



ARTÍCULO ORIGINAL

Diversidad genética de habitantes de la provincia de Loja-Ecuador

Genetic diversity of inhabitants of the province Loja-Ecuador

María N. Morales-Palacio^{1*}, Dayana Ontivero-Vasallo², Massiel Alfonso-González², Rafael Morales-Astudillo¹, Georgina Espinosa López²

¹Laboratorio Biomolecular
IDENTIGEN, Loja-Ecuador

²Dpto. Bioquímica, Facultad de
Biología, Universidad de La
Habana, Cuba.

*Autor para correspondencia:
nataliamorales88@yahoo.es

RESUMEN

Las poblaciones humanas de Latinoamérica se caracterizan por estar mezcladas con aportes genéticos de indígenas, colonizadores europeos y africanos traídos como esclavos. Como resultado de esta mezcla, Ecuador posee una gran heterogeneidad en su población. Esto ha sido de interés en el análisis de la variabilidad genética de este país. El objetivo de este trabajo fue caracterizar genéticamente individuos pertenecientes a la etnia Saraguro y habitantes de otros cantones de la provincia de Loja, Ecuador. Para ello, se analizaron 15 *loci* microsatélites en 435 individuos no relacionados, 60 de Saraguro y 375 del resto de la provincia de Loja. Se realizó una comparación entre ambos grupos, mediante la determinación de los índices de diversidad genética (número de alelos, número de alelos efectivos, índice de contenido polimórfico, riqueza alélica, heterocigosidad observada y esperada). Se calcularon las frecuencias alélicas y los índices de diversidad de Nei (diversidad genética total y diversidad genética entre grupos). Se comprobaron las premisas de equilibrio genético y desequilibrio de ligamiento. Se infirió la posibilidad de estructura genética con el Análisis de Coordenadas Principales, el programa Structure, el valor del estadístico F_{ST} y el Análisis Molecular de Varianza. Los índices de diversidad genética mostraron mayores valores para Loja, excepto para la riqueza alélica donde las diferencias encontradas no fueron significativas. El *locus* FGA aportó más a la variación genética total, mientras que D18S51 lo hizo, a la variación entre grupos. La población de Saraguro se encontró en equilibrio genético, mientras que la población de Loja no. Algunos *loci* mostraron equilibrio de ligamiento, pero no producto del ligamiento físico, ya que se localizan en cromosomas diferentes o alejados entre sí. No se obtuvo estructura genética para la población de Saraguro y Loja, tal vez, por una mezcla entre ellos o un origen común para ambas localidades estudiadas. Este origen común podría ser Quichua, o producto de su mezcla con poblaciones españolas que llegaron a Ecuador durante la conquista a los que se sumaron judíos que se asentaron principalmente en la provincia de Loja.

Palabras clave: estructura genética, microsatélites, Saraguro

Recibido: 2018-03-26

Aceptado: 2018-04-01

ABSTRACT

The human populations of Latin America have genetic contributions of indigenous, European colonizers and Africans brought as slaves. Because of this mixture, Ecuador has a great heterogeneity in its population. This has been of interest in the analysis of the genetic variability of this country. The objective of this work was to genetically characterize individuals belonging to the Saraguro ethnic group and inhabitants of other cantons of the province of Loja, Ecuador. We analyzed fifteen microsatellite loci in 435 unrelated individuals, 60 of Saraguro and 375 of the rest of the province of Loja. The two groups were compared by determining the genetic diversity indexes (number of alleles, number of effective alleles, index of polymorphic content, allelic richness, observed and expected heterozygosity). Allelic frequencies and Nei diversity indexes (total genetic diversity and genetic diversity between groups) were calculated. We checked the premises of genetic balance and linkage disequilibrium. We inferred the possibility of genetic structure with the Principal Coordinate Analysis, the Structure program, the value of the F_{ST} statistic and the Molecular Analysis of Variance. The rates of genetic diversity showed higher values for Loja, except for the allelic richness where the differences found were not significant. The FGA locus contributed more to the total genetic variation, whereas D18S51 did, to the variation between groups. The population of Saraguro was found in genetic equilibrium, while the population of Loja was not. Some loci showed linkage equilibrium, but not the product of the physical linkage, since they are located on different or distant chromosomes. No genetic structure was obtained for the population of Saraguro and Loja, perhaps due to a mixture between them or a common origin for both localities studied. This common origin could be Quichua, or product of its mixture with Spanish populations that arrived at Ecuador during the conquest, also added Jews that settled mainly in the province of Loja.

Keywords: genetic structure; microsatellites; Saraguro.

INTRODUCCIÓN

Hace no muchos años, el mapa cultural de Ecuador presentaba comunidades culturalmente homogéneas pero aisladas e incomunicadas entre sí. En la actualidad ha cambiado, existe un desplazamiento de la población del campo a la ciudad y la aparición de una cultura heterogénea (Bacacela, 2007).

Debido a la heterogeneidad de la población ecuatoriana, varios autores han estimado, con el empleo de marcadores microsatélites, las frecuencias alélicas de mestizos, quichuas y afroecuatorianos (González-Andrade *et al.*, 2003, González-Andrade y Sánchez-Q, 2004, González-Andrade *et al.*, 2006a). Además, se han buscado los orígenes de los pobladores actuales de Ecuador con el uso de datos de tipo microsatélites del cromosoma Y y ADN mitocondrial (González-Andrade *et al.*, 2006b, González-Andrade *et al.*, 2007). A pesar de esto, no se han realizado investigaciones sobre la etnia Saraguro, una de las más importantes ubicadas en este país y en particular en la provincia de Loja.

Esta etnia cuenta con alrededor de 33 000 habitantes, 60% de la población es mestiza y 40% es indígena, la cual, a pesar de la influencia de procesos colonizadores ha podido mantener su identidad cultural (Pacheco, 2007). Sin embargo, se ha evidenciado que factores

como los medios de comunicación, la emigración y el sistema educativo han aportado a la pérdida de valores culturales (Saca *et al.*, 2001).

Las características socio-culturales de los Saraguros podrían determinar un cierto grado de aislamiento reproductivo entre ellos y el resto de los individuos de la provincia de Loja. Este fenómeno generaría a su vez un flujo génico reducido y por tanto diferencias en las frecuencias génicas para estos grupos. Por estas razones el objetivo de este trabajo es: caracterizar genéticamente individuos pertenecientes a la etnia Saraguro y habitantes de otros cantones de la provincia de Loja con el empleo de 15 marcadores microsatélites.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras fueron proporcionadas por el Laboratorio Biomolecular IDENTIGEN de Loja-Ecuador, obtenidas con la finalidad de establecer vínculos biológicos, en su mayoría de paternidad. Se analizaron muestras de sangre de 435 individuos no relacionados (171 mujeres y 264 hombres). De ellos, 60 pertenecían a la etnia Saraguro (26 mujeres y 34 hombres) y 375 al resto de la provincia de Loja (145 mujeres y 230 hombres). Todos los donantes voluntarios dieron su

consentimiento informado antes de incluir las muestras en el estudio, para cumplir con los principios éticos y las directrices de la Declaración de Helsinki sobre la protección de los humanos en la investigación. El protocolo de estudio fue estandarizado y aprobado por los responsables del laboratorio antes citado.

Extracción de ADN total

La muestra consistió en una gota de sangre recolectada en papel FTA. Una porción de la muestra contenida en FTA fue tomada para realizar la extracción del ADN según las indicaciones del fabricante (Tarjetas FTA®, Whatman™).

Amplificación de *loci* microsatélites

La Reacción en Cadena de la Polimerasa se efectuó mediante el *kit* comercial AmpFISTR®Identifiler®PCR (AppliedBiosystems). El ADN extraído se amplificó para el marcador amelogenina, más 15 *loci* microsatélites: D16S539, D7S820, D13S317, vWA, CSF1PO, TPOX, TH01, D3S1358, D5S818, D8S1179, FGA, D18S51, D21S11, D2S1338 y D19S433.

Cada reacción de amplificación se preparó para un volumen final de 25 µL. La mezcla de reacción estuvo compuesta por 9,5 µL de AmpFISTR®PCR ReactionMix, 0,5 µL AmpliTaq Gold®DNA Polymerase (5 U/µL), 10 µL de agua; y, 5 µL de AmpFISTR®Identifiler® Primer Set. A la mezcla se añadió el disco seco FTA que contiene entre 2 y 20 ng de ADN.

El programa de amplificación utilizado fue el siguiente: 95°C por 11 min, 28 ciclos de 94°C por 1 min, 59°C por 1 min, 72°C por 1 min, seguido de un paso de extensión final a 60°C por 60 min.

Electroforesis capilar

Las variantes alélicas se detectaron por electroforesis capilar en el secuenciador automático ABI Prism 310, mediante el programa provisto con el equipo (Data Collection v. 3.1.0). Se determinó el tamaño, la cantidad y el lugar correspondiente a cada alelo en los diferentes fragmentos de ADN analizados con el programa GeneScan v.3.7 de AppliedBiosystems al compararlos con un estándar (LIZ 500). La matriz utilizada permitió clasificar los fragmentos de ADN de la muestra de acuerdo al color captado en la fluorescencia y de esta manera colocarlos en un nivel conocido del estándar.

Análisis de diversidad genética

Se calcularon el número de alelos (Na), alelos efectivos (Ne), la heterocigosidad esperada (He) y observada (Ho) con el programa GeneAEx v.6.4 (Peakall y Smouse, 2006). La riqueza alélica (Rs) se calculó con el programa Fstat v.2.9.3.2 (Goudet, 2002). El cálculo de las frecuencias para cada alelo por *locus* se realizó a partir del programa GeneAEx v.6.4 (Peakall y Smouse, 2006). Para evaluar los marcadores empleados en relación con su eficiencia al detectar polimorfismos se calculó el índice de contenido polimórfico (PIC por sus siglas en inglés) con el programa Cervus v.3.0.3 (Kalinowski *et al.*, 2007). La probabilidad de no diferencia estadística entre los índices de diversidad fue calculada con la prueba de comparación de medias *t* de Student, utilizando el programa GraphPadInstat v.3.01 (San Diego, 2000).

Análisis del desequilibrio de ligamiento

Para este cálculo se realizaron 10 000 pasos de desmemorizaciones, 100 batches y 5 000 iteraciones por batches con el programa Genepop v.4.1.0 (Rousset, 2008).

Para conocer si los grupos se encontraban en equilibrio genético se calculó el estadístico *Fis* (Weir y Cockerham, 1984), acorde a la fórmula:

$$Fis = 1 - \frac{Ho}{He}$$

Se realizó según el método de cadena de Markov con 10 000 pasos de desmemorizaciones, 20 batches y 5 000 iteraciones por grupo con el programa GenePop v.4.1.0 (Rousset, 2008). Además, se determinó la probabilidad de no diferencia entre las heterocigosidades esperada y observada con la prueba de Chi-Cuadrado.

Evaluación de la estructura genética

Se realizó un análisis de agrupamiento con el programa Structure v.2.2 (Pritchard *et al.*, 2000) bajo las siguientes condiciones: 500 000 iteraciones para el período de incineración (*burn-in*) y 1 000 000 repeticiones de cadenas de Markov y Montecarlo (MCMC) para obtener los parámetros estimados. Se evaluaron de 1 a 3 valores de *k*, con 20 iteraciones para cada uno. Para la determinación del número más probable de poblaciones (*k*) se implementó el método de Evanno, mediante el programa Structure Harvester (Evanno *et al.*, 2005; Earl y von Holdt, 2012), disponible en el sitio web <http://users.soe.ucsc.edu/~dearl/software/structureHarvester/>. Para comprobar si realmente

existen poblaciones separadas se verificó el comportamiento del valor de α .

Para determinar el grado de diferenciación genética entre los poblados de Saraguro y Loja, se calculó el estadístico F_{ST} y su probabilidad asociada, con 10 000 pasos de cadenas de Markov y 1 000 permutaciones con el programa Arlequín v.3.5.1.2 (Excoffier y Lischer, 2010). Con este mismo programa se realizó un Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) con 1 000 permutaciones para determinar el por ciento de la varianza causado por las diferencias entre las localidades, y, el por ciento de la varianza causado por las diferencias entre individuos dentro de las localidades.

RESULTADOS

Los 15 *loci* microsatélites empleados resultaron polimórficos para los grupos muestreados. Las frecuencias alélicas de cada *locus* STR se muestran en la Tabla 1.

El número de alelos por *locus* (N_a) varió entre 4 (TPOX) y 11 (FGA) para Saraguro, con una media de 7,20 alelos por *locus* para un total de 108 alelos. En Loja, el número de alelos por *locus* varió entre 7 (TPOX y D16S539) y 15 (D21S11) con una media de 9,88 alelos por *locus* para un total de 148 alelos. En Saraguro, el *locus* FGA presentó el mayor promedio para el número de alelos efectivos (N_e) con 7,03 y TPOX el menor con solo 2,32. En Loja, estos mismos *loci*, mostraron los mayores (8,21) y menores (2,86) valores para el número de alelos efectivos. El valor promedio de alelos efectivos en Saraguro fue 4,16 y en Loja 4,85 (Tabla 2).

Todos los *loci* mostraron valores de H_o superior a 0,50 para ambas localidades. Loja presentó el mayor valor promedio de heterocigosidad observada (0,77) respecto de Saraguro (0,74). Los *loci* con mayores y menores valores de H_o fueron FGA y TPOX, respectivamente. En Saraguro los valores de H_o oscilaron entre 0,87 y 0,57, mientras que en Loja mostraron valores entre 0,88 y 0,66 (Tabla 2).

Tabla 1. Frecuencias alélicas para Saraguro/Loja.

Table 1. Allelic frequencies for Saraguro /Loja.

Alelos	Locus							
	D8S1179	D7S820	CSF1PO	TH01	D13S317	D16S539	TPOX	D5S818
4				0,000/0,003				
6				0,450/0,324			0,000/0,003	
7		0,000/0,007	0,000/0,016	0,350/0,360				0,175/0,147
8	0,000/0,003	0,017/0,059	0,000/0,003	0,008/0,044	0,075/0,065	0,000/0,021	0,591/0,496	0,000/0,008
9	0,000/0,009	0,083/0,059	0,058/0,005	0,017/0,067	0,392/0,312	0,300/0,191	0,017/0,031	0,125/0,071
9.3				0,175/0,196				
10	0,075/0,095	0,108/0,242	0,208/0,223	0,000/0,005	0,108/0,105	0,333/0,265	0,000/0,032	0,034/0,031
11	0,034/0,054	0,417/0,347	0,267/0,333	0,000/0,001	0,017/0,137	0,142/0,234	0,242/0,276	0,483/0,480
12	0,167/0,156	0,275/0,248	0,334/0,329		0,167/0,197	0,167/0,203	0,150/0,159	0,158/0,201
13	0,300/0,305	0,083/0,035	0,075/0,088		0,150/0,107	0,058/0,077	0,000/0,003	0,017/0,059
14	0,300/0,208	0,017/0,003	0,058/0,003		0,083/0,072	0,000/0,009		0,008/0,003
15	0,083/0,125				0,008/0,005			
16	0,033/0,041							
17	0,000/0,004							
18	0,008/0,000							

Tabla 1. Frecuencias alélicas para Saraguro/Loja (Continuación).**Table 1.** Allelic frequencies for Saraguro/Loja (Continued).

Alelos	Locus					
	D21S11	D3S1358	D2S1338	D19S433	vWA	D18S51
10						0,000/0,008
10.2						0,000/0,003
11				0,000/0,001	0,000/0,003	0,017/0,011
12		0,000/0,005		0,000/0,053	0,008/0,005	0,033/0,121
12.2				0,008/0,012		
13		0,000/0,005		0,225/0,195	0,000/0,004	0,075/0,113
13.2				0,142/0,121		
14		0,050/0,049		0,208/0,255	0,000/0,021	0,408/0,267
14.2				0,083/0,063		
15		0,400/0,465		0,242/0,169	0,083/0,089	0,083/0,140
15.2				0,075/0,083		
16		0,325/0,262	0,000/0,011	0,017/0,024	0,367/0,401	0,067/0,107
16.2				0,000/0,020		
17		0,192/0,147	0,267/0,156	0,000/0,003	0,442/0,324	0,125/0,121
17.2				0,000/0,001		
18		0,025/0,065	0,050/0,075		0,083/0,123	0,158/0,064
19		0,008/0,002	0,283/0,281		0,017/0,021	0,017/0,025
20			0,167/0,149		0,000/0,008	0,017/0,015
21			0,008/0,031		0,000/0,001	0,150/0,109
22			0,042/0,068			0,000/0,004
23			0,175/0,124			0,000/0,001
24			0,008/0,071			0,200/0,177
25			0,000/0,027			0,183/0,164
26			0,000/0,007			0,158/0,136
27	0,000/0,001					0,050/0,037
28	0,050/0,091					0,017/0,013
29	0,192/0,188					0,000/0,001
30	0,167/0,279					0,008/0,000
30.2	0,033/0,017					
31	0,042/0,060					
31.2	0,250/0,127					
32	0,000/0,006					
32.2	0,208/0,157					
33	0,000/0,001					
33.2	0,025/0,059					
34	0,000/0,003					
34.2	0,033/0,009					
35	0,000/0,001					
36	0,000/0,001					

Tabla 2. Número de Alelos (Na), Número de Alelos Efectivos (Ne), Heterocigosidad Observada (Ho), Heterocigosidad Esperada (He), Riqueza alélica (Rs) e índice de contenido polimórfico (PIC) para los loci muestreados en Saraguro y Loja. .

Table 2. Number of Alleles (Na), Number of Effective Alleles (Ne), Observed Heterozygosity (Ho), Expected Heterozygosity (He), Allelic Wealth (Rs) and Polymorphic Content Index (PIC) for the loci sampled in Saraguro and Loja.

Locus	Saraguro						Loja					
	Na	Ne	Ho	He	Rs	PIC	Na	Ne	Ho	He	Rs	PIC
D8S1179	8	4,492	0,750	0,777	8,404	0,745	10	5,259	0,792	0,810	8,396	0,785
D21S11	9	5,634	0,750	0,823	10,042	0,799	15	5,900	0,840	0,831	9,984	0,810
D7S820	7	3,631	0,650	0,725	6,980	0,685	8	4,021	0,744	0,751	7,044	0,711
CSF1PO	6	4,201	0,817	0,762	5,971	0,725	8	3,608	0,776	0,723	6,636	0,673
D3S1358	6	3,273	0,733	0,694	6,164	0,639	8	3,194	0,720	0,687	6,152	0,641
TH01	5	2,809	0,733	0,644	5,955	0,574	8	3,579	0,712	0,721	5,837	0,672
D13S317	8	4,380	0,817	0,772	7,503	0,745	8	5,350	0,821	0,813	7,525	0,790
D16S539	5	3,963	0,800	0,748	6,647	0,706	7	4,789	0,805	0,791	6,557	0,759
D2S1338	8	4,669	0,817	0,786	10,293	0,753	11	6,319	0,837	0,842	10,148	0,824
D19S433	8	5,393	0,717	0,815	10,294	0,789	13	6,216	0,821	0,839	10,150	0,820
vWA	6	2,909	0,683	0,656	7,884	0,594	11	3,448	0,707	0,710	7,701	0,663
TPOX	4	2,319	0,567	0,569	5,561	0,509	7	2,862	0,664	0,651	5,467	0,595
D18S51	10	4,417	0,767	0,774	11,086	0,751	14	6,688	0,808	0,850	10,935	0,834
D5S818	7	3,264	0,700	0,694	6,927	0,656	8	3,310	0,680	0,698	6,932	0,662
FGA	11	7,031	0,867	0,858	10,859	0,842	12	8,211	0,877	0,878	10,937	0,866
Media	7,200	4,159	0,745	0,740	8,038	0,701	9,867	4,850	0,774	0,773	8,027	0,740
Desviación estándar	1,935	1,228	0,076	0,077	1,972	0,092	2,642	1,583	0,065	0,071	1,916	0,085

Los valores de riqueza alélica por *locus* oscilaron entre 5,47 (TPOX) y 10,94 (FGA) para Loja; y entre 5,56 (TPOX) y 11,09 (D18S51) para Saraguro. El valor promedio de riqueza alélica obtenido fue similar en ambas localidades (Saraguro 8,03 y Loja 8,02; $p=0,83$).

Por otra parte, las diferencias si fueron estadísticamente significativas para Na ($p<0,00$), Ne ($p=0,00$), Ho ($p=0,03$), He ($p=0,00$).

El índice de contenido polimórfico (PIC) promedio para los *loci* en Saraguro fue de 0,70 y en Loja 0,74. Los valores máximos se obtuvieron para el *locus* FGA y los mínimos para TPOX en ambas localidades. En Saraguro el índice de contenido polimórfico varió de 0,84 a 0,51, mientras que en Loja de 0,87 a 0,59 (Tabla 2).

En Saraguro se encontraron 34 alelos raros (alelos con frecuencia menor a 0,05), de ellos dos constituyen alelos privados. En Loja, por otra parte, se encontraron 65 alelos raros, de los cuales 41 fueron variantes privadas.

Al calcular la probabilidad de ligamiento entre los *loci* analizados, de forma global, algunos *loci* se encontraron en equilibrio de ligamiento (Tabla 3).

En cuanto al equilibrio genético, Loja mostró desviaciones del mismo ($p<0,05$) en los *loci* D3S1358 y D18S51. Al considerar a Saraguro y Loja como una población, se obtuvo que esta no se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p<0,05$) para TH01, D3S1358 y D18S51 (Tabla 4).

Tabla 3. Valores de probabilidad para el desequilibrio de ligamiento de forma global entre los *loci* en aparente equilibrio de ligamiento.**Table 3.** Probability values for linkage disequilibrium globally between loci in apparent linkage equilibrium.

<i>Loci</i>	Global	<i>Loci</i>	Global
D21S11 x D7S820	0,016	D7S820 x TPOX	0,008
D3S1358 x TH01	0,026	D21S11 x D18S51	<0,001
CSF1PO x D13S317	0,039	D7S820 x D18S51	<0,001
D8S1179 x D16S539	0,022	vWA x D18S51	<0,001
D21S11 x D16S539	0,021	D8S1179 x D5S818	0,024
CSF1PO x D16S539	0,003	D16S539 x D5S818	0,029
D8S1179 x D2S1338	<0,001	D2S1338 x D5S818	0,016
D3S1358 x D2S1338	0,010	vWA x D5S818	0,022
D8S1179 x D19S433	0,041	D3S1358 x FGA	0,030
D7S820 x D19S433	0,016	D2S1338 x FGA	0,027
D16S539 x vWA	0,038	TPOX x FGA	0,046
D2S1338 x vWA	<0,001		

Las desviaciones del equilibrio genético, tanto en Loja ($p=0,01$) como de forma global ($p=0,01$) se deben a un exceso de homocigotos.

Evaluación de la estructura genética

En la prueba de asignación con el programa Structure v2.2, no se tuvieron en cuenta los *loci* TH01, D3S1358 y D18S51, ya que no se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Tabla 4. Valor de *Fis* y probabilidad de no diferencia entre la heterocigosidad observada y esperada por *locus* para Loja y Saraguro.**Table 4.** *Fis* value and probability of no difference between the heterozygosity observed and expected by *locus* for Loja and Saraguro.

<i>Locus</i>	Saraguro		Loja		Global	
	<i>Fis</i>	Probabilidad	<i>Fis</i>	Probabilidad	<i>Fis</i>	Probabilidad
D8S1179	0,044	0,856	0,023	0,312	0,027	0,348
D21S11	0,097	0,783	-0,010	0,367	0,008	0,324
D7S820	0,111	0,303	0,011	0,712	0,028	0,381
CSF1PO	-0,064	0,769	-0,072	0,397	-0,070	0,157
D3S1358	-0,048	0,556	-0,047	0,009	-0,046	0,005
TH01	-0,130	0,199	0,013	0,077	-0,002	0,029
D13S317	-0,050	0,220	-0,009	0,167	-0,012	0,337
D16S539	-0,062	0,723	-0,017	0,609	-0,019	0,691
D2S1338	-0,031	0,082	0,007	0,192	0,004	0,085
D19S433	0,129	0,282	0,023	0,082	0,037	0,349
vWA	-0,033	0,124	0,006	0,077	0,003	0,078
TPOX	0,012	0,887	-0,019	0,926	-0,014	0,898
D18S51	0,017	0,067	0,051	0,000	0,052	0,000
D5S818	-0,001	0,774	0,027	0,891	0,023	0,776
FGA	-0,002	0,940	0,002	0,471	0,002	0,890

Al intentar dividir la muestra en dos grupos se observó que la mayoría de los individuos presentan probabilidad alrededor de 50% de pertenecer a cada uno de los grupos asignados (Fig. 1).

El método de Evanno *et al.* (2005), confirmó que el número de grupos más probable (k) es dos. Sin embargo, el valor de α osciló en un intervalo mayor de 0,2, por lo que se puede inferir que no existe estructura genética para los individuos de Saraguro y Loja (Fig. 2).

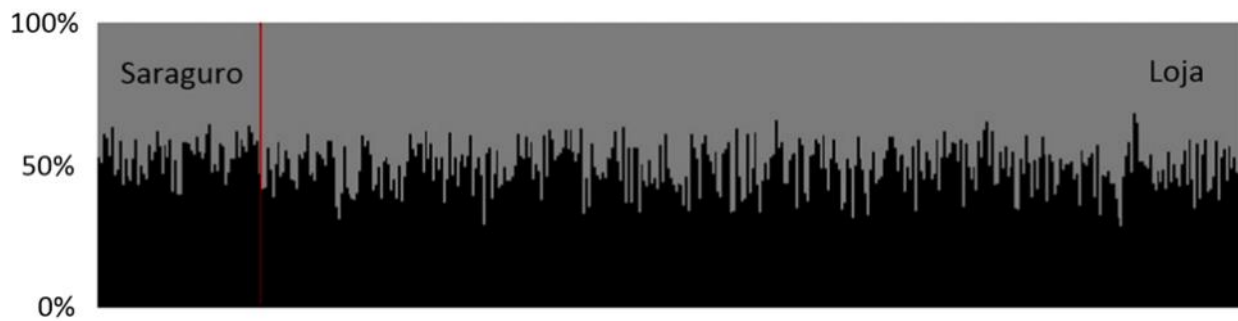


Figura 1. Probabilidad de asignación de los individuos (genotipos) de Saraguro y Loja a cada población, estimada por Structure v2.2, para un valor de $K=2$, sobre la base de las frecuencias alélicas. En negro la probabilidad de asignación a Saraguro y en gris, la probabilidad de asignación a Loja.

Figure 1. Probability of allocation of the individuals (genotypes) of Saraguro and Loja to each population, estimated by Structure v2.2 for a value of $K = 2$, based on the allelic frequencies. In black the probability of assignment to Saraguro and in gray, the probability of assignment to Loja .

El cálculo del estadístico F_{ST} mostró que existen diferencias pequeñas entre Loja y Saraguro ($F_{ST}=0,008$; $p=0,000$). A partir del AMOVA se determinó que el 99,17% de la variación es explicada por diferencias dentro de los individuos. La variación restante se debe a las diferencias entre grupos (0,77%) y entre individuos dentro de grupos (0,06%).

DISCUSIÓN

Caracterización genética de la población de Saraguro y Loja

Ecuador se considera un país pluricultural ya que está compuesto por 14 nacionalidades indígenas. Una de estas nacionalidades es la Quichua, la cual contiene diversos pueblos, entre ellos, Saraguro (Larrea *et al.*, 2007).

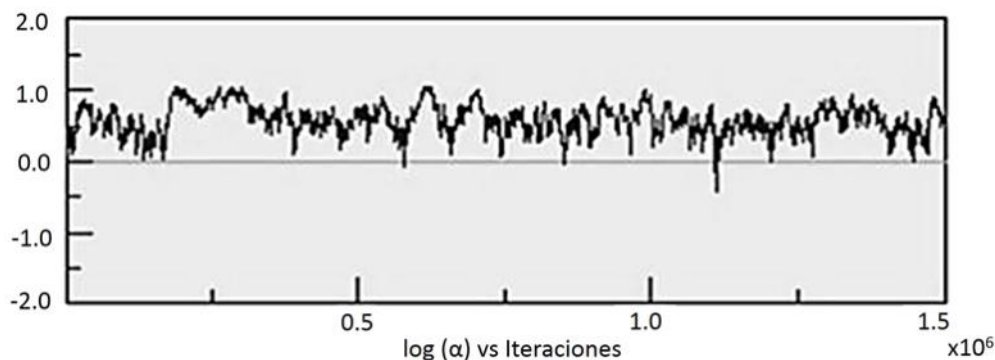


Figura 2. Logaritmo de α vs. las iteraciones, obtenido con el programa Structure v.2.2.

Figure 2. Logarithm of α vs. the iterations, obtained with the program Structure v.2.2.

En este grupo se encontraron 108 alelos en 60 individuos, mientras que en los 375 individuos de Loja, se encontraron 148 alelos. Las diferencias pueden deberse al mayor tamaño de la muestra o a la mayor variabilidad presente en Loja. Otros autores (González-Andrade *et al.*, 2006a) encontraron un mayor número de alelos en 115 Quichuas (134 alelos) comparado con el obtenido en este trabajo para Saraguro (108 alelos). Las diferencias, en cuanto al número de alelos, se pueden deber al tamaño de la muestra, así como a los pueblos incluidos. En ese trabajo las muestras pertenecían a individuos de diferentes pueblos, con costumbres y vestimenta diferentes y que no se mezclan entre ellos. Además, pudieron influir los marcadores utilizados, ya que Penta E y Penta D fueron incluidos en el trabajo antes citado y no en el presente estudio.

El mayor polimorfismo encontrado en FGA y D21S11 y el menor polimorfismo detectado en TPOX se debe a la elevada tasa de mutación que presentan esos *loci* respecto a los otros (Butler, 2006).

Además del número de alelos, otra variable que permite comparar el polimorfismo entre los marcadores utilizados, es el número de alelos efectivos. Sin embargo, al comparar el polimorfismo en cuanto a este índice de diversidad, se observa que este disminuye casi en más de la mitad. La diferencia entre los de mayor y menor polimorfismo es solo de cinco alelos.

En cuanto a la riqueza alélica, no se encontraron diferencias significativas para las localidades de Saraguro y Loja. Esta constituye un índice de diversidad que expresa una proporción de alelos por *locus* que no depende del tamaño de la muestra.

Los altos valores obtenidos para la heterocigosidad se corresponden con los del índice de contenido polimórfico. Valores elevados de H_o promedio también han sido encontrados en Brasil (Kohlrausch *et al.*, 2005) que es un país caracterizado por una gran influencia migratoria.

Loja presentó los mayores promedios para los índices de diversidad analizados, con excepción de la riqueza alélica que no presentó diferencias significativas. La diversidad genética encontrada en Loja ($H_e=0,773$) fue similar a la obtenida por (González-Andrade *et al.*, 2006b) en 317 mestizos ($H_e=0,781$). La menor diversidad en Saraguro ($H_e=0,74$) fue similar a la encontrada por estos autores para una muestra de 115 Quichuas

($H_e=0,75$). La diversidad genética obtenida en Loja, tal vez se deba a la mezcla de los habitantes de esta provincia con otros emigrantes de Perú, España y Asia (Mora, 2002).

Análisis del desequilibrio de ligamiento

Algunos de los *loci* utilizados se encontraron en equilibrio de ligamiento. Sin embargo, la mayoría de ellos se ubican en cromosomas diferentes, por lo que no están ligados físicamente. Solamente, en el mismo cromosoma se encuentran D2S1338 y TPOX (cromosoma dos) y CSF1PO y D5S818 (cromosoma cinco) (Butler, 2007). Sin embargo, no se evidenciaron asociaciones entre ellos.

El equilibrio de ligamiento puede ser causado por un fenómeno llamado hitchhiking genético (aventón), el cual consiste en la asociación de alelos de diferentes *loci*. Este tiene como consecuencia que cualquier factor (como la selección natural) que modifique la frecuencia alélica de un *locus* provocará un cambio en el otro *locus* (Futuyma, 2013). Una de las características de los microsatélites es que son neutrales, por lo que no intervienen en aspectos de la reproducción y la supervivencia. Sin embargo, pueden actuar como si estuviesen bajo selección si están ligados a otro *locus* donde ella actúe. Esto explicaría el equilibrio de ligamiento encontrado para estos marcadores.

Análisis del equilibrio de Hardy-Weinberg

En Loja, el desequilibrio genético se debe a un exceso de homocigotos. Este es causado, generalmente, por un apareamiento no aleatorio o por la subdivisión de la población (Allendorf y Luikart, 2007). La segunda opción, probablemente, sea la causa del desequilibrio genético, ya que las muestras fueron tomadas de toda la provincia de Loja, por lo que puede ser una población fragmentada. La subdivisión de la población, provoca un aumento de homocigotos para aquellos *loci* que difieren en la frecuencia alélica, a esto se le conoce como efecto Wahlund. Un efecto genotípico similar lo tiene la endogamia, la cual aumenta el número de homocigotos debido a un apareamiento entre individuos relacionados. Sin embargo, como las muestras fueron tomadas inicialmente para análisis de paternidad, no se tuvieron en cuenta a los hijos y por tanto, los individuos no están relacionados. Por esta razón, no se puede pensar en la endogamia como causa principal del desequilibrio de Hardy-Weinberg.

Este mismo análisis, mostró desviaciones del equilibrio genético, al agrupar a Saraguro y Loja como una sola población. Esto puede estar determinado por las características culturales diferentes entre ambos grupos, que provoquen un apareamiento no al azar. Los Saraguros poseen características que los diferencian de otros grupos étnicos, como son la indumentaria, religión y el idioma, las cuales pueden crear un cierto aislamiento reproductivo. Además, otras causas para el desequilibrio genético pueden ser la subdivisión en Loja y la migración.

Evaluación de la estructura genética

Cuando dos poblaciones mantienen un flujo de genes alto, es comprensible la ausencia de estructura genética para ellas. Independientemente de esto, si dichas poblaciones presentan un origen común y reciente, es de esperar que no exista estructura genética.

La presencia de varios alelos privados en Loja puede ser un indicio que esta se encuentra estructurada genéticamente. Sin embargo, la mayoría de los alelos privados presentan frecuencias inferiores de 0,05 por lo que se consideran alelos raros, lo que refuerza la ausencia de estructura genética para las localidades de Saraguro y Loja.

Un resultado similar fue obtenido con el programa Structure el cual mostró que no existe estructura genética para Saraguro y Loja. Esto fue comprobado con el resultado del grado de mezcla (α) (Pritchard *et al.*, 2007). Ya que valores de α pequeños (cero) indican que la mayoría de los individuos tienen una pequeña mezcla, mientras que valores grandes, indican que la mayoría de los individuos tienen una mezcla sustancial de múltiples grupos (Hubisz *et al.*, 2009).

En cuanto al valor de F_{ST} , a pesar de ser significativo fue muy pequeño. Se ha recomendado un valor de F_{ST} de 0,01 para determinar la estructura en la mayoría de las poblaciones y un valor de 0,03 para las poblaciones de Indígenas americanos (Budowle *et al.*, 2001). Esto muestra que los individuos de Saraguro y Loja no se diferencian como grupos.

La mayor variación entre individuos se puede deber a la mezcla entre personas de poblaciones diferentes como resultado de la migración. El pequeño valor obtenido para la variación entre grupos evidencia que las localidades comparadas no son diferentes entre sí en cuanto a su estructura genética.

A pesar de que los Saraguros, poseen características que puedan aislarlos reproductivamente, no existe evidencia con los marcadores utilizados, que permitan diferenciarlos genéticamente del resto de los habitantes de Loja. Esto puede estar dado por la pérdida de las características socioculturales de algunos Saraguros, lo que aumenta la posibilidad de mezcla con otras personas del resto de la provincia, ya sea por las nuevas oportunidades de estudio en otras regiones o por la migración. Además, un origen común entre los individuos de Saraguro y el resto de habitantes de Loja pudiese explicar la ausencia de estructura genética. Este origen común podría ser Quichua, o producto de su mezcla con poblaciones españolas que llegaron a Ecuador durante la conquista.

Otra causa que pudo influir en la ausencia de estructura genética es el pequeño número de marcadores empleados. Se ha recomendado utilizar más de 100 marcadores para diferenciar entre poblaciones altamente mezcladas, que comparten relaciones genéticas cercanas (Simms *et al.*, 2010). Según Venables (2012), la alta tasa de mutación de estos marcadores disminuye la correlación con la ascendencia, lo cual dificulta la detección de estructura en las poblaciones. Por último, en este resultado, pudo haber influido el tipo de marcador utilizado, ya que no son marcadores de linajes. El empleo de ellos como el ADN mitocondrial que indica el origen materno y los marcadores del cromosoma Y que muestran el origen paterno pudieran ayudar a comprobar si existe o no estructura genética para estos grupos.

LITERATURA CITADA

- Allendorf, F.W. y G.H. Luikart (2007) Conservation and the Genetics of Populations. Malden, Blackwell Publishing Ltd. 642 pp.
- Bacacela, M. (2007) El quinto gobernador de los Saraguros: historia social y organizativa. Cuenca, Azuay-Ecuador. 224 pp.
- Budowle, B., B. Shea, S. Niezgoda y R. Chakraborty (2001) CODIS STR Loci Data from 41 Sample Populations. J Forensic Sci. 46(3): 453–489.
- Butler, J.M. (2006) Genetics and Genomics of Core Short Tandem Repeat Loci Used in Human Identity Testing. J Forensic Sci. 51(2): 253–265.
- Butler, J.M. (2007) Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing. Biotechniques. 43(4): 2–5.
- Earl D.A. y B.M. von Holdt (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. Conservation Genet Resour. 4: 359–361.

- Evanno, G., S. Regnaut y J. Goudet (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol*. 14: 2611–2620.
- Excoffier L. y H.E.L. Lischer (2010) Arlequin suite ver. 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Resources*. 10: 564–567.
- Futuyma, D. (2013) *Evolution*. 3rd Edition, Sunderland, Sinauer Associates, Inc. 656 pp.
- González-Andrade, F. y D. Sánchez-Q (2004) Genetic profile of the Kichwas (Quichuas) from Ecuador by analysis of STR *loci*. *Hum Biol*. 76(5): 723–730.
- González-Andrade, F., D. Sánchez y B. Martínez-Jarreta (2006b) El mestizaje genético en Ecuador y su aplicación médico forense. *CFOR*. 8: 133–154.
- González-Andrade, F., D. Sánchez, J. González-Solórzano, S. Gascón y B. Martínez-Jarreta (2007) Sex-Specific Genetic Admixture of Mestizos, Amerindian Kichwas, and Afro-Ecuadorians from Ecuador. *Hum Biol*. 78(1): 51–78.
- González-Andrade, F., D. Sánchez-Q, B. Martínez-Jarreta (2003) Genetic profile of the Ecuadorian Mestizo population (Ecuador—South America) by using the Power Plex16 System Kit. *Forensic Sci Int*. 135: 64–66.
- González-Andrade, F., D. Sánchez-Q. y B. Martínez-Jarreta (2006a) Genetic analysis of the Amerindian Kichwas and Afroamerican descendents populations from Ecuador characterised by 15 STR-PCR polymorphisms. *Forensic Sci Int*. 160: 231–235.
- Goudet. 2002. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Extraído de: <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html> (24-03-12).
- Hubisz, M.J., D. Falush, M. Stephens, J.K. Pritchard (2009) Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol Ecol Resour*. 9: 1322–1332.
- Kalinowski, S.T., M.L. Taper y T.C. Marshall (2007) Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol. Ecol*. 16(5): 1099–1106.
- Kohlrausch, F.B., S.M. Callegari-Jacques, L.T. Tsuneto, M.L. Petzel-Erler, K. Hill, A.M. Hurtado, F.M. Salzano y M.H. Hutz (2005) Geography Influences Microsatellite Polymorphism. *Am J Phys Anthropol*. 126: 463–470.
- Larrea C., F.M. Torres, N.G. López y M.B.C. Rueda (2007) *Pueblos indígenas, desarrollo humano y discriminación en Ecuador*. Quito, Editorial Abya-Yala. 110pp.
- Mora, E.A. (2002) *Ecuador: patria de todos. La nación ecuatoriana, unidad en la diversidad*. Quito, Ecuador. 120 pp.
- Pacheco, A.C. (2007) *Etnias aborígenes y globalización: estudio de caso de la comunidad Saraguro de Loja*. Tesis de Diploma, Universidad del Azuay, Ecuador.
- Peakall, R. y P.E. Smouse (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol Notes*. 6: 288–295.
- Pritchard, J.K., M. Stephens y P. Donnelly (2000) Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*. 155: 945–959.
- Pritchard, J.K., X. Wena y D. Falush (2007) Documentation for structure software: Version 2.2.
- Rousset, F. (2008) Genepop 4.1 for Windows/Linux/Mac OS X.
- Saca, S., S. Quizpe y F. Tene (2001) Elementos culturales que identifican a los indígenas Saraguros, en los aspectos: tecnológico, administrativo-jurídico y ecológico. *Proyecto Saraguro –Yacuambi*. Saraguro. 99 pp.
- GraphPad Software, Inc. 2000. *InStat guide to choosing and interpreting statistical tests*. San Diego, CA: GraphPad Software, Inc.
- Simms, T.M., C.E. Rodríguez, R. Rodríguez y R.J. Herrera (2010) The Genetic Structure of Populations from Haiti and Jamaica Reflect Divergent Demographic Histories. *Am J Phys Anthropol*. 142: 49–66.
- Venables, S.J. (2012) *A population genetic analysis of forensic identity and ancestry markers in Indonesia*. Tesis de Doctorado, Universidad de Canberra, Australia.
- Weir, B.S. y C.C. Cockerham (1984) Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. *Evolution*. 38(6): 1358–1370.

• • •

Editor para correspondencia: Dr. Isel Pascual