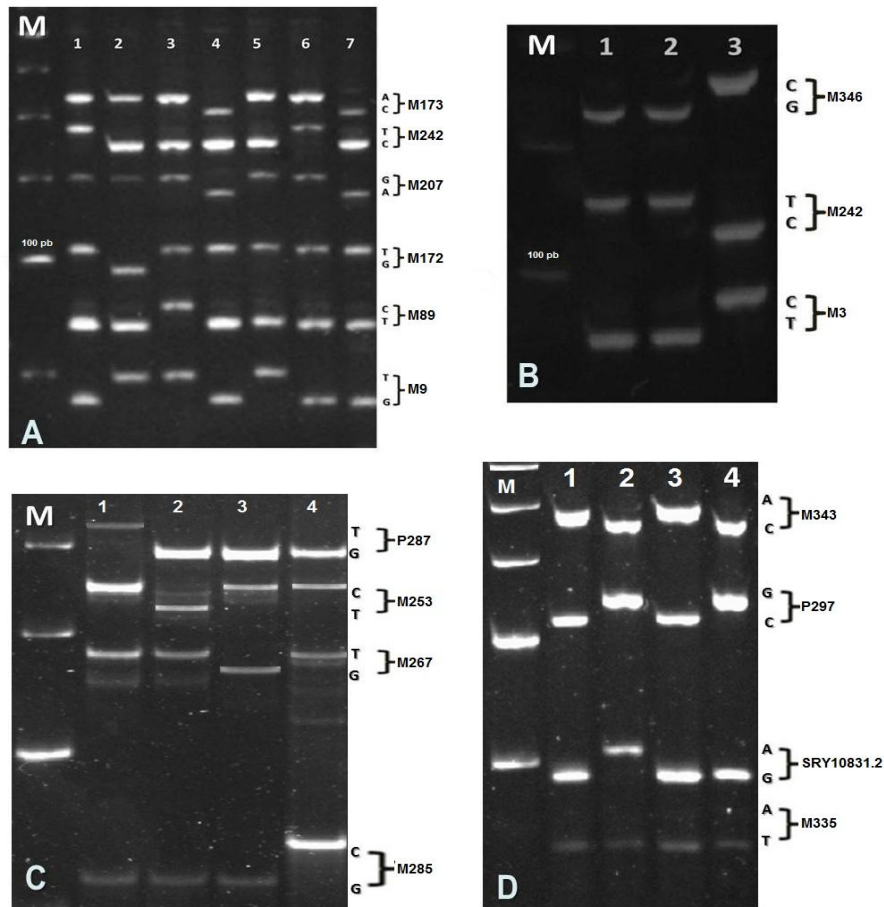
Para las muestras en las que todos los SNPs se encontraran en su estado ancestral, se procedió a testear el marcador P152 para determinar si pertenecían al haplogrupo E.

Las ventajas del uso del método de PCR-AFLP radica en que facilita el procesamiento de las muestras, la co-amplificación permite minimizar los errores de rotulación y asignación de resultados y ahorrar material biológico. El sistema no necesita enzimas de restricción, ni sondas marcadas, se resuelve en geles de acrilamida neutra (10%) de 20 cm de longitud.

Se obtuvieron bandas de entre 60 y 160 pares de bases, que fueron detectadas por tinción con Gel Red.



**Figura2:** Árbol filogenético humano simplificado del cromosoma Y humano, en el que se hallan resaltados en rojo el haplogrupo nativo de América y en azul los haplogrupos alóctonos (Europa, Medio Oriente y África) considerados en este trabajo (Tomado de Jurado Medina, 2015).



**Figura 3:** Bandas obtenidas para los APLPS de los haplogrupos del cromosoma Y. A: múltiplex I. B: múltiplex II. C: múltiplex III. D: múltiplex IV. Con marcador de peso molecular (M) de 25-bp (Invitrogen).

### Métodos de análisis

Se utilizaron datos de las localidades argentinas de La Quiaca, Maimará, San Salvador de Jujuy, Salta, Santa María, Belén, San Miguel de Tucumán, Santiago del Estero, Calingasta, Catamarca, San José, La Rioja, San Juan, Chepes, Lavalle, Mendoza y Malargüe, tipificadas previamente en el laboratorio de Genética Molecular de Poblaciones del IMBICE. A partir de los mismos se realizaron comparaciones y se indagó acerca de posibles relaciones filogenéticas y evidencias de fenómenos del poblamiento.

A partir de las frecuencias haplotípicas encontradas en la población en estudio, y a

fines de compararlas con las poblaciones del NOA y Cuyo, se utilizó el programa Arlequin 3.0 (Excoffier y Schneider, 2005), calculando los siguientes parámetros:

- ✓ La diversidad haplotípica, definida como la probabilidad de que dos alelos, tomados al azar de una muestra, sean diferentes entre sí. Para esto se empleó la fórmula de Nei (1987). Mientras mayor sea esta probabilidad, más diversa será la muestra y, por ende, también la población de la que fue tomada (Nei y col. 1972).
- ✓ El grado de variabilidad entre y dentro de las poblaciones (Excoffier y Schneider, 2005), calculando AMOVA (subdivisión jerárquica de la varianza).
- ✓ Para medir el grado de diferenciación entre las poblaciones se tuvo en cuenta los valores de  $F_{st}$  (Excoffier y col. 1992). Estos últimos miden el grado diferencial de variación genética entre las poblaciones y compara el promedio de diversidad genética encontrado dentro de cada una en relación a la población total. Los valores de  $F_{st}$  varían entre 0 y 1. Cuando el flujo génico es alto y existe poca diferenciación entre dos poblaciones, se aproxima a cero.

Las similitudes genéticas entre poblaciones se analizaron a través del Análisis de componentes principales (PCA) utilizando el software Infostat (Di Renzo y col. 2016). A través de este análisis se logra representar simultáneamente, en un gráfico bi o tridimensional, muestras y variables.

**RESULTADOS.**

## Frecuencia de haplogrupos del cromosoma Y

En la población estudiada el haplogrupo más frecuente fue Q, hallado en el 46,6% de las muestras; dentro de este clado, el subhaplogrupo Q1a2a1a1 representa el 41,6% y Q1a2 el 4% del total de individuos, el 1% restante corresponde al haplogrupo Q\*. El haplogrupo R, fue el segundo mejor representado con el 25,8% de las observaciones; el subclado R1b1b fue el mayoritario abarcando el 21,8% del total, mientras que un 3% fueron asignadas al subhaplogrupo R1 y sólo el 1% a R1a. El siguiente clado en términos de frecuencias fue el F, comprendiendo el 6,9% de los individuos. Los subhaplogrupos de F, J2 y G2 se hallaron, cada uno, en una frecuencia del 4% del total y el haplogrupo K en un 5%. Finalmente, el clado E fue identificado en un 6,9% del total de individuos.

**Tabla 1** Frecuencia de haplogrupos en la población de Trujillo.

Haplogrupos	N	%
E	7	6,9
F	7	6,9
G2	4	4,0
J1	1	1,0
J2	4	4,0
K	5	5,0
Q	1	1,0
Q1a2	4	4,0
Q1a2a1a1	42	41,6
R1	3	3,0
R1a	1	1,0
R1b1b	22	21,8
Total	101	100,0%

## Estructuración poblacional

La mayor proporción de la variabilidad existente se registra dentro de las poblaciones y no entre las mismas. El índice de fijación relativamente bajo ( $F_{st}=0,07289$ ), evidencia también la poca diferenciación entre las poblaciones. No obstante eso, teniendo en cuenta el test exacto de diferenciación poblacional (Raymond y Rousset 1995), se pone de manifiesto la presencia de diferencias significativas entre pares de poblaciones. En particular, la población de Trujillo se diferencia significativamente de gran parte de las localidades argentinas, con excepción de las del NOA.

**Tabla 2** AMOVA de las frecuencias de haplogrupos para las 17 poblaciones analizadas.

Fuente de Variación	G.L.	S.C.	Componentes de Varianza	Porcentaje de Variación
Entre poblaciones	16	43,012	0,03006	7,30
Dentro de poblaciones	1309	499,746	0,38178	92,70
Total	1325	542,758	0,41183	
Índice de Fijación (FST)	0,07298			

GL: Grados de Libertad; SC: Suma de Cuadrados

**Tabla 3.** Test de diferenciación poblacional basado en los valores de Fst. (+) Indica diferencias significativas y (-) diferencias no significativas entre las poblaciones analizadas.

	TRU	LQ	JUU	SAL	SMA	MM	BEL	TUC	SDE	CAL	CAT	LR	SJ	CHE	LV	MZ	MLG
TRU	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LQ	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
JUU	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SAL	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SMA	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+
MM	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BEL	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
TUC	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
SDE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CAL	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+
CAT	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LR	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+
SJ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CHE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
LV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MZ	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
MLG	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

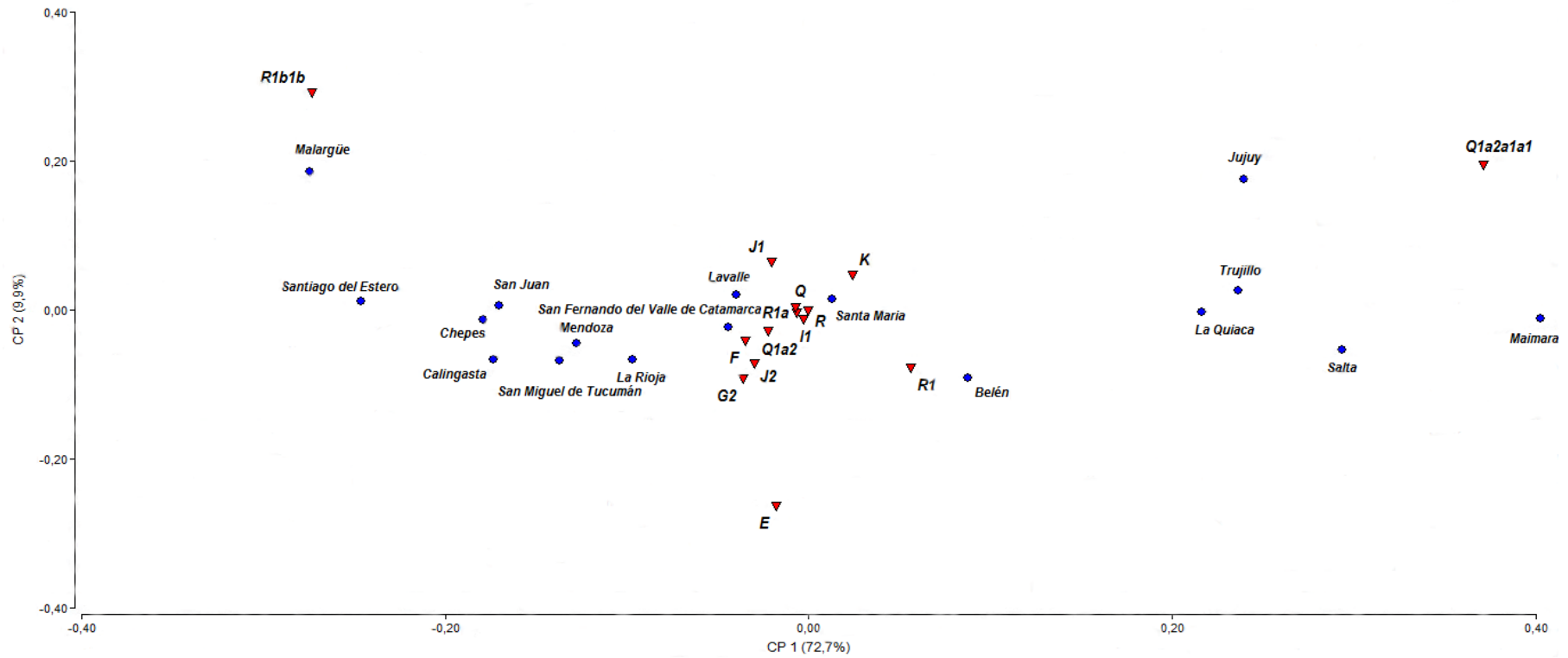
TRU: Trujillo, LQ: La Quiaca, MM: Maimará, JUJ: San Salvador de Jujuy, SAL: Salta, SMA: Santa María, BEL: Belén, TUC: San Miguel de Tucumán, SDE: Santiago del Estero, CAL: Calingasta, CAT: San Fernando del Valle de Catamarca, LR: La Rioja, SJ: San Juan, CHE: Chepes, LV: Lavalle, MZ: Mendoza, MLG: Malargüe.

### Distancias Genéticas

Se llevó a cabo un análisis de componentes principales (ACP) utilizando las frecuencias haplotípicas de las 17 poblaciones consideradas. Teniendo en cuenta dos componentes, se logra representar el 83% de la variabilidad existente en la



muestra. Tal como se observa en la figura 3.1, el componente 1 captura alrededor de un 73% de la variación total, distinguiendo, por un lado la mayor parte de las localidades del Noroeste argentino (NOA) como Maimará, Jujuy, Salta y La Quiaca, y sumada a éstas, Trujillo, con una alta incidencia del haplogrupo Q1a3a. En contraste, el haplogrupo R1b1b, originario de Europa tiene una influencia importante en las poblaciones de Malargüe, Santiago del Estero, Chepes, Calingasta, San Juan, Mendoza, Tucumán y La Rioja. Las localidades de Catamarca, Lavalle, Santa María y Belén forman un grupo intermedio. El segundo componente representa aproximadamente el 10% de la variabilidad y distingue aquellas poblaciones con mayor frecuencia de individuos pertenecientes al haplogrupo E, como Tucumán, Belén, La Rioja y Calingasta, de las que tienen mayor presencia de haplogrupos J1 y K, como Jujuy y Malargüe.



**Figura 4.** Análisis de Componentes Principales. En el eje de las abscisas se representa la CP1 que explica el 72,7% de la variabilidad genética. La CP 2, graficada en el eje de las ordenadas, explica el 9,9% de la variabilidad genética. Los triángulos representan haplogrupos y los círculos, poblaciones analizadas

**DISCUSIÓN.**

El último censo nacional de Perú en el que se registró la composición étnica de la población fue el de 1940. En ese momento, el 52,89% de los habitantes de Perú declaró ser de origen blanco o mestizo, mientras que un 45,86% se identificó como aborigen. Además, el 0,47% del total de individuos censados afirmó ser descendiente de africanos, el 0,68% dijo tener antepasados asiáticos (provenientes de China y Japón) y el 0,10% restante, resultó de raza no declarada (Hunefeldt, 2004).

Se estima que la población andina antes de la conquista superaba los 9 millones de personas y que se redujo drásticamente a 1,3 millones entre 1520 y 1620. En los años siguientes, se produjo un colapso demográfico, contabilizándose alrededor de 600.000 nativos en 1630 y llegando a su número mínimo entre 1718 y 1720. Semejante cantidad de muertes fueron resultado de la devastación y los trastornos causados por las derrotas militares, complicadas por daños psicológicos y el advenimiento de enfermedades europeas a las que los indígenas no tenían inmunidad (Hunefeldt, 2004). Sin embargo, en la muestra de Trujillo, el haplogrupo mayoritario es Q, y en particular el subclado Q1a2a1a1 (M3), considerado característico de las poblaciones nativas americanas (Underhill y col., 1996; Zegura y col., 2004).

El porcentaje en el que se registró el haplogrupo nativo, se asemeja a la proporción de individuos identificados como indígenas en el censo de 1940, a lo reportado para la ciudad de Trujillo por Carbajal Caballero (2005) en un trabajo basado en el elemento polimórfico Alu, y a las frecuencias haplotípicas reportadas en poblaciones de los Andes Centrales Peruanos (Cabana, 2014). Este hallazgo concuerda además con la historia de la ciudad y la región, cuna de importantes culturas precolombinas, que continuaron vigentes luego de la conquista y como foco de importantes actividades económicas. Por un lado, la región recibió migrantes internos durante el período colonial, como consecuencia de una serie de políticas con el objetivo de relocalizar y concentrar las poblaciones indígenas en pueblos, para ser controlados, contabilizados y explotados laboralmente. El establecimiento de estas “reducciones”, significó en muchos casos la adaptación de diferentes grupos étnicos a vivir juntos y

bajo el control del estado colonial. Por otra parte, a partir de la década de 1920, tuvo lugar un nuevo período de migraciones internas, desde el campo a las ciudades, el porcentaje de la población que residía en zonas rurales cayó de un 65% en 1940 al 30% en 1970 (Hunefeldt, 2004).

El segundo linaje, en términos de frecuencias fue R, considerado característico de Europa dada su alta incidencia en ese continente (Underhill y col., 2010; Myres y col., 2011). El subhaplogrupo R1 y dentro de este, R1b1b fue hallado en el 21,6% del total de individuos analizados. La proporción relativamente alta de individuos portadores de cromosomas Y pertenecientes a dicho haplogrupo, está ligada principalmente a la llegada de los conquistadores españoles, que en etapas tempranas fueron casi en su totalidad de sexo masculino. Posteriormente, entre fines del siglo XIX y el siglo XX, se registró el arribo de nuevos inmigrantes procedentes de Europa, en su mayoría de nacionalidad italiana, francesa y española, donde R1b1b está más representado (Hunefeldt, 2004). Las poblaciones de Argentina y Bolivia presentan el mismo patrón en las frecuencias de los subhaplogrupos de R (Corach y col., 2010; Parolin y col., 2012; Cárdenas Paredes, 2014; Jurado Medina, 2015).

Las proporciones en las que se registró el haplogrupo R en Trujillo se asemejan a las de las poblaciones de la región de los Llanos en Bolivia y del NOA, pero son inferiores a las de otras poblaciones de Sudamérica y Centroamérica (Lovo-Gómez y col., 2007, Salas y col., 2008, Acosta y col., 2009, de Azevedo y col., 2009) y de las grandes ciudades argentinas (Corach y col., 2010; Parolin y col., 2012; Cárdenas Paredes, 2014; Jurado Medina, 2015). Esto puede ser consecuencia de la disponibilidad de oportunidades existente el resto del continente durante el siglo XX, lo que ocasionó que un gran número de europeos llegaran se radicaran en zonas donde las posibilidades de trabajar fueran mayores.

El haplogrupo autóctono F, también fue muy frecuente. Este linaje comprende los clados G, H, I, J y K. Dentro del haplogrupo G, se testearon los subhaplogrupos G1 y G2, pero sólo se halló G2 en una proporción de 4 en 100. Esto puede explicarse

teniendo en cuenta el origen de los linajes; G1 se ha registrado en Medio Oriente incluyendo Anatolia, en la península árabe, Irán y el Golfo Pérsico pero se encuentra prácticamente ausente en Europa (Cinnioğlu y col., 2004; Rootsi y col., 2012). En cambio, G2 a pesar de tener una distribución similar a la G1, se encuentra además en Europa Occidental, región desde la cual Perú recibió varias oleadas de inmigrantes (Cinnioğlu y col., 2004; Rootsi y col., 2012).

Se analizó también la presencia del linaje J, y se encontró una mayor proporción de J2, respecto a J1. Estos haplogrupos fueron encontrados en el Cercano Oriente, Norte de África y Europa. J2 tiene una distribución más amplia, como consecuencia de la dispersión árabe a lo largo del continente europeo (Cinnioğlu y col., 2004; Semino y col., 2004). Es probable, por lo tanto que los cromosomas asociados a este clado se hayan introducido en la población de Trujillo a través de inmigrantes provenientes de Europa. En poblaciones argentinas, este haplogrupo se registró en frecuencias de hasta el 25% (Corach y col., 2010; Jurado Medina, 2015), mientras que en Bolivia, las proporciones registradas fueron muy similares a las de Trujillo (Cárdenas Paredes, 2014). Este contraste pone de manifiesto fenómenos migratorios diferenciales entre los países, relacionados probablemente con las políticas de inmigración que cada uno desarrolló a lo largo de su historia. En relación con el haplogrupo J1, se puede comentar que, era de esperarse su baja incidencia debido a que a diferencia de su linaje hermano J2, experimentó una dispersión hacia el Sudeste de Europa, desde donde Perú no recibió inmigrantes pero si otros países de América del Sur, como es el caso de Argentina.

Al igual que en poblaciones del Noroeste de Argentina (Jurado Medina, 2015), no se encontró ningún cromosoma identificado con el haplogrupo I, que se encuentra muy extendido en el norte de Europa, pero es poco frecuente en el resto del mundo (Cinnioğlu y col., 2004; Rootsi y col., 2004). Recientemente, se ha registrado en poblaciones argentinas y bolivianas con frecuencias similares a las de J2 (Corach y col., 2010; Parolin y col., 2012; Cárdenas Paredes, 2015). Es probable que, como en el presente trabajo no se analizó el haplogrupo I1, algunas de las muestras asignadas al clado F (presentaron estado derivado para el marcador M89 pero

ancestral para M172, P287, M253, M267 y M285), correspondan a I2.

El 5% de los cromosomas Y analizados, portadores de la mutación M9, pero que no corresponden al clado Q ni R, fueron asignados al haplogrupo K. Dentro de este grupo se encuentran los subclados L, M, N, O, S y T. Es posible que estos individuos pertenezcan al linaje O, que es característico del este de Asia, de donde Perú recibió inmigrantes en dos momentos históricos diferentes. Proporciones similares se encontraron en poblaciones de Bolivia y Argentina (Cárdenas Paredes, 2014; Jurado Medina, 2015).

Dado que no profundizamos en la caracterización de los subhaplogrupos del clado E, presente en el 6,9% de las muestras, podemos inferir que los individuos identificados con este clado pueden ser descendientes de europeos, al igual que los que corresponden al haplogrupo R, o de africanos. Esclavos procedentes de África llegaron a Perú durante la época colonial para radicarse en la costa y realizar actividades agrícolas o de servidumbre en los hogares de los españoles. La frecuencia de este haplogrupo es asimilable a la de las poblaciones de Bolivia (Cárdenas Paredes, 2014), y la de la mayoría de las poblaciones del NOA (Jurado Medina, 2015).

El bajo nivel de diferenciación entre la muestra de Trujillo y las que corresponden a las regiones del NOA (La Quiaca, San Salvador de Jujuy, Salta, Santa María, Maimará, Belén, San Miguel de Tucumán, Santiago del Estero, Calingasta, Catamarca y La Rioja) y Cuyo (San Juan, Chepes, Lavalle, Mendoza y Malargüe) en Argentina, pueden explicarse, desde una perspectiva histórica, comenzando por la época precolombina. La estructura genética que se observa hoy en día en las poblaciones de los Andes es consecuencia de procesos culturales y políticos (Fehren-Schmitz y col., 2012). Probablemente, el surgimiento de imperio Inca y sus estrategias de expansión y reemplazo (Stanish, 2001; Salazar Burger, 2004; Tung, 2008) haya tenido un impacto en la estructura genética y la conducta migratoria de las poblaciones en el territorio, lo que originó un proceso de homogeneización genética.

En un período de tiempo relativamente corto, los Incas forjaron un enorme imperio, que se extendía desde el actual Ecuador hasta el norte de Chile y las actuales provincias de Tucumán y Mendoza en Argentina. El éxito de este pueblo se debió no solo a su poder militar, sino también a su habilidad para negociar políticamente con sus vecinos (Hunefeldt, 2004).

Puede hablarse de la existencia de una continuidad en el flujo génico entre Perú y Argentina, desde épocas en las que primaba la circulación a través de Sudamérica. La cercanía geográfica, que facilita la comunicación y el transporte, sumada a la similitud cultural relacionada con la existencia de un idioma común y un pasado compartido, hacen de estas migraciones una constante a lo largo de la historia. Además, en las últimas décadas, se destaca una fuerte tendencia de ciudadanos peruanos a migrar hacia Argentina, atraídos por las demandas del mercado laboral (Organización Internacional para las Migraciones, 2012).

Las diferencias observadas entre la población de Trujillo y la mayoría de las de Argentina en cuanto a su composición étnica se deben, presumiblemente, a la cantidad y procedencia de los inmigrantes que cada una de las regiones recibió a partir del siglo XIX. El desarrollo económico es un factor importante en la determinación del asentamiento de los inmigrantes, fundamentalmente cuando se trata de varones. Es por eso, que en torno a las ciudades más grandes se puede apreciar un componente alóctono más acentuado.



**CONCLUSIONES.**

- Se logró identificar y caracterizar linajes autóctonos y alóctonos para la población de Trujillo. Tal como se esperaba, esta población presenta una ancestralidad predominantemente nativa pero cuenta además con una alta influencia de linajes europeo. Dentro de los haplogrupos alóctonos, son mayoritarios los que prevalecen en poblaciones del este del continente, pero también se hallaron cromosomas Y asociados a haplogrupos característicos de otras regiones de Europa, y Asia.
- Los resultados obtenidos son coherentes con la historia migratoria de Sudamérica. La población en estudio se asemeja a las de las localidades de La Quiaca, Jujuy, Salta y Santa María, en el Noroeste de Argentina. Estas últimas se encuentran próximas al límite con Bolivia y han mantenido un flujo de migrantes con países limítrofes y Perú a lo largo del tiempo.

# **BIBLIOGRAFÍA.**

- Acosta, M.A., Blanco-Verea, A., Lareu, M.V., Brion, M., y Carracedo, A. (2009). The genetic male component of two South-Western Colombian populations. *Forensic Science International: Genetics*, 3(2), 59–61
- Bailliet, G., Castilla, E.E., Adams, J.P., Orioli, I.M., Martinez-Marignac, V.L., Richard, S.M., y Bianchi, N.O. (2001). Correlation between molecular and conventional genealogies in Aicuna: a rural population from Northwestern Argentina. *Human Heredity*, 51(3), 150-159.
- Bailliet, G., Ramallo, V., Muzzio, M., Santos, M.R., Motti, J. M.B., Bianchi, N.O., y Bravi, C. M. (2011). Antecedentes y nuevos aportes en el estudio del cromosoma Y en poblaciones humanas Sudamericanas. *Journal of Basic and Applied Genetics*, 22(1), 1-9.
- Bianchi, N.O., Bailliet, G., y Bravi, C.M. (1997). Origin of Amerindian Y-Chromosomes as Inferred by the Analysis of Six Polymorphic Markers. *American Journal of Physical Anthropology*, 102(1), 79–89.
- Bolnick D.A., Bolnick D.I., y Smith D.G. (2006). Asymmetric male and female genetic histories among Native Americans from Eastern North America. *Molecular Biology and Evolution* 23(11), 2161-2174.
- Bortolini, M.C., Salzano, F. M., Thomas, M. G., Stuart, S., Nasanen, S. P. K., Bau, C. H. D., Hutz, M.H., Layrisse, Z., Petzl-Erler, M.L., Tsuneto, L.T., Hill, K., Hurtado, A.M., CastrodeGuerra, D., Torres, M.M., Groot, H., Michalski, R., Nymadawa, P., Bedoya, G., Bradman, N., Labuda, D. y Ruiz-Linares, A. (2003). Y-chromosome evidence for differing ancient demographic histories in the Americas. *American Journal of Human Genetics*, 73(3), 524–539.
- Cabana, G.S., Lewis, C.M., Tito, J.R.Y., Covey, R.A., Cáceres A.M., De La Cruz, A.F., Durand, D., Housman, G., Hulsey, B.I, Iannacone, G.C., López, P.W., Martínez, R., Medina, A., Ortega Dávila, O., Osorio Pinto, K.P., Polo Santillán, S.I., Rojas Domínguez, P., Rubel, M., Smith, H.F., Smith, S.E., Rubín de Celis Massa, V., Lizárraga, B., y Stone, A.C. (2015). Population Genetic Structure of Traditional Populations in the Peruvian Central Andes and Implications for South American Population History. *Human Biology*, 86(3), 147–165.

- Carbajal-Caballero, N., Núñez, S., Narvaiza, M., Aguirre, C., Villanueva, C., Muro, J., y Rodríguez-Delfín, L. (2005). Polimorfismos del cromosoma Y humano en poblaciones de la región norte del Perú. *Revista peruana de Biología*, 12(3), 341–348.
- Cárdenas Paredes, J.M. (2014). Análisis de linajes uniparentales en población Boliviana. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.
- Cinnioglu, C., King, R., Kivisild, T., Kalfog, E., Atasoy, S., Cavalleri, G.L. Lillie, A.S., Roseman, C.C, Lin, A.A., Prince, K., Oefner, P.J., Shen, P., Semino, O., Cavalli-Sforza, L.L. y Underhill, P.A. (2004). Excavating Y-chromosome haplotype strata in Anatolia. *Human Genetics*, 114(2)127–148.
- Corach, D., Lao, O., Bobillo, C., Gaag, K. Van Der, Zuniga, S., Vermeulen, M., van Duijn, K., Goedbloed, M., Vallone, P.M., Parson, W., de Knijff, P., y Kayser, M. (2010). Inferring Continental Ancestry of Argentineans from Autosomal, Y-Chromosomal and Mitochondrial DNA. *Human Mutation*, 26(6)65–76.
- de Azevedo, D.A., da Silva, L.A.F., Gusmão, L., y de Carvalho E.F. (2009). Analysis of Y chromosome SNPs in Alagoas, Northeastern Brazil. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 2(1), 421-422.
- Di Renzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M., y Robledo, C.W. InfoStat versión 2016. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.
- Dulik, M. C., Zhadanov, S. I., Osipova, L. P., Askapuli, A., Gau, L., Gokcumen, O., Rubinstein, S., y Schurr, T. G. (2012). Mitochondrial DNA and Y Chromosome Variation Provides Evidence for a Recent Common Ancestry between Native Americans and Indigenous Altaians. *The American Journal of Human Genetics*, 90(2), 229–246.
- Excoffier, L.G.L., y Schneider, S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1.

- Excoffier, L., Smouse, P.E., y Quattro, J.M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131(2), 479-491.
- Fehren-Schmitz, L., Llamas, B., Tomasto-Cagigao, E., y Haak, W. (2012). El ADN antiguo y la historia del poblamiento temprano del oeste de Sudamérica: Lo que hemos aprendido y hacia dónde vamos. *Boletín de Arqueología PUCP*, 15(1029), 17–42.
- Goldberg, A., Mychajliw, A. M., y Hadly, E. A. (2016). Post-invasion demography of prehistoric humans in South America. *Nature*, 532(7598), 232-235.
- Grugni, V., Battaglia, V., Hooshiar Kashani, B., Parolo, S., Al-Zahery, N., Achilli, A., Olivieri, A., Gandini, F., Houshmand, M., Sanati, M.H., Torroni, A., y Semino, O. (2012). Ancient migratory events in the Middle East: New Clues from the Y-chromosome variation of modern Iranians. *PLoS ONE*, 7(7), e41252.
- Gusmao, L., Sánchez-Diz, P., Calafell, F., Martín, P., Alonso, C.A., Álvarez-Fernández, F., Alves, C., Borjas-Fajardo, L., Bozzo, W.R., Bravo, M.L., Builes J.J., Capilla, J., Carvalho, M., Castillo, C., Catanesi, C.I., Corach, D., Di Lonardo, A.M., Espinheira, R., Fagundes de Carvalho, E., Farfán, J., Figueiredo, H.P., Gomes, I., Lojo, M.M., Marino, M., Pinheiro, M.F., Pontes, M.L., Prieto, V., Ramos-Luis, E., Riancho, J.A., Souza Góes, A.C., Santapa, O.A., Sumita, D.R., Vallejo, G., Vidal Rioja, L., Vide, M.C., Vieira da Silva, C.I., Whittle, M.R., Zabala, W., Zarrabeitia, M.T., Alonso, A., Carracedo, A., y Amorim, A. (2005). Mutation Rates at Y Chromosome Specific Microsatellites. *Human mutation*, 26(6)(6), 520–528.
- Hunefeldt, C. (2004). *A Brief History of Peru*. University of California, San Diego: Facts on file.
- Immel, U.D., Krawczak, M., Udolph, J., Richter, A., Rodig, H., Kleiber, M., y Klintschar, M. (2006). Y-chromosomal STR haplotype analysis reveals surname-

associated strata in the East-German population. *European Journal of Human Genetics*. 14(5), 577-582.

Instituto Nacional de Estadística e Informática. (2012). Perú: Estimaciones y Proyecciones de Población Total por Sexo de las principales Ciudades, 2000-2015. Lima: INEI.

Jack, E., López, N., y López, B. (2010). Plan estratégico de desarrollo integral y sostenible. Municipalidad Provincial de Trujillo.

Jobling, M. A. y Tyler-Smith, C. (2003). The human Y chromosome: an evolutionary marker comes of age. *Nature Reviews: Genetics*, 4(8), 598–612.

Jurado Medina, L. (2015). *Tipificación de marcadores uniparentales en poblaciones mestizas de Argentina*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata.

Jurado Medina, L.S., Muzzio, M., Schwab, M., Bravi Costantino, M. L., Barreto, G., y Bailliet, G. (2014). Human Y-chromosome SNP characterization by multiplex amplified product-length polymorphism analysis. *Electrophoresis*, 35(17), 2524–2527.

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 Research*, 18(5), 830–838.

King, T.E., Bowden, G.R., Belaresque, P.L., Adams, S.M., Shanks, M.E., y Jobling, M.A. 2007. Thomas Jefferson's Y chromosome belongs to a rare European lineage. *American Journal Of Physical Anthropology*, 132(4),583–589.

Lahn, B.T., y Page, D.C. (1999).Chromosome Four Evolutionary Strata on the Human X Chromosome. *Science*, 286(5441), 964–967.

López, K.H., y Jones, R.E. (2006).Human Reproductive Biology; Chapter five: Sexual Differentiation. (Third edition). New York: Academic Press. Pages 127- 148.

- Lovo-Gómez, J., Blanco-Verea, A. Lareu, M. V., Brión, M y Carracedo, A. (2007). The genetic male legacy from El Salvador. *Forensic Science International* 171(2): 198-203.
- Marangoni, A., Caramelli, D., y Manzi, G. (2014). Homo sapiens in the Americas. Overview of the earliest human expansion in the new world. *Journal of Anthropological Sciences*, 92, 79–97.
- Myres, N. M., Rootsi, S., Lin, A. A., Jarve, M., King, R.J., Kutuev, I., Cabrera, V.M., Khusnutdinova, E.K., Pshenichnov, A., Yunusbayev, B., Balanovsky, O., Balanovska, E., Rudan, P., Baldovic, M., Herrera, R. J., Chiaroni, J., Di Cristofaro, J., Villems, R., Kivisild, T., y Underhill, P.A. (2011). A major Y-chromosome haplogroup R1b Holocene era founder effect in Central and Western Europe. *European Journal of Human Genetics*, 19(1), 95-101.
- Nei, M. (1972). Genetic distance between populations. *The American Naturalist*, 106(949),283-292.
- Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.
- Organización Internacional para las migraciones, Oficina Regional para América del Sur. (2012). El impacto de las migraciones en Argentina. Cuadernos migratorios N°2.
- Parolin, M.L., Avena, S. A., Dejean, C.B., Jaureguiberry, S.M., Sambuco, L. A., y Carnese, F.R. (2012). Y-Chromosomal STR haplotype diversity in a sample from The Metropolitan Area of Buenos Aires (Argentina). *Revista del Museo de Antropología*, 5(1), 53-64.
- Raymond, M., y Rousset, F. (1995). An exact test for population differentiation. *Evolution*, 49:1280-1283



Reich, D., Patterson, N., Campbell, D., Tandon, A., Mazieres, S., Ray, N., Tandon, A., Mazieres S., Ray, N., Parra, M.V., Rojas, W., Duque, C., Mesa, N., García L.F., Triana O., Blair, S., Maestre A., Dib, J.C., Bravi, C.M., Bailliet, G., Corach D., Hünemeier, T., Bortolini, M.C., Salzano, F.M, Petzl-Erler, M.L., Acuña-Alonzo, V., Aguilar-Salinas, C., Canizales-Quinteros, S., Tusie-Luna, T., Riba,L., Rodríguez-Cruz, M., Lopez-Alarcón, M., Coral-Vazquez, R., Canto-Cetina, T., Silva-Zolezzi, I, Fernandez-Lopez, J.C., Contreras, A.V., Jimenez-Sanchez, G., Gómez-Vázquez, M.J., Molina, J., Carracedo, A., Salas, A., Gallo,C., Poletti, G., Witonsky, D.B., Alkorta-Aranburu, G., Sukernik, R.I., Osipova, L., Fedorova S.A., Vasquez, R., Villena, M., Moreau, C., Barrantes, R., Pauls, R., Excoffier, L., Bedoya,G., Rothhammer, F., Dugoujon, J.M., Larrouy, G., Klitz, W., Labuda, D., Kidd, J., Kidd, K., Di Rienzo, A., Freimer, N.D., Price A.L., y Ruiz-Linares, A. (2012). Reconstructing Native American population history. *Nature*, 488(7411), 370–374.

Rootsi, S., Magri, C., Kivisild, T., Benuzzi, G., Help, H., Bermisheva, M., Kutuev, I., Barac, L., Pericic, M., Balanovsky, O., Pshenichnov, A., Dion, D., Grobei, M., Zhivotovsky, L.A., Battaglia, V., Achilli, A., Al-Zahery, N., Parik, J., King, R., Cinnioglu, C., Khusnutdinova, E., Rudan, P., Balanovska, E., Scheffrahn, W., Simonescu, M., Brehm, A., Goncalves, R., Alexandra Rosa, A., Moisan, J.P., Chaventre, A., Vladimir Ferak, V., Füredi, S., Oefner, P.J., Shen, P., Beckman, L., Ilia Mikerezi, I., Terzic, R., Primorac, D., Cambon-Thomsen, A., Krumina, A., Torroni, A., Underhill, P.A., Santachiara-Benerecetti, A.S., Villems, R., y Semino, O. (2004). Phylogeography of Y-Chromosome Haplogroup I Reveals Distinct Domains of Prehistoric Gene Flow in Europe. *American Journal of Human Genetics*, 75(1), 128–137.

Rootsi, S., Myres, N.M., Lin, A.A., Järve, M., King, R.J., Kutuev, I., Cabrera, V.M., Khusnutdinova, E.K., Varendi, K., Sahakyan, H., Behar, D.M., Khusainova, R., Balanovsky, O., Balanovska, E., Rudan, P., Yepiskoposyan,L., Bahmanimehr, A., Farjadian, S., Kushniarevich, A., Herrera, R.J., Grugni, V., Battaglia, V., Nici, C., Crobu, F., Karachanak, S., Kashani, B.H., Houshmand, M., Sanati, M.H., Toncheva, D., Lisa, A., Semino, O., Chiaroni, J., Di Cristofaro, J., Villems, R.,

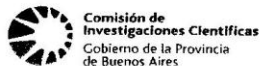
- Kivisild, T., y Underhill, P.A. (2012). Distinguishing the co-ancestries of haplogroup G Y-chromosomes in the populations of Europe and the Caucasus. *European Journal of Human Genetics*, 20(12), 1275–1282.
- Salas, A., Acosta, A., Alvarez-Iglesias, V., Cerezo, M., Phillips, C., Lareu M.V., y Carracedo, A. (2008). The mtDNA ancestry of admixed Colombian populations. *American Journal of Human Biology* 20(5), 584-591
- Salazar-Burger, L.C. (2004). Machu Picchu: Mysterious Royal Estate in the Cloud Forest, en: R. L. Burger y L. Salazar-Burger (eds.), Machu Picchu: Unveiling the Mystery of the Incas, 21-47, Yale University Press, New Haven.
- Seielstad, M., Yuldasheva, N., Singh, N., Underhill, P., Oefner, P., Shen, P., y Wells, R.S. (2003). A novel Y-chromosome variant puts an upper limit on the timing of first entry into the Americas. *American Journal of Human Genetics* 73(3), 700-705.
- Semino, O., Magri, C., Benuzzi, G., Lin, A. A., Al-zahery, N., Battaglia, V., Maccioni, L., Triantaphyllidis, C., Shen, P., Oefner, P.J., Zhivotovsky, L.A., King, R., Torroni, A., Cavalli-Sforza, L.L., Underhill, P.A., y Santachiara-Benerecetti, A.S. (2004). Origin, diffusion, and differentiation of Y-chromosome haplogroups E and J: inferences on the neolithization of Europe and later migratory events in the Mediterranean area. *American Journal of Human Genetics*, 74(5), 1023-1034.
- Stanish, C.S. (2001). The Origin of State Societies in South America. *Annual Review in Anthropology*, 30(1), 41-64.
- The Y Chromosome Consortium (2002). A Nomenclature System for the Tree of Human Y-Chromosomal Binary Haplogroups. *Genome Research*, 12(2), 339–348.
- Tilford, C.A., Kuroda-Kawaguchi, T., Skaletsky, H., Rozen, S., Brown, L.G., Rosenberg, M., McPherson, J.D., Wylie, K., Sekhon, M., Kucaba, T.A.,

- Waterston, R.H. y Page, D.C. (2001). A physical map of the human Y chromosome. *Nature*, 409(6822), 943–945.
- Tishkoff, S.A., Gonder, M.K., Henn, B.M., Mortensen, H., Knight, A., Gignoux, C., Fernandopulle, N., Lema, G., Nyambo, T.B., Ramakrishnan, U., Reed, F.A. y Mountain, J. L. (2007). History of Click-Speaking Populations of Africa Inferred from mtDNA and Y Chromosome Genetic Variation. *Molecular Biology and Evolution*, 24(10), 2180-2195.
- Tung, T.A. (2008). Life on the Move: Bioarchaeological Contributions to the Study of Migration and Diaspora Communities in the Andes, en: H.I. Silverman y W. H. Isbell (eds.), *Handbook of South American Archaeology*, 671-680, Springer, New York.
- Underhill, P. A., Jin, L., Zeman, R., Oefner, P. J., y Cavalli-Sforza, L. L. (1996). A pre-Columbian Y chromosome-specific transition and its implications for human evolutionary history. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(1), 196–200.
- Underhill, P.A., Myres, N.M., Rootsi, S., Metspalu, M., Zhivotovsky, L.A., King, R.J., Lin, A.A., Chow, C.E.T., Semino, O., Battaglia, V., Kutuev, I., Järve, M., Chaubey, G., Ayub, O., Mohyuddin, A., Mehdi, S.Q., Sengupta, S., Rogaev, E.I., Khusnutdinova, E.K., Pshenichnov, A., Balanovsky, O., Balanovska, E., Jeran, N., Augustin, D.H., Baldovic, M., Herrera, R.J., Thangaraj, K., Singh, V., Singh, L., Majumder, P., Rudan, P., Primorac, D., Villems, R. y Kivisild, T. (2010). Separating the post-Glacial coancestry of European and Asian Y chromosomes within haplogroup R1a. *European Journal of Human Genetics*, 18(4), 479–484.
- Underhill, P.A., Passarino, G., Lin, A.A., Shen, P., Lahr, M.M., Foley, R.A., Oefner, J.P. y Cavalli-Sforza, L.L. (2001). The phylogeography of Y chromosome binary haplotypes and the origins of modern human populations. *Annals of Human Genetics*, 65(1), 43–62.

- van Oven, M., Van Geystelen, A., Kayser, M., Decorte, R., Larmuseau, M.H. (2014). Seeing the wood for the trees: a minimal reference phylogeny for the human Y chromosome. *Human Mutation*, 35(2), 187-191.
- 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. *Molecular Biology and Evolution*, 21(1), 164–175.
- Zerjal, T., Xue, Y., Bertorelle, G., Wells, R. S., Bao, W., Zhu, S., Qamar, R., Ayub, Q., Mohyuddin, A., Fu, S., Li, P., Yuldasheva, N., Ruzibakiev, R., Xu, J., Shu, Q., Du, R., Yang, H., Hurles, M.E., Robinson, E., Gerelsaikhan, T., Dashnyam, B., Mehdi, S.Q. y Tyler-Smith, C. (2003). The Genetic Legacy of the Mongols. *American Journal of Human Genetics*, 72(3), 717–721.

**ANEXOS.**

## Anexo I. Constancia de aprobación del proyecto por el comité de Ética del IMBICE.



La Plata, 13 de Agosto de 2009.-

Dra. Graciela Bailliet  
Dr. Claudio M. Bravi  
IMBICE  
S/D

Estimados Dres. Bailliet / Bravi:

Tenemos el agrado de dirigirnos a uds. con el objeto de informarles que el Comité de Ética en Investigaciones Biomédicas del IMBICE evaluó y aprobó las modificaciones incorporadas al texto de la Cartilla de Información para el Donante y a la organización del formulario de Consentimiento Informado, ambos elaborados en el marco del Proyecto "Aportes continentales diferenciales en la conformación de las poblaciones humanas de América Latina", que planean desarrollar en el laboratorio de Genética Molecular Poblacional del IMBICE.

Sin otro particular saludamos a uds. atentamente.

Dra. Lidia A. Vidal Rioja

**Comité de Ética en Investigaciones Biomédicas  
IMBICE**

Dra. Lidia A Vidal Rioja - Coordinador  
Dr. Ricardo S. Calandra  
Prof. Jorge Asuaje  
Dr. Luis Julio Couyet  
Dr. Eduardo Luis Tinant

## **Anexo II. INFORMACION PARA EL POTENCIAL DONANTE**

### **Proyecto de Investigación “Aportes continentales diferenciales en la conformación de las poblaciones humanas de América Latina”**

#### **Datos generales del proyecto**

##### **Investigadores Responsables**

Dr. Claudio M. Bravi (Investigador Adjunto CONICET, IMBICE, La Plata)

Dra. Graciela Bailliet (Investigador Adjunto CONICET, IMBICE, La Plata)

##### **Otros Integrantes del Grupo de Trabajo**

Mag. José Edgardo Dipierri (Docente-Investigador, Universidad Nacional de Jujuy)

Lic. Emma Laura Alfaro (Docente-Investigador, Universidad Nacional de Jujuy)

Lic. Marina Muzzio (Becario CONICET, IMBICE, La Plata)

Lic. María Rita Santos (Becario CONICET, IMBICE, La Plata)

Lic. Virginia Ramallo (Becario CONICET, IMBICE, La Plata)

Lic. Josefina Motti (Becario CONICET, IMBICE, La Plata)

Lic. Angelina García (Becario CONICET, Museo de Arqueología, Univ. Nacional de Córdoba)

Lic. Rocío García Mancuso (Becario CONICET, Fac. Cs. Médicas, Univ. Nacional de La Plata)

Dra. Griselda Moreno (Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata)

##### **Unidad Ejecutora**

Laboratorio de Genética Molecular Poblacional

Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE)

Calle 526 entre 10 y 11, (1900) La Plata, República Argentina

TeleFax: (0221) 421-0112

##### **¿Cómo contactarse con nosotros?**

Envíe un e-mail a [linajes2007@yahoo.com.ar](mailto:linajes2007@yahoo.com.ar) o bien escriba o llame por teléfono al IMBICE.

##### **Financiación**

CONICET: Proyecto de Investigación Plurianual N° 5436

Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica: PICT 2003 N° 01-14328, PICT 2005 N° 16-32450

## INFORMACIÓN PARA EL PARTICIPANTE VOLUNTARIO

Estamos invitando a usted y a otras personas de su comunidad a participar de un proyecto de investigación científica que permitirá entender mejor el origen y la evolución de las poblaciones humanas que habitan diferentes regiones de América Latina. El proyecto implica la obtención de una muestra de sangre o saliva y de información sobre padres y abuelos de cada donante.

### 1- Objetivos del Proyecto de Investigación

Este proyecto tiene entre sus objetivos conocer qué proporción de los ancestros de los habitantes actuales de diferentes regiones de América era originaria de este continente o bien llegó aquí desde Europa, Asia o África.

### 2- Un poco más de información...

Todas las personas recibimos de nuestros padres la información genética que determina nuestro aspecto físico y otras características individuales como el color de pelo y de ojos, el grupo y factor sanguíneo, etc. El estudio de una parte de la información genética nos permite conocer dónde se originaron nuestros antepasados.

La población americana es el resultado de una larga historia de mezcla y de migraciones de personas nacidas en diferentes partes del mundo. Muchos habitantes actuales del continente son descendientes directos de los primeros ocupantes de estas tierras, los pueblos originarios o indígenas. Otros son hijos, nietos, bisnietos, etc. de inmigrantes llegados de Europa (gallegos, vascos, napolitanos, rusos, alemanes, etc.), Medio Oriente (sirios, libaneses, etc.) o Lejano Oriente (japoneses, coreanos, chinos), mientras que otros tienen abuelos o bisabuelos “criollos”, de los que no se conoce con certeza su origen. También hay personas que tienen algún lejano ancestro nacido en África.

### 3- Metodología a emplear

Las muestras de sangre o saliva donadas para este proyecto serán procesadas en el Laboratorio de Genética Molecular Poblacional del Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE), ubicado en la ciudad de La Plata, República Argentina.

En cada muestra donada para este estudio se analizarán diferentes porciones del ADN. Algunos de los análisis permiten conocer el origen de algunos de los antepasados del donante. El estudio del **ADN mitocondrial**, por ejemplo, permitirá saber si la abuela materna o la bisabuela materna, o la tatarabuela materna, o la madre de tatarabuela materna etc. hacia atrás varias generaciones...era de origen



europeo, africano o americano. De modo parecido, el estudio del **Cromosoma Y** permitirá conocer el origen del ancestro remoto por vía paterna de los donantes varones.

La información genética obtenida en su comunidad será comparada con la obtenida por nosotros y otros colegas en estudios similares realizados en otras regiones de Argentina y en otros países del continente.

#### **4- Riesgos del estudio,**

La participación como voluntario en este proyecto no implica ningún riesgo para el donante. La extracción de sangre puede ocasionar una leve molestia, así como una pequeña mancha roja en el lugar del pinchazo, y más raramente que le baje la tensión arterial.

#### **5- Confidencialidad de los datos**

La información obtenida es confidencial y anónima: en ningún lugar se hará público el nombre de las personas participantes ni sus características genéticas. Sólo serán publicados datos generales para cada población estudiada.

#### **6- Calidad del Participante**

Su participación es voluntaria, y usted puede elegir retirarse en cualquier momento del estudio, poniéndose en contacto con los investigadores responsables en la dirección, el teléfono o el e-mail indicados arriba. Usted tiene derecho a recibir los resultados de los análisis que se hagan con su muestra, así como solicitar que se le devuelva o destruya el sobrante de su muestra.

Su participación será muy agradecida y contribuirá a la reconstrucción de la historia de las poblaciones humanas de América Latina.

**Si usted acepta participar de este estudio, le agradeceremos que preste su conformidad por escrito completando y firmando el Formulario de Consentimiento que se le entrega por separado.**

Quedamos a su disposición para aclarar cualquier duda sobre este proyecto.

**Dr. Claudio Bravi - Dra. Graciela Bailliet**

**Investigadores Responsables**

**Anexo III. Encuesta genealógica**

VARÓN

MUJER

Muestra N° \_\_\_\_\_

---

DONANTE

Apellido y nombres (edad)

---

DONANTE

Lugar de nacimiento (localidad o paraje / departamento / provincia / país)

---

**1- PADRE**

Apellido y Nombres Lugar de nacimiento (localidad / departamento / provincia / país)

---

**2- ABUELO PATERNO**

Apellido y Nombres Lugar de nacimiento (localidad / departamento / provincia / país)

---

**3- ABUELA PATERNA**

Apellido y Nombres Lugar de nacimiento (localidad / departamento / provincia / país)

---

**4- MADRE**

Apellido y Nombres Lugar de nacimiento (localidad / departamento / provincia / país)

---

**5- ABUELO MATERNO**

Apellido y Nombres Lugar de nacimiento (localidad / departamento / provincia / país)

---

**6- ABUELA MATERNA**

Apellido y Nombres Lugar de nacimiento (localidad

/ departamento / provincia / país)

Favor de preguntar al donante si sabe que alguno de sus padres/abuelos es/era descendiente de inmigrantes o perteneciente a alguna parcialidad socio-étnica (por ejemplo judío sefaradí, árabe, criollo, nativo, aborigen, etc.).

Cuando el donante desconoce el lugar de nacimiento de algún ancestro, favor de consignar el lugar de residencia habitual (e indicar en la encuesta con la leyenda —vive o vivía en...)

---

---

---

---

**AnexoIV. Consentimiento Informado.**

**Consentimiento Informado del Proyecto de Investigación**

**“Aportes continentales diferenciales en la conformación de las poblaciones humanas de América Latina”**

Yo, ....., DNI  
Nº.....con domicilio legal en  
calle..... Nº..... de la localidad de  
..... de la provincia de ..... declaro que  
he sido informado sobre la realización de un estudio genético para conocer el origen  
o procedencia de los antepasados de los habitantes actuales de América y averiguar  
qué proporción de ellos es originaria de este continente o bien llegó aquí desde  
Europa, Asia o África.

Manifiesto acceder voluntariamente a participar en este proyecto, del cual he sido  
informado a través de una entrevista con miembros del grupo de investigación (abajo  
firmantes), quienes me comunicaron ampliamente sobre las características y  
alcances del estudio y me entregaron una hoja de “Información para el Participante”  
donde se detallan los objetivos, características genéticas a investigar, metodología,  
beneficios, riesgos y confidencialidad de los datos. Luego de leer esta hoja de  
información he podido realizar libremente cualquier pregunta relacionada con el  
proyecto.

Comprendo las características del trabajo y acepto libre y voluntariamente que me  
sea tomada una muestra de sangre o de saliva para ser utilizada en el presente  
estudio. Acepto además aportar datos sobre el origen o procedencia de mis padres,  
abuelos y bisabuelos para los fines indicados en la hoja de información. He  
comprendido que si lo deseo puedo retirarme de la investigación sin tener que dar  
explicaciones, como así también solicitar los datos obtenidos con mi muestra y  
reclamar la muestra sobrante del estudio.

La extracción de sangre o saliva (tachar lo que no corresponda) fue realizada  
por.....

..... Cargo..... DNI:.....  
.....

La muestra es recibida por el investigador responsable quien la codifica y archiva el

consentimiento informado en el Laboratorio de Bioantropología de la Universidad Nacional de Jujuy. La toma de la muestra y su codificación se realizó ante la presencia del/los testigos abajo firmantes.

Dado a los .....días del mes de.....de 200....

---

\_\_\_\_\_

Firma del donante	Aclaración y DNI
-------------------	------------------

---

\_\_\_\_\_

Firma y cargo del entrevistador	Aclaración y DNI
---------------------------------	------------------

---

\_\_\_\_\_

Firma y cargo del extraccionista	Aclaración y DNI
----------------------------------	------------------

---

\_\_\_\_\_

Firma del testigo	Aclaración y DNI
-------------------	------------------

**Investigadores Responsables: Dr. Claudio Bravi - Dra. Graciela Bailliet**  
Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE), Calle 526 e/ 10 y 11, La Plata.  
TeleFax: (0221) 421-0112

**Anexo V.** Composición de los *Buffers* de extracción utilizados.

### **RCLB (Red Cell Lysis Buffer)**

En un litro de solución 1x:

- 1mM NH<sub>4</sub> HCO<sub>3</sub>
- 115 mM NH<sub>4</sub> Cl

### **WCLB (White Cell Lysis Buffer)**

Para un litro de solución:

- 100 mM Tris-HCL (pH 7.6)
- 40mM EDTA (pH 8.0)
- 50 mM NaCl
- 0.2% SDS (Dodecil Sulfato de Sodio o Lauril Sulfato de Sodio)
- 0.05% (8 mM) Azida sódica

**Anexo VI.** Oligonucleótidos empleados para el método de caracterización por APLP, agregados por grupos de múltiplex.

En minúscula se indican bases y agregados 5' no complementarios

SNP código.	Haplogrupo	Primer	Secuencia (5"-3")	[ ] pmol/10uL	Tamaño del amplicón (pb)
Múltiplex I					
rs2032624	R1	M173F1C	cCAAGGGCATTgAGAACC	3,75	150 (C)
		M173F2A	taatgtatTCAAGGGCATaTAGAACA	3,75	158 (A)
		M173R	CAGCCTCAAAGCTTCTCCT	3,75	
rs8179021	Q	M242F1C	AAAGGTGACCAAGGTGCTC	2,81	131 (C)
		M242F2T	AacaatAAAGGTtACCAAGGTGCTT	3,75	137 (T)
		M242R	TCAGCATAATACCTTACCTAGAACAAC	2,81	
rs2032658	R	M207F1G	CgAGTCAAGCAAGcAATTTAG	5	124 (G)
		M207F2A	gttcacTAAGTCAAGCAAGAAATcTAA	10	118 (A)
		M207R	AAAAGCTGAAGGAAAAGTGGA	5	
rs2032604	J2	M172F1G	AAACCCATTTgGATGCTTG	6,25	96 (G)
		M172F2T	ctaatAAACCCATTgTGATGCTTT	7,5	101 (T)
		M172R	TTAAATATCAGCCAGGTACAGAGA	6,25	
rs2032652	F (xK,Q,R)	M89R1	CgCAGGCAAAGTGAGAGATA	2	85 (T)
		M89R2	tttaaTCAGGCAAAGTGAGAGATG	2	89 (C)
		M89F	CACAGAAGGATGCTGCTCA	2	
rs3900	K(x Q,R)	M9F1G	GGCCTAAGATGGTTGgATG	3,75	70 (G)
		M9F2C	ttgGaCCTAAGATGGTTGAATC	3,75	74 (C)
		M9R	TGTAAGACATTGAACGTTTgA	3,75	
Múltiplex II					
rs8179021	Q	M242F1C	AAAGGTGACCAAGGTGCTC	3,75	131 (C)
		M242F2T	aacaatAAAGGTtACCAAGGTGCTT	3,75	137 (T)
		M242R	TCAGCATAATACCTTACCTAGAACAAC	3,75	
rs3894	Q1a3a	M3R1T	cGTACCAGCTCTTCCcAATTA	2,5	115 (T)
		M3R2C	attttaaGTACCAGCTCTTCTAATTG	2,5	121 (C)
		M3F	AAGGTACATTGCGGGATA	2,5	
Y-position 2947155	Q1a3	M346R1G	cGCAATTTACAACgACAAGC	5	160 (G)
		M346R2C	aataatgtGCAATTTACAAAGACAAGG	5	167 (C)
		M346F	AAGGCCTGAAAATGTGGAAA	5	
Múltiplex III					
rs4116820	G2	P287F1G	TGACTGACATGGCgTTGG	10	149 (G)
		P287F2T	aaaatatatTGACTGACATtGCCTTGT	2,5	158 (T)
		P287R	AAGGGTAATGAAGCCTATAGTCCA	3,75	
rs9341296	I1	M253R1	TCAATGAAGAACCTGGAGAAA	6,25	132 (A)
		M253R2	ttattaTCAATGAAGAACCTGGAGAAG	2,5	138 (G)

		M253F	GCTGATCTGTTTCTTTTTGGTG	2,5	
rs9341313	J1	M267F1G	ggTGGAAGCATTgGTAATAG	3,75	117 (G)
		M267F2T	taagcaTGGAAGCATTGTAAATAT	3,75	121 (T)
		M267R	CGTAGCTcCAAGCAATCCAC	3,75	
rs13447378	G1	M285F1G	CcCATCATCTACATTTCTCCTG	2,5	80 (G)
		M285F2C	gtacaCTCATCATCTACATTTCTCCTC	2,5	85 (C)
		M285R	ATCGAATCCGCTATCCAGACT	2,5	
Single					
rs9786634	E	P152F1G	GCcCATCCGTTTTCTGAAG	3,75	141 (G)
		P152F2C	ataaatGCTCATCCGTTTTCTGAAC	3,75	147 (C)
		P152R	TCTCaGGGTTTGTGCAGATT	3,75	
Múltiplex IV					
rs9786184	R1b	M343F1G	GAGTGCCaTCGTGTTCCAC	2,5	140 (C)
		M343F2A	attaaattAGTgaCCTCGTGTCCAA	2,5	147 (A)
		M343R	ATATGCAAATGCCAGCGTTA	2,5	
rs9785702	R1b1b	P297R1	GCCAAAGATGTATAAGcGGAAG	2,5	104 (C)
		P297R2	tctaaGCCAAAGATGTATAAGAGGAAC	2,5	109 (G)
		P297F	TGGGAGAGAGAGACAGGTG	2,5	
Y-position 21148755	R1a	SRY10831.2F1	AggTgAACCTTgAAAATgCTAC	2,5	76 (C)
		SRY10831.2F2	TCgATggTgAACCTTgTAAATgTTAT	2,5	72 (T)
		SRY10831.2R	CATgggATCATTCAgTATCTgg	2,5	
Y-position 13535789	R1b1c	M335R1	ATGCCCTTGAATTGTAAGcAAA	4,5	66 (A)
		M335R2	gattATGCCCTTGAATTGTAAGAAAT	4,5	62 (T)
		M335F	cCTGTAACCTCCTAGAAAATTGGAAA	4,5	