
Analisis genético poblacional de 9 Y-STRs en un grupo Etnico de Bolivia

ROCABADO, Omar^{1,3}
PENACINO, Gustavo²
SALA, Andrea²
REVOLLO, Susana³
MARINO, Miguel²
POLISECKI, Eliana²
ALIAGA, Jimena²
CORACH, Daniel²

¹ Laboratorio de Genética Forense, Instituto de Investigaciones Forenses, Fiscalía General de la República, calle España N° 130, Teléfono 591.4.6913555 Fax 591.4.6913558, Sucre, Bolivia.

² Servicio de Huellas Digitales Genéticas, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires - Argentina.

³ Laboratorio de Diagnóstico y Tipificación Molecular, Instituto SELADIS, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Universidad Mayor de San Andrés, Av. Saavedra N° 2224, Teléfono 591.2.2.222436, Fax. 591.2.2.224895, La Paz Bolivia.

PALABRAS CLAVE: Cromosoma Y, Y-STRs, amerindio

RESUMEN

En Bolivia la población amerindia de la Amazonia, contiene cierto número de pequeños grupos humanos, que mantienen poco o ningún contacto con otros pueblos indígenas o con grupos humanos civilizados. Los estudios de la variabilidad del cromosoma Y, en poblaciones amerindias nativas han sido provechosos para comprender algunos aspectos de la historia genética. Con el objeto de investigar las posibles relaciones entre las distintas etnias que habitan Bolivia, se analizaron 9 marcadores microsátélites del cromosoma Y, (DYS393, DYS390, DYS394, DYS392, DYS391, DYS385 I-II, DYS389 I-II). De esta manera se obtuvo 23 haplotipos diferentes y una alta frecuencia de algunos alelos, como el 13 para el locus DYS393 y DYS394. Estos resultados posiblemente se deban al componente amerindio, como lo indican otros estudios similares en este mismo tipo de poblaciones del continente americano.

ABSTRACT

In Bolivia the Amerindian population of the Amazonia, contains certain number of small human groups that they maintain little or any contact with other indigenous towns or with civilized human groups. The studies of the variability of the chromosome Y, in native Amerindian populations they have been profitable to understand some aspects of the genetic history. In order to investigate the possible relationships among the different ethnic group that inhabit Bolivia, 9 genetic markers of the chromosome Y were analysed (DYS393, DYS390, DYS394, DYS392, DYS391, DYS385 I-II, DYS389 I-II). Were observed 23 different haplotypes and a high frequency of some alleles, as the 13 for the locus DYS393 and DYS394. These results maybe are due to the Amerindian component, as they indicate it other similar studies of the American continent.

INTRODUCCION

Bolivia es un país que disfruta de una extraordinaria diversidad étnica y lingüística, que sobrevive al etnocidio por más de tres siglos de contacto con el hombre moderno. Estas poblaciones nativas conforman comunidades pequeñas que están siendo absorbidas dentro de las poblaciones mestizas (Diez et al. 1998). De estos grupos se destacan: **Los Moxeños**, actualmente considerado el pueblo indígena principal de la amazonía boliviana, tanto por su antigüedad prehispánica y por haber sido su idioma utilizado durante las misiones jesuíticas; su origen esta perdido en el tiempo ancestral y los impresionantes restos arqueológicos encontrados nos hablan de una cultura que alcanzo un alto grado evolutivo para detenerse

misteriosamente mucho antes de la llegada de los españoles. La cultura de Moxos se asienta tradicionalmente al centro y sur del departamento del Beni, geográficamente se encuentran poblaciones Mojeñas desde las nacientes del río Mamoré, al sur del río Secure hasta el río Machupo. Existen aproximadamente 70 comunidades estables y muchos asentamientos eventuales y precarios, generalmente unifamiliares, entre las comunidades importantes se encuentra Pueblo Nuevo, Retiro, San Antonio del Pallar, Carmen del Aperecito, *Monte Grande*, Santa Rosa del Apere, Mercedes del Cabito, San Miguel del Cabito, San Miguel del Apere, Santa Rosa de Aguas Negras, Puerto de San Borja, Mercedes del Apere, San José del Cabitu, San Palo del Cuverene, Santa Ana del Moseruna, entre algunos, estimándose un total de 19 000 habitantes, la cual ha estado migrando permanentemente dentro de la región, en muchas ocasiones a causa de las grandes inundaciones, que expelen a los pobladores de la selva hacia los centros urbanos, o migraciones de los centros poblados hacia la selva en busca de una alternativa de sobre vivencia. Poseen como lengua materna dos versiones: Ignaciana y Trinitaria. Su organización social se asienta sobre la familia como núcleo, formada generalmente por diez a treinta individuos. Utilizan como medio de transporte principalmente la vía fluvial. Las migraciones son frecuentes, especialmente de la gente joven que se moviliza en busca de mejores medios para su subsistencia, esto implica ya un riesgo de perder la originalidad de estas poblaciones, y aplicar nuevas estrategias de investigación, para comprender mejor la diversidad étnica existente en Bolivia. Los estudios de la variabilidad del cromosoma Y, en poblaciones amerindias nativas han sido provechosos para comprender algunos aspectos de la historia genética. (*Eduardo Tarazona-Santos, et al. 2001*). En el presente estudio, nos centramos al análisis de esta comunidad étnica, estudiando varios marcadores del cromosoma Y, en individuos nativos, para buscar patrones geográficos de estructura genética dentro estas poblaciones. Esto proyectara a otros estudios para conocer la variabilidad genética de un mayor número de poblaciones y su relación entre ellas.

MATERIAL Y METODOS

Población

Se estudio el grupo étnico Mojeños de la Localidad Morro Grande, provincia Moxos del departamento del Beni.

Muestras

Se analizaron un total de 25 muestras de sangre de individuos varones no relacionados biológicamente. A 0,5 ml de sangre se añadió igual volumen de solución de lisis (10 mM Tris/HCl pH 7,5; 1 mM EDTA pH 8; 100 mM NaCl; 1% de SDS) y 15 ul de Proteinasa K 20 mg/ml (GIBCO); las muestras fueron incubadas a 56 °C por 2 horas; posteriormente se realizo una extracción con fenol y otra con cloroformo/alcohol isoamílico (24:1), se precipito el ADN añadiendo 1/10 de volumen de NaCl 3M y 2 volúmenes de etanol absoluto, se dejo en reposo por 5 minutos a temperatura ambiente, se centrifugo y al pellet se realizo un lavado con etanol 70%, se dejo en estufa hasta evaporar el etanol para finalmente resuspender el precipitado con 20 ul de agua.

Tipificación por PCR

Los loci STR (Short Tandem Repeat) de cromosoma Y fueron tipificados en un nonaplex DYS393, DYS390, DYS394, DYS392, DYS391, DYS385 I-II, DYS389 I-II descritos en detalle por *Kayser et al. 1997*. Se preparó la mezcla de amplificación para la PCR conteniendo: buffer 20 mM Tris/HCl pH 8.4; 50 mM KCl; 1,5 mM MgCl₂; 200 uM de cada dNTPs; 15 uM de cada oligonucleotido, 2 Unidades de Taq Gold ADN Polimerasa; para un volumen final de 25 ul, y se añadió 2 ul de la solución de ADN extraído. La reacción se realizó en un termociclador Perkin Elmer 9600 (95 °C por 2 min; 10 ciclos de 94 °C 1 min; 64 °C 1 min; 70 °C 1,5 min; 20 ciclos de 90 °C 1 min; 64 °C 1 min; 70 °C 1,5 min). Los productos amplificados fueron separados por electroforesis capilar con un secuenciador automático ABI 310 (Applied Biosystems, USA) empleándose TAMRA 500 como estándar interno.

RESULTADOS Y DISCUSION

Análisis de Locus

La distribución de frecuencias alélicas para los diferentes loci estudiados DYS393, DYS390, DYS394, DYS392, DYS391, DYS385 I-II, DYS389 I-II de esta población está presente en el Apéndice A. Se puede observar la alta frecuencia de algunos alelos, esto ocurre con el alelo 13 para el locus DYS393 y DYS394. El predominio del alelo DYS19/13 en esta población confirma informes anteriores por *Pena et al. (1995)*, *Santos et al. (1996b, 1996c)*, *Bianchi et al. (1997)*, *Kayser et al. (1997)*, en el sentido de que corresponden a poblaciones amerindias.

Llama la atención la posible presencia de alelos nulos en dos muestras para el Locus DYS389II, que aunque se repitieron las amplificaciones por PCR no se modifico el resultado, esto nos sugiere la posibilidad de la existencia de mutaciones en este locus, las mutaciones en Y-STRs actualmente ya han sido ampliamente estudiados. (*Kayser et al 2001*) (*Kayser et al 2000*)

Análisis de Haplotipos

La tabla 2 muestra los 23 haplotipos de cromosoma Y detectados en esta población, se observan dos haplotipos idénticos, esto demuestra la gran variabilidad genética en estas poblaciones, lo cual podría ser causa del tamaño de la muestra, sin embargo son poblaciones de reducido número de individuos no relacionados.

Estos marcadores específicos de cromosoma Y, proporcionan mucha información en estas poblaciones y la disponibilidad de estos datos permitirían hacer comparaciones con otras poblaciones de Bolivia y de Sud América, con la finalidad de identificar las tendencias de poblamiento de América. Creemos que la complementación con estos métodos que aportan información genética y geográfica con los datos clásicos permitirán determinar las fuerzas evolutivas que definen la estructura genética de las poblaciones Amerindias.

AGRADECIMIENTOS

La realización de este trabajo de investigación se dio gracias al apoyo de: La Universidad de las Naciones Unidas y del Programa de Biotecnología para América

APENDICE A

Tabla 1 Frecuencia de alelos

LOCUS	ALELOS	MOXEÑOS n=25	LOCUS	ALELOS	MOXEÑOS n=25
DYS393	11	0,04	DYS385 I	11	0,16
	12	0,16		12	
	13	0,56		13	0,28
	14	0,24		14	0,20
	15			15	0,32
				16	0,04
DYS390	22	0,08	DYS385 II	11	
	23	0,24		13	0,04
	24	0,44		14	0,24
	25	0,24		15	0,16
	26			16	0,16
DYS394	12			17	0,20
	13	0,64		18	0,04
	14	0,32		19	0,12
	15	0,04	20	0,04	
DYS392	11	0,08	DYS389 I	12	0,08
	12			13	0,72
	13	0,20		14	0,20
	14	0,64	DYS389 II	27	0,04
	15	0,08		28	0,04
	16			29	0,44
		30		0,24	
DYS391	9	0,08	31	0,08	
	10	0,76	32	0,08	
	11	0,16 (a)	0,08	

(a) alelo nulo

Tabla 2 Frecuencia de Haplotipos

DYS394	DYS389 I	DYS389 II	DYS390	DYS391	DYS392	DYS393	DYS385 I-II	Mojeños
13	13	28	24	10	14	13	15,17	1
13	13	29	22	10	14	13	15,16	1
13	13	29	24	10	14	12	14,15	2
13	13	29	24	9	14	13	15,17	1
13	13	29	25	10	14	12	15,16	1
13	13	29	25	10	14	13	14,20	1
13	13	29	25	9	14	13	15,17	1
13	13	30	25	10	14	12	15,17	1
13	13	30	25	10	14	14	16,16	1
13	13	32	23	10	14	13	15,19	2
13	14	?	24	10	14	13	13,13	1
13	14	27	23	10	14	14	13,16	1
13	14	30	25	10	11	14	14,14	1
13	14	31	22	10	14	13	13,17	1
14	12	29	23	10	14	13	13,18	1
14	12	30	23	10	15	14	13,15	1
14	13	?	24	11	13	13	13,14	1
14	13	29	24	10	13	13	11,14	1
14	13	29	24	10	13	14	11,14	1
14	13	30	23	10	11	11	13,15	1
14	13	30	24	11	13	13	11,14	1
14	13	31	24	11	15	14	14,19	1
15	14	29	24	11	13	13	11,14	1

Latina y el Caribe **UNU/Biolac**; Servicio de Huellas Digitales Genéticas de la Universidad de Buenos Aires, República de Argentina.

BIBLIOGRAFIA

1. Queller, D. C., Strassmann, J. E. & Hughes, C. R. (1993). Microsatellites and kinship. *Trends Ecol. Evol.* **8**, 285-288.
2. Eduardo Tarazona-Santos, Denise R. Carvalho-Silva, Davide Pettener, Donata Luiselli, Gian Franco De Stefano, Cristina Martinez Labarga, et al (2001) Genetic Differentiation in South Amerindians Is Related to Environmental and Cultural Diversity: Evidence from the Y Chromosome. *Am. J. Hum. Genet.* **68**:1485-1496
3. Kayser M, Caglia' A, Corach D, Fretwell N, Gehrig C, Graziosi G, Heidorn F, et al (1997) Evaluation of Y chromosomal STRs: a multicenter study. *Int J Legal Med* **110**:125-133
4. Kayser M, and Sajantila A. (2001) Mutations at Y-STR Loci: implications for Paternity testing and Forensic Analysis. *Forensic Science International* **118**:116-121
5. Kayser M, Roewer L, Hedman M, Henke L, Henke J, Brauer S, Kruger C, et al (2000) Characteristics and Frequency of Germline Mutations at Microsatellite Loci from the Human Y Chromosome, as Revealed by Direct Observation in Father/Son Pairs. *Am. J. Hum. Genet.* **66**:1580-1588
6. Pena SDJ, Santos FR, Bianchi NO, Bravi CM, Carnese FR, Rothhammer F, Gerelsaikhan T, et al (1995) A major founder Y-chromosome haplotype in Amerindians. *Nat Genet* **11**:15-16
7. Santos FR, Gerelsaikhan T, Munkhtuja B, Oyunsuren T, Epplen JE, Pena SDJ (1996b) Geographic differences in the allelic frequencies of the human Y-linked tetranucleotide polymorphism DYS19. *Hum Genet* **97**:309-313
8. Santos FR, Rodriguez-Delfin L, Pena SDJ, Moore J, Weiss KM (1996c) North and South Amerindians may have the same major founder Y chromosome haplotype. *Am J Hum Genet* **58**:1369-1370
9. Weber J.L. and Wong C., (1993) Mutation of Human Short Tandem Repeats. *Human Molecular Genetics*, **2**: 1123-1128.
10. Kayser M., Caglia' A., Corach D., Fretwell N., Gehrig C., Graziosi G., Heidorn F., Herrmann S., Herzog B., Hidding M., Honda K., Jobling M., Krawczak M., Leim K., Meuser S., Meyer E., Oesterreich W., Pandya A., Parson W., Penacino G., Perez-Lezaun A., Piccinini A., Prinz M., Schmitt C., Schneider PM., Szibor R., Teifel-Greding J., Weichhold G., de Knijff P., Roewer L., (1997) Evaluation of Y-Chromosomal STRs: A Multicenter Study. *International Journal of Legal Medicine*, **110**: 125-133; 141- 149.
11. Jobling M., Pandya A., Tyler-Smith C., (1997) The Y Chromosome in Forensic Analysis and Paternity Testing. *International Journal of Legal Medicine*, **110**: 118-124.
12. de Knijff P., Kayser M., Caglia' A., Corach D., Fretwell N., Gehrig C., Graziosi G., Heidorn F., Herrmann S., Herzog B., Hidding M., Honda K., Jobling M., Krawczak M., Leim K., Meuser S., Meyer E., Oesterreich W., Pandya A., Parson W., Piccinini A., Perez-Lezaun A., Prinz M., Schmitt C., Schneider PM., Szibor R., Teifel-Greding J., Weichhold G., Roewer L., (1997) Chromosome Y Microsatellites: Population Genetic and Evolutionary Aspects. *International Journal of Legal Medicine*, **110**: 134-140.
13. Santachiara-Benerecetti, S., Soodyall, H., and Zegura, S.L. 2001. Hierarchical patterns of global human y-chromosome diversity *Mol. Biol. Evol.* **18**: 1189-1203.
14. Gill, P., Brenner, C., Brinkmann, B., Budowle, B., Carracedo, A., Jobling, M.A., de Knijff, P., Kayser, M., Krawczak, M., Mayr, W.R., et al. 2001. DNA commission of the International Society of Forensic Genetics: Recommendations on forensic analysis using Y-chromosome STRs. *Int. J. Legal. Med.* **114**: 305-309.
15. P., Rosser, Z.H., Hurles, M.E., Underhill, P., Tournev, I., Marushiakova, E., et al. 2001. Patterns of inter- and intra-group genetic diversity in the V-lax Roma as revealed by Y chromosome and mitochondrial DNA lineages. *Eur. J. Hum. Genet.* **9**: 97-104.
16. Karafet, T., Xu, L., Du, R., Wang, W., Feng, S., Wells, R.S., Redd, A.J., Zegura, S.L., and Hammer, M.F. 2001. Paternal population history of East Asia: Sources, patterns, and microevolutionary processes. *Am. J. Hum. Genet.* **69**: 615-628.
17. H., and Tyler-Smith, C. 2000. MSY2: A slowly evolving minisatellite on the human Y chromosome which provides a useful polymorphic marker in Chinese populations. *Gene* **244**: 29-33.