



**ANÁLISIS
DE POLIMORFISMOS
GENÉTICOS
DE CROMOSOMA 
Y BÚSQUEDA DE MARCADORES
ÉTNICOS CHAQUEÑOS**



LAURA A. GLESMANN



Facultad de Ciencias Naturales y Museo
Universidad Nacional de La Plata

“ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE CROMOSOMA X Y BÚSQUEDA DE MARCADORES ÉTNICOS CHAQUEÑOS”

Lic. Laura Angela Glesmann.

Trabajo de tesis para optar al título de Doctor en Ciencias Naturales

Director/a: Dra. Cecilia Inés Catanesi.

Co-Director/a: Dra. Marta Graciela Méndez.

2015

A mis papás Inge y Bubi, que siempre apoyaron mis sueños

A Vale y Fa, mis hermanos que siempre están

A Char, mi compañero de vida

AGRADECIMIENTOS

“No basta dar pasos que un día puedan conducir hasta la meta, sino que cada paso ha de ser una meta sin dejar de ser un paso”

Johann P. Eckermann

Quisiera agradecer a todas las personas que fueron parte de este gran paso en mi vida:

- En primer lugar quisiera agradecer a las autoridades y compañeros del Instituto Multidisciplinario de Biología Celular por permitirme realizar este trabajo en sus instalaciones y por los siete años de compañía día a día.
- A la Dra. Cecilia Catanesi, mi directora de tesis, quien me enseñó no sólo las técnicas de laboratorio, sino también cómo desenvolverse en el mundo científico, por los consejos, y por su valiosa paciencia y dedicación, sin ella no hubiera sido posible alcanzar este trabajo.
- A la Dra. Graciela Méndez, mi codirectora de tesis, por su aporte fundamental en el área antropológica.
- A los jurados de este trabajo, que gentilmente aceptaron su revisión.
- A Daniel López Larraza por sus consejos, y ejemplo.
- Agradezco de manera especial al grupo “genmolhum”, a los chicos que pasaron por el laboratorio de diversidad genética, Celestita, Romi, Pau, Male, Jorge, Nico, y las chicas de la nueva generación Diana, Rebe y Brenda quienes hicieron de mis días divertidos, llevaderos y productivos.
- A las chicas del grupo camélido y del laboratorio de Genética Molecular, a la Dra. Lidia Vidal Rioja, Florencia, Miriam, Silvana y Melina por el acompañamiento en estos años.
- Agradezco al grupo de laboratorio del Dr. Sydney Santos, por el aporte en la tipificación del cromosoma X, principalmente a Rafael Rescue por la paciencia y buena onda en responder tantos mails.
- A Francisco del equipo de antropología biológica – CEEBAD / Universidad Maimónides, por el aporte en el análisis del ADN mitocondrial.
- Al personal del Ministerio de salud de la provincia de Chaco, al Dr. Darío Gómez y a Claudia Fajans.
- A los directivos y personal de los Sanatorios Frangioli (Dr. Marcos Echazarreta y Dra. Roxana Lenchovich) y Güemes (Dra. Rosa Jajam), del Hospital Odontológico de la ciudad de Resistencia-Chaco (Dra. Ruth Salomón y Dra. Silvina Gómez).
- A los directivos y personal del Hospital regional de Misión N. Pompeya-Chaco (Dr. Cristian Mussin y Bioq. Alejandro Tapia).

- A Daniela Arntzen, Jhimy Romero, Silvia Rojas, Marina Cubilla, Walter Albornoz, Jorge Bridi, Pablo Martina, y Gustavo Kolbeneuyer por la gran colaboración en la toma de muestras.

- Principalmente a los donantes voluntarios, que sin su participación este trabajo no se hubiese llevado a cabo.

- A todos los que con su buena onda y predisposición aceptaron formar parte de la portada.

En ocasiones el camino se hace más largo.

En ocasiones el camino se hace oscuro.

En ocasiones el camino es solitario,

pero siempre se encuentran grandes amigos

que hacen ese camino más corto, luminoso y agradable.

Por eso, gracias a todos los que contribuyeron en esta labor estando presente en todos mis momentos: especialmente a Lore, Nadita, Kari, Cristhi, Marcos, Ceci, Adri, y Ali.

- Finalmente, gracias a mi familia, tías, tíos, primos, abuelas por estar presentes, con un llamado o un mensaje.

- A Char, gracias por acompañarme en este camino, por la paciencia de todos los días.

- A mis cuñados Lucas, Martin, Seba y Sil, a mi suegro por abrirme las puertas de su casa y de su familia.

- Y principalmente gracias a mis padres Inge y Bubi, y mis hermanos Vale y Fa por el apoyo incondicional.

RESUMEN

Los seres humanos compartimos 99,7% de nuestro ADN, sin embargo, las poblaciones humanas se caracterizan por ser diversas. Tanto la diversidad cultural como la diversidad biológica son el resultado de las estrategias adaptativas de las poblaciones frente a diferentes condiciones ambientales a las que fueron y son expuestas. Las poblaciones que conforman el territorio americano llegaron al continente en diferentes eventos migratorios, y han protagonizado interacciones socio-culturales, generando diferentes historias, las cuales pueden verse reflejadas en la estructura genética de las poblaciones. El contacto europeo con los nativos americanos (amerindios) causó una disminución drástica de la población nativa, ya que muchos grupos desaparecieron, otros se fusionaron entre sí o con grupos no-nativos, y emergieron las poblaciones latinoamericanas modernas, con tres orígenes ancestrales, el nativo, el europeo y el africano generando de esta manera una gran variabilidad genética en las poblaciones actuales.

Los procesos migratorios constituyeron una constante en la historia argentina e influyeron de diversa manera en su conformación generando una estructura genética poblacional única.

La provincia de Chaco se encuentra situada en el nordeste argentino, limitando con Formosa, Corrientes, Santa Fé, Santiago del Estero y Salta, además de una pequeña extensión del Paraguay. Enmarcada en el noreste por los ríos Teuco, Bermejo y Paraná, se encuentra situada dentro de la región del Gran Chaco, la cual no fue habitada por humanos hasta hace alrededor de 5000 años, momento a partir del cual fue ocupada por varios pueblos nativos de hábitos recolectores, cazadores y pescadores.

Luego de algunos intentos de ocupar el lugar, desde 1872 se asentaron en la provincia de Chaco un grupo de correntinos e inmigrantes italianos, aunque esta provincia no estuvo bajo la efectiva administración hispana ni argentina hasta la fundación del pueblo y colonia de Resistencia en 1875, que marcó así el comienzo de la colonización de la zona que ocupa actualmente la provincia, con el arribo de inmigrantes paraguayos, correntinos, de Europa central y oriental, formando colonias de descendientes europeos que no se repiten con tanta frecuencia en otros lugares de la Argentina. Con respecto a las comunidades nativas, la provincia de Chaco cuenta en la actualidad con una de las mayores poblaciones nativas del país, incluyendo individuos de las comunidades Toba, Wichí y Mocoví.

Las poblaciones nativas chaqueñas, al igual que otras poblaciones americanas, han estado sometidas a varios eventos migratorios, de deriva génica, y a otros procesos de

cambio en el transcurso del tiempo. Algunas de estas poblaciones estuvieron relativamente aisladas desde el punto de vista geográfico, lo que conlleva a un aislamiento genético. De esta manera los estudios de marcadores moleculares pueden ayudar a comprender qué procesos de cambio han ocurrido en estos pueblos y a conocer el origen y la procedencia geográfica de estos grupos humanos. Las localidades elegidas para el desarrollo de este trabajo difieren geográfica y demográficamente: Resistencia y Misión Nueva Pompeya. Resistencia, al ser la capital de la provincia, se encuentra en continuo contacto con otras poblaciones del interior chaqueño, de Corrientes y de Paraguay; actualmente está formada por, descendientes de criollos, europeos (principalmente italianos) y descendientes de los pueblos nativos (en su mayoría Toba). Mientras que Misión Nueva Pompeya, por su ubicación en el impenetrable Chaqueño y su lejanía con otros poblados, se encuentra en una situación de relativo aislamiento. En la actualidad, la población de Misión Nueva Pompeya está compuesta por criollos, y Wichí.

Szibor (2007) afirma que las diferencias en los patrones de distribución alélica de distintos marcadores de cromosoma X puede ser altamente informativa en la comparación de poblaciones que no están estrechamente relacionadas, como lo son las comunidades nativas y la población no nativa de nuestro país. Este autor destaca las características especiales del X y propone los marcadores de este cromosoma como potencialmente eficaces para develar diferencias étnicas.

El objetivo general del presente proyecto es describir la estructura genética actual de la población de la provincia de Chaco, mediante la caracterización de polimorfismos genéticos de la región no pseudoautosómica (X-específica) del cromosoma X, e identificar polimorfismos distintivos de las poblaciones nativas chaqueñas que los diferencien de las procedentes de inmigración europea.

El material de estudio consistió en ADN aislado a partir de muestras de saliva o sangre periférica. Mediante amplificación por PCR y electroforesis capilar, o electroforesis en geles de poliacrilamida o agarosa, se obtuvo para cada individuo analizado su constitución genética para los X-STR, X-Indel y X-SNP utilizados.

Los polimorfismos de los marcadores del cromosoma X analizados en este trabajo mostraron una mayor variabilidad en las poblaciones criollas de Misión N. Pompeya y Resistencia, a diferencia de las poblaciones nativas. Indicando procesos de inmigración y miscegenación en ambas poblaciones. La variación observada en las

dos poblaciones criollas son similares, indicando un origen similar en sus comienzos por inmigrantes europeos, principalmente italianos según datos históricos.

La población nativa Wichí mostró una baja variación genética y elevados valores de homocigosis, indicando un claro proceso de endogamia y de deriva genética. Presentó además una gran diferenciación con las poblaciones criollas, principalmente con Resistencia, probablemente debido a la ubicación geográfica de ambas poblaciones y a diferencias culturales.

De las poblaciones nativas, la población Mocoví fue la que presentó menor diferenciación con las poblaciones criollas, muy probablemente debido al flujo génico que estaría sucediendo entre la población nativa y los grupos criollos. Los marcadores: MID3754, rs4825889, rs149910, y rs1937193 pueden ser de utilidad para diferenciar a las poblaciones nativas, y las variantes= 0, G, T, A serían distintivas en estas poblaciones ya que se observaron frecuencias más elevadas, a diferencia de las poblaciones criollas.

Se concluye que las poblaciones nativas y criollas analizadas en este trabajo están atravesando diferentes procesos poblacionales que se ven reflejados en determinados polimorfismos genéticos del cromosoma X. Los marcadores del cromosoma X mostraron ser herramientas de gran utilidad para relacionar la variación genética con las diferencias culturales y la ubicación geográfica de las distintas comunidades que habitan actualmente la provincia de Chaco.

ABSTRACT

Although human beings share 99,7% of our DNA, human populations are diverse. Not only cultural, but biological diversity, are the result of adaptive strategies of populations to deal with environmental conditions, in the current time and especially, in the past. The peopling of the American continent occurred in different migration events, and then the populations started social and cultural interactions, giving rise to different historical processes which can be reflected in their genetic structure. A drastical reduction of Native Americans (or Amerindians) was caused since the first European contact, making the total extinction of some groups, and the fusión of some others, sometimes between native groups, sometimes between native and non native ones. Modern Latin American populations emerged from those processes, carrying a high genetic variability due to their Native, European, and African ancestral origins. Particularly, in the Argentine region, migratory processes determined a constant influence in the changing conformation of its unique genetic structure.

The Chaco province is located in the Northeast of Argentina, limiting Formosa, Corrientes, Santa Fé, Santiago del Estero, and Salta provinces, and also a small part of Paraguay. Framed by three rivers, Teuco, Bermejo, and Paraná, it stands within the Gran Chaco region, which was inhabited by humans about 5000 years before present. From that very recent time, several native tribes of hunting-gathering-fishing habits established.

Since 1872, a group of Italian immigrants together with some people from Corrientes established in the Chaco province. Nevertheless, this province was not under official administration until 1875, when the foundation of Resistencia town marked the beginning of the Hispanic colonization of that region. In that way, Paraguayans, central and east Europeans, and people from Corrientes formed colonies not common to other parts of Argentina.

On the other hand, the province of Chaco currently houses one of the most important Native communities in Argentina, including individuals from Toba, Wichí and Mocoví groups.

As in other parts of America, the Native people from Chaco were subjected to several evolutionary events, such as migrations, genetic flow, and other processes. Some of these populations were geographically isolated, also driving them to a genetic isolation. In this way, molecular marker analysis can help comprising the changes occurred among these populations, and also to know their origin and geographic precedence.

In this study, two cities that differ in geographic and demographic characteristics were selected: Resistencia, and Misión Nueva Pompeya. Resistencia is the capital city of the province; for that reason it is in permanent interchange with other populations from the inner part of the province, from Corrientes, and from Paraguay. Currently, Resistencia is inhabited by Creole (criollo), Europeans (mainly Italians), and individuals of Native ancestry (mainly Toba). On the other side, Misión Nueva Pompeya, located within the “Impenetrable Chaqueño” forest and apart from other towns, is relatively isolated. Nowadays, Misión Nueva Pompeya population is formed by Creole and Wichí.

Szibor (2007) affirms that the different patterns of allele distribution of X chromosome markers can be highly informative for comparing populations not closely related, such as Native and non Native communities of our country. This author remarks the characteristics of X chromosome, and proposes the use of this chromosome for unveil ethnic differences.

The aim of this work was to describe the current genetic structure of the population from the province of Chaco, through the characterization of genetic polymorphisms located in the non pseudoautosomic (X-specific) region of the X chromosome, and to identify distinctive polymorphisms of Chaco Native populations which can help differentiating them from individuals of European origin living in the same region.

DNA samples were isolated from blood or saliva. Through PCR amplification followed by agarose or polyacrylamide gel electrophoresis, every donor was genotyped for X-STR, X-Indel and X-SNP markers.

The X chromosome markers analyzed in this work showed a higher variability among Creole people from Misión N. Pompeya and Resistencia, in contrast to Native populations. This variability might indicate immigration and admixture processes in both Creole populations. Besides, as their variability is similar, a common origin can be suggested from European immigrants, mainly Italians.

The Wichí population showed a low genetic variation, and high homozygosity values, clearly indicating endogamy and genetic flow. Moreover, the differentiation with Creole populations was important, mainly in comparison with Resistencia, probably due to the geographic distance between both populations and to cultural differences.

Among the Native people, the Mocoví showed to be less different from Creole populations; this similarity likely comes from a genetic flow process among Creole

and Mocoví people. The markers MID3754, rs4825889, rs149910, and rs1937193 can be useful for differentiation of Chaco province populations, and the alleles= 0, G, T, A might be distinctive of Native groups, since we found them in much higher frequencies than in Creole populations.

As a conclusion, it can be said that Native and Creole populations included in this work are passing through different population change processes, that are reflected in part in genetic polymorphisms of the X chromosome. These markers have shown to be useful tools for studying the relationship of genetic variation and cultural and geographic differentiation of currently inhabiting populations of Gran Chaco province.

ÍNDICE

*Páginas***DEDICATORIA****AGRADECIMIENTOS****RESÚMEN****ABSTRACT**

1-INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 POBLACIÓN ARGENTINA.....	2
1.2 CHACO.....	3
1.2.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA.....	3
1.2.2 POBLACIÓN.....	5
1.3 RESISTENCIA.....	7
1.3.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA Y POBLAMIENTO.....	7
1.3.2 POBLACIÓN ACTUAL.....	8
1.4 MISIÓN NUEVA POMPEYA.....	9
1.4.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA Y POBLAMIENTO.....	9
1.4.2 POBLACIÓN ACTUAL.....	9
1.5 POBLACIONES NATIVAS.....	9
1.5.1 POBLACIÓN WICHÍ.....	11
1.5.2 POBLACIÓN MOCOVÍ.....	14
1.5.3 POBLACIÓN TOBA.....	15
1.6 PROCESOS POBLACIONALES.....	15
1.7 MARCADORES GENÉTICOS.....	17
2- HIPÓTESIS.....	22
2.1 HIPÓTESIS GENERAL.....	23
2.2 HIPÓTESIS AUXILIAR 1.....	23
2.3 HIPÓTESIS AUXILIAR 2.....	23
3-OBJETIVOS.....	24
3.1 OBJETIVOS GENERALES.....	25
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
4-MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
4.1 ESQUEMA DE TRABAJO.....	27

4.2 POBLACIONES ANALIZADAS.....	28
4.3 EXTRACCIÓN DE ADN.....	29
4.4 MARCADORES ANALIZADOS Y TÉCNICAS DE GENOTIPIFICACIÓN ..	31
4.4.1 MICROSATÉLITES DEL CROMOSOMA X.....	31
4.4.1.1 AMPLIFICACIÓN DEL ADN.....	32
4.4.1.2 TIPIFICACIÓN POR ELECTROFORESIS CAPILAR.....	32
4.4.2 INSERCIÓN/DELECIÓN DEL CROMOSOMA X.....	34
4.4.2.1 AMPLIFICACIÓN DEL ADN.....	36
4.4.2.2 TIPIFICACIÓN EN GELES DE POLIACRILAMIDA.....	37
4.4.3 CAMBIOS DE UN SOLO NUCLEÓTIDO.....	37
4.4.3.1 AMPLIFICACIÓN DEL ADN.....	39
4.4.3.2 TIPIFICACIÓN EN GELES DE AGAROSA Y POLIACRILAMIDA.....	40
4.4.4 POLIMORFISMOS DEL ADN MITOCONDRIAL.....	41
4.4.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	41
4.4.5.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL.....	41
4.4.5.1.1 FRECUENCIAS ALÉLICAS.....	41
4.4.5.1.2 FRECUENCIAS GENOTÍPICAS.....	42
4.4.5.1.3 FRECUENCIAS HAPLOTÍPICAS.....	42
4.4.5.1.4 NÚMERO DE ALELOS.....	43
4.4.5.1.5 NÚMERO EFECTIVO DE ALELOS.....	43
4.4.5.1.6 NÚMERO MEDIO DE ALELOS.....	43
4.4.5.1.7 CONTENIDO DE INFORMACIÓN DE POLIMORFISMO (PIC).....	43
4.4.5.1.8 ANÁLISIS DE DESEQUILIBRIO DE LIGAMIENTO.....	44
4.4.5.1.9 HETEROCIGOSIS OBSERVADA.....	44
4.4.5.1.10 HETEROCIGOSIS MEDIA.....	44
4.4.5.1.11 HETEROCIGOSIS ESPERADA O DIVERSIDAD GÉNICA POBLACIONAL Y EQUILIBRIO HARDY-WEINBERG.....	44
4.4.5.1.12 DIVERSIDAD GÉNICA.....	45
4.4.5.1.13 DIVERSIDAD HAPLOTÍPICA.....	45
4.5.2 ESTRUCTURA POBLACIONAL.....	46
4.5.2.1 VARIACIÓN ENTRE LAS POBLACIONES.....	46
4.5.2.2 INDICE DE WRIGTH FST.....	46
4.5.2.3 ÍNDICE RST.....	47
4.5.2.4 DISTANCIA GENÉTICA.....	47
4.5.2.5 ANÁLISIS DE VARIANZA MOLECULAR (AMOVA).....	48
4.5.2.6 ESTRUCTURA POBLACIONAL.....	48
5-RESULTADOS.....	49

5 RESULTADOS.....	50
5.1 X-STR.....	50
5.1.1 WICHÍ.....	50
5.1.1.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL.....	50
5.1.2 MOCOVÍ.....	54
5.1.2.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL.....	54
5.1.3 MISIÓN N. POMPEYA CRIOLLOS.....	56
5.1.3.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL.....	56
5.1.4 RESISTENCIA CRIOLLOS.....	59
5.1.4.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL.....	59
5.2 X-INDEL.....	62
5.2.1 WICHÍ.....	63
5.2.2.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL.....	63
5.2.2 MOCOVÍ.....	64
5.2.2.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL.....	64
5.2.3 MISIÓN N. POMPEYA CRIOLLOS.....	65
5.2.3.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL.....	65
5.2.4 RESISTENCIA CRIOLLOS.....	66
5.2.4.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL.....	66
5.3 X-SNP.....	68
5.3.1 WICHÍ.....	69
5.3.1.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL.....	69
5.3.2 MOCOVÍ.....	71
5.3.2.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL.....	71
5.3.3 MISIÓN N. POMPEYA CRIOLLOS.....	72
5.3.3.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL.....	72
5.3.4 RESISTENCIA.....	74
5.3.4.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL.....	74
5.4 COMPARACIÓN ENTRE LAS POBLACIONES: WICHÍ, MOCOVÍ, CRIOLLOS-MISIÓN N. POMPEYA Y CRIOLLOS-RESISTENCIA.....	75
5.4.1 X-STR.....	75
5.4.1.1 COMPARACIÓN DE LA VARIACIÓN ENTRE LAS POBLACIONES.....	75
5.4.1.2 ESTRUCTURA POBLACIONAL.....	94
5.4.2 X-INDEL.....	97
5.4.2.1 COMPARACIÓN DE LA VARIACIÓN ENTRE LAS POBLACIONES.....	97

5.4.2.2 ESTRUCTURA POBLACIONAL.....	101
5.4.3 X-SNP.....	102
5.4.3.1 COMPARACIÓN DE LA VARIACIÓN ENTRE LAS POBLACIONES.....	102
5.4.3.2 ESTRUCTURA POBLACIONAL.....	107
5.4.4 ANÁLISIS DE ADN MITOCONDRIAL.....	108
5.4.5 BÚSQUEDA DE VARIANTES DISTINTIVAS DE LAS POBLACIONES NATIVAS CHAQUEÑAS.....	108
6-DISCUSIÓN.....	110
6.1 VARIABILIDAD DEL CROMOSOMA X EN POBLACIONES CHAQUEÑAS ARGENTINAS.....	111
6.2 DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA ACTUAL DE LAS POBLACIONES ESTUDIADAS.....	114
6.3 DETERMINACIÓN DE POLIMORFISMOS DISTINTIVOS DE LAS POBLACIONES NATIVAS.....	117
7-CONCLUSIONES.....	119
7.1 CONCLUSIÓN GENERAL.....	120
7.2 CONCLUSIONES PARTICULARES.....	120
8-APÉNDICE.....	121
9-REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	127
9.1 REFERENCIAS ELECTRÓNICAS.....	138

INTRODUCCIÓN

*Ningún hombre es una isla, algo completo en sí mismo; todo hombre es un fragmento
del continente, una parte de un conjunto...*

JOHN DONNE

Los seres humanos compartimos 99,7% de nuestro ADN. Sin embargo, las poblaciones humanas se caracterizan por ser diversas. Tanto la diversidad cultural como la diversidad biológica son el resultado de las estrategias adaptativas de las poblaciones frente a diferentes condiciones ambientales a las que fueron y son expuestas (Acreche, *et al.* 2004; Harris & Meyer, 2006).

Las poblaciones que conforman el territorio americano han llegado al continente en diferentes eventos migratorios, y han protagonizado interacciones socio-culturales, generando diferentes historias, lo cual puede verse reflejado en la estructura genética de las poblaciones. El contacto europeo con los nativos americanos (amerindios) causó una disminución drástica de la población nativa, muchos grupos desaparecieron, otros se fusionaron, se dieron mezclas genéticas con grupos no-nativos (Mulligan *et al.*, 2004), y emergieron las poblaciones latinoamericanas modernas, con tres orígenes ancestrales, el nativo, el europeo y el africano (Salzano & Bortolini, 2002), generando de esta manera una gran variabilidad genética en las poblaciones actuales (Criollo Rayo, 2012; Rondón *et al.*, 2008).

1.1 POBLACIÓN ARGENTINA

El territorio argentino se encontraba poblado en la etapa precolombina por más de un centenar de comunidades nativas como Diaguita, Calchaquí, Quilmes, Atacama, Humahuaca, Wichí, Toba, Pilagá, Tonocoté, Chulupí, Mocoví, Abipon, Matará, Xurí, Warpe, Lule, Chiriguano, Araucanos, entre otros; que fueron desapareciendo a causa de las matanzas y la explotación económica, y fueron sometidos a reducciones poblacionales, epidemias, y reubicaciones forzadas (Solá, 2009). La llegada de los españoles, principalmente hombres, entre los siglos XVI a XVIII, coincidió en otros sectores del continente con la colonización portuguesa (Ministerio del Interior: http://www.mininterior.gov.ar/migraciones/museo/museo_el_camino.htm).

Algunos grupos se transformaron en “cultura de resistencia”, viviendo libres en sus territorios, pero muchos se mezclaron con los europeos y a partir de ellos surgió la primera formación cultural de nuestra sociedad. El componente africano se sumó a esta población entre los siglos XVII y XVIII con la entrada forzada al país de esclavos africanos. En la etapa colonial se produjeron mestizajes entre españoles, portugueses, africanos y nativos americanos, pero los africanos fueron drásticamente reducidos en la población argentina debido, en parte, a que fueron utilizados como “carne de cañón” en las guerras civiles (Avena *et al.*, 2006), y también afectados por las epidemias. Entre los

años 1850 y 1950 Argentina se encontraba junto con Estados Unidos y Brasil, entre los países que recibían mayor número de migración transatlántica. En un primer momento se observaron oleadas migratorias masivas desde los países europeos, fundamentalmente España e Italia, fomentadas por políticas que tendían a promover la migración europea. Sin embargo, hubo también contribuciones significativas de franceses, polacos, rusos, turcos, alemanes, judíos, ucranianos, británicos, portugueses, yugoslavos, suizos, griegos, irlandeses, galeses, holandeses, belgas, croatas, checos, daneses, estadounidenses y suecos. También hubo un número considerable de inmigrantes de países no europeos, principalmente provenientes de Siria, El Líbano, y Armenia, y de países asiáticos, principalmente de Japón (Ministerio del Interior: http://www.mininterior.gov.ar/migraciones/museo/museo_el_camino.htm).

Paulatinamente, estos grupos de inmigrantes se fusionaron a la población criolla.

A partir de 1914 el flujo migratorio fue decreciendo, aunque se mantuvieron flujos importantes hasta mediados de siglo. Al mismo tiempo, empezaron a aumentar las migraciones de países limítrofes, que anteriormente era escasa y pasaba desapercibida. A mediados del siglo XX empezaron a producirse migraciones internas y latinoamericanas desde países fronterizos y Perú, introduciendo el componente nativo en mayor medida y poniendo en contacto las poblaciones de las ciudades, criollos (personas descendientes de europeos nacidos en Argentina), con los pueblos del interior, nativos o mestizos (Martínez-Sarasola, 2005; Informe de censo 2010: <http://www.censo2010.indec.gov.ar/index.asp>).

De esta manera se fue reduciendo lenta pero sostenidamente el porcentaje del componente europeo en la composición étnica de la población (Avena *et al.*, 2006). Pero debido a la magnitud del aporte europeo el mismo continuó siendo predominante.

Los procesos migratorios constituyeron una constante en la historia argentina e influyeron de diversa manera en su conformación generando una estructura genética poblacional única.

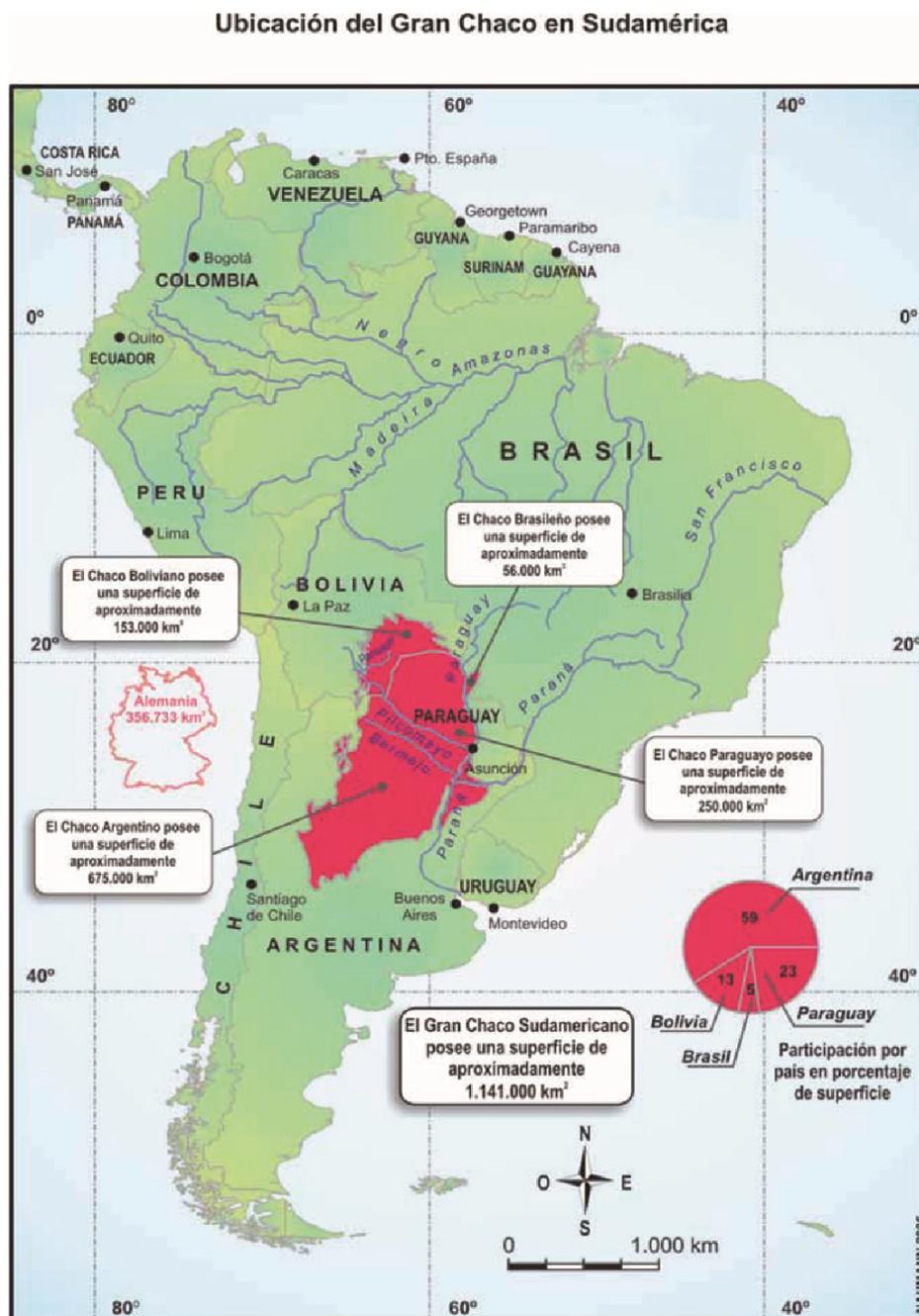
1.2 CHACO

1.2.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA

La provincia de Chaco se encuentra situada en el nordeste argentino, limitando con Formosa, Corrientes, Santa Fé, Santiago del Estero y Salta, además de una pequeña extensión del Paraguay. Enmarcada en el noreste por los ríos Teuco, Bermejo y Paraná,

se encuentra situada dentro de la región del Gran Chaco, una gran llanura de condiciones geográficas y climáticas severas (Maeder, 2012). El Gran Chaco ocupa 1.000.000 km², en el centro sur de América que incluye el norte de Argentina, el sureste de Bolivia, el noroeste de Paraguay, y una pequeña zona del suroeste de Brasil (Fig. 1). Se extiende desde latitudes definitivamente tropicales (18°S), hasta ambientes claramente subtropicales (31°S) abarcando desde los 57° Oeste hasta los 66° Oeste. (Barúa y Mir, 2009; Maeder, 2012).

Figura 1. Ubicación geográfica del Gran Chaco en Sudamérica. (modificado de Atlas Del Gran Chaco Americano Neuman, 2006).



1.2.2 POBLACIÓN

La provincia de Chaco no fue habitada por humanos hasta hace alrededor de 5000 años (Crosetti *et al.*, 2008), momento a partir del cual fue ocupada por varios pueblos nativos de hábitos recolectores, cazadores y pescadores: Abipon, Mocoví, Toba, Mbya y Pilagá del grupo Guaycurú, los Wichí, Chorote y Chulupí entre los pueblos Mataco-mataguayo, y la familia de los Lule-Vilela. Estos grupos étnicos no tenían lengua escrita, por lo cual el registro histórico anterior a la llegada de los españoles proviene sólo de fuentes orales (Martínez-Sarasola, 2004; Tissera, 2008).

A partir del año 1528 llegaron los primeros europeos, quienes efectuaron algunos intentos de ocupar el lugar, y a partir de 1872 se asentaron en la provincia un grupo de correntinos e inmigrantes italianos (De Pompert de Valenzuela, 2008; Tissera, 2008). Pero la provincia del Chaco no estuvo bajo la efectiva administración hispana ni argentina hasta la fundación del pueblo y colonia de Resistencia en 1875, que marcó así el comienzo de la colonización de Chaco (De Godoy, 2003). Entre los años 1895 y 1914 arribaron a la provincia unos 3.400 paraguayos y 12.600 correntinos (Solá, 2009; Franceschi y Dasso, 2010).

Para principios del siglo XX, la población del Chaco era una sociedad poco numerosa, heterogénea y desigualmente distribuida en el espacio (Maeder, 2012).

A comienzos de este siglo se instalaron familias alemanas, en la zona de Campo del Cielo, en los años posteriores llegaron a la provincia españoles, rusos y sirio-libaneses e inmigrantes provenientes de Europa Central: checos, eslovenos, búlgaros, y rusos, lituanos y ucranianos.

Hacia 1912 los inmigrantes conformaban casi un 30% de la población del Chaco. Entre los años 1916-1917 la provincia de Chaco fue la que más inmigración recibió de todo el territorio argentino. Esto fue favorecido por la habilitación de vías férreas, la abundante oferta de tierras fiscales y el desarrollo del cultivo de algodón.

Entre 1923 y 1930, se ubicaron en la provincia 15.757 inmigrantes extranjeros, en su mayoría polacos, italianos, búlgaros, yugoslavos y en menores cantidades españoles, alemanes, checoslovacos, rumanos, lituanos, ucranianos y hebreos (De Pompert de Valenzuela, 2008; Franceschi y Dasso, 2010). De esta forma se conformaron colonias de descendientes europeos que no se repiten con tanta frecuencia en otros lugares de Argentina (De Pompert de Valenzuela, 2008; Maeder, 2012; De Godoy, 2003).

A estas cifras deben agregarse las que corresponden al arribo de inmigrantes provenientes de otras regiones de la Argentina, familias enteras de correntinos cuya organización pastoril no ofrecía condiciones favorables en su lugar de origen, así como también hombres de Santa Fe, Santiago del Estero y Salta que llegaron al territorio en busca de mejores condiciones de trabajo y se radicaron en el territorio chaqueño (De Pompert de Valenzuela, 2008). En el período 1943-1957 la provincia creció en algunos aspectos como en el institucional y cívico, pero a nivel social y económico (por la crisis del algodón) disminuyó. Los censos de 1947 y 1960 indican una disminución del crecimiento de la población, debido a una intensa emigración interna, principalmente desde las zonas rurales hacia otras provincias, como así

también una disminución de la inmigración de extranjeros (Maeder, 2012) pero a partir de los años '70, empezó a disminuir la emigración y aumentó la inmigración, principalmente desde países limítrofes.

Con respecto a las comunidades nativas, la bibliografía refiere que la provincia de Chaco cuenta en la actualidad con una de las mayores poblaciones nativas del país, con casi 50.000 individuos de las comunidades Toba, Wichí y Mocoví (Encuesta complementaria de pueblos indígenas, 2005: http://www.indec.gov.ar/micro_sitios/webcenso/ECPI/index_ecpi.asp). La población Mocoví se encuentra ubicada en la zona sur de Chaco, mientras que la población Wichí reside en el noroeste de la provincia, en las orillas del río Teuco-Bermejo, incluyendo la localidad de Misión Nueva Pompeya. Con respecto a la población Toba, la pérdida de sus tierras ancestrales los llevó a asentarse en diferentes comunidades de los alrededores de varias localidades y en los barrios toba de Resistencia y de Sáenz Peña (Rodríguez de Llamas, 2006).

Si hay algo que caracteriza al Chaco es su conformación multiétnica (Montani, 2008).

1.3 RESISTENCIA

1.3.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA Y POBLAMIENTO

Resistencia se encuentra al sudeste de la provincia Chaco, y es cabecera de la misma, ubicada en el departamento de San Fernando. A través del puente General Manuel Belgrano, sobre el río Paraná, se conecta con la capital de la provincia de Corrientes, de la cual se encuentra a 20 km de distancia y muy interrelacionada con la misma, como también con el resto del país (De Pompert de Valenzuela, 2008).

Antes de la llegada de los españoles, la zona de la actual ciudad de Resistencia estaba poblada por nativos pertenecientes al grupo lingüístico Guaycurú. Cuando arribaron los españoles esta zona formó parte de la frontera interior del país con el territorio nativo-amerindio. Hubieron varios intentos de ocupar el lugar principalmente por la cercanía a la ciudad de Corrientes, una de las más importantes reducciones que se instalaron en la zona fue la de San Fernando del Río Negro (mediados del siglo XVIII), luego el paraje llevo el mismo nombre.

La reducción de San Buenaventura del Monte Alto (hoy es un barrio de la ciudad) se creó en el 1865. La reducción no prosperó pero permitió la formación de un pequeño poblado criollo que se dedicó a la extracción de madera. La ciudad de Resistencia nació como producto de medidas administrativas, a su vez motivadas por razones

estratégicas y fue poblada inicialmente por contingentes de inmigrantes extranjeros y de otras provincias argentinas (De Pompert de Valenzuela, 2008).

Los primeros inmigrantes llegaron en 1877, eran 43 familias friulanas (Italianas), posteriormente se siguieron sumando otros grupos similares y al año siguiente se agregaron inmigrantes del Tirol (región trilingüe alpina de Europa) y también familias extranjeras y criollas que llegaron por su propia cuenta.

Al sancionarse la Ley 1532, en 1884, por la que se creaban los territorios nacionales entre los que se encontraba Chaco, Resistencia quedó consagrada como capital del mismo (De Pompert de Valenzuela, 2008).

En 1885 la población estaba conformada por 1134 argentinos y 915 extranjeros, en el censo realizado en este año y en el del 1914 no se incluyeron datos de la población nativa de Chaco, solamente consignando apenas referencias escuetas acerca de ellos (Maeder, 2012).

Durante la primera mitad de siglo XX la ciudad de Resistencia fue favorecida por una industrialización temprana y buenas vías de comunicación que impulsaron el desarrollo de la ciudad. A esto se sumó la unión a otras tres poblaciones, con lo que se formó el Gran Resistencia, en el que se incluye a Barranqueras, que tiene salida al río Paraná. A fines del siglo XX la población empobrecida del interior de la provincia, inmigró en grandes cantidades a los suburbios de Resistencia, movida por el progreso de esta ciudad (Historia de Resistencia: http://www.mr.gov.ar/v2/sitio/html/paginas.php?pag_id=1).

1.3.2 POBLACIÓN ACTUAL

Actualmente la población de Resistencia está formada por descendientes de los pueblos nativos (en su mayoría Toba), descendientes de criollos venidos fundamentalmente de la provincia de Corrientes y europeos (principalmente italianos). La población urbana se encuentra en crecimiento debido a movimientos migratorios de la población rural y del interior provincial hacia la capital (De Pompert de Valenzuela, 2008). Según datos del INDEC (2001) Resistencia es la ciudad más poblada de su provincia y la segunda de la región NEA.

1.4 MISIÓN NUEVA POMPEYA

1.4.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA Y POBLAMIENTO

La localidad de Misión Nueva Pompeya presenta un marcado aislamiento debido principalmente a su ubicación geográfica en el noroeste de Chaco, dentro de la formación fitogeográfica “El Impenetrable Chaqueño”; a 285 km de la capital departamental Castelli, y a 480 km de la capital provincial. En un primer momento se encontraban en esta zona sólo los Wichí, dedicados a la recolección, caza y pesca (Colazo, 2003). Posteriormente, en el año 1899 se estableció la misión Franciscana, venidos de Salta. En 1900 por medio de un decreto que otorgó a los misioneros franciscanos 20.000 hectáreas con el fin de que los mismo llevaran a cabo una misión de evangelización con los nativos de la zona. De esta manera el 29 de Noviembre del 1900 se fundó Misión Nueva Pompeya. Desde entonces la misión tuvo ciertas dificultades, especialmente por la sequía del lugar (Franceschi y Dasso, 2010). A partir de entonces se sucedieron dos procesos de evangelización, uno realizado por Hermana Guillermina Hagen y el último por los Hermanos Maristas de la Congregación Marcelino Champagnat que nuclearon a los nativos en torno a la misión inculcándoles la cultura europea, con la vuelta a la vida itinerante en el monte cada vez que los evangelizadores terminaban su misión (De Pompert de Valenzuela, 2008; Franceschi y Dasso, 2010; Colazo, 2003).

1.4.2 POBLACIÓN ACTUAL

En la actualidad, la población de Misión Nueva Pompeya está compuesta por criollos, nativos del grupo Wichí y residentes temporarios (empleados de la administración pública). Las comunidades Wichí actuales se declaran procedentes o descendientes de los Matacos de Salta y con ellos mantienen estrechos lazos hasta el presente. El aislamiento de la población de Misión Nueva Pompeya, hasta el día de hoy, se debe a la carencia de vías de comunicación con los principales centros urbanos, las características de las propias pautas culturales de los nativos, y las condiciones climáticas muy severas propias de esta región (Altamirano y Salvay, 1996).

1.5 POBLACIONES NATIVAS

En el territorio Argentino durante el siglo XVI las poblaciones nativas vivían en armonía. Por un lado se encontraban las poblaciones sedentarias, que cultivaban la tierra, con una organización social que mantenía a miles de individuos; también se

encontraban los cazadores y recolectores, que recorrían grandes extensiones para poder conseguir su alimento. De esta manera, las poblaciones originarias cultivaban la tierra, recolectaban frutos, cazaban en los montes, selvas y estepas, pescaban en los arroyos y ríos y comerciaban entre sí. Algunos de estos pueblos mantenían encuentros bélicos y guerras, que muchas veces constituían un ideal de vida, mientras que otros eran partidarios del diálogo e intercambio, transmitiendo sus conocimientos de generación a generación en forma oral (Martínez Sarasola, 2005; Solá, 2009).

La región del Gran Chaco se había convertido en una de las regiones más importantes de nativos-amerindios de Sudamérica, debido a que los españoles fracasaban en sus intentos para invadir la región (Barúa y Rodríguez Mir, 2009).

En los lugares donde los españoles empezaron a crear las ciudades, los nativos que no huyeron hacia los montes, selvas, o el interior del país, quedaron bajo el régimen español, los cuales impusieron la encomienda, la mita, el tributo y el yanaconazgo. Se produjo la invasión y, al mismo tiempo, la extracción de las riquezas de la tierra y de los nativos, como así también el comienzo del proceso de la evangelización. Todo esto tenía el mismo objetivo: diluir la cultura nativa (Martínez Sarasola, 2005, Barúa y Rodríguez Mir, 2009).

A principios del siglo XIX las relaciones entre los conquistadores y los aborígenes en el territorio argentino generaron cambios en la vida de estos últimos, quedando las diferentes culturas agrupadas, de acuerdo con Martínez Sarasola (2004) en:

-culturas libres: Tehuelche, Araucano, Ranquel, Guaykurú, Charrúa, Pehuenche y Chirihuanos. Estas poblaciones seguirían manteniendo sus costumbres y su vida aborígenas.

-culturas libres en proceso de arrinconamiento: Atacama, Chaná-Timbúe, Caingang, Yámana-Alakaluf.

-culturas libres en vías de incorporación y/o sometimiento: Mataco-Mataguayo.

-culturas “incorporadas” y/o sometidas a la base de la matriz hispano-aborígena en pleno desarrollo: Diaguita, Omaguaca, Huarpe, Guaraní. De ellas surgen los mestizos.

-culturas “incorporadas” y/o sometidas, en vías de extinción o disolución: Tonocoté, Lule-Vilela, Comechingon, Sanaviron.

De la totalidad de la población Argentina en esta época (principios siglo XIX) la mitad era nativa y la otra mitad se dividía entre españoles, mestizos, africanos, e hijos de africanos (Martínez Sarasola, 2005).

A medida que ha ido pasando el tiempo, con la creación de reservas, colonias, y misiones, la población nativa de a poco fue quedando separada, invisibilizándose, o asimilándose a la población no nativa (Claudia Briones, 2004). En la actualidad, aunque gran parte de la sociedad lo desconozca (Claudia Briones, 2004) cerca de medio millón de nativos viven en territorio argentino, en lugares alejados de las ciudades, en montes, o en barrios marginales. Aunque las poblaciones nativas son minoría, si bien forman parte de un sector importante de nuestra sociedad y han participado en momentos decisivos de la historia nacional (Martínez Sarasola, 2005).

Una de las regiones que presenta la mayor concentración de grupos nativos es el Gran Chaco (Chaco, Formosa, oeste de Salta y norte de Santa Fe). En la actualidad la habitan nueve etnias pertenecientes a cuatro familias lingüísticas (Mataco-Maka, Guaycurú, Tupí-Guaraní y Lule-Vilela) (Barúa y Rodríguez Mir, 2009).

1.5.1 POBLACIÓN WICHÍ

Los Wichí se encuentran dentro del grupo lingüístico Mataco-Mataguayo, los cuales junto a los Mataguayo, Chorote y Chulupí habitaban la parte del Gran Chaco central y austral (Martínez Sarasola, 2005). En Argentina este grupo se ubica en comunidades rurales y peri-urbanas extendida por el oeste de la provincia de Formosa, el noroeste de Chaco, el este de Salta y el sudeste de Jujuy.

Eran cazadores, recolectores, pescadores y artesanos, y aún hoy pueden encontrarse ciertos grupos que continúan con varias de estas prácticas (Solá, 2009).

Las comunidades se encontraban formadas por pequeñas familias con territorios de caza y propiedad colectivas. Estaban organizados por un jefe, el cual era el único que podía practicar la poligamia, ya que los Mataco-Mataguayo eran monógamos. Eran constantemente acosados por los Guaycurú, pero a diferencia de éstos no eran un grupo guerrero y no se transformaron en una población ecuestre (Martínez Sararola, 2005).

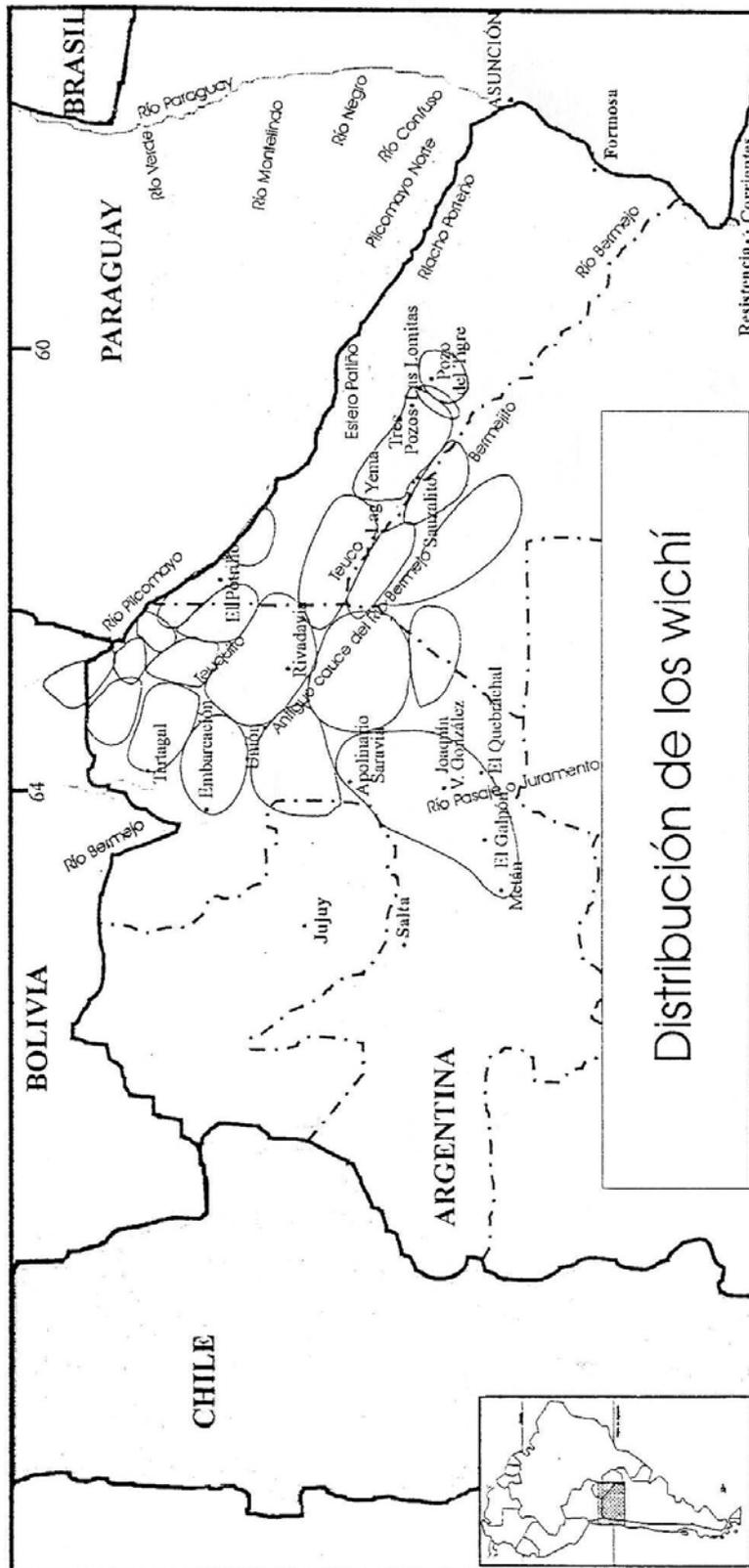
El grupo Wichí reaccionó de una manera diferente frente a los españoles, en su primer encuentro en el año 1638, en la expedición de Martín Ledesma según lo que relatan los textos, no opusieron resistencia, sino que pidieron protección. En una de las zonas en donde se ubicaron los Wichí se observa este comportamiento de búsqueda de protección, en Misión Nueva Pompeya, provincia de Chaco, pero no frente a los conquistadores españoles sino a los evangelizadores o misioneros (Franceschi y Dasso 2010).

Entre 1900 y 1947/48 se produjo la fundación de Misión Nueva Pompeya por parte de los franciscanos venidos de Salta. A partir de entonces se sucedieron dos procesos de evangelización que nuclearon a los nativos en torno a la misión inculcándoles la cultura europea, con la vuelta a la vida itinerante en el monte cada vez que los evangelizadores terminaban su misión como se mencionó anteriormente en este trabajo. De esta manera, la población Wichí en Misión Nueva Pompeya pasó por varios procesos de protección y desprotección por parte de las misiones; en los momentos de desprotección, fueron maltratados por la población criolla, y muchos Wichí decidieron volver al monte.

El hecho de que la población Wichí aceptara a los evangelizadores o misioneros, también ayudó a poder mantener su lengua, porque en la actualidad la lengua Wichí es hablada por ancianos, adultos, niños, hombres y mujeres.

En la población Wichí de Misión Nueva Pompeya los períodos de evangelización no tuvieron como consecuencia una pérdida importante de la cultura nativa, quizás porque se desarrollaron más a partir del esfuerzo individual de algunos religiosos, que de la Iglesia Cristiana como institución. Allí tenían y siguen teniendo en los hermanos Maristas una actitud de protección frente a los criollos, y una ayuda para poder recuperar parte de sus tierras y su trabajo, además del respeto por parte de la población. Los asentamientos están distribuidos en tres provincias y en el límite entre los países de Argentina y Bolivia (véase Fig. 2).

Figura 2. Distribución de los Wichí en la región del Gran Chaco. (Tomado de Vidal, 2006)



1.5.2 POBLACIÓN MOCOVÍ

La comunidad Mocoví pertenece al grupo lingüístico Guaykurú junto con los Toba, los cuales originalmente estaban distribuidos en una extensa zona del Gran Chaco Austral, actualmente las provincias de Chaco y Santa Fé (Gualdieri, 2004). Estas poblaciones se dedicaban a la caza y complementaban la misma con la recolección de frutos y diversas raíces; también se dedicaban a la pesca en la época en que crecían los ríos (Martínez Sarasola, 2005). Tenían características de guerreros seminómades, mantenían territorios de caza y pesca, y se relacionaban con otros grupos, especialmente con los Mataco-Mataguayos, mediante la guerra. Con la llegada de los españoles los Mocoví incorporaron el caballo transformándose en guerreros ecuestres (Gualdieri, 2004). Otra de las actividades que practicaban y que en la actualidad es una importante fuente de ingreso económico, es la fabricación de artesanías, que se caracterizan principalmente por sus tejidos.

Formaban familias extensas, unidas por lazos de parentesco y se dividían en bandas exogámicas, con residencia matrilocal. Eran monógamos, pero los jefes podían practicar la poligamia (Martínez Sarasola, 2005) y a lo largo del año alternaban ciclos de fisión (invierno) y fusión (primavera-verano) (Perusset y Rosso, 2009).

En 1743 se fundó en la provincia de Santa Fe una de las misiones franciscanas más importantes, San Francisco Javier. Mientras muchos de los nativos huyeron hacia los montes, los franciscanos intentaban reunirlos y concentrar a los Mocoví de la región; lo mismo sucedió a principios del siglo XIX cuando se produjeron enfrentamientos entre los Guaykurú y autoridades del país.

También los Mocoví formaron parte de varios levantamientos durante las primeras décadas del siglo XX, el resultado de estos enfrentamientos llevó a la huida de los nativos a los montes, su invisibilización étnica y asimilación cultural con los criollos en la provincia de Santa Fé.

Desde la década de los ochenta se produjo un cambio en la historia de los Mocoví, se iniciaron movimientos reivindicatorios en la provincia de Santa Fé, se constituyó la Organización de Comunidades Aborígenes de Santa Fé (OCASTAFE), también se encuentra en la provincia actualmente la Asociación Amigos del Aborigen, ONG relacionada con la iglesia católica, y el centro Mocoví Laiiek Lavá (Gualdieri, 2004).

1.5.3 POBLACIÓN TOBA

La comunidad nativa Toba perteneciente al grupo lingüístico Guaycurú, al igual que Mocoví, eran cazadores recolectores, y practicaban la monogamia (Sarasola, 2005). La pérdida de tierras ancestrales llevó a algunas comunidades Toba a asentarse en los alrededores de varias localidades de la provincia de Chaco, y en los barrios Toba de Resistencia y de Sáenz Peña (Rodríguez de Llamas, 2006), mientras que otras se distribuyen en distintas regiones no urbanizadas de la provincia.

1.6 PROCESOS POBLACIONALES

La antropología genética se encarga de estudiar la variación genética dentro y entre las poblaciones humanas. Basándose en las teorías de la genética evolutiva y la antropología demográfica (Mielke y Fix, 2007), tiene por objeto de estudio los procesos de la evolución humana: la diáspora humana (fuera de África), las causas y patrones de la variación humana, las poblaciones pequeñas y/o aisladas reproductivamente, y la interacción bio-cultural en rasgos y enfermedades complejas (Crawford, 2007).

Las poblaciones humanas pueden estudiarse a través del comportamiento de sus genes, no sólo en las distribuciones de las frecuencias génicas sino también en cómo las fuerzas evolutivas influyen en el grado y el patrón de variación genética en una población. La definición de población mendeliana determina que una población es aquella en donde los individuos pueden cruzarse entre sí, compartiendo el mismo número de genes, los cuales se transmiten de generación en generación según las leyes de Mendel. Según el equilibrio de Hardy-Weinberg una población infinitamente grande permanece invariable, sin ser afectada por fuerzas evolutivas. Pero las poblaciones naturales sí sufren cambios con el tiempo en las frecuencias alélicas o génicas, debido a la acción de fuerzas que dirigen la evolución; estas fuerzas son: las migraciones, la deriva genética, la selección natural y las mutaciones (Cavalli Sforza, 1981). En el estudio de las poblaciones humanas, es importante determinar la acción de estos factores.

La migración es una de las variables básicas que determinan los cambios en el tamaño y composición de la población (Mielke y Fix, 2007). Consiste en el intercambio de individuos entre poblaciones, este intercambio puede retrasar el proceso de diferenciación entre las poblaciones ocasionado por la deriva genética, y el efecto amortiguador depende de la cantidad de individuos que migran (Cavalli Sforza, 1981).

Las migraciones pueden ser generadas por causas naturales o culturales. El cambio que producirá en una población va a depender tanto del número de inmigrantes como del tamaño de la población receptora. Los movimientos migratorios pueden realizarse de forma brusca y rápida (invasiones) o bien llevarse a cabo lenta y difusivamente (infiltración) (Valls, 1985). Los procesos migratorios, son influidos por las distancias, barreras geográficas, y los factores sociales los cuales determinaran el patrón del flujo génico (Mielke y Fix, 2007).

La deriva genética consiste en la fluctuación al azar de las frecuencias alélicas y es el resultado de la acumulación de fluctuaciones aleatorias debidas al muestreo gamético, para formar la siguiente generación (Cavalli Sforza, 1981). El paso de alelos a la progenie se da a través de las gametas y está sujeto a un sesgo que dependerá del número de progenitores contribuyentes a la formación de la generación siguiente. Una población pequeña sufrirá grandes fluctuaciones en la mayoría de sus genes, mientras que una grande estará sometida a una menor fluctuación, resultando en un efecto de deriva menor.

La selección natural es una fuerza que permite la adaptación, y por lo tanto la supervivencia de individuos a un ambiente determinado. Se produce a partir de determinadas condiciones de un medio ambiente que favorece o dificulta la reproducción de cada organismo de la población según sean sus peculiaridades fenotípicas, y por ello es la única fuerza evolutiva que tiene una consecuencia adaptativa directa.

Las mutaciones se producen al azar, y su destino depende de su efecto en el individuo portador. Por medio del proceso selectivo, se favorecen los individuos con mutaciones útiles, reproduciéndose de forma diferencial y dejando mayor descendencia, mientras que se eliminan los que poseen mutaciones desfavorables. Además, existen mutaciones en el ADN que no producen cambios en el fenotipo, son las denominadas silenciosas y neutras, ya que no afectan a la supervivencia del individuo, y por ello escapan de la selección natural; sólo actuaría sobre ellas la deriva genética (Bittles y Neel, 1994; Kimura 1985; Lewin, 2001).

Un mutante puede ser favorecido por selección o por deriva génica, pudiendo de esta forma incrementar su frecuencia en la población (Cavalli Sforza, 1981). Sin las mutaciones, la evolución muy pronto se detendría. No obstante, el destino de las mutaciones ocurridas depende de las otras fuerzas evolutivas, las cuales pueden

afectar la frecuencia de un alelo presente en una población (Cavalli-Sforza *et al.*, 1996).

1.7 MARCADORES GENÉTICOS

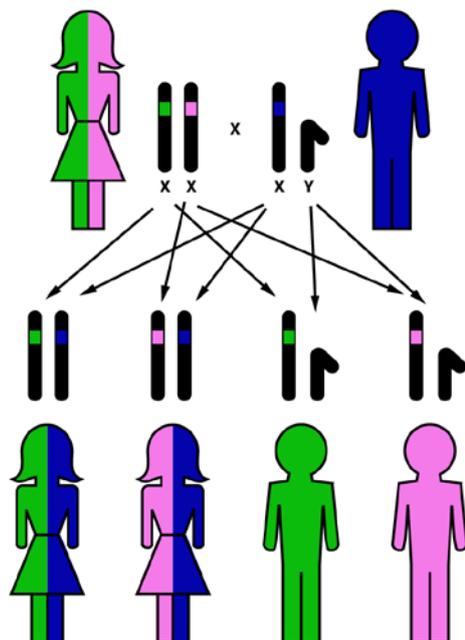
Las fuerzas evolutivas afectan a las frecuencias alélicas y genotípicas de la población, modificando de esta manera la variabilidad de la misma, la cual podemos conocer estudiando los polimorfismos genéticos. Estos corresponden a la coexistencia de dos o de múltiples alelos en un locus dentro de una población (Lewin, 2001). Una región es llamada polimórfica si la variante más frecuente está presente en la población con una frecuencia menor o igual al 99% (Lewin, 2001). Pueden estudiarse por medio de técnicas moleculares estableciéndose marcadores genéticos, los cuales corresponden a un gen, una región de un gen, o una región no génica.

Los polimorfismos nucleares pueden ubicarse tanto en cromosomas autosómicos como sexuales (X e Y) pero estos últimos tienen un comportamiento diferente en la heredabilidad de sus genes. Los cromosomas sexuales divergieron a partir de simples cromosomas autosómicos hace unos 300 millones de años y estuvieron sometidos a un posterior proceso de diferenciación (Lahn y Page, 1999).

El cromosoma X se presenta en doble copia en la mujer (sexo homogamético), y en una sola dosis en el hombre (sexo heterogamético), por ello si un gen o una región no génica se encuentra sólo en el cromosoma X, el individuo varón solo presentará un alelo, heredado de su madre; en cambio si es mujer, el locus en cuestión se comportará como si fuera autosómico. En la herencia del cromosoma X en las hijas mujeres no se puede determinar cuál de los cromosomas X fue heredado de la madre o del padre, debido a que la herencia es aleatoria, salvo mediante un análisis genético. En cambio los hijos varones tienen un solo cromosoma X, el cual es heredado sin dudas de la madre (Szibor, 2007; Szibor *et al.*, 2003).

Los marcadores del X en los varones generan un haplotipo, que es una asociación de los alelos observados para dos o más marcadores de ADN en un sistema que no recombina. Esta característica la comparte con el genoma mitocondrial y con el cromosoma Y (Lewin, 1998). (Fig. 3)

Figura 3. Modo de herencia del cromosoma X.



La gran gama de marcadores genéticos incluye:

1- Polimorfismos con repeticiones en tándem: estos incluyen los VNTR (*variable number of tandem repeats*), también llamados minisatélites, que generalmente se dan en secuencias de ADN no codificante, y poseen repeticiones de entre 10 y 200pb. El polimorfismo reside en el distinto número de unidades de repetición que presenta un individuo, y los alelos se nombran de acuerdo con la cantidad de repeticiones que llevan. Entre estos polimorfismos también se incluyen los microsatélites o STR (*short tandem repeats*), con repeticiones en tándem muy cortas, entre 2 y 8 pb, donde el polimorfismo también está dado por la cantidad de unidades repetidas que se presentan en el locus (Luque Cabrera, 2002).(Fig. 4).

Figura 4. Polimorfismo de repetición en tándem o STR.



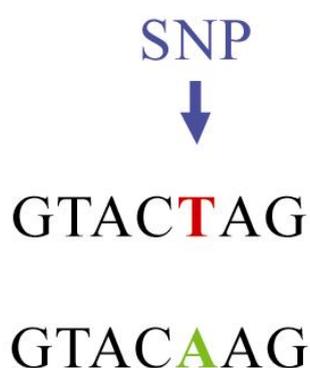
2- Se ha descrito un elevado número de polimorfismos de variantes genéticas consistentes en pequeñas inserciones/deleciones (INDEL) (Mills *et al.*, 2006)(Fig.5). Los InDel que analizamos en este trabajo son Inserciones/deleciones de secuencias de ADN al azar, de tamaños variables. El 99% de estas variantes descritas corresponden a inserciones/deleciones de un tamaño menor a 100 pares de bases (pb) (Mills *et al.*, 2006).

Figura 5. Polimorfismo de inserción/delección o Indel.



3- También existen regiones variables en el genoma en las cuales se da una variación en la secuencia del ADN que afecta a una sola base. Son los llamados polimorfismos de un solo nucleótido o SNP (*single nucleotide polymorphism*) (Fig.6). Típicamente, se caracterizan en el laboratorio como polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción o RFLP (*restriction fragment length polymorphism*), los cuales son secuencias específicas de nucleótidos en el ADN que son reconocidas y cortadas por enzimas de restricción y varían entre los individuos. Algunos autores incluso consideran que los cambios de unos pocos nucleótidos, como también pequeñas inserciones y deleciones pueden ser consideradas como SNP (Gibson y Muse, 2004), pero estos polimorfismos son más generalmente denominados InDel (*insertion/deletions*) (Weber *et al.*, 2002).

Figura 6. Polimorfismo de un solo nucleótido o SNP.



Los marcadores genéticos elegidos para nuestro estudio son los marcadores del cromosoma X, STR, Indel y SNP, ya que existen numerosas publicaciones científicas referidas a la variación genética poblacional en los compartimientos genómicos autosómico, mitocondrial y de cromosoma Y en distintas comunidades de nativos americanos de nuestro país, como también en la población argentina descendiente de inmigración europea (Albeza *et al.*, 2002; Avena *et al.*, 2006, 2012; Bailliet *et al.*, 2001; Dipierri *et al.*, 1998; Sala *et al.*, 2006, García y Demarchi 2006, sólo por mencionar algunos). Mientras que la variación genética del cromosoma X no ha sido completamente analizada aún en estas poblaciones.

Szibor (2007) afirma que las diferencias en los patrones de distribución alélica de distintos marcadores de cromosoma X puede ser altamente informativa en la comparación de poblaciones que no están estrechamente relacionadas, como lo son las comunidades nativas y la población no nativa. Este autor destaca las características especiales del X y propone los marcadores de este cromosoma como potencialmente eficaces para develar diferencias étnicas.

En el estudio realizado por Córdoba y col. (2012) en una población de varones Colombianos estimaron los componentes de mezcla promedio con Indel del cromosoma X (X-Indel), observaron que el componente nativo se encuentra en un 57,3%, la mezcla europea se encontró en un 32%, y el componente africano del 10%.

En otro estudio realizado también en la población de Colombia (Ibarra *et al.* 2014), donde analizaron las frecuencias de 32 X-Indel, los resultados obtenidos mostraron diferencias significativas entre las distintas regiones geográficas de Colombia, en particular para las poblaciones del Pacífico Norte y del Sur-Oeste Andino en las regiones costeras.

Resque y col. (2010) compararon las frecuencias alélicas de 24 X-Indel entre 745 individuos no relacionados de 4 regiones de Brasil. La heterocigosis es mayor en las muestras de la Nordeste (41,2%) y el Sudeste (39,6%), y ligeramente menor en el Norte (32,5%) y Sur (29,5%) del país. Y el promedio de ascendencia europea fue de 39%, de africana 29%, y el de nativo americana del 32%.

Bobillo y col. (2006) analizaron 7 X-STR en una muestra de 184 individuos no relacionados de nuestro país, hallando diferencias significativas para algunos de los marcadores en la comparación de argentinos con poblaciones asiáticas, europeas y canadiense. Más tarde, Catanesi y col. (2007) analizaron 5 X-STR en etnias del Gran Chaco hallando una estructura genética clara que agrupó a Chorote y Wichí por un

lado, y Lengua y Ayoreo (ambos del Chaco paraguayo) por otro, mientras que la población Mocoví, la más austral de las analizadas en el trabajo, no quedó agrupada con ninguna de las anteriores. En un trabajo de Bobillo y col. (2011) donde compararon las frecuencias de 10 X-STR de 200 individuos de la población Argentina con individuos españoles y portugueses, se encontraron diferencias significativas en 7 X-STR con los españoles y en 8 con los portugueses.

La variación genética del cromosoma X ha demostrado así ser muy valiosa para estudios poblacionales en nuestra región, pero es aún poco conocida. Principalmente, se encuentra pendiente la exploración de secuencias no codificantes, la caracterización de polimorfismos de tipo SNP e Indel que puedan resultar de utilidad en la identificación de grupo étnico, y también el análisis de un mayor número de polimorfismos repetidos (STR).

HIPÓTESIS

2.1 Hipótesis general

El estudio de los patrones de variación de cromosoma X en individuos de las dos localidades contribuirá a comprender el comportamiento de estos marcadores en poblaciones sometidas a distintos procesos de cambio poblacional.

Se espera que la variabilidad de polimorfismos del X refleje el grado de divergencia entre las distintas comunidades bajo estudio.

2.2 Hipótesis auxiliar 1: Al establecer las diferencias y similitudes en la variabilidad genética de todos los marcadores que se analizarán en ambas poblaciones, se espera encontrar mayor variabilidad intrapoblacional en la población de Resistencia, mientras que se espera hallar una menor variabilidad en la población de Misión Nueva Pompeya, principalmente en la población nativa.

2.3 Hipótesis auxiliar 2: Se espera encontrar en la población de Resistencia una mayor miscegenación, resultado de la ubicación geográfica de la localidad, y principalmente por ser la capital de la provincia. En cambio la localidad de Misión Nueva Pompeya está situada en el Impenetrable Chaqueño, lugar de difícil acceso, por tanto se espera encontrar una población con mayor diferenciación genética entre nativos y criollos. Y esta última población se espera que sea mucho más homogénea con respecto a los criollos de Resistencia, debido a su parecido con italianos y españoles.

OBJETIVOS

3.1 Objetivo general:

El objetivo general del presente proyecto es describir la estructura genética actual de la población de la provincia de Chaco, mediante la caracterización de polimorfismos genéticos de la región no pseudoautosómica (X-específica) del cromosoma X, e identificar polimorfismos distintivos de las poblaciones nativas chaqueñas que los diferencien de las procedentes de inmigración europea.

3.2 Objetivos específicos

1- determinar la variabilidad de secuencia (diez polimorfismos de un nucleótido o SNP) de un fragmento del brazo largo del cromosoma X, como también la variabilidad de diez marcadores repetidos STR específicos del X y cinco marcadores de Inserción/delección (Indel), en una muestra de los habitantes de la capital chaqueña, Resistencia;

2- determinar la variabilidad de los mismos SNP, STR e Indel del cromosoma X en una muestra de habitantes de la localidad de Misión Nueva Pompeya (provincia de Chaco) y sus alrededores;

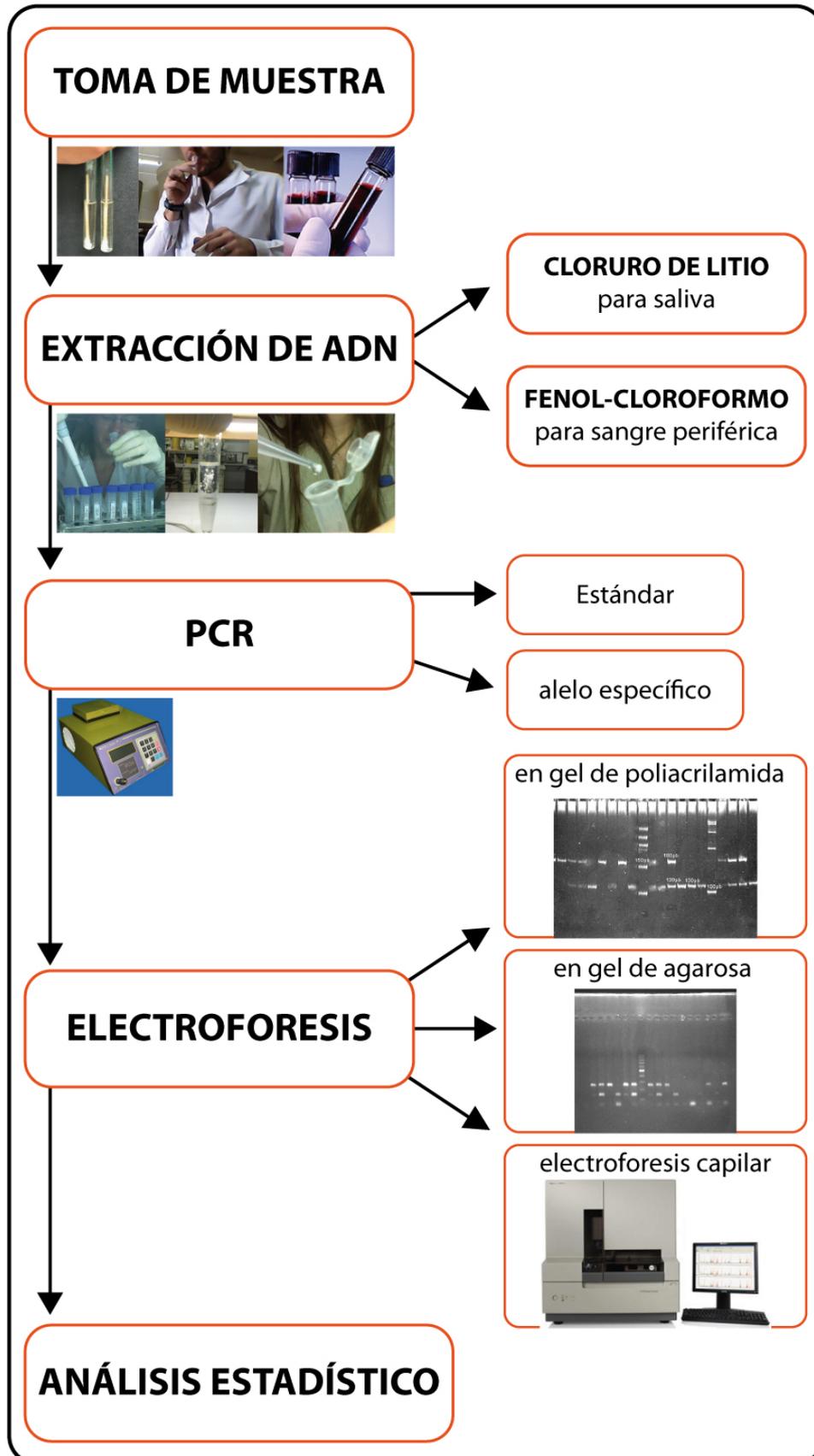
3- establecer diferencias y similitudes en la variabilidad genética de SNP, de STR y de Indel específicos del X entre las comunidades mencionadas en los ítems anteriores, y con una población Mocoví procedente de la provincia de Santa Fe;

4- interpretar los distintos procesos de cambio poblacional acontecidos durante el crecimiento de estas localidades en estudio a través de la comparación de la variación hallada en las dos localidades bajo estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 ESQUEMA DE TRABAJO

En el siguiente esquema (Fig. 7) se resume el modelo experimental seguido luego de la obtención de las muestras.



4.2 POBLACIONES ANALIZADAS

Se analizaron 4 poblaciones, incluyendo dos nativas y dos criollas. La Tabla 1 detalla los tamaños muestrales y la procedencia geográfica, y la Figura 8 muestra la distribución geográfica de las poblaciones estudiadas. La obtención de muestras biológicas de donantes voluntarios se realizó en diferentes viajes de campaña, con consentimiento informado de los donantes para realizar estudios genéticos.

Los estudios de X-STR, X-Indel, y X-SNP se realizaron en las 4 poblaciones.

Figura 8. Ubicación geográfica de las poblaciones analizadas.



Tabla 1. Detalle de las poblaciones analizadas, la procedencia geográfica de las poblaciones, número de individuos analizados, tipo de muestra y quienes fueron las personas que participaron de los viajes de campaña.

Población	Procedencia geográfica	Nro. total	Nro. mujeres	Nro. hombres	Tipo de muestra
Wichí *	Misión N. Pompeya-Chaco	94	55	39	Sangre en citrato de sodio
Mocoví **	Colonia Dolores-San Justo-Santa Fe	38	0	38	Sangre en citrato de sodio
Criollos: Hospital regional Misión N. Pompeya y población general ***	Misión N. Pompeya-Chaco	54	23	31	Saliva en etanol 96%
Criollos: Sanatorios: Güemes, Frangioli, Hospital Odontológico y población general ****	Resistencia-Chaco	141	78	63	Saliva en etanol 96%

Referencias: Las muestras fueron obtenidas por: * Gustavo Kolbenheuyer, ** Pedro Zuka, *** Pablo Martina, Raúl Jorge Bridi, **** Cecilia Catanesi, María Celeste Raggio, Laura Glesmann, Daniela Arntzen, Silvia Rojas, Carlos Romero, Marina Cubilla, Walter Albornoz.

4.3 EXTRACCIÓN DE ADN

Se utilizaron dos protocolos de extracción de ADN según el tipo de muestra biológica obtenida:

Muestras de sangre: para la extracción de ADN a partir de una muestra de sangre periférica se utilizó la técnica orgánica Fenol-Cloroformo (Sambrook *et al.*, 1989), pasos a seguir:

1- A partir de 2,5 ml de sangre periférica con anticoagulante glucosa citrato al 3,2%, se efectuó una extracción orgánica del ADN, con 7,5 ml de Buffer A para cada muestra, y se centrifugó a 4.000 rpm a 7°C durante 30 minutos.

2- Se descartó el sobrenadante, y al pellet se agregó 9 ml de Buffer A a cada muestra, luego se centrifugó a 4.000 rpm a 7°C durante 30 minutos.

3- Se descartó el sobrenadante, y se resuspendió el pellet en 2,5 ml de Buffer B con 10 ul de Proteinasa K (10mg/ml). Se incubó toda la noche a 37°C (aprox. 16 horas).

4- Luego de la incubación, se agregó 2,5 ml de Fenol y se centrifugó a 4000 r.p.m y 7°C durante 10 minutos.

5- Se descartó el sobrenadante y se agregó 2 ml de Cloroformo/Fenol, luego se centrifugó a 4000 r.p.m y 7°C durante 10 minutos.

6- Se descartó el sobrenadante y se agregó 2,5 ml de Cloroformo, luego se centrifugó a 4000 r.p.m y 7°C durante 10 minutos. Luego de centrifugar se observaron 3 fases, la fase superior se pasó a un tubo tipo falcon limpio, se agregó a esta fase 4 ml de etanol absoluto y 250 ul de acetato de sodio. Se agitó por inversión hasta que precipitó el ADN.

7- Cuando obtuvimos un ovillo, se pasó a un tubo tipo eppendorf con un poco de líquido y se centrifugó a 13.000 rpm y T° ambiente, durante 10 minutos.

8- Si no se forma ovillo, pasar todo el contenido a un tubo tipo eppendorf y centrifugar a 13.000 rpm y T° ambiente, durante 10 minutos.

Descartar el sobrenadante por inversión, con sumo cuidado.

9- Se lavó el pellet con 50 ul de etanol 70%. Se centrifugó a 13.000 rpm y T° ambiente durante 10 minutos.

10- Luego se descartó sobrenadante, se dejó secando a T° ambiente durante 10 minutos o más. Si es a 37°, no más de 10 minutos.

11- Luego se adicionó aprox. 80-150 de T.E. según el ovillo obtenido. Se guardó en heladera hasta el día siguiente.

Muestras de saliva: a partir de las muestras de saliva conservadas en etanol 96% se utilizó la técnica con Cloruro de Litio (LiCl) (Gemmell N., Akiyama S. 1996) para la extracción de ADN, pasos a seguir:

1- A partir de 2-3 ml de saliva conservadas en 4-6 ml de etanol 95% se efectuó la extracción de ADN. Dado que las muestras estaban conservadas en etanol, se equilibró los tubos agregando etanol, luego se centrifugó a 4.000 rpm a 7°C durante 10 minutos.

2- Se descartó el sobrenadante y se agregó 150 ul de T.E. para realizar un lavado, luego se centrifugó a 4.000 rpm a 7°C durante 10 minutos.

3- Se descartó el sobrenadante y se resuspendió el pellet en 300 ul de Buffer de digestión con 10 ul de Proteinasa K (10mg/ml). Luego se incubó toda la noche a 37°C (aprox. 16 horas).

4- Luego de la incubación, se agregó un volumen igual (aprox. 300 ul) de Cloruro de Litio 5M y se mezcló por inversión durante 1 minuto.

5- Se agregó 600 ul de SEVAG (o el doble del volumen del LiCl) y se colocó en agitador rotatorio por 30 minutos.

6- Luego se centrifugó a 4.000 rpm a 7°C durante 20 minutos. Se observaron 3 fases, se pasó la fase superior a un tubo tipo Falcon limpio, y se agregaron 2 volúmenes de etanol absoluto. Luego se agitó por inversión hasta que se precipitó el ADN.

7- El ovillo que se formó se pasó a un tubo tipo eppendorf con un poco de líquido y se centrifugó a 13.000 rpm y T° ambiente, durante 10 minutos.

8- Cuando no se obtuvo un ovillo, se pasó todo el contenido a un tubo tipo eppendorf y se centrifugó a 13.000 rpm y T° ambiente, durante 10 minutos.

Se descartó el sobrenadante por inversión, con sumo cuidado.

9- Luego se lavó el pellet con 50 ul de etanol 70%, y se centrifugó a 13.000 rpm y T° ambiente durante 10 minutos.

10- Se descartó el sobrenadante, se dejó evaporar el etanol a T° ambiente durante 10 minutos o más.

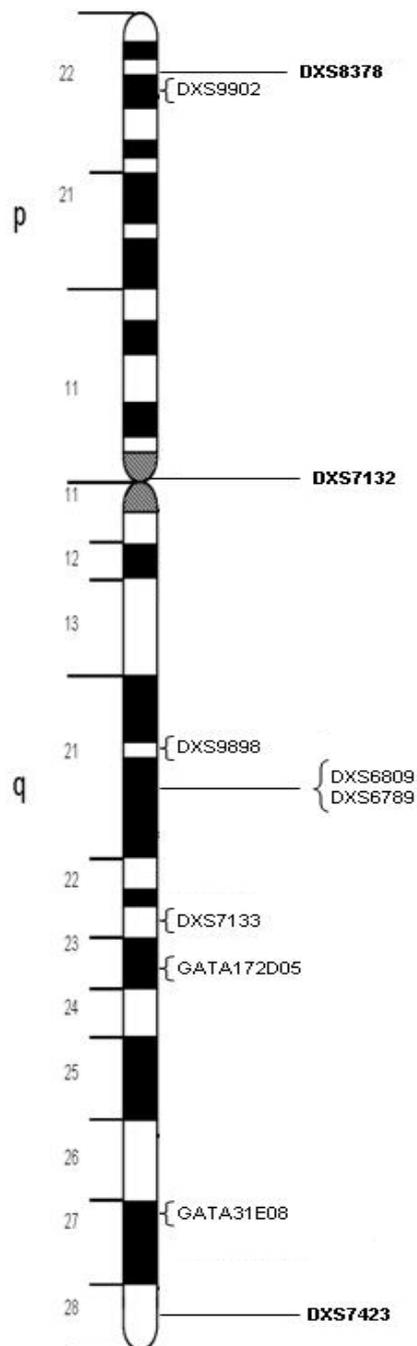
11- Se adicionó entre 80-150 ul de T.E. luego de secarse el ADN, según el ovillo obtenido. Se guardó en heladera hasta el día siguiente.

4.4 MARCADORES ANALIZADOS Y TÉCNICAS DE GENOTIPIFICACIÓN

4.4.1 MICROSATÉLITES DEL CROMOSOMA X

Se analizaron 10 marcadores de repeticiones en tándem o STR (por *short tandem repeats*) del cromosoma X: DXS8378, DXS9902, DXS7132, DXS6809, DXS6789, DXS7133, DXS9898, GATA172D05, GATA31E08, DXS7423. La distribución de los mismos a lo largo del cromosoma X se muestra en la figura 9. El diseño de los oligonucleótidos se realizó de acuerdo con Gusmão y col. (2009).

Figura 9. Ubicación citogenética de los X-STR.



En el Apéndice 1 (Tabla 1) se presenta el nombre de los marcadores, tamaño de la secuencia repetida, motivo de la misma, localización citogenética, alelos observados en las poblaciones analizadas en este trabajo, tamaño en pares de bases (pb) y grupo de ligamiento al cual pertenecen los X-STR.

Adicionalmente, en colaboración con el grupo del Dr. Sydney Santos del laboratorio de Genética Humana Médica, Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad Federal de Pará-Brasil, se logró la tipificación adicional de 5 X-STR (DXS9895, DXS6800, DXS7130, HPRTB, y DXS10011) (Ribeiro-Rodrigues *et al.*, 2011) para las poblaciones de criollos de Resistencia, Misión Nueva Pompeya y Wichí, que se incluyeron en el análisis.

4.4.1.1 AMPLIFICACIÓN DEL ADN

Se amplificaron los diez marcadores STR simultáneamente en un decaplex por PCR estándar de tiempo final, la cual consiste en: repeticiones de ciclos de desnaturalización, alineamiento, y polimerización. Esta técnica consiste en la síntesis *in vitro* de una secuencia de ADN diana, la cual comienza con la alineación de un par de oligonucleótidos cebadores o iniciadores (*primers*) a la misma, a partir de ADN genómico. Para la etapa de síntesis se utiliza una enzima ADN-polimerasa termorresistente, que es capaz de realizar numerosos ciclos de polimerización a 72°C. El resultado de la reacción de PCR es una multiplicación geométrica del fragmento de ADN de interés (Mullis, 1990; Erlich *et al.*, 1991).

Cada reacción de PCR se realizó en un volumen final de 10 ul:

- 1% mezcla de PCR multiplex de Qiagen (® USA).
- 0,2 pM de oligonucleótidos cebadores específicos (se detallan las secuencias en la Tabla 2 del Apéndice 1).
- 1 ng de ADN.
- H₂O cantidad suficiente para completar 10 ul.

Como control de amplificación se utilizó el K562 (Promega), y como control negativo se utilizó H₂O.

4.4.1.2 TIPIFICACIÓN POR ELECTROFORESIS CAPILAR

La tipificación se realizó en un secuenciador ABI3130, por medio de electroforesis capilar. La separación de fragmentos se lleva a cabo según la relación de masa del

ADN en una diferencia de potencial (de 100 a 500 V/cm) entre los dos extremos del capilar que hará que las moléculas se muevan hacia un extremo del capilar con diferente velocidad. El análisis de la corrida electroforética se realizó con el programa GeneMapper v3.1 software (Applied Biosystems).

En el laboratorio de Diversidad Genética se puso a punto el decaplex, utilizando las siguientes cantidades y concentraciones de primers derecho o forward (F) e izquierdo o reverse (R):

DXS8378 F 1ul+ DXS8378 R 1ul 25pmol/ul

DXS9898 F 1ul+ DXS9898 R 1ul 25pmol/ul

DXS7133 F 1,5 ul+ DXS7133 R 1,5 ul 25pmol/ul

GATA31E08 F 1ul+ GATA31E08 R 1ul 25pmol/ul

GATA172D05 F 1ul+ GATA172D05 R 1ul 25pmol/ul

DXS7423 F 0,5 ul+ DXS7423 R 0,5 ul 25pmol/ul

DXS6809 F 1ul+ DXS6809 R 1ul 25pmol/ul

DXS7132 F 1ul+ DXS7132 R 1ul 25pmol/ul

DXS9902 F 1ul+ DXS9902 R 1ul 25pmol/ul

DXS6789 F 1ul+ DXS6789 R 1ul 25pmol/ul

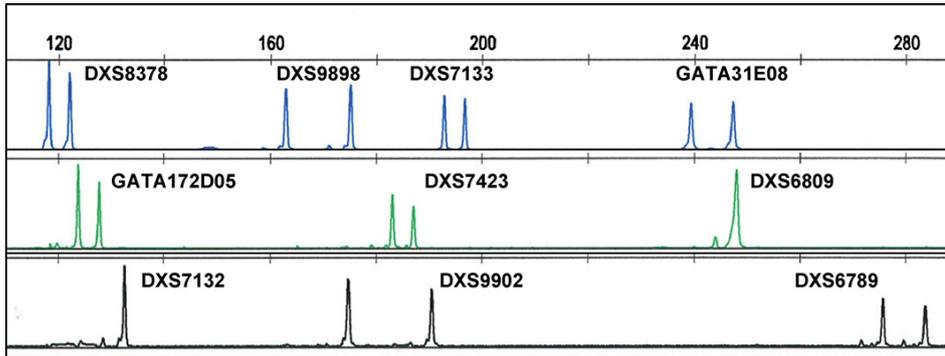
+20 ul de agua= total 40ul.

En la Tabla 2 se muestra el ciclo de temperaturas para el decaplex, de acuerdo con Gusmão *y col.* (2009) y en la Figura 10 se muestran los picos electroforéticos para los 10 X-STR.

Tabla 2. Condiciones de ciclado para los X-STR.

	Temperatura	Tiempo	Cantidad de ciclos
Desnaturalización Inicial	95°C	15'	
Desnaturalización	94°C	30''	10 ciclos
Annealing	60°C	90''	
Extensión	72°C	60''	
Desnaturalización Inicial	94°C	30''	20 ciclos
Annealing	58°C	90''	
Extensión	72°C	60''	
Extensión Final	72°C	1hr	

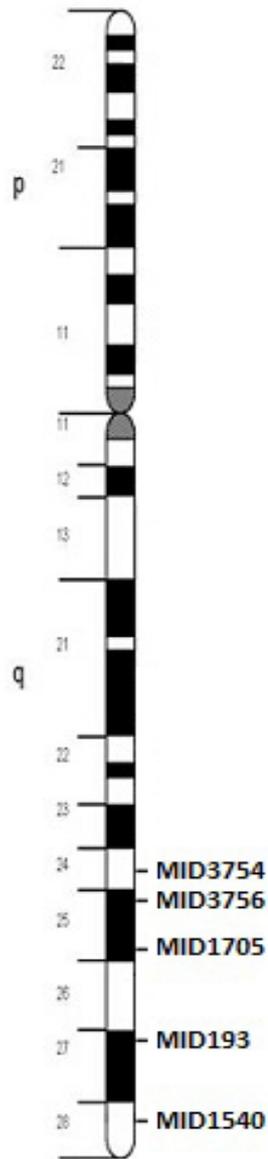
Figura 10. Picos de fluorescencia típicos de un electroferograma para los 10 X-STR analizados (tomado de Gusmão *et al.*, 2009).



4.4.2 INSERCIÓN/DELECIÓN DEL CROMOSOMA X

Se analizaron 5, marcadores bialélicos de inserción-delección, X-Indel (MID3754, MID3756, MID1705, MID193, MID1540) (Fig.11) para las dos poblaciones criollas, y las dos nativas: Wichí y Mocoví. La secuencia de los oligonucleótidos, el motivo de los X-Indel, ubicación de cada marcador en el cromosoma X, secuencia de los oligonucleótidos, y el tamaño de amplificación esperado para S (corto) y L (largo) alelos se detallan en la Tabla 2 del Apéndice 1 junto con la fuente bibliográfica.

Figura 11. Ubicación citogenética de los X-Indel



También se analizaron 28 X-Indel (MID2047, MID3712, MID357, MID356, MID3780, M448804, MID3703, MID218, MID3774, MID3705, MID3706, M304737, MID3692, MID1445, MID2694, MID2657, MID1326, MID2600, MID2610, MID184, M197147, MID3764, M284601, M103547, MID358, MID3763, MID3728, MID2652), en colaboración con el grupo del Dr. Sydney Santos del laboratorio de Genética Humana Médica, Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad de Federal de Pará-Brasil (Freitas *et al.*, 2010) para las poblaciones de criollos de Resistencia, Misión Nueva Pompeya y Wichí.

4.4.2.1 AMPLIFICACIÓN DEL ADN

La amplificación de las regiones de ADN de interés se realizó por PCR estándar.

Cada reacción de PCR se realizó en un volumen final de 10 ul:

1% buffer de PCR (50 Mm de Tris-HCl pH 8, 100 Mm de ClNa, 0,1 mM de EDTA, 1 Mm de DDT, 50% de glicerol y 1% de Tritón X-100),

2 mM de ClMg,

0,2 mM de dNTPs,

0,2 pM de oligonucleótidos cebadores específicos (secuencias en la Tabla 2 del Apéndice 2).

0,025 U de Taq ADN polimerasa,

10-20 ng de ADN.

H₂O c.c.s.p. completar 10 ul

Los marcadores MID3754-1540 se amplificaron formando un dúplex, ya que poseen 90 pb de diferencia entre el fragmento más grande del marcador más pequeño (MID3754, 141 pb) y el fragmento más corto del marcador más grande (MID1740 231 pb). De esta manera pueden diferenciarse fácilmente en geles de poliacrilamida.

Los ciclados se pusieron a punto en el laboratorio de Diversidad Genética (Tabla 3) y las amplificaciones se realizaron en cicladores térmicos MPI (La Plata, Argentina).

Tabla 3. Condiciones de temperatura y tiempo de ciclado para cada marcador (incluyendo el dúplex).

	MID3756		MID1705		MID193		MID3754-1540	
	T°	Tiempo	T°	Tiempo	T°	Tiempo	T°	Tiempo
Desnaturalización Inicial	94°C	2'	94°C	2'	93°C	5'	94°C	2'
Desnaturalización	93°C	35''	93°C	40''	94°C	30''	93°C	40''
Annealing	59°C	1'	59°C	55''	56°C	1'	59°C	55''
Extensión	72°C	1'	72°C	1'	72°C	1'	72°C	1'
Extensión final	72°C	10'	72°C	10'	72°C	5'	72°C	10'
Ciclos	38		35		34		35	
TD	01°C-56°C-2 ciclos		01°C-54°C-1 ciclo		01°C-48°C-2 ciclos		01°C-54°C-2 ciclos	

TD= Para algunos polimorfismos se realizó *touch-down* en los ciclados, una estrategia que va descendiendo la temperatura de hibridación en los sucesivos ciclos. El objetivo del mismo es mantener elevada la especificidad de los *primers* en los primeros ciclos del proceso para asegurar la fidelidad de la replicación, y posteriormente relajar la reacción para obtener mayor rendimiento.

4.4.2.2 TIPIFICACIÓN EN GELES DE POLIACRILAMIDA

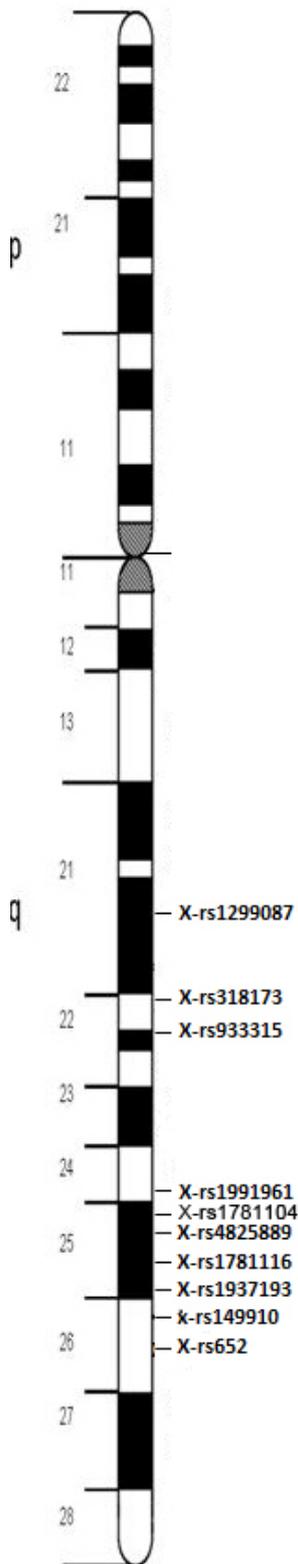
Luego de la PCR se comprobó la amplificación en electroforesis en geles de agarosa al 2% con buffer de corrida TAE 1X (Tris-Base 40 mM; ácido acético 20 mM EDTA 1 mM pH 8) a 95 voltios y posteriormente para la tipificación se corrieron las muestras en electroforesis en geles de poliacrilamida neutros al 8% (acrilamida-bisacrilamida 40% (38:2), H₂O destilada c.s.p. 100 ml), utilizando TBE 0,5X (Tris-Bórico 45 mM-EDTA 1 mM) como buffer de corrida, a 250 voltios. Para la tinción del ADN, tanto en geles de agarosa como de poliacrilamida, se utilizó un agente intercalante de ácidos nucleicos GelRed™ (Biotium, USA). Se realizó una mezcla de 1ul GelRed con 200 ul de buffer de carga (0.25% de xileno cianol, 0.25% de azul de bromofenol y 30% sacarosa) y se utilizó 1 ul de esta mezcla por cada muestra. Como control de tamaño se sembró en los geles un marcador de ADN de 100-1000pb (InbioHighway, Tandil, Argentina) y uno de 50-1000pb (New England Biolabs USA). Los geles fueron visualizados en un analizador de imágenes GelDocXR (Biorad, USA).

Los geles de poliacrilamida ofrecen una mayor resolución que los geles de agarosa, de modo que permiten separar fragmentos de ADN que difieren solamente en un par de bases (Sambrook et al. 1989).

4.4.3 CAMBIOS DE UN SOLO NUCLEÓTIDO

Se analizaron 10 marcadores bialélicos de sustitución de un solo nucleótido o SNP (por *Single Nucleotide Polymorphism*) (Fig.12). Se indica el alelo ancestral, la localización citogenética, la secuencia de oligonucleótidos, los alelos citados en la bibliografía y el tamaño de los fragmentos amplificados (Tabla 3 en apéndice 1) para las poblaciones Wichí, Mocoví, Misión N. Pompeya y Resistencia. Los oligonucleótidos fueron diseñados con el programa gratuito Primer3 (<http://primer3.ut.ee/>), y se controló la complementariedad con otras regiones genómicas mediante la herramienta Primer Blast de acceso libre en www.ncbi.nih.gov.

Figura 12. Ubicación citogenética de los X-SNP.



4.4.3.1 AMPLIFICACIÓN DEL ADN

De los 10 X-SNP, 9 fueron amplificados por PCR-alelo-específica utilizando un cebador *forward* y dos cebadores *reverse*. Cada uno de los cebadores *reverse* posee un nucleótido terminal diferente y complementario a un solo alelo, resultando en una reacción de PCR alelo-específica para cada polimorfismo.

Condiciones de PCR para 10ul finales:

- 1% buffer de PCR (50 Mm de Tris-HCl pH 8, 100 Mm de ClNa, 0,1 mM de EDTA, 1 Mm de DDT, 50% de glicerol y 1% de Tritón X-100),
- 2 mM de ClMg,
- 0,2 mM de dNTPs,
- 0,2 pM de oligonucleótidos cebadores específicos
- 0,025 U de Taq ADN polimerasa,
- 10-20 ng de ADN.
- H₂O c.s.p. para completar 10 ul

Todos los oligonucleótidos utilizados para amplificar SNP (Tabla 3 apéndice) fueron diseñados específicamente para el desarrollo de este trabajo, y los ciclados se pusieron a punto en el laboratorio de Diversidad Genética (Tabla 4).

Tabla 4. Condiciones de temperaturas y tiempo de ciclado de los X-SNP analizados.

	Dúplex rs652- rs318173		Dúplex rs933315- rs1991961		Dúplex rs4825889- rs1781104	
	T°	Tiempo	T°	Tiempo	T°	Tiempo
Desnaturalización Inicial	94°C	2'	94°C	2'	94°C	2'
Desnaturalización	93°C	45''	93°C	45''	93°C	45''
Annealing	64°C	1'	64°C	1'	64°C	1'
Extensión	72°C	1'	72°C	1'	72°C	1'
Extensión final	72°C	5'	72°C	5'	72°C	5'
Ciclos	34		34		34	
TD	01°C-60°C-2 ciclos				01°C-60°C-2 ciclos	
	rs149910		rs1299087		Dúplex rs1937193- rs1781116	
	T°	Tiempo	T°	Tiempo	T°	Tiempo
Desnaturalización Inicial	94°C	2'	94°C	2'	94°C	2'
Desnaturalización	93°C	45''	93°C	45''	93°C	45''
Annealing	59°C	1'	54°C	1'	64°C	1'
Extensión	72°C	1'	72°C	1'	72°C	1'
Extensión final	72°C	5'	72°C	5'	72°C	5'
Ciclos	34		34		34	
TD					01°C-62°C-2 ciclos	

4.4.3.2 TIPIFICACIÓN EN GELES DE AGAROSA Y POLIACRILAMIDA

Los 9 SNP fueron tipificados por electroforesis en geles de agarosa al 2%, concentración que permite separar fragmentos que se diferencien en un mínimo de 20pb aproximadamente (Luque-Cabrera, 2002). La electroforesis se corrió en una solución TAE 1X. Para la tinción del ADN se utilizó una mezcla de 1 ul de GelRed™ (Biotium, USA) en 200 ul de buffer de carga, de esta mezcla se tomó 1 ul para cada muestra. Como control de tamaño se utilizó un marcador de ADN de 100-1000pb (InbioHighway, Tandil, Argentina).

Se pusieron a punto cuatro reacciones dúplex: rs652-rs318173, rs933315-rs1991961, rs4825889-rs1781104, y rs1937193-rs1781116.

Por otra parte, el marcador rs1299087 fue tipificado por PCR-RFLP (*restriction fragment length polymorphism*), un método para estudiar mutaciones de punto (SNP) del ADN a nivel poblacional (Cavalli-Sforza, 1996) cuando la variación de la secuencia de ADN tiene como consecuencia un cambio en un sitio de restricción. Así genera según esté o no el sitio de reconocimiento de la enzima (sitio de restricción), fragmentos de diferente longitud dependiendo del alelo presente (Luque-Cabrera,

2002). Los amplicones (productos de PCR) fueron digeridos por la enzima de restricción MspI, la cual posee el siguiente sitio de corte:

5'...C↓C G G ...3'

3'... G G C↑C...5'.

Para la digestión con MspI se prepararon reacciones de 16ul finales siguiendo el protocolo recomendado por el proveedor (Thermo Scientific). La reacción (10ul de mix de digestión + 6ul de amplicón) se incubó durante 16 horas a 37°C.

Las bandas resultantes de la digestión fueron visualizadas en electroforesis vertical de poliacrilamida 8% neutro de 0,8 mm de espesor con buffer de corrida TBE 0,5X, se agregaron 3 ul buffer de carga neutro y como control se utilizó la escalera de 100-1000pb y una escalera de 50pb (New England Biolabs, USA). Las corridas se realizaron a 250 V y 25-30 mA durante 1hr. y las bandas se visualizaron en el analizador de imágenes antes mencionado.

4.4.4 POLIMORFISMOS DEL ADN MITOCONDRIAL

Para la población de criollos de Resistencia se contó con la tipificación de los haplogrupos del ADN mitocondrial, el proceso y análisis de las secuencias fue realizado por el Lic. Francisco Di Fabio Rocca (datos preliminares) CEBBAD, Universidad Maimónides-CONICET.

4.4.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los valores de frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas fueron calculados para cada grupo poblacional independientemente.

4.4.5.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL

4.4.5.1.1 FRECUENCIAS ALÉLICAS

En el estudio evolutivo de poblaciones, el cambio en las frecuencias alélicas o proporciones de los distintos alelos de un gen en una población (Strickberger, 1976) es uno de los parámetros de mayor importancia (Nei, 1987).

Se considera frecuencia alélica a la frecuencia relativa de un alelo particular en una población (Nei, 1987).

Debido a que la técnica experimental utilizada permite la identificación directa de los alelos de cada muestra, se estimaron las frecuencias alélicas mediante el recuento de los alelos de cada locus (Li, 1976), para cada muestra analizada, utilizando la siguiente fórmula:

$$P_i = n_i/T$$

donde n_i es el número de alelos i observados en la población y T es la cantidad total de alelos observados para un locus determinado.

El desvío estándar de las frecuencias alélicas es una medida de la desviación típica de la distribución de muestreo. Se calcula mediante la siguiente expresión:

$$\sigma = \sqrt{[p_i(1 - p_i)] / (2N)}$$

donde N es el número de individuos de la población.

Las frecuencias alélicas se graficaron utilizando el programa comercial Prism 5.0 (California, USA).

4.4.5.1.2 FRECUENCIAS GENOTÍPICAS

Las frecuencias genotípicas corresponden a las proporciones de los distintos genotipos de un locus en una población. Del mismo modo que para el cálculo de las frecuencias alélicas de cada muestra, se contaron los diferentes genotipos hallados en las mujeres, estos marcadores son diploides sólo en mujeres, mientras que los hombres presentan un solo alelo por marcador. Se calcularon las frecuencias genotípicas en tres de las poblaciones analizadas, ya que la muestra analizada de la población Mocoví se compone solamente por hombres.

Las frecuencias correspondientes se calcularon usando la fórmula:

$$P_{ij} = \frac{n_{ij}}{N}$$

donde n_{ij} es el número de genotipos con alelos i y j , observados en una muestra de N individuos.

4.4.5.1.3 FRECUENCIAS HAPLOTÍPICAS

Se calcularon las frecuencias haplotípicas para los varones de las 4 poblaciones analizadas; el cálculo realizado fue el siguiente:

$$P_i = n_i/N$$

Donde n_i es la cantidad de veces que se observa el haplotipo i en una muestra de N varones.

4.4.5.1.4 NUMERO DE ALELOS

Cuando un marcador presenta un número elevado de alelos, el grado de polimorfismo suele ser elevado, dependiendo de las frecuencias de dichos alelos (Nei, 1987). El cálculo del número de alelos es una forma sencilla de medir la variabilidad genética de las poblaciones, y se obtiene contando el número de alelos observados para cada locus y para cada muestra, se realizó el cálculo solamente para los X-STR porque los X-Indel y X-SNP son marcadores bialélicos.

4.4.5.1.5 NÚMERO EFECTIVO DE ALELOS

Cuando los polimorfismos son multialélicos (más de dos variantes alélicas) es de importancia el cálculo del número efectivo de alelos. Es una medida de variabilidad poblacional que iguala el número real de alelos sólo cuando todos los alelos tienen la misma frecuencia, siendo esta situación la de máxima variación para dicho polimorfismo; de lo contrario, n_e es menor que n . Por lo tanto, el n_e refleja la disparidad en las frecuencias de los distintos alelos, mostrando cuán variable es el marcador analizado (Nei, 1987). Se realizó el cálculo solamente para los X-STR porque los X-Indel y X-SNP son marcadores bialélicos.

El número efectivo de alelos se define como el recíproco de la homocigosis y se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$n_e = \frac{1}{\sum_{i=1}^n p_i^2}$$

donde p_i es la frecuencia alélica de cada uno de los n alelos observados.

4.4.5.1.6 NÚMERO MEDIO DE ALELOS

El número medio de alelos (n_x) o número promedio de alelos, es otra medida de variabilidad poblacional, se calcula sumando todos los alelos para cada marcador y dividiendo esto por el número de marcadores analizados. Esta estimación es de interés solamente para polimorfismos multialélicos, en este caso, los STR.

4.4.5.1.7 CONTENIDO DE INFORMACIÓN DE POLIMORFISMO (PIC)

El contenido de información del polimorfismo es una medida del grado de polimorfismo que se utiliza en loci hipervariables. El mismo es directamente proporcional al número y la frecuencia de los alelos, aumentando en forma

logarítmica (Bolstein *et al.*, 1980). Su cálculo se obtiene mediante la siguiente expresión:

$$PIC = 1 - \left[\sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2x p_i x p_j^2 \right]$$

donde p_i y p_j son las frecuencias de los alelos i y j en la muestra y n es el número de alelos observados.

4.4.5.1.8 ANÁLISIS DE DESEQUILIBRIO DE LIGAMIENTO:

El análisis de desequilibrio de ligamiento se realizó para todos los pares de marcadores usando sólo los datos femeninos, con el programa ARLEQUIN v 3.5 (Schneider *et al.*, 2000; Excoffier, 2010).

4.4.5.1.9 HETEROCIGOSIS OBSERVADA

Se determinó para cada marcador analizado la proporción de individuos heterocigotas de cada población, excepto para la población Mocoví, mediante la siguiente fórmula:

$$H = n_h / N$$

donde n_h es el número de mujeres heterocigotas observados en una muestra de N mujeres.

4.4.5.1.10 HETEROCIGOSIS MEDIA

Cuando analizamos varios marcadores en una misma población, podemos calcular la heterocigosis media, mediante la cual podemos conocer el nivel medio de variabilidad genotípica de dicha población. Se calcula efectuando un promedio de los valores hallados en cada muestra.

$$H = \frac{\sum h_i}{k}$$

dónde h_i es la heterocigosis de cada marcador en la población en cuestión y k es el número de marcadores analizados.

4.4.5.1.11 HETEROCIGOSIS ESPERADA O DIVERSIDAD GÉNICA POBLACIONAL Y EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG:

El equilibrio de Hardy-Weinberg permite estimar si las poblaciones mantienen sus frecuencias genotípicas constantes de una generación a otra. Puede calcularse de distintas formas, una de ellas es a través de la comparación entre la heterocigosis

observada y la esperada mediante el test de chi cuadrado. La relación entre ambas heterocigosis nos permite interpretar la acción de determinadas fuerzas evolutivas actuando sobre una población, por ejemplo si la heterocigosis observada resulta significativamente mayor que la esperada, puede deberse a un proceso de flujo genético (Hartl, 2007).

El ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg se calculó utilizando el programa ARLEQUIN v 3.5 (Schneider et al., 2000; Excoffier, 2010), mediante un test exacto, y utilizando cadenas de Markov (longitud 100.000). Esta estimación se efectuó solamente a partir de los genotipos femeninos por ser los varones hemicigotas para los marcadores del cromosoma X, imposibilitando en estos últimos el cálculo.

Los valores esperados de heterocigosis según el equilibrio de Hardy-Weinberg, se calculan como la unidad menos la suma de cuadrados de las frecuencias alélicas:

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

donde p_i son las frecuencias alélicas de los n alelos observados.

4.5.1.12 DIVERSIDAD GÉNICA

Para determinar la heterocigosis en los hombres, por tratarse de marcadores ubicados en el cromosoma X (en este caso serían marcadores haploides), se calcula un equivalente a la heterocigosis esperada, denominado diversidad génica.

La diversidad génica mide la probabilidad de que dos alelos tomados al azar de una población sean diferentes y, al igual que la heterocigosis, es dependiente de los valores de las frecuencias alélicas (Nei, 1987).

La fórmula es la misma que la citada anteriormente (Nei, 1987), pero utilizando en este caso los datos masculinos:

$$h = H_e = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

donde p_i son las frecuencias alélicas de los n alelos observados.

4.4.5.1.13 DIVERSIDAD HAPLOTÍPICA

La diversidad haplotípica es la probabilidad de que dos individuos hombres tomados al azar de una población tengan haplotipos diferentes (Kittles *et al.*, 1998). La

diversidad haplotípica promedio dentro de cada población se calculó comparando los haplotipos de cada muestra.

Se construyeron redes de haplotipos nativos y no nativos o criollos utilizando el programa NETWORK 4.6 (Bandelt *et al.*, 1999//: <http://www.fluxus-engineering.com/sharepub.htm>) mediante el algoritmo “median-joining” o enlaces medios, que relaciona en forma parsinomia un conjunto de datos en una única red, basado en el modelo de mutación gradual (Kimura y Ohta, 1971) para observar el agrupamiento de haplotipos. Con los datos de X-STR no se realizaron corridas con el programa Network, por ser marcadores con tasas de mutación elevadas, los resultados obtenidos pueden presentar un alto grado de homoplasias, y la información obtenida resulta confusa.

4.5.2 ESTRUCTURA POBLACIONAL

4.5.2.1 VARIACIÓN ENTRE LAS POBLACIONES

La variación génica total de una población, se puede separar en dos componentes de esta variabilidad: la variabilidad intrapoblacional, es la que existe entre los individuos de una misma población. Se calcula realizando la sumatoria de los valores de heterocigosis observada en los distintos marcadores analizados.

$$V. \text{ dentro} = \Sigma H$$

la variabilidad interpoblacional, generalmente es un componente de menor magnitud que el anterior y mide la diferencia genética entre poblaciones. La suma de la variabilidad entre poblaciones y la variabilidad intrapoblacional, resulta en la variabilidad total observada.

4.5.2.2 INDICE DE WRIGTH *F_{ST}*

El *F_{ST}* mide el grado de diferenciación genética entre poblaciones, comparando los valores de heterocigosis de las poblaciones tomadas en conjunto con la heterocigosis de cada población particular. El valor de *F_{ST}* mide la proporción de diversidad génica que está distribuida entre las poblaciones (Paz *et al.*, 2003).

Se calcula mediante la fórmula:

$$FST = \frac{\Sigma P_i (1 - P_i) \cdot FST_i}{\Sigma P_i (1 - P_i)}$$

donde P_i es la frecuencia ponderada de cada alelo y FST_i es una estimación que corresponde al aporte que realiza cada alelo particular del marcador a la variabilidad entre las poblaciones.

El valor de FST puede tomar un valor que va de cero a uno, siendo $FST = 0$ indicativo de ausencia de subdivisión dentro de la población total, mientras que un valor elevado de FST indica una población constituida por subpoblaciones que mantienen un escaso flujo génico, lo cual hace que existan diferencias entre ellas. Al contrario del valor de heterocigosis, este índice expresa una proporción que es comparable entre los distintos loci estudiados sin importar diferencias en el tamaño de las muestras analizadas (Paz *et al.*, 2003).

El cálculo de FST se realizó mediante el programa ARLEQUIN v 3.5 (Schneider *et al.*, 2000; Excoffier 2010) bajo la hipótesis de neutralidad (ausencia de selección) y equilibrio poblacional, usando un algoritmo de coalescencia adaptado de Hudson (1990). Para calcular esta significancia se estima un valor P que se obtiene como la proporción de estadísticos FST calculados al azar.

El FST es una función lineal del tiempo de divergencia entre las poblaciones y presupone cruzamientos al azar y ausencia de procesos de selección y mutación. Por lo tanto, con los valores del FST pueden establecerse tiempos de divergencia entre las poblaciones.

4.5.2.3 ÍNDICE RST

Debido a que los STR presentan un mecanismo particular de mutación que no se ajusta al modelo de alelos infinitos, sino que siguen el modelo de pasos mutacionales (*stepwise*), además del cálculo de FST se agrega en este caso el índice RST, una medida de diferenciación genética análoga a FST, pero que tiene en cuenta la probabilidad de cambio de un alelo a otro (Goodman, 1997). Esta probabilidad de cambio no es igual para cualquier par de alelos, sino que por ejemplo, un alelo con 10 repeticiones tiene mayor probabilidad de mutar a un alelo con 9 u 11 repeticiones, mientras que la probabilidad de mutar a alelos 8, y 12 es menor, y lo es menor aún para los alelos 7 y 13, y así sucesivamente. La diferencia de probabilidades se debe a que los STR mutan a través de agregado o quita de una sola repetición con alta probabilidad.

4.5.2.4 DISTANCIA GENÉTICA

Las medidas de distancia genética son indicadoras de la relación entre las poblaciones y son útiles para reconstruir las relaciones históricas y filogenéticas entre éstas (Shriver *et al.*, 1995). Las distancias genéticas se representaron mediante dendrogramas y matrices de distancia MDS (*multi dimensional scaling*) con el programa NTSYS 2.1 (Exeter Software) utilizando la distancia mínima de Nei para los X-Indel y X-SNP,

mientras que para los X-STR se usaron como datos de entrada los valores de distancia de RST de Slatkin estimados a partir de las frecuencias alélicas, de acuerdo con el modelo de pasos mutacionales (*stepwise*). El MDS es una técnica multivariante de interdependencia que trata de representar en un espacio geométrico de pocas dimensiones, las proximidades existentes entre un conjunto de objetos de análisis, en este caso serían las poblaciones, o bien los marcadores genéticos.

4.5.2.5 ANÁLISIS DE VARIANZA MOLECULAR (AMOVA)

Por medio del análisis de varianza molecular, se analizó la estructura genética de la población utilizando el programa ARLEQUIN v 3.5 (Schneider *et al.*, 2000; Excoffier 2010). Este programa utiliza un método de cálculo basado en el análisis de las frecuencias alélicas, pero teniendo en cuenta el número de mutaciones ocurridas entre las distintas variantes moleculares (pasos mutacionales) para los X-STR. El análisis se realizó tomando los datos de las poblaciones Wichí, Mocoví, Misión N. Pompeya y Resistencia, en cuatro grupos por separado, en el análisis de estructura no se definieron “grupos de muestras”, sino que la contrastación se limitó al análisis “dentro” y “entre” muestras (Schneider *et al.*, 2000).

4.5.2.6 ANÁLISIS DE LA ESTRUCTURA POBLACIONAL

La estructura y heterogeneidad de las cuatro poblaciones (Wichí, Mocoví, Resistencia, y Misión N. Pompeya) se evaluó a través del programa STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000, Hubisz *et al.*, 2009). Se utilizaron para estos análisis dos modelos a fin de encontrar el que más se ajuste a los datos:

- un primer modelo considerando miscegenación o flujo génico entre poblaciones (Admixture model),
- y un segundo modelo no tomando en cuenta la miscegenación es decir en ausencia de flujo génico (Non admixture model)

Ambos modelos se evaluaron con un k de 2 a 4, y 10.000 repeticiones. A través de este análisis se intentó interpretar los procesos de cambio ocurridos en las localidades chaqueñas que se estudiaron en este trabajo.

RESULTADOS

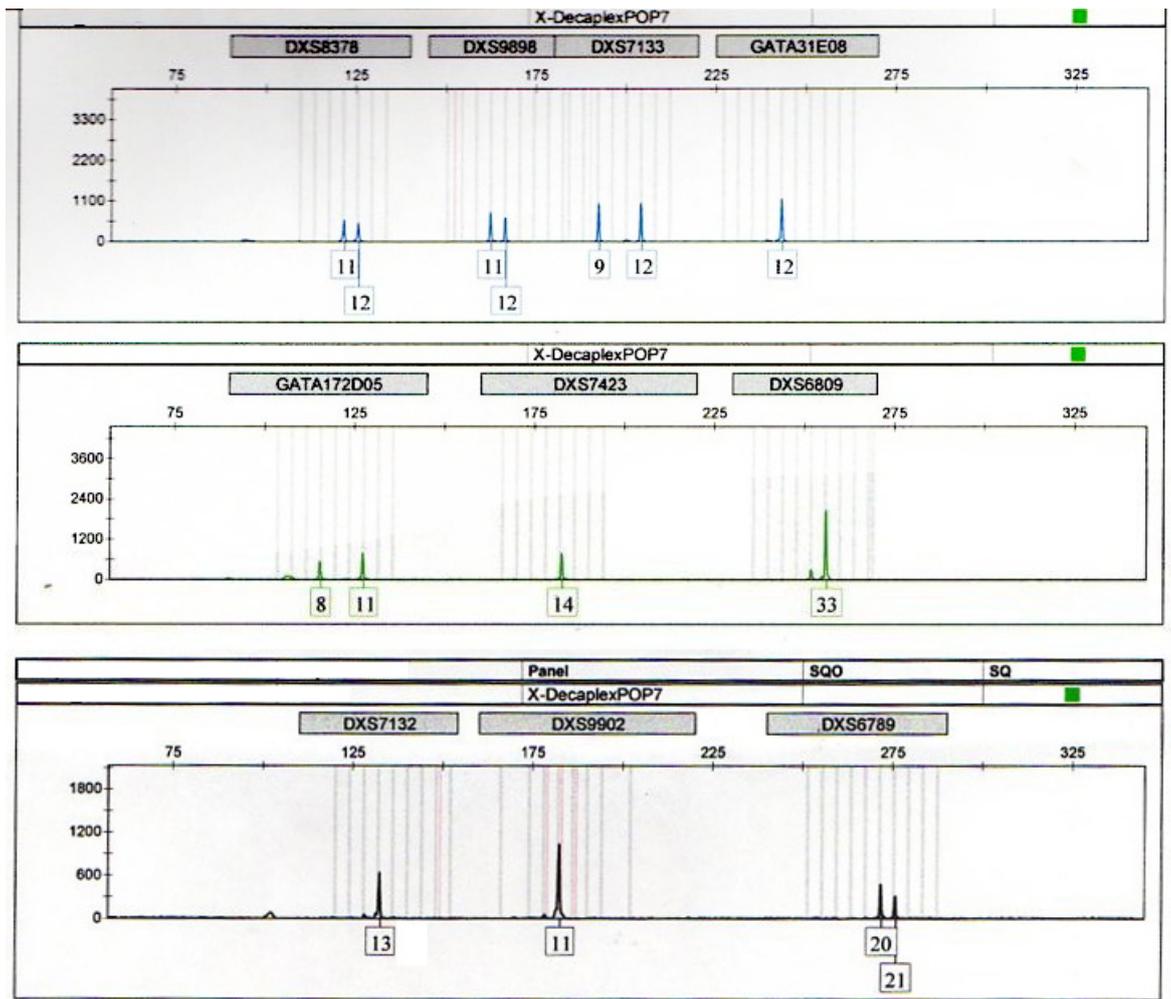
5 RESULTADOS

Se presentan a continuación los resultados agrupados según el tipo de polimorfismo analizado y según la población.

5.1 X-STR

La Figura 13 muestra un ejemplo de los picos electroforéticos obtenidos para los X-STR.

Figura 13. Electroferograma de los diez X-STR. Dos picos para un mismo marcador indica heterocigosis.



5.1.1 WICHÍ

5.1.1.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL

La variabilidad y la diversidad génica de la población Wichí en los 10 X-STR fueron bajas, observándose varios alelos con frecuencias bajas, y sólo uno o dos alelos con una elevada frecuencia (Tabla 5).

Tabla 5. Frecuencias alélicas y diversidad génica (DG) de los X-STR en la población Wichí. Varones N= 39, Mujeres N= 55.

DXS8378	Frecuencias alélicas	DXS9902	Frecuencias alélicas	DXS7132	Frecuencias alélicas	DXS9898	Frecuencias alélicas	DXS6809	Frecuencias alélicas
10	0,1409	11	0,1543	11	0,0265	8,3	0,0066	30	0,1060
11	0,6443	12	0,6375	12	0,0397	10	0,0066	31	0,0132
12	0,1745	13	0,2013	13	0,3576	11	0,0993	32	0,0927
13	0,0336	14	0,0067	14	0,3113	12	0,4437	33	0,2781
14	0,0067	DG	0,5283 +/- 0,4913	15	0,1987	13	0,2450	34	0,3576
DG	0,6146 +/- 0,3253			16	0,0530	14	0,1988	35	0,0927
				17	0,0132	DG	0,6741 +/- 0,5746	36	0,0463
				DG	0,742876 +/- 0,612630			37	0,0067
								38	0,0067
								DG	0,7938 +/- 0,6404
DXS6789	Frecuencias alélicas	DXS7133	Frecuencias alélicas	GATA172D05	Frecuencias alélicas	GATA31E08	Frecuencias alélicas	DSX7423	Frecuencias alélicas
15	0,04	7	0,02	6	0,1788	9	0,0265	14	0,1589
16	0,0794	8	0,0397	7	0,0132	10	0,1391	15	0,5431
19	0,0132	9	0,7152	9	0,0332	11	0,053	16	0,0728
20	0,543	10	0,1126	10	0,404	12	0,7086	17	0,2252
21	0,298	11	0,0993	11	0,1854	13	0,0464	DG	0,6328 +/- 0,5514
22	0,0132	12	0,0132	12	0,1854	14	0,0264		
23	0,0132	DG	0,4266 +/- 0,4303	DG	0,7565 +/- 0,6201	DG	0,5003 +/- 0,4748		
DG	0,6197 +/- 0,5440								

De la misma manera, con respecto a las frecuencias genotípicas en la población Wichí se observan pocos genotipos con frecuencias altas, y en la mayoría de los X-STR éstos son genotipos homocigotas (Tabla 6).

Tabla 6. Frecuencias genotípicas de los X-STR en la población Wichí (mujeres N= 55).

DXS8378	Frecuencias genotípicas	DXS9902	Frecuencias genotípicas	DXS7132	Frecuencias genotípicas	DXS9898	Frecuencias genotípicas	DXS6809	Frecuencias genotípicas
10-10	0,1091	11-11	0,0363	11-11	0,0363	8,3-12	0,0185	30-30	0,0185
10-11	0,1272	11-12	0,2181	11-12	0,0363	10-14	0,0185	30-31	0,0185
10-12	0,0181	11-13	0,0181	12-12	0,0181	11-11	0,0370	30-32	0,0555
11-11	0,4363	12-12	0,4181	13-13	0,2181	11-12	0,0185	30-34	0,0925
11-12	0,1818	12-13	0,1636	13-14	0,1636	11-13	0,0555	30-36	0,0185
11-13	0,0181	13-13	0,1272	13-15	0,0909	12-12	0,2777	31-31	0,0185
12-12	0,0727	13-14	0,0181	13-16	0,0363	12-13	0,2037	31-32	0,0185
12-14	0,0181			14-14	0,0363	12-14	0,1666	31-33	0,0185
13-13	0,0181			14-15	0,1636	13-13	0,0925	32-32	0,0185
				14-16	0,0545	13-14	0,0740	32-33	0,0370
				15-15	0,0727	14-14	0,0370	32-34	0,0370
				15-17	0,0181			33-33	0,0925
				16-16	0,0363			33-34	0,1481
				16-17	0,0181			33-35	0,0370
								33-36	0,0185
								34-34	0,1481
								34-35	0,0370
								34-36	0,0370
								35-35	0,0370
								35-36	0,0370
								36-36	0,0370
								37-38	0,0185
DXS6789	Frecuencias genotípicas	DXS7133	Frecuencias genotípicas	GATA172D05	Frecuencias genotípicas	GATA31E08	Frecuencias genotípicas	DXS7423	Frecuencias genotípicas
15-20	0,0181	7-7	0,0185	6-6	0,0363	9-11	0,0185	14-14	0,0943
15-21	0,0545	7-10	0,0185	6-9	0,0181	9-12	0,0370	14-15	0,1132
16-16	0,0181	8-8	0,0370	6-10	0,0727	10-10	0,0555	14-16	0,0188
16-20	0,0727	9-9	0,5925	6-11	0,1090	10-12	0,0555	14-17	0,0377
16-21	0,0181	9-10	0,0925	6-12	0,0909	10-13	0,0555	15-15	0,3208
19-19	0,0181	9-11	0,2037	7-7	0,0181	11-11	0,0185	15-16	0,0188
19-20	0,0181	9-12	0,0370	8-12	0,0181	11-12	0,1481	15-17	0,2452
19-21	0,0181			9-10	0,0363	12-12	0,5185	16-16	0,0377
20-20	0,2727			10-10	0,1454	12-13	0,0370	16-17	0,0188
20-21	0,3090			10-11	0,1454	12-14	0,0185	17-17	0,0943
20-22	0,0181			10-12	0,1272	14-14	0,0370		
20-23	0,0363			11-11	0,0727				
21-21	0,1090			11-12	0,0545				
21-22	0,0181			12-12	0,0545				

Se observaron once desequilibrios de ligamiento entre pares de marcadores, el marcador DXS8378 es el que se encuentra formando la mayor cantidad de pares de ligamiento (Tabla 7).

Tabla 7. Análisis de desequilibrio de ligamiento de los diez X-STR (+: $p < 0,05$) en la población Wichí. + = marcadores que están ligados, - = marcadores que no están ligados.

	DXS8378	DXS9902	DXS7132	DXS9898	DXS6809	DXS6789	DXS7133	GATA172E05	GATA31D08	DXS7423
DXS8378		-	+	-	+	+	-	-	-	-
DXS9902	-		+	-	-	-	-	-	-	-
DXS7132	+	+		-	-	+	-	-	-	-
DXS9898	-	-	-		+	-	-	-	-	+
DXS6809	+	-	-	+		+	+	-	-	-
DXS6789	+	-	+	-	+		+	+	-	-
DXS7133	-	-	-	-	+	+		-	-	-
GATA172E05	-	-	-	-	-	+	-		-	-
GATA31D08	-	-	-	-	-	-	-	-		-
DXS7423	-	-	-	+	-	-	-	-	-	

La población Wichí presentó un bajo número efectivo de alelos en casi todos los X-STR, el marcador DXS7423 fue el que presentó un número efectivo de alelo más cercano al real (Tabla 8). Y la diversidad haplotípica para los X-STR, calculada sólo con los varones Wichí fue de 1.

Tabla 8. Nro. de alelos observados, efectivos y medios, y contenido de información de polimorfismo (PIC) de los X-STR en la población Wichí.

	Nro. alelos	Nro. efectivo alelos	Nro. medio alelos	PIC
DXS8378	5	2,2	0,5	0,7408
DXS9902	4	2,1	0,4	0,7289
DXS7132	7	3,8	0,7	1,1406
DXS9898	6	3	0,6	1,0848
DXS6809	9	4,6	0,9	1,4890
DXS6789	7	2,6	0,7	1,2928
DXS7133	6	1,8	0,6	0,9669
GATA172D05	7	4	0,7	1,1414
GATA31E08	6	2	0,6	1,1586
DXS7423	4	2,8	0,4	0,8122

Los marcadores que presentaron un PIC más elevado fueron DXS6809 Y DXS6789 (Tabla 8). En los marcadores DXS8378 y DXS9902 se observaron los valores más bajos.

De los diez X-STR analizados, siete no se ajustaron al equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW), presentando una heterocigosis observada mucho menor que la esperada (Tabla 9). Los tres marcadores que se ajustaron al EHW fueron DXS9898, DXS6789 y GATA172E05. La heterocigosis media observada de los diez X-STR resultó mucho menor que la media esperada.

Tabla 9. Heterocigosis observada y esperada, y valor de p para equilibrio Hardy-Weinberg de los diez X-STR ($\alpha=0,05$) en la población Wichí.

Marcadores	Nro de genotipos	Heterocigosis Observada	Heterocigosis Esperada	valor de p
DXS8378	55	0,3636	0,5783	0,0001*
DXS9902	55	0,4181	0,5584	0,0033*
DXS7132	55	0,5818	0,7664	0,0000*
DXS9898	54	0,5555	0,6737	0,04877
DXS6809	55	0,6363	0,8120	0,0034*
DXS6789	55	0,5818	0,6380	0,3745
DXS7133	54	0,3518	0,4113	0,0006*
GATA172E05	55	0,6727	0,7679	0,1871
GATA31D08	54	0,3703	0,5327	0,0001*
DXS7423	53	0,4528	0,6499	0,0013*
Heterocigosis media		0,4985	0,6389	

5.1.2 MOCOVI

5.1.2.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL

La población de Mocoví, a pesar de haber analizado un bajo número de individuos y sólo varones, presentó una elevada variabilidad (Tabla 10) en los X-STR en comparación a la población Wichí. El marcador DXS9902 presentó baja diversidad alélica, a diferencia de los demás X-STR, y DXS7132 presentó la diversidad génica más alta, al igual que en la población Wichí.

Tabla 10. Frecuencias alélicas y diversidad génica (DG) de los X-STR en la población Mocoví. Varones N= 32.

DXS8378	Frecuencias alélicas	DXS9902	Frecuencias alélicas	DXS7132	Frecuencias alélicas	DXS9898	Frecuencias alélicas	DXS6809	Frecuencias alélicas
10	0,406	11	0,1562	11	0,0625	8.3	0,0312	31	0,1875
11	0,4375	12	0,7813	12	0,0312	10	0,0312	32	0,0937
12	0,1562	13	0,0625	13	0,2500	12	0,3438	33	0,5938
DG	0,6327 +/- 0,5642	DG	0,3729 +/- 0,4066	14	0,2813	13	0,5000	34	0,0937
				15	0,2188	14	0,0626	36	0,0313
				16	0,1250	15	0,0312	DG	0,5544 +/- 0,5192
				17	0,0312	DG	0,6167 +/- 0,5549		
				DG	0,7647 +/- 0,6391				
DXS6789	Frecuencias alélicas	DXS7133	Frecuencias alélicas	GATA172D05	Frecuencias alélicas	GATA31E08	Frecuencias alélicas	DXS7423	Frecuencias alélicas
16	0,0625	9	0,5333	6	0,0312	9	0,0625	14	0,4062
19	0,0625	10	0,0667	8	0,0625	10	0,0312	15	0,4062
20	0,4375	11	0,4000	9	0,0312	11	0,1875	17	0,1876
21	0,3438	DG	0,5701 +/- 0,5297	10	0,1563	12	0,6563	DG	0,6720 +/- 0,5867
22	0,0937			11	0,5938	13	0,0625		
DG	0,6370 +/- 0,5677			12	0,1250	DG	0,5543 +/- 0,5182		
				DG	0,5947 +/- 0,5431				

El número efectivo de alelos de la población Mocoví fue bajo en 7 de los STR analizados, y los marcadores DXS8378, DXS6789 y DXS7423, este último al igual que la población Wichí presentan un número efectivo de alelos más cercano al número real de alelos (Tabla 11). La diversidad haplotípica fue de 0,96. La población Mocoví presentó bajos valores de PIC en varios marcadores.

Tabla 11. Nro. de alelos observados, efectivos y medios, y contenido de información de polimorfismo (PIC) de los X-STR en la población Mocoví.

	Nro. alelos	Nro. efectivo alelos	Nro. medio alelos	PIC
DXS8378	3	2,6	0,3	0,8108
DXS9902	3	1,6	0,3	0,6349
DXS7132	7	4,7	0,7	1,1258
DXS9898	6	2,6	0,6	1,0745
DXS6809	5	2,5	0,5	0,7192
DXS6789	5	3	0,5	0,8119
DXS7133	3	2,2	0,3	0,7735
GATA172D05	6	2,5	0,6	1,1185
GATA31E08	5	2,1	0,5	0,8342
DXS7423	3	2,7	0,3	0,8179

5.1.3 MISIÓN N. POMPEYA CRIOLLOS

5.1.3.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL

La diversidad génica de los X-STR en la población de Misión N. Pompeya (MNP) fue más elevada en los marcadores DXS6809 y GATA171E05 al igual que en la población Wichí (Tabla 12). De los diez X-STR, presentaron una mayor variabilidad los marcadores DXS8378 y DXS9902, a diferencia de DXS9902 en el cual se observaron sólo tres alelos en la población Mocoví y cuatro en la Wichí.

Tabla 12. Frecuencias alélicas y diversidad génica (DG) de los X-STR en la población MNP. Varones N= 28, Mujeres N= 23.

DXS8378	Frecuencias alélicas	DXS9902	Frecuencias alélicas	DXS7132	Frecuencias alélicas	DXS9898	Frecuencias alélicas	DXS6809	Frecuencias alélicas
10	0,3888	9	0,0136	11	0,0298	8.3	0,0416	29	0,0655
11	0,3472	10	0,2328	12	0,0597	10	0,0138	30	0,0491
12	0,2361	11	0,3151	13	0,2089	11	0,1666	31	0,0819
13	0,0277	12	0,3013	14	0,4477	12	0,2083	32	0,2459
DG	0,6786 +/- 0,5810	13	0,1095	15	0,2089	13	0,4305	33	0,2786
		14	0,0273	16	0,0447	14	0,0972	34	0,2786
		DG	0,7027 +/- 0,5945	17	0,0149	15	0,0277	35	0,0819
				18	0,0149	17	0,0138	36	0,0491
				DG	0,7126 +/- 0,6001	DG	0,7393 +/- 0,6148	DG	0,7763 +/- 0,6352
DXS6789	Frecuencias alélicas	DXS7133	Frecuencias alélicas	GATA172D05	Frecuencias alélicas	GATA31E08	Frecuencias alélicas	DSX7423	Frecuencias alélicas
15	0,0142	7	0,01408	6	0,1044	9	0,1449	13	0,0285
16	0,0571	9	0,5492	7	0,0149	10	0,0434	14	0,2714
17	0,0142	10	0,1408	8	0,1940	11	0,3188	15	0,4571
19	0,0142	11	0,2394	9	0,0597	12	0,3333	16	0,1
20	0,4571	12	0,0563	10	0,3283	13	0,1304	17	0,1428
21	0,3285	DG	0,6464 +/- 0,5628	11	0,2985	14	0,0289	DG	0,6874 +/- 0,5862
22	0,0857			12	0,0746	DG	0,7320 +/- 0,6110		
23	0,0285			DG	0,7885 +/- 0,6419				
DG	0,6575 +/- 0,5691								

En la mayoría de los X-STR analizados en la población de MNP se observaron entre dos y tres genotipos mayoritarios (Tabla 13).

Tabla 13. Frecuencias genotípicas de los X-STR en MNP (mujeres N= 23).

DXS8378	Frecuencias genotípicas	DXS9902	Frecuencias genotípicas	DXS7132	Frecuencias genotípicas	DXS9898	Frecuencias genotípicas	DXS6809	Frecuencias genotípicas
10-10	0,1818	10-13	0,0454	11-11	0,0476	8,3-13	0,0454	29-33	0,0476
10-11	0,2272	11-11	0,0454	12-15	0,0476	10-13	0,0454	29-34	0,0476
10-12	0,0909	11-12	0,3181	13-14	0,1904	11-12	0,0909	30-32	0,0476
10-13	0,0454	11-13	0,2272	13-15	0,0476	11-13	0,2272	30-33	0,0476
11-11	0,1818	12-12	0,0454	14-14	0,2380	12-12	0,0909	31-31	0,0476
11-12	0,1363	12-13	0,1818	14-15	0,2380	12-13	0,0909	31-32	0,0476
12-12	0,1363	12-14	0,0454	14-17	0,0476	12-14	0,1363	31-34	0,0476
		13-13	0,0454	15-15	0,0476	13-13	0,0454	32-32	0,0952
		13-14	0,0454	15-18	0,0476	13-14	0,0909	32-33	0,1904
				16-16	0,0476	13-15	0,0909	33-34	0,0952
						13-17	0,0454	33-35	0,0476
								34-34	0,1428
								34-35	0,0952
DXS6789	Frecuencias genotípicas	DXS7133	Frecuencias genotípicas	GATA05	Frecuencias genotípicas	GATA31E08	Frecuencias genotípicas	DXS7423	Frecuencias genotípicas
15-21	0,0454	7-9	0,0454	6-10	0,1818	9-9	0,0476	11-11	0,0129
16-20	0,0454	9-9	0,2272	7-9	0,0454	9-11	0,1428	11-14	0,0129
16-21	0,0454	9-10	0,1818	8-11	0,2272	9-12	0,0952	13-13	0,0129
16-22	0,0454	9-11	0,3181	8-12	0,0454	10-12	0,0476	13-14	0,0389
17-21	0,0454	9-12	0,0454	9-10	0,0454	11-11	0,0476	13-15	0,0259
19-20	0,0454	10-10	0,0454	10-10	0,0909	11-12	0,2857	14-14	0,0779
20-20	0,1818	11-11	0,0454	10-11	0,1363	11-13	0,0952	14-15	0,2077
20-21	0,3181	11-12	0,0454	10-12	0,0454	12-12	0,1428	14-16	0,1038
20-22	0,1363	11-13	0,0454	11-11	0,0909	12-13	0,0952	14-17	0,0389
20-23	0,0454			11-12	0,0909			15-15	0,1948
21-21	0,0454							15-16	0,1168
								15-17	0,1168
								16-17	0,0259
								17-17	0,0129

Se observaron sólo tres pares de marcadores ligados en la población de MNP (Tabla 14), coincidiendo solamente un par ligado DXS7133-DXS6809 con los pares ligados observados en la población Wichí.

Tabla 14. Análisis de desequilibrio de ligamiento (+: $p < 0,05$) de los diez X-STR en MNP.

+ = marcadores que están ligados, - = marcadores que no están ligados.

	DXS8378	DXS9902	DXS7132	DXS9898	DXS6809	DXS6789	DXS7133	GATA172D05	GATA31E08	DXS7423
DXS8378		-	-	-	-	-	-	-	+	-
DXS9902	-		-	-	-	-	-	-	-	-
DXS7132	-	-		-	-	-	-	-	-	-
DXS9898	-	-	-		-	-	+	-	-	-
DXS6809	-	-	-	-		-	+	-	-	-
DXS6789	-	-	-	-	-		-	-	-	-
DXS7133	-	-	-	+	+	-		-	-	-
GATA05	-	-	-	-	-	-	-		-	-
GATA08	+	-	-	-	-	-	-	-		-
DXS7423	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

La diversidad haplotípica fue de 1, al igual que en la población Wichí. El número efectivo de alelos fue bajo, el marcador DXS8378 al igual que en la población Mocoví fue el único en el que se observó un número efectivo de alelos más cercano al número real de alelos. Los marcadores DXS7133 y DXS7423 fueron los que presentaron los valores más bajos de PIC (Tabla 15).

Tabla 15. Nro. de alelos observados, efectivos y medios, y contenido de información de polimorfismo (PIC) de los X-STR en MNP.

	Nro. alelos	Nro. efectivo alelos	Nro. medio alelos	PIC
DXS8378	4	3	0,4	0,8353
DXS9902	6	3,8	0,6	1,0318
DXS7132	8	3,6	0,8	1,6277
DXS9898	8	3,7	0,8	1,6082
DXS6809	8	5,4	0,8	1,3856
DXS6789	8	3	0,8	1,6889
DXS7133	5	2,6	0,5	0,7944
GATA172D05	7	4,5	0,7	1,1031
GATA31E08	6	4	0,6	1,0411
DXS7423	5	3,2	0,5	0,7935

De los diez X-STR sólo el DXS7132 no se ajustó al EHW. La media de la heterocigosis observada y la esperada de los diez X-STR fueron similares (Tabla 16).

Tabla 16. Heterocigosis observada y esperada, y valor de p para equilibrio Hardy-Weinberg ($\alpha=0,05$) de los diez X-STR en MNP.

Marcadores	Nro de genotipos	Heterosigosis Observada	Heterosigosis Esperada	Valor de p
DXS8378	23	0,5217	0,6841	0,2730
DXS9902	23	0,8695	0,7207	0,4659
DXS7132	23	0,6087	0,7159	0,0456*
DXS9898	23	0,8695	0,7777	0,5591
DXS6809	22	0,7272	0,8097	0,4508
DXS6789	23	0,7391	0,7178	0,6151
DXS7133	23	0,6956	0,6705	0,8767
GATA172D05	23	0,8261	0,7913	0,1934
GATA31E08	22	0,7727	0,7135	0,8718
DXS7423	22	0,6818	0,6501	0,5004
Heterocigosis media		0,7312	0,7252	

5.1.4 RESISTENCIA CRIOLLOS

5.1.4.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL

En la población de Resistencia se observó una diversidad génica alta en los diez X-STR en comparación con las tres poblaciones más arriba analizadas. Los marcadores que presentaron diversidad génica más alta fueron DXS7132 (al igual que en Wichí y Mocoví), DXS6809 (al igual que en Wichí y MNP) y GATA31D08. Se observó una variabilidad alélica alta en la mayoría de los X-STR (Tabla 17).

Tabla 17. Frecuencias alélicas y diversidad génica (DG) de los X-STR en Resistencia.

Varones N= 63, Mujeres N= 78.

DXS8378	Frecuencias alélicas	DXS9902	Frecuencias alélicas	DXS7132	Frecuencias alélicas	DXS9898	Frecuencias alélicas	DXS6809	Frecuencias alélicas
10	0,4470	9	0,0046	10	0,0046	8.3	0,1435	29	0,0137
11	0,3272	10	0,0184	12	0,1157	10	0,0046	30	0,0229
12	0,2074	11	0,3641	13	0,2407	11	0,1388	31	0,0917
13	0,0184	12	0,3871	14	0,2916	12	0,3333	32	0,2523
DG	0,6468 +/- 0,5581	13	0,2027	15	0,2176	13	0,2592	33	0,2798
		14	0,0184	16	0,0648	14	0,1157	34	0,2064
		15	0,0046	17	0,0463	15	0,0046	35	0,0826
		DG	0,6726 +/- 0,5725	17,1	0,00463	DG	0,7578 +/- 0,6194	36	0,0413
				18	0,0138			37	0,0092
				DG	0,7781 +/- 0,6305			DG	0,8013 +/- 0,6431
DXS6789	Frecuencias alélicas	DXS7133	Frecuencias alélicas	GATA172D05	Frecuencias alélicas	GATA31E08	Frecuencias alélicas		Frecuencias alélicas
15	0,0454	7	0,0046	6	0,1106	9	0,1559	11	0,0137
16	0,0505	8	0,0092	7	0,0046	10	0,0321	13	0,0413
17	0,0051	9	0,5392	8	0,1106	11	0,2293	14	0,2661
19	0,0353	10	0,1797	9	0,0415	12	0,2339	15	0,4495
20	0,5051	11	0,2396	10	0,3272	13	0,2752	16	0,1192
21	0,2374	12	0,0184	11	0,3456	14	0,0688	17	0,1101
22	0,1515	14	0,0092	12	0,0553	15	0,0045		
23	0,0606	DG	0,6162 +/- 0,5407	14	0,0046	DG	0,7912 +/- 0,6376	DG	0,6964 +/- 0,5857
24	0,0051			DG	0,7435 +/- 0,6116				
DG	0,7107 +/- 0,5936								

Se observaron varios genotipos en la población de Resistencia, con las mayores frecuencias en unos pocos genotipos heterocigotas (Tabla 18).

Tabla 18. Frecuencias genotípicas de los X-STR en Resistencia (mujeres N= 78).

DXS8378	Frecuencias genotípicas	DXS9902	Frecuencias genotípicas	DXS7132	Frecuencias genotípicas	DXS9898	Frecuencias genotípicas	DXS6809	Frecuencias genotípicas
10-10	0,1948	10-12	0,0129	12-13	0,0789	8,3-8,3	0,0389	29-30	0,0129
10-11	0,3116	11-11	0,1038	12-14	0,0394	8,3-11	0,0259	30-32	0,0259
10-12	0,1298	11-12	0,3506	12-15	0,0657	8,3-12	0,0779	31-31	0,0129
10-13	0,0259	11-13	0,1558	12-16	0,0131	8,3-13	0,0779	31-32	0,0519
11-11	0,1298	11-14	0,0129	13-13	0,0394	8,3-14	0,0259	31-33	0,0129
11-12	0,0779	12-12	0,1558	13-14	0,0789	10-14	0,0129	31-34	0,0259
11-13	0,0129	12-13	0,1428	13-15	0,0789	11-11	0,0259	31-35	0,0389
12-12	0,1038	13-13	0,0259	13-16	0,0526	11-12	0,0779	31-36	0,0129
12-13	0,0129	13-14	0,0259	13-17	0,0394	11-13	0,0909	32-32	0,0909
		14-15	0,0129	13-18	0,0131	11-14	0,0389	32-33	0,0909
				14-14	0,1578	12-12	0,1038	32-34	0,0519
				14-15	0,1315	12-13	0,1558	32-35	0,0129
				14-16	0,0263	12-14	0,1298	32-36	0,0389
				14-17	0,0394	12-15	0,0129	32-37	0,0129
				14-18	0,0131	13-13	0,0649	33-33	0,1038
				15-15	0,0526	13-14	0,0389	33-34	0,1558
				15-16	0,0526			33-35	0,1038
				15-17	0,0131			33-36	0,0259
				16-17	0,0131			33-37	0,0129
								34-34	0,0519
								34-35	0,0389
								34-36	0,0129
DXS6789	Frecuencias genotípicas	DXS7133	Frecuencias genotípicas	GATA17 2D05	Frecuencias genotípicas	GATA31 E08	Frecuencias genotípicas	DXS7423	Frecuencias genotípicas
15-20	0,0389	7-11	0,0129	6-8	0,0389	9-9	0,0649	11-11	0,0129
15-21	0,0389	8-9	0,0129	6-9	0,0129	9-11	0,0389	11-14	0,0129
16-16	0,0259	9-9	0,3116	6-10	0,0389	9-12	0,0649	13-13	0,0129
16-19	0,0129	9-10	0,1948	6-11	0,1558	9-13	0,0649	13-14	0,0389
16-20	0,0129	9-11	0,1948	6-12	0,0259	10-12	0,0129	13-15	0,0259
16-21	0,0259	9-12	0,0259	7-12	0,0129	10-13	0,0519	14-14	0,0779
16-22	0,0129	10-10	0,0389	8-10	0,0779	11-11	0,0519	14-15	0,2077
17-20	0,0129	10-11	0,0909	8-11	0,0519	11-12	0,1298	14-16	0,1038
19-20	0,0259	10-12	0,0129	8-12	0,0129	11-13	0,1818	14-17	0,0389
19-21	0,0389	11-11	0,0909	9-11	0,0259	11-14	0,0259	15-15	0,1948
19-22	0,0129	11-14	0,0129	9-14	0,0129	12-12	0,0389	15-16	0,1168
20-20	0,2727			10-10	0,1168	12-13	0,1038	15-17	0,1168
20-21	0,1168			10-11	0,2337	12-14	0,0389	16-16	0,0259
20-22	0,0909			11-11	0,1298	13-13	0,0519	16-17	0,0129
20-23	0,0389			11-12	0,0519	13-14	0,0389		
21-21	0,0519					14-14	0,0259		
21-22	0,0649					14-15	0,0129		
21-23	0,0259					14-15	0,0129		
22-22	0,0259								
22-23	0,0129								
22-24	0,0259								
23-23	0,0129								

Se observaron cinco pares de marcadores con desequilibrio de ligamiento (Tabla 19).

Tabla 19. Análisis de desequilibrio de ligamiento (+: $p < 0,05$) de los diez X-STR en Resistencia. + = marcadores que están ligados, - = marcadores que no están ligados.

	DXS8378	DXS9902	DXS7132	DXS9898	DXS6809	DXS6789	DXS7133	GATA172D05	GATA31E08	DXS7423
DXS8378		-	-	+	-	-	-	-	-	-
DXS9902	-		-	-	-	-	+	-	-	-
DXS7132	-	-		-	+	-	-	-	-	-
DXS9898	+	-	-		-	+	-	-	+	-
DXS6809	-	-	+	-		-	-	-	-	-
DXS6789	-	-	-	+	-		-	-	-	-
DXS7133	-	+	-	-	-	-		-	-	-
GATA172D05	-	-	-	-	-	-	-		-	-
GATA31E08	-	-	-	+	-	-	-	-		-
DXS7423	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

A diferencia de las poblaciones Mocoví y MNP, DXS8378 presentó el número efectivo de alelos más alto. El valor de PIC en la mayoría de los X-STR fue elevada, excepto para DXS8378 (Tabla 20). Y la diversidad haplotípica fue de 1, al igual que Wichí y MNP.

Tabla 20. Nro. de alelos observados, efectivos y medios, y contenido de información de polimorfismo (PIC) de los X-STR en Resistencia.

	Nro. alelos	Nro. efectivo alelos	Nro. medio alelos	PIC
DXS8378	4	2,8554	0,4	0,8354
DXS9902	7	3,0843	0,7	1,1955
DXS7132	9	4,7540	0,9	1,4596
DXS9898	7	4,3168	0,7	1,1608
DXS6809	9	4,9432	0,9	1,4335
DXS6789	9	3,4919	0,9	1,6218
DXS7133	7	2,6249	0,7	1,1761
GATA172D05	8	3,9094	0,8	1,5099
GATA31E08	7	4,6904	0,7	1,0451
DXS7423	6	3,3210	0,6	1,0617

Solamente el marcador GATA172D05 no se ajustó al EHW, y la media de la heterocigosis observada resultó cercana a la media de la heterocigosis esperada (Tabla 21).

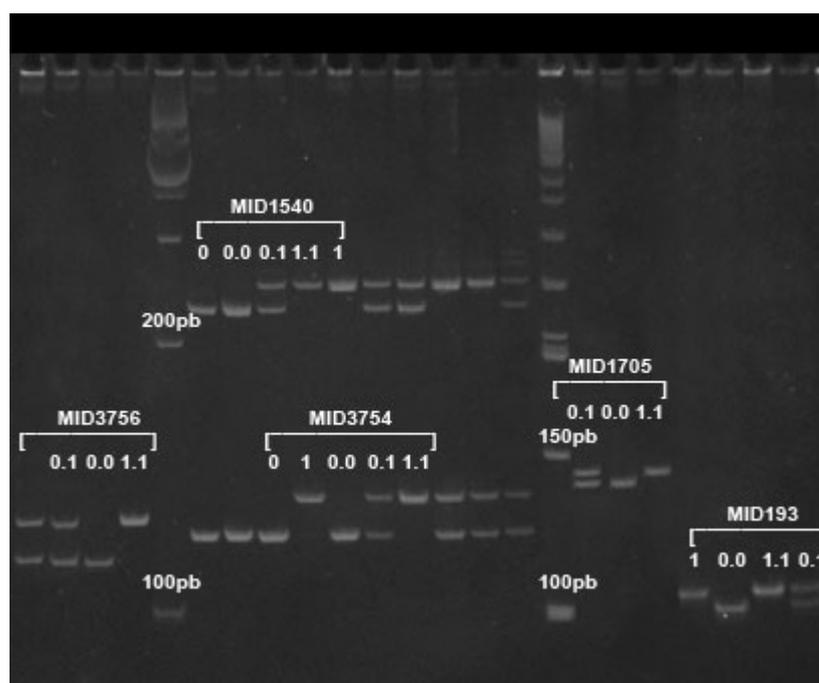
Tabla 21. Heterocigosis observada y esperada, y valor de p para equilibrio Hardy-Weinberg ($\alpha=0,05$) de los diez X-STR en Resistencia.

Marcadores	Nro. de genotipos	Heterosigosis Observada	Heterosigosis Esperada	Valor de p
DXS8378	77	0,5714	0,6644	0,0795
DXS9902	77	0,7143	0,6685	0,1117
DXS7132	75	0,7600	0,7908	0,6989
DXS9898	77	0,7662	0,7784	0,7417
DXS6809	77	0,7403	0,8002	0,0991
DXS6789	77	0,6104	0,7381	0,0688
DXS7133	77	0,5584	0,6306	0,4746
GATA172D05	77	0,7533	0,7419	0,0434*
GATA31E08	77	0,7662	0,7982	0,0531
DXS7423	76	0,6974	0,7142	0,1446
Heterocigosis media		0,6934	0,7325	

5.2 X-INDEL

Las bandas de amplificación de los X-Indel (MID3756, MID1540, MID3756, MID1705, MID193) fueron resueltas en geles de poliacrilamida neutra al 8%, se muestran en la Figura 14.

Figura 14. Variantes de los X-Indel: 0= deleción, 1= inserción, cuando se presenta una sola banda se trata de una muestra masculina o una femenina homocigota. Dos bandas indican una muestra femenina heterocigota.



5.2.1 WICHÍ

5.2.2.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL

En la población Wichí cuatro de los cinco X-Indel presentaron un alelo mucho más frecuente, en cambio MID3756 fue más equifrecuente. Las diversidades génicas resultaron bajas en los marcadores MID1540, MID1705, MID3754, excepto los marcadores MID3756 y MID193 (Tabla 22). Y la diversidad haplotípica fue de 0,52.

Tabla 22. Frecuencias alélicas y diversidad génica (DG) de los X-Indel en la población Wichí. Varones N= 34, Mujeres N= 38.

MID1540	Frecuencias alélicas	MID1705	Frecuencias alélicas	MID3754	Frecuencias alélicas	MID3756	Frecuencias alélicas	MID193	Frecuencias alélicas
0	0,2129	0	0,2135	0	0,8727	0	0,4519	0	0,6470
1	0,7870	1	0,7864	1	0,1272	1	0,5480	1	0,3529
DG	0,3384+/- 0,3752	DG	0,3302 +/- 0,3700	DG	0,2242 +/- 0,2957	DG	0,50018+/- 0,4759	DG	0,4683 +/- 0,4568

Con respecto a las frecuencias genotípicas, en la población Wichí se observó algo similar a lo que sucede con los X-STR en esta población, ya que los homocigotas fueron más frecuentes (Tabla 23).

Tabla 23. Frecuencias genotípicas en la población Wichí (mujeres N= 38).

MID1540	Frecuencias genotípicas	MID1705	Frecuencias genotípicas	MID3754	Frecuencias genotípicas	MID3756	Frecuencias genotípicas	MID193	Frecuencias genotípicas
0-0	0,0810	0-0	0,0277	0-0	0,7368	0-0	0,1944	0-0	0,4722
1-1	0,6756	1-1	0,6111	1-1	0	1-1	0,3333	1-1	0,1388
0-1	0,2432	0-1	0,3611	0-1	0,2631	0-1	0,4722	0-1	0,3888

Se observó desequilibrio de ligamiento sólo entre un par de marcadores (Tabla 24) y los cinco X-Indel se ajustaron al EHW (Tabla 25).

Tabla 24. Análisis de desequilibrio de ligamiento de los diez X-Indel en Wichí (+: $p < 0,05$).
+ = marcadores que están ligados, - = marcadores que no están ligados.

	MID1540	MID1705	MID3754	MID3756	MID193
MID1540		-	-	-	-
MID1705	-		-	+	-
MID3754	-	-		-	-
MID3756	-	+	-		-
MID193	-	-	-	-	

Tabla 25. Heterocigosis observada y esperada, y valor de p para equilibrio Hardy-Weinberg de los diez X-STR ($\alpha = 0,05$) en la población Wichí.

Marcadores	Nro. de genotipos	Heterocigosis Observada	Heterocigosis Esperada	Valor de p
MID1540	37	0,2432	0,3276	0,1362
MID1705	36	0,3611	0,3345	1,0000
MID3754	38	0,2632	0,2316	1,0000
MID3756	36	0,4722	0,4973	1,0000
MID193	37	0,3784	0,4621	0,2969
Heterocigosis media		0,3436	0,3705	

5.2.2 MOCOVI

5.2.2.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL

Al igual que en la población Wichí, en cuatro X-Indel uno de los alelos fue mucho más frecuente, mientras que MID1540 muestra frecuencias más próximas entre los dos alelos. La diversidad génica en esta población resultó baja, la más alta es el marcador MID1540 (Tabla 26) y la diversidad haplotípica fue más baja (0,48) que en la población Wichí.

Tabla 26. Frecuencias alélicas y diversidad génica (DG) de los X-Indel en la población Mocoví. Varones N= 36.

MID1540	Frecuencias alélicas	MID1705	Frecuencias alélicas	MID3754	Frecuencias alélicas	MID3756	Frecuencias alélicas	MID193	Frecuencias alélicas
0	0,5714	0	0,2571	0	0,8611	0	0,3428	0	0,7428
1	0,4285	1	0,7428	1	0,1388	1	0,6571	1	0,2571
DG	0,4825 +/- 0,4738	DG	0,3714 +/- 0,4039	DG	0,2460 +/- 0,3176	DG	0,4381 +/- 0,4464	DG	0,3714 +/- 0,4039

5.2.3 MISIÓN N. POMPEYA CRIOLLOS

5.2.3.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL

A diferencia de las poblaciones Wichí y Mocoví, en la población de MNP se observaron frecuencias alélicas equifrecuentes en cuatro X-Indel, excepto en el MID3754. La diversidad haplotípica fue alta con un valor de 0,76. Las diversidades génicas más altas se observaron en MID3756 y MID193. (Tabla 27).

Tabla 27. Frecuencias alélicas y diversidad génica (DG) de los X-Indel en MNP. Varones N= 31, Mujeres N= 23.

MID1540	Frecuencias alélicas	MIDS1705	Frecuencias alélicas	MID3754	Frecuencias alélicas	MID3756	Frecuencias alélicas	MID193	Frecuencias alélicas
0	0,4189	0	0,4078	0	0,7142	0	0,4736	0	0,5526
1	0,5810	1	0,5921	1	0,2857	1	0,5263	1	0,4473
DG	0,4935 +/- 0,4738	DG	0,4895 +/- 0,4712	DG	0,4053 +/- 0,4196	DG	0,5053 +/- 0,4807	DG	0,5011 +/- 0,4782

A diferencia de la población Wichí, en la población MNP las frecuencias más altas que se observaron fueron de los heterocigotas (Tabla 28).

Tabla 28. Frecuencias genotípicas de la población MNP (mujeres N= 23).

MID1540	Frecuencias genotípicas	MID1705	Frecuencias genotípicas	MID3754	Frecuencias genotípicas	MID3756	Frecuencias genotípicas	MID193	Frecuencias genotípicas
0-0	0,1739	0-0	0,2173	0-0	0,4347	0-0	0,2173	0-0	0,3043
1-1	0,2608	1-1	0,2608	1-1	0,0869	1-1	0,3478	1-1	0,1739
0-1	0,5652	0-1	0,5217	0-1	0,4782	0-1	0,4347	0-1	0,5217

Sólo un par de marcadores se encuentran en desequilibrio de ligamiento, al igual que en Wichí, incluye MID1705 (Tabla 29).

Tabla 29. Análisis de desequilibrio de ligamiento de los diez X-Indel en MNP (+: p<0,05).
+ = marcadores que están ligados, - = marcadores que no están ligados.

	MID1540	MID1705	MID3754	MID3756	MID193
MID1540		-	-	-	-
MID1705	-		-	-	+
MID3754	-	-		-	-
MID3756	-	-	-		-
MID193	-	+	-	-	

Los cinco X-Indel se ajustaron al equilibrio EHW (Tabla 30).

Tabla 30. Heterocigosis observada y esperada y valor de p para equilibrio Hardy-Weinberg ($\alpha=0,05$) en la población MNP.

Marcadores	Nro de genotipos	Heterocigosis Observadas	Heterocigosis Esperada	Valor de p
MID1540	23	0,5652	0,5073	0,6851
MID1705	23	0,5217	0,5101	1,0000
MID3754	23	0,4783	0,4493	1,0000
MID3756	23	0,4348	0,5024	0,6743
MID193	23	0,5217	0,5024	1,0000
Heterocigosis media		0,5043	0,4943	

5.2.4 RESISTENCIA CRIOLLOS

5.2.4.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL

Cuatro X-Indel presentan un balance entre la inserción y la delección, sin embargo MID1705 presentó diferencias entre ambas variantes (Tabla 31). La diversidad génica más alta se observó en MID1540 y la diversidad halotípica fue de 0,54, mucho más baja que en MNP.

Tabla 31. Frecuencias alélicas y diversidad génica (DG) de los X-Indel en la población de Resistencia. Varones N= 50, Mujeres N= 72.

MID1540	Frecuencias alélicas	MID1705	Frecuencias alélicas	MID3754	Frecuencias alélicas	MID3756	Frecuencias alélicas	MID193	Frecuencias alélicas
0	0,4896	0	0,3315	0	0,4175	0	0,4329	0	0,5549
1	0,5103	1	0,6684	1	0,5824	1	0,5670	1	0,4450
DG	0,5025 +/- 0,4753	DG	0,4409 +/- 0,4384	DG	0,4889 +/- 0,4672	DG	0,4936 +/- 0,4699	DG	0,4914 +/- 0,4687

Al igual que en MNP los heterocigotas son más frecuentes (Tabla 32).

Tabla 32. Frecuencias genotípicas de la población de Resistencia (mujeres N=72).

MID1540	Frecuencias genotípicas	MID1705	Frecuencias genotípicas	MID3754	Frecuencias genotípicas	MID3756	Frecuencias genotípicas	MID193	Frecuencias genotípicas
0-0	0,2916	0-0	0,1428	0-0	0,1666	0-0	0,2361	0-0	0,3472
1-1	0,2638	1-1	0,4571	1-1	0,3194	1-1	0,3194	1-1	0,2222
0-1	0,4444	0-1	0,4	0-1	0,5138	0-1	0,4444	0-1	0,4305

De manera similar a lo observado en Wichí y MNP el marcador MID1705 se encuentra ligado en Resistencia (Tabla 33) y todos los X-Indel se ajustaron al EHW (Tabla 34).

Tabla 33. Análisis de desequilibrio de ligamiento de los diez X-Indel en Resistencia (+: $p < 0,05$). + = marcadores que están ligados, - = marcadores que no están ligados.

	MID1540	MID1705	MID3754	MID3756	MID193
MID1540		-	-	-	-
MID1705	-		+	-	-
MID3754	-	+		-	-
MID3756	-	-	-		-
MID193	-	-	-	-	

Tabla 34. Heterocigosis observada y esperada y valor de p para equilibrio Hardy-Weinberg ($\alpha=0,05$) en la población de Resistencia.

Marcadores	Nro. de genotipos	Heterocigosis Observada	Heterocigosis Esperada	Valor de p
MID1540	72	0,4444	0,5031	0,3505
MID1705	70	0,4000	0,4538	0,4263
MID3754	72	0,5139	0,4917	0,8102
MID3756	72	0,4444	0,5000	0,3556
MID193	72	0,4306	0,4956	0,3359
Heterocigosis media		0,4466	0,4888	

5.3 X-SNP

La mayoría de los X-SNP se amplificaron por PCR alelo específico y se resolvieron en geles de agarosa al 2%. Se presentan ejemplos de los X-SNP rs4825889, rs1781104 (figura 15), rs652, y rs318173 (figura 16).

Figura 15. Electroforesis en gel de agarosa X-SNP: rs4825889 y rs1781104. Cuando se observa una sola banda se trata de una muestra masculina o femenina homocigota. Cuando se observan dos bandas se trata de una muestra femenina heterocigota.

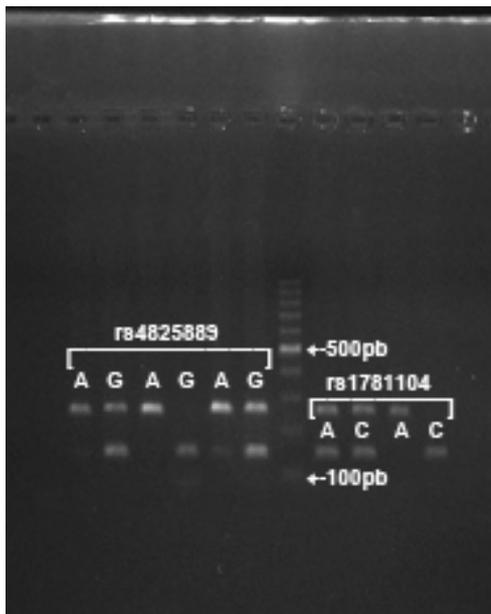
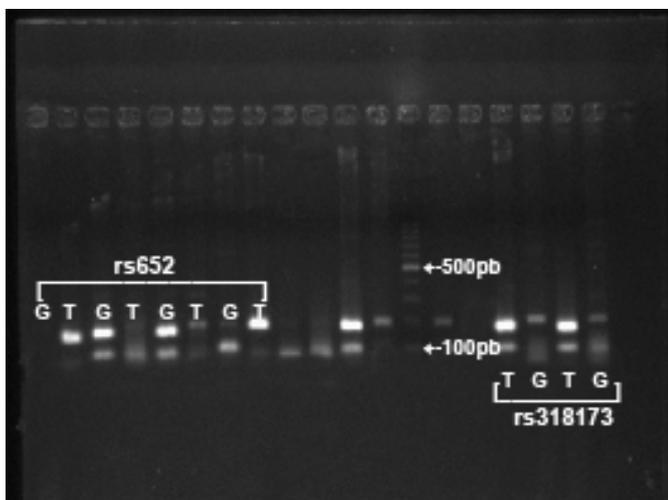


Figura 16. Electroforesis en gel de agarosa X-SNP: rs652, y rs318173. Cuando se observa una sola banda se trata de una muestra masculina o femenina homocigota. Cuando se observan dos bandas se trata de una muestra femenina heterocigota.

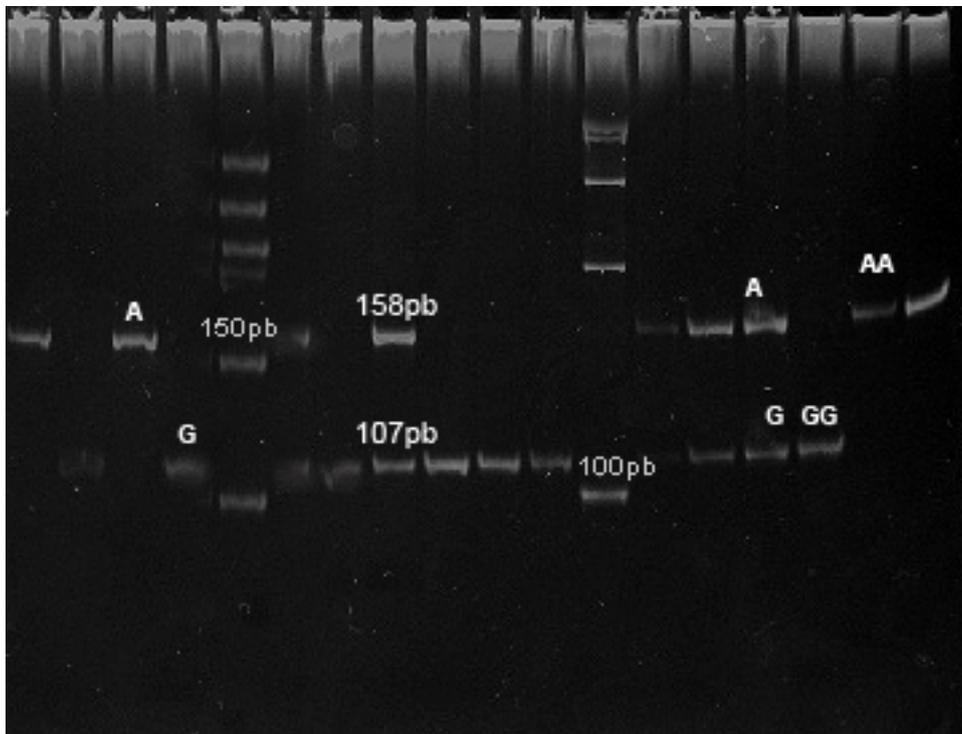


Para el marcador rs1299087 luego de la amplificación y digestión enzimática se definieron las bandas en geles de poliacrilamida neutra al 8%, (Fig. 17).

Las bandas que se observaron fueron:

- Una única banda de 158pb, indica que el individuo es homocigoto AA, ya que la enzima no reconoce ningún sitio.
- Bandas de 107pb y 51pb, en los individuos homocigotos GG, donde la enzima reconoce un sitio de corte.
- Bandas de 158pb, 107pb y 51pb, individuos heterocigotas.

Figura 17. Electroforesis en gel de poliacrilamida X-SNP: rs1299087.



5.3.1 WICHÍ

5.3.1.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL

La diversidad haplotípica de la población Wichí fue de 0,66 y no se observaron alelos con frecuencias equifrecuentes, el marcador rs1991961 es el que presenta valores de frecuencias más equilibrados (Tabla 35).

Tabla 35. Frecuencias alélicas y diversidad génica (DG) de los diez X-SNP en la población Wichí. Varones N= 33, Mujeres N= 35.

rs1299087	Frecuencias alélicas	rs318173	Frecuencias alélicas	rs933315	Frecuencias alélicas	rs4825889	Frecuencias alélicas	rs1781116	Frecuencias alélicas
A	0,0495	T	0,9126	A	0,12	A	0,3465	T	0,625
G	0,9504	G	0,0873	G	0,88	G	0,6534	C	0,375
DG	0,0959 +/- 0,1863	DG	0,1625 +/- 0,2474	DG	0,2133 +/- 0,2878	DG	0,4596 +/- 0,4518	DG	0,4620 +/- 0,4533
rs1991961	Frecuencias alélicas	rs149910	Frecuencias alélicas	rs652	Frecuencias alélicas	rs1937193	Frecuencias alélicas	rs1781104	Frecuencias alélicas
T	0,5744	T	0,6237	T	0,3495	A	0,65	A	0,2150
G	0,4255	G	0,3762	G	0,6505	T	0,35	C	0,7849
DG	0,4942 +/- 0,4729	DG	0,4759 +/- 0,4616	DG	0,4613 +/- 0,4527	DG	0,4484 +/- 0,4449	DG	0,3340 +/- 0,3728

Al igual que en X-STR e X-Indel, en siete de los diez X-SNP se observaron frecuencias de homocigotas más elevadas que heterocigotas, excepto en rs1991961, rs652, y rs1937193 (Tabla 36). Los marcadores rs1299087 y rs933315 presentaron sólo uno de los genotipos homocigotas.

Tabla 36. Frecuencias genotípicas de la población de Wichí (mujeres N= 35).

rs1299087	Frecuencias genotípicas	rs318173	Frecuencias genotípicas	rs933315	Frecuencias genotípicas	rs4825889	Frecuencias genotípicas	rs1781116	Frecuencias genotípicas
A-A	0	T-T	0,8571	A-A	0	A-A	0,1176	T-T	0,5
G-G	0,9411	G-G	0,0285	G-G	0,7352	G-G	0,5294	C-C	0,2187
A-G	0,0588	T-G	0,1142	A-G	0,2647	A-G	0,3529	T-C	0,2812
rs1991961	Frecuencias genotípicas	rs149910	Frecuencias genotípicas	rs652	Frecuencias genotípicas	rs1937193	Frecuencias genotípicas	rs1781104	Frecuencias genotípicas
T-T	0,3333	T-T	0,4117	T-T	0,11429	A-A	0,4411	A-A	0,125
G-G	0,3030	G-G	0,2647	G-G	0,45714	T-T	0,1176	C-C	0,75
T-G	0,3636	T-G	0,3235	T-G	0,42857	A-T	0,4411	A-C	0,125

En la población Wichí quince pares de X-SNP se encontraron ligados (Tabla 37) y nueve X-SNP se ajustaron al EHW, excepto rs1781104 (Tabla 38).

Tabla 37. Análisis de desequilibrio de ligamiento de los diez X-SNP en Wichí (+: $p < 0,05$).

+ = marcadores que están ligados, - = marcadores que no están ligados.

	rs652	rs318173	rs1299087	rs933315	rs1991961	rs149910	rs1937193	rs1781116	rs4825889	rs1781104
rs652		+	-	-	+	-	-	-	-	-
rs318173	+		-	-	-	-	-	+	-	+
rs1299087	-	-		-	-	+	-	-	+	+
rs933315	-	-	-		+	-	-	-	-	-
rs1991961	+	-	-	+		-	-	-	-	-
rs149910	-	-	+	-	-		-	-	+	-
rs1937193	-	-	-	-	-	-		+	+	+
rs1781116	-	+	-	-	-	-	+		+	+
rs4825889	-	-	+	-	-	+	+	+		+
rs1781104	-	+	+	-	-	-	+	+	+	

Tabla 38. Heterocigosis observada y esperada y valor de p para equilibrio Hardy-Weinberg ($\alpha=0,05$) en la población Wichí.

Marcadores	Nro. de genotipos	Heterocigosis Observada	Heterocigosis Esperada	Valor de p
rs652	35	0,4286	0,4476	1,0000
rs318173	35	0,1143	0,1590	0,2065
rs1299087	34	0,0588	0,0579	1,0000
rs933315	34	0,2647	0,2331	1,0000
rs1991961	33	0,3636	0,5072	0,1608
rs149910	34	0,3235	0,4965	0,0749
rs1937193	34	0,4412	0,4544	1,0000
rs1781116	34	0,3529	0,4214	0,4139
rs4825889	32	0,2813	0,4678	0,0494
rs1781104	32	0,1250	0,3095	0,0037*
Heterocigosis media		0,2724	0,4452	

5.3.2 MOCOVI

5.3.2.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL

El marcador rs318173 resultó monomórfico en la población Mocoví, no se observó el alelo G. En cinco marcadores rs1299087, rs933315, rs149910, rs652 y rs1781104 se observó una gran diferencia entre los dos alelos (Tabla 39). Al igual que en X-Indel la diversidad haplotípica en Mocoví fue de 0,6, menor que en Wichí.

Tabla 39. Frecuencias alélicas de los X-SNP en la población Wichí y diversidad génica (DG). Varones N= 31.

rs1299087	Frecuencias alélicas	rs318173	Frecuencias alélicas	rs933315	Frecuencias alélicas	rs4825889	Frecuencias alélicas	rs1781116	Frecuencias alélicas
A	0,2903	T	1	A	0,3	A	0,5185	T	0,4193
G	0,7096	G	0	G	0,7	G	0,4814	C	0,5806
DG	0,4345 +/- 0,4467	DG	0,0000 +/- 0,0000	DG	0,4345 +/- 0,4467	DG	0,4815 +/- 0,4770	DG	0,5080 +/- 0,4921
Rs1991961	Frecuencias alélicas	rs149910	Frecuencias alélicas	rs652	Frecuencias alélicas	rs1937193	Frecuencias alélicas	rs1781104	Frecuencias alélicas
T	0,5806	T	0,6206	T	0,3225	A	0,4666	A	0,375
G	0,4193	G	0,3793	G	0,6774	T	0,5333	C	0,625
DG	0,5080 +/- 0,4921	DG	0,4552 +/- 0,4596	DG	0,4598 +/- 0,4625	DG	0,5149 +/- 0,4963	DG	0,4891 +/- 0,4846

5.3.3 MISIÓN N. POMPEYA

CRIOLLOS

5.3.3.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL

En la población de MNP en cinco marcadores se observó un equilibrio entre los dos alelos y la diversidad haplotípica fue alta, con un valor de 0,91 (Tabla 40). No se observó el homocigoto AA en el marcador rs4825889 (Tabla 41).

Tabla 40. Frecuencias alélicas de los X-SNP de la población MNP y diversidad génica (DG). Varones N= 31, Mujeres N= 23.

rs1299087	Frecuencias alélicas	rs318173	Frecuencias alélicas	rs933315	Frecuencias alélicas	rs4825889	Frecuencias alélicas	rs1781116	Frecuencias alélicas
A	0,4285	T	0,7012	A	0,44	A	0,3472	A	0,6579
G	0,5714	G	0,2987	G	0,56	G	0,6527	C	0,3421
DG	0,4940 +/- 0,4739	DG	0,4716 +/- 0,4604	DG	0,497593 +/- 0,476264	DG	0,459703 +/- 0,453584	DG	0,456140 +/- 0,451087
rs1991961	Frecuencias alélicas	rs149910	Frecuencias alélicas	rs652	Frecuencias alélicas	rs1937193	Frecuencias alélicas	rs1781104	Frecuencias alélicas
T	0,5205	T	0,4571	T	0,5065	A	0,6901	A	0,1805
G	0,4795	G	0,5428	G	0,4935	T	0,3098	C	0,8194
DG	0,5070 +/- 0,4821	DG	0,4979 +/- 0,4763	DG	0,5067 +/- 0,4815	DG	0,3902 +/- 0,4101	DG	0,4032 +/- 0,4153

Tabla 41. Frecuencias genotípicas de los X-SNP en MNP (mujeres N= 23).

rs1299087	Frecuencias genotípicas	rs318173	Frecuencias genotípicas	rs933315	Frecuencias genotípicas	rs4825889	Frecuencias genotípicas	rs1781116	Frecuencias genotípicas
A-A	0,2608	T-T	0,6521	A-A	0,3181	A-A	0	T-T	0,4782
G-G	0,3043	G-G	0,2173	G-G	0,3181	G-G	0,4090	C-C	0,1304
A-G	0,4347	T-G	0,1304	A-G	0,3636	A-G	0,5909	T-C	0,3913
rs1991961	Frecuencias genotípicas	rs149910	Frecuencias genotípicas	rs652	Frecuencias genotípicas	rs1937193	Frecuencias genotípicas	rs1781104	Frecuencias genotípicas
T-T	0,4761	T-T	0,2857	T-T	0,2173	A-A	0,5	A-A	0,0869
G-G	0,4285	G-G	0,5714	G-G	0,2608	T-T	0,05	C-C	0,8260
T-G	0,0952	T-G	0,1428	T-G	0,5217	A-T	0,45	A-C	0,0869

Se observaron ocho pares de marcadores ligados (Tabla 42), y los marcadores rs1991961 y rs1781104 no se ajustaron al EHW (Tabla 43).

Tabla 42. Análisis de desequilibrio de ligamiento de los diez X-SNP en MNP (+: $p < 0,05$).

+ = marcadores que están ligados, - = marcadores que no están ligados.

	rs652	rs318173	rs1299087	rs933315	rs1991961	rs149910	rs1937193	rs1781116	rs4825889	rs1781104
rs652		-	-	-	-	-	-	-	-	-
rs318173	-		-	+	-	-	-	-	-	-
rs1299087	-	-		+	-	-	+	-	-	-
rs933315	-	+	+		+	+	-	-	-	-
rs1991961	-	-	-	+		-	-	-	-	-
rs149910	-	-	-	+	-		-	-	-	-
rs1937193	-	-	+	-	-	-		+	+	-
rs1781116	-	-	-	-	-	-	+		+	-
rs4825889	-	-	-	-	-	-	+	+		-
rs1781104	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Tabla 43. Heterocigosis observada y esperada y valor de p para equilibrio Hardy-Weinberg ($\alpha=0,05$) en la población MNP.

Marcadores	Nro. de genotipos	Heterocigosis Observada	Heterocigosis Esperada	Valor de p (0,05)
rs652	23	0,5217	0,5101	1,0000
rs318173	23	0,3478	0,4869	0,2069
rs1299087	23	0,4348	0,5101	0,6756
rs933315	22	0,3636	0,5116	0,2181
rs1991961	21	0,1429	0,5122	0,0014*
rs149910	23	0,3044	0,4493	0,1616
rs1937193	20	0,4500	0,4218	1,0000
rs1781116	22	0,5909	0,4260	0,1195
rs4825889	23	0,3913	0,4493	0,6422
rs1781104	23	0,0869	0,2319	0,0229*
Heterocigosis media		0,3634	0,4509	

5.3.4 RESISTENCIA

5.3.4.1 CÁLCULOS DE LA VARIABILIDAD POBLACIONAL

La diversidad génica más baja se observó en el marcador rs318173. Con respecto a las frecuencias alélicas en la mayoría de los X-SNP fueron equilibradas (Tabla 44). Y al igual que X-Indel la diversidad haplotípica fue más baja que en MNP, 0,89.

Tabla 44. Frecuencias alélicas de los X-SNP en la población de Resistencia y diversidad génica (DG). Varones N= 45, Mujeres N= 66.

rs1299087	Frecuencias alélicas	rs318173	Frecuencias alélicas	rs933315	Frecuencias alélicas	rs4825889	Frecuencias alélicas	rs1781116	Frecuencias alélicas
A	0,3508	T	0,8128	A	0,5796	A	0,5321	A	0,4379
G	0,6491	G	0,1871	G	0,4203	G	0,4678	C	0,5620
DG	0,4623 +/- 0,4515	DG	0,2919 +/- 0,3428	DG	0,4974 +/- 0,4727	DG	0,501234 +/- 0,474765	DG	0,496253 +/- 0,472228
Rs1991961	Frecuencias alélicas	rs149910	Frecuencias alélicas	rs652	Frecuencias alélicas	rs1937193	Frecuencias alélicas	rs1781104	Frecuencias alélicas
T	0,4625	T	0,3048	T	0,3976	A	0,5328	A	0,2638
G	0,5375	G	0,6951	G	0,6023	T	0,4671	C	0,7361
DG	0,5004 +/- 0,4744	DG	0,4365 +/- 0,4359	DG	0,4794 +/- 0,4618	DG	0,5012 +/- 0,4749	DG	0,4032 +/- 0,4153

En la población de Resistencia en tres marcadores se observaron una mayor frecuencia de heterocigotas, y en tres marcadores se observaron una mayor frecuencia de homocigotas, en los cuatro restantes hay un balance entre los homocigotas y heterocigotas (Tabla 45).

Tabla 45. Frecuencias genotípicas de los X-SNP en la población de Resistencia (mujeres N= 66).

rs1299087	Frecuencias genotípicas	rs318173	Frecuencias genotípicas	rs933315	Frecuencias genotípicas	rs4825889	Frecuencias genotípicas	rs1781116	Frecuencias genotípicas
A-A	0,0937	T-T	0,6718	A-A	0,4067	A-A	0,2656	T-T	0,1960
G-G	0,3906	G-G	0,0625	G-G	0,2542	G-G	0,2187	C-C	0,3333
A-G	0,5156	T-G	0,2656	A-G	0,3389	A-G	0,5156	T-C	0,4705
rs1991961	Frecuencias genotípicas	rs149910	Frecuencias genotípicas	rs652	Frecuencias genotípicas	rs1937193	Frecuencias genotípicas	rs1781104	Frecuencias genotípicas
T-T	0,25	T-T	0,2419	T-T	0,2343	A-A	0,2807	A-A	0,1639
G-G	0,3333	G-G	0,6451	G-G	0,3906	T-T	0,1929	C-C	0,7377
T-G	0,4166	T-G	0,1129	T-G	0,375	A-T	0,5263	A-C	0,0983

A igual que MNP se observaron ocho pares de marcadores ligados (Tabla 46) y dos marcadores no se ajustaron al equilibrio Hardy-Weinberg rs149910 y rs1781104 (Tabla 47).

Tabla 46. Análisis de desequilibrio de ligamiento de los diez X-SNP en Resistencia (+: $p < 0,05$). + = marcadores que están ligados, - = marcadores que no están ligados.

	rs652	rs318173	rs1299087	rs933315	rs1991961	rs149910	rs1937193	rs1781116	rs4825889	rs1781104
rs652		-	-	-	-	-	-	-	-	-
rs318173	-		-	-	-	-	+	-	-	-
rs1299087	-	-		-	-	-	-	-	-	-
rs933315	-	-	-		+	-	-	-	-	-
rs1991961	-	-	-	+		-	-	-	-	-
rs149910	-	-	-	-	-		-	-	-	-
rs1937193	-	+	-	-	-	-		+	+	+
rs1781116	-	-	-	-	-	-	+		+	+
rs4825889	-	-	-	-	-	-	+	+		+
rs1781104	-	-	-	-	-	-	+	+	+	

Tabla 47. Heterocigosis observada y esperada y valor de p para equilibrio Hardy-Weinberg ($\alpha=0,05$) en la población de Resistencia.

Marcadores	Nro. de genotipos	Heterocigosis Observada	Heterocigosis Esperada	Valor de p (0,05)
rs652	66	0,3636	0,4872	0,0443
rs318173	66	0,2576	0,3094	0,2210
rs1299087	66	0,5152	0,4576	0,4148
rs933315	61	0,3443	0,4906	0,0336
rs1991961	63	0,4127	0,5008	0,2083
rs149910	64	0,1875	0,4444	0,00001*
rs1937193	62	0,5161	0,4993	0,8032
rs1781116	66	0,5152	0,5034	1,0000
rs4825889	57	0,4561	0,4968	0,5954
rs1781104	64	0,1094	0,3599	0,0000*
Heterocigosis media		0,3677	0,4549	

5.4 COMPARACIÓN ENTRE LAS POBLACIONES: WICHÍ, MOCOVÍ, CRIOLLOS-MISIÓN N. POMPEYA Y CRIOLLOS-RESISTENCIA

5.4.1 X-STR

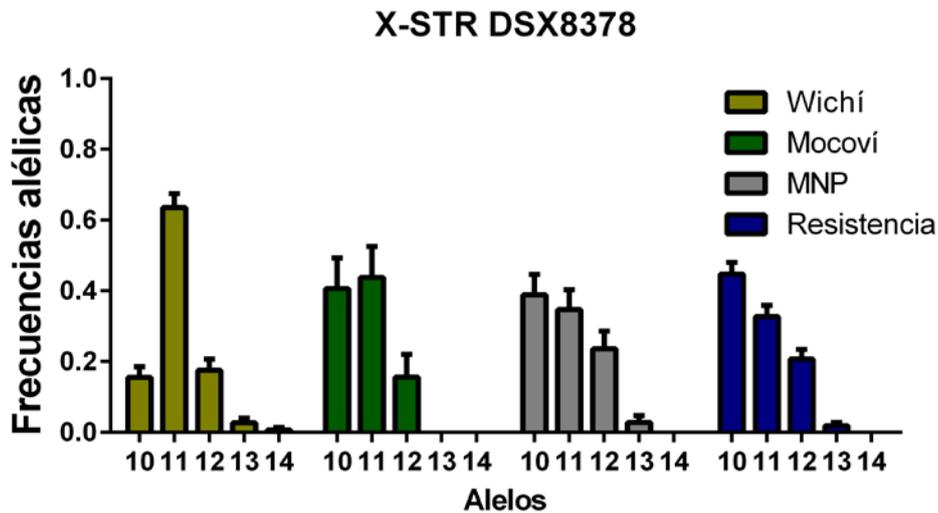
5.4.1.1 COMPARACIÓN DE LA VARIACIÓN ENTRE LAS POBLACIONES

Figura 18-27 Distribución de las frecuencias alélicas de los diez X-STR en las cuatro poblaciones.

Los alelos más frecuentes en las cuatro poblaciones para el marcador DXS8378 fueron 10 y 11. Sin embargo en la población Wichí, el alelo 11 presentó una frecuencia

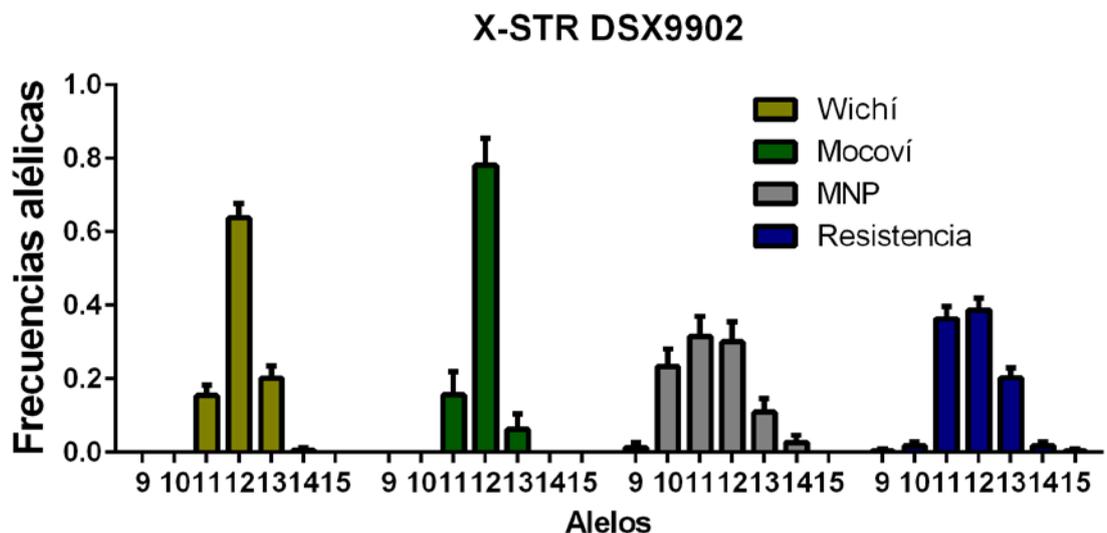
elevada en comparación a los demás alelos, y se observó la variante 14, que no se encontró en las otras tres poblaciones (Fig. 18).

Figura 18.



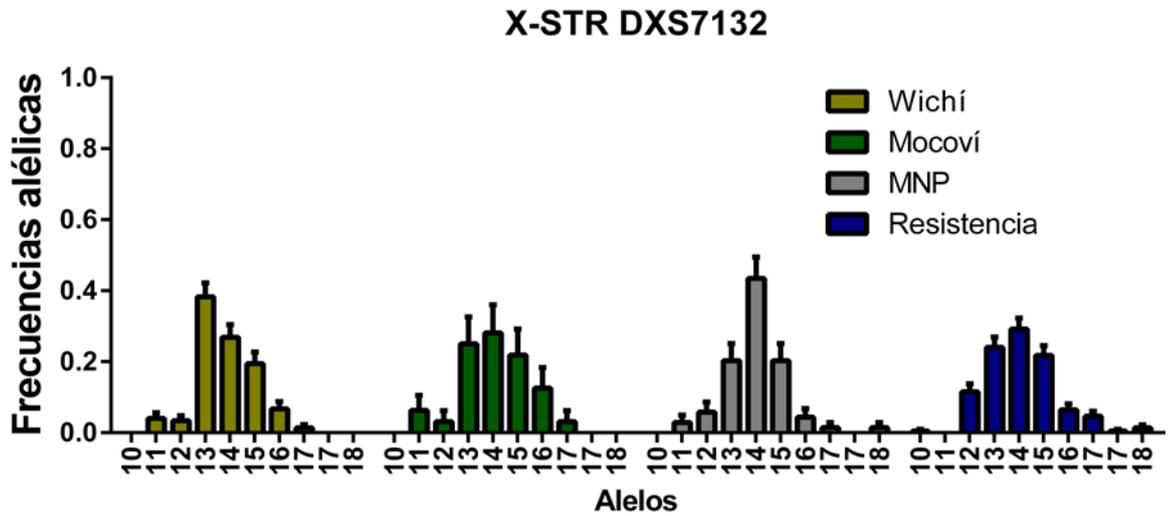
En las poblaciones criollas se observaron las variantes (9, 10, 14, 15) para DXS9902 que no se encontraron en las poblaciones nativas, salvo el alelo 14 que se observó en muy baja frecuencias en la población Wichí. Estas variantes se encontraron en bajas frecuencias en las poblaciones criollas, excepto el alelo 10 en MNP. Los alelos modales fueron similares entre las poblaciones criollas, e iguales entre las poblaciones nativas (Fig. 19).

Figura 19.



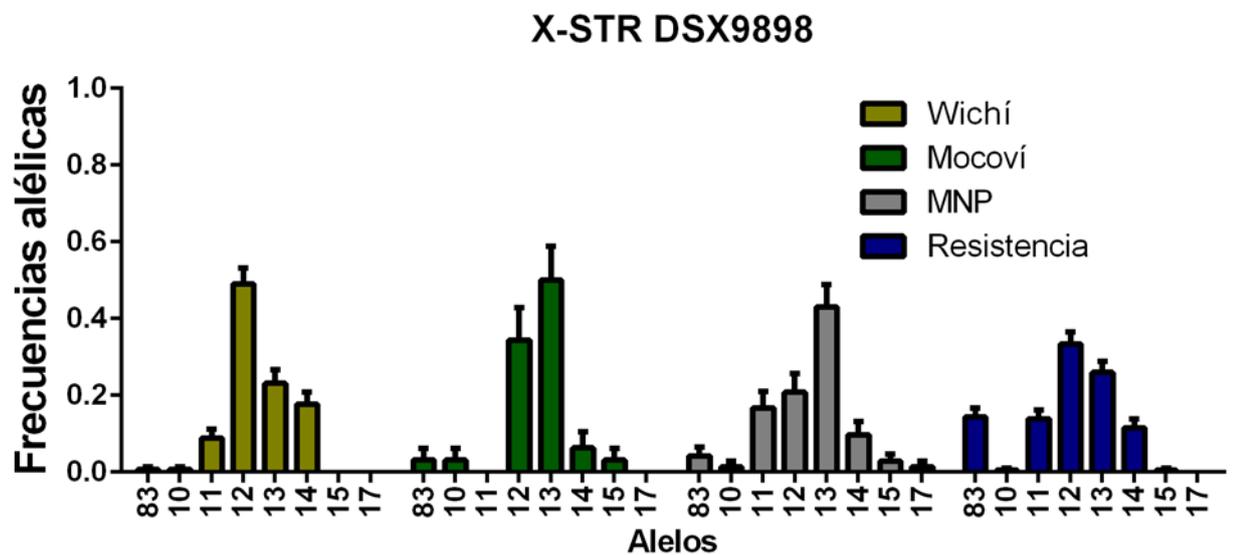
Los alelos modales de las cuatro poblaciones fueron 13, 14 y 15 para DXS7132. En la población de Resistencia se observaron tres alelos que no se encontraron en las poblaciones nativas, y dos de ellos en MNP (Fig. 20).

Figura 20.



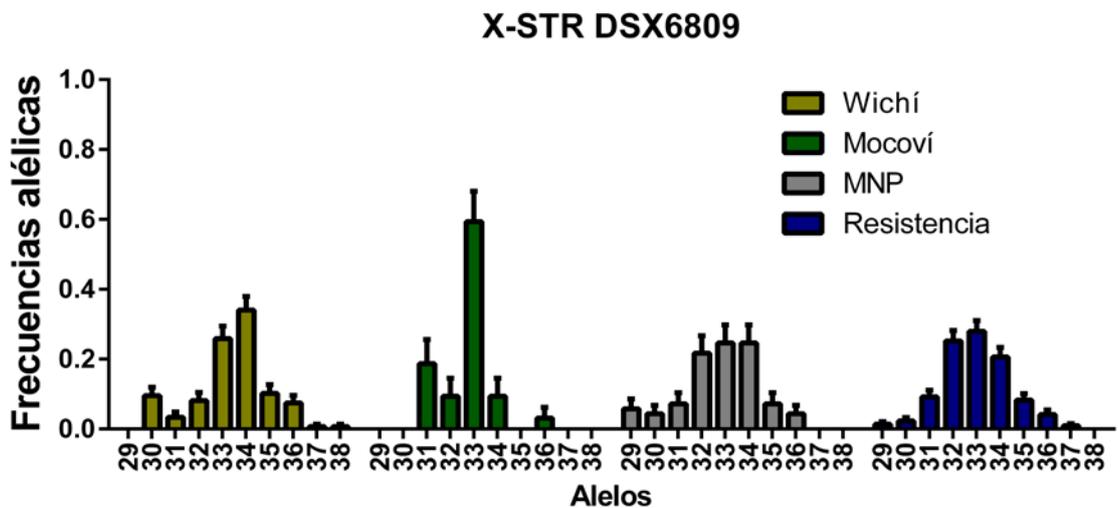
Para el marcador DXS9898 el alelo modal para los Wichí fue 12, al igual que para Resistencia, para Mocoví y MNP fue el alelo 13, y el 12 se observó en una menor frecuencia. La variante 17 sólo se observó en MNP, y 8.3 en Resistencia presentó una frecuencia más alta que en las otras tres poblaciones (Fig. 21).

Figura 21.



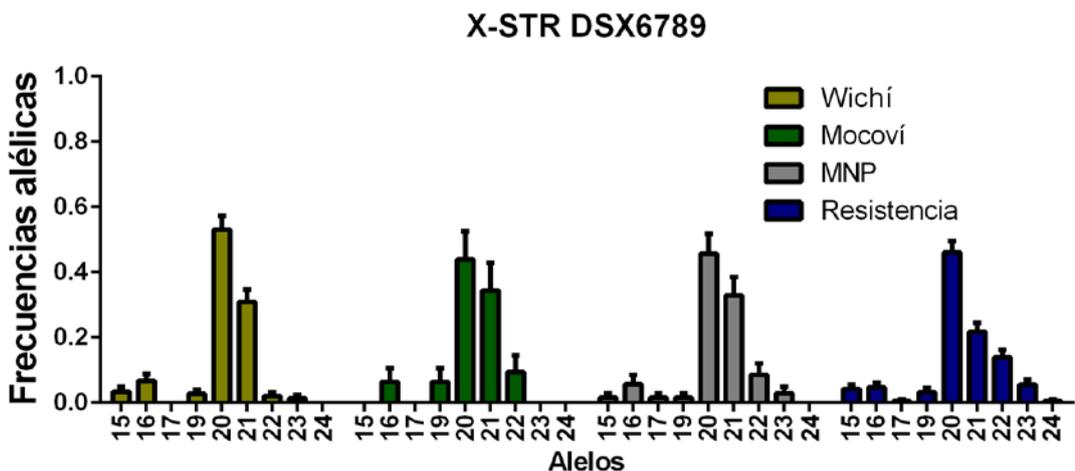
Se observaron diez variantes para el DXS6809, de las cuales 9 se encontraron en Wichí y Resistencia, 5 en Mocoví y 8 en MNP. En las poblaciones criollas se observó una distribución más uniforme de las frecuencias alélicas, sin embargo la población Mocoví presentó un alelo modal, el 33 mucho más frecuente que los demás alelos, en Wichí se observó algo similar, pero las frecuencias más distribuidas entre los alelos 33 y 34 (Fig. 22).

Figura 22.



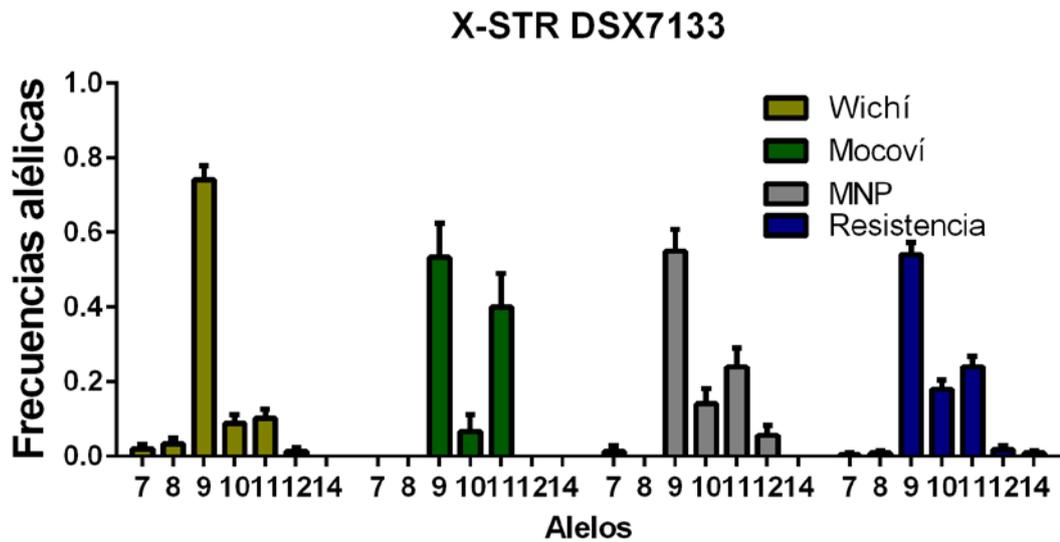
El marcador DXS6789 es el único, en el cual coincidieron las cuatro poblaciones en los alelos modales, y nuevamente en la población Mocoví no se observaron varios alelos (Fig. 23).

Figura 23.



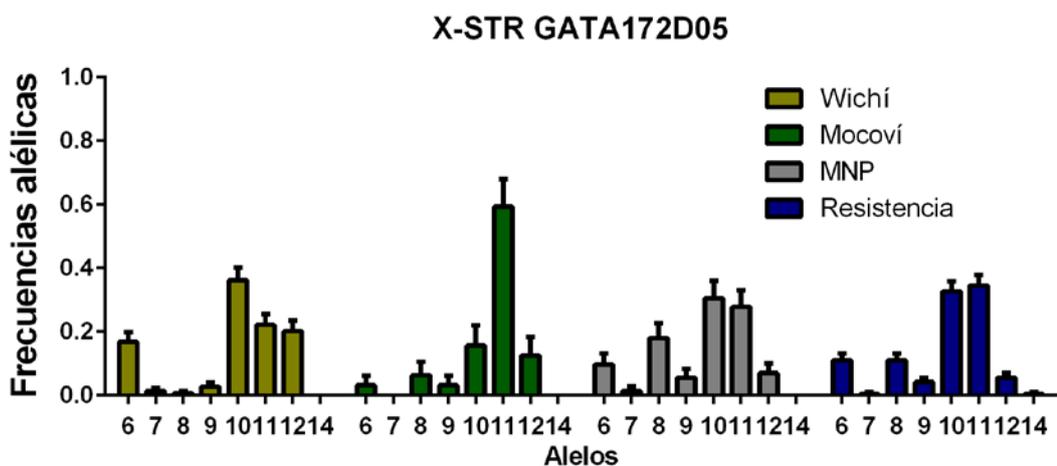
En tres poblaciones Wichí, MNP y Resistencia se observó el alelo modal 9 con una frecuencia elevada en comparación a los demás alelos, y en la población Mocoví se observó dos alelos modales el 9 y 11, presentando sólo tres alelos (Fig. 24).

Figura 24.



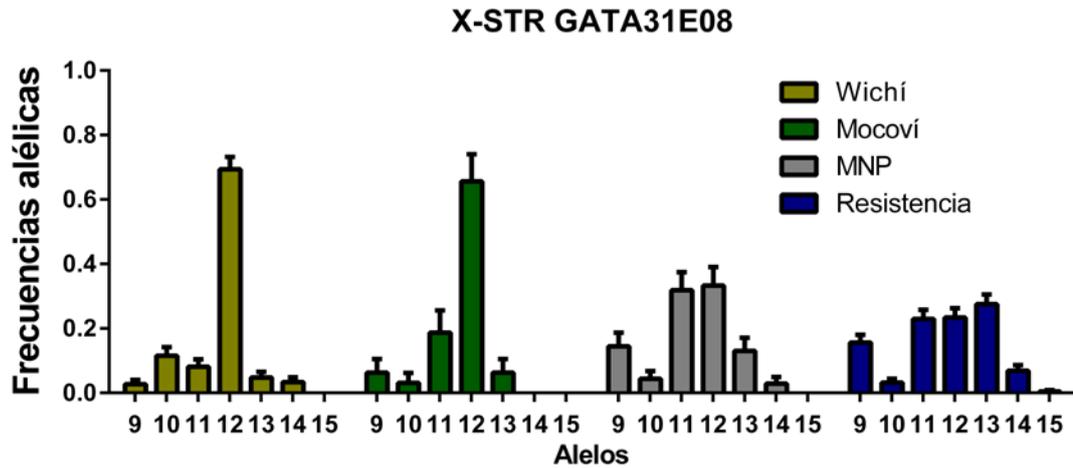
El X-STR GATA172D05 es el que mostró una mayor diferencia en la distribución de las frecuencias alélicas entre las cuatro poblaciones, mostrando la mayor similitud las poblaciones criollas (Figura 25).

Figura 25.



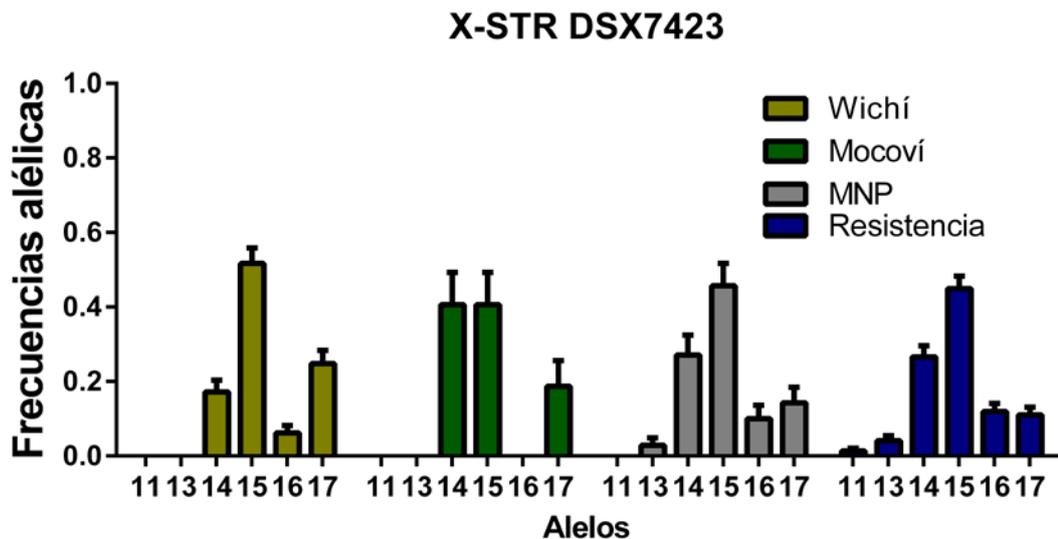
Para GATA31E08 las poblaciones nativas mostraron el mismo alelo modal (12), y las poblaciones criollas compartieron dos alelos modales el 11 y 12, observándose en Resistencia un alelo modal, el 13 que no se observó en MNP (Fig. 26).

Figura 26.



Para DXS7423 la población Mocoví solo mostró tres variantes, observándose dos alelos modales, 14 y 15. Las poblaciones Wichí, MNP y Resistencia compartieron el alelo modal 15 (Figura 27).

Figura 27.



Tablas 48-57. Frecuencias genotípicas de los diez X-STR en las tres poblaciones: Wichí, MNP y Resistencia.

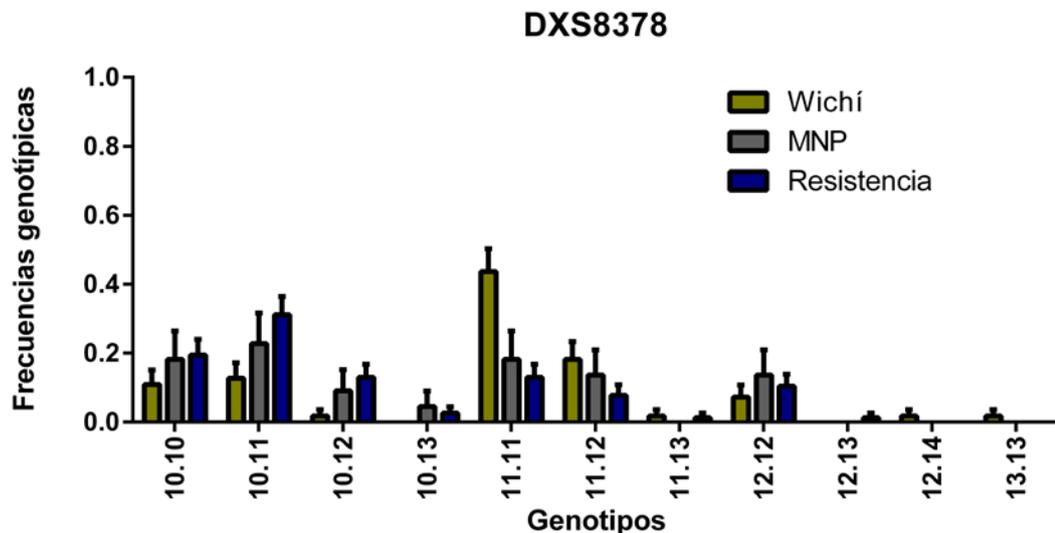
Figura 28-37. Distribución de las frecuencias genotípicas de los diez X-STR en las tres poblaciones: Wichí, MNP y Resistencia.

En la población Wichí (mujeres) se observaron más genotipos que en las poblaciones criollas (mujeres) pero se encontró un genotipo modal, el homocigota 11-11, a diferencia de las poblaciones criollas donde se observó una distribución de las frecuencias en varios genotipos (Tabla 48-Figura 28).

Tabla 48.

Genotipos	Wichí	MNP	Resistencia
10-10	0,1091	0,1818	0,1948
10-11	0,1272	0,2272	0,3116
10-12	0,0181	0,0909	0,1298
10-13	0	0,0454	0,0259
11-11	0,4363	0,1818	0,1298
11-12	0,1818	0,1363	0,0779
11-13	0,0181	0	0,0129
12-12	0,0727	0,1363	0,1038
12-13	0	0	0,0129
12-14	0,0181	0	0
13-13	0,0181	0	0

Figura 28.

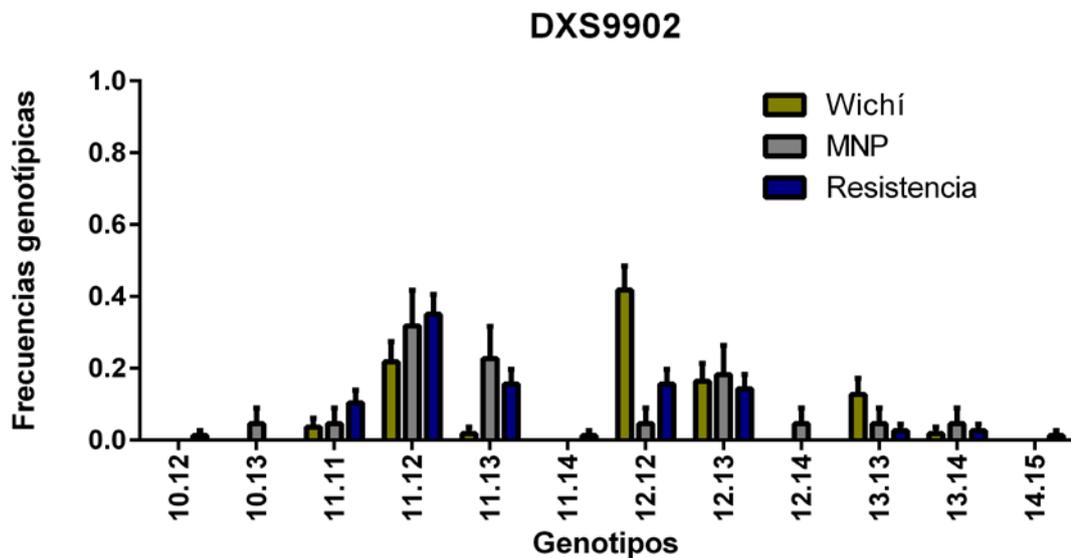


Para DXS9902 sucede algo similar que para DXS8378, la población Wichí presentó un genotipo homocigota (12-12) mucho más frecuente que los demás genotipos, y en las poblaciones de Resistencia y MNP presentaron una distribución genotípica más equitativa, siendo el heterocigota 11-12 el más frecuente (Tabla 49-Figura 29).

Tabla 49.

Genotipos	Wichi	MNP	Resistencia
10-12	0	0	0,0129
10-13	0	0,0454	0
11-11	0,0363	0,0454	0,1038
11-12	0,2181	0,3181	0,3506
11-13	0,0181	0,2272	0,1558
11-14	0	0	0,0129
12-12	0,4181	0,0454	0,1558
12-13	0,1636	0,1818	0,1428
12-14	0	0,0454	0
13-13	0,1272	0,0454	0,0259
13-14	0,0181	0,0454	0,0259
14-15	0	0	0,0129

Figura 29.



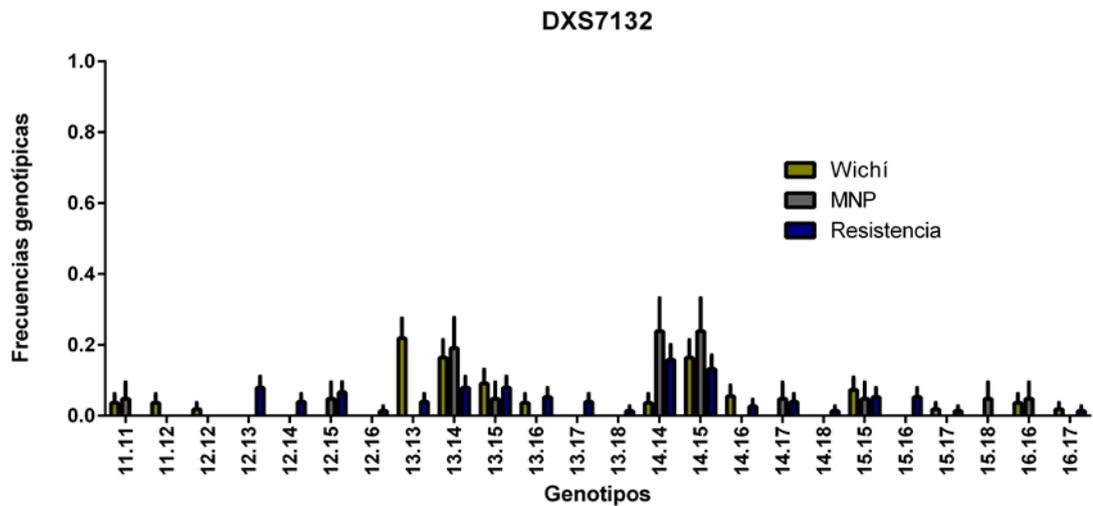
Los marcadores DXS8378 y DXS9902 fueron los X-STR menos polimórficos en las cuatro poblaciones.

Para el X-STR DXS7132 existen varios genotipos que se observaron sólo en una de las poblaciones y no en las restantes. Sin embargo los genotipos más frecuentes son compartidos por las tres poblaciones (Tabla 50-Figura 30).

Tabla 50.

Genotipos	Wichí	MNP	Resistencia
11-11	0,0363	0,0476	0
11-12	0,0363	0	0
12-12	0,0181	0	0
12-13	0	0	0,0789
12-14	0	0	0,0394
12-15	0	0,0476	0,0657
12-16	0	0	0,0131
13-13	0,2181	0	0,0394
13-14	0,1636	0,1904	0,0789
13-15	0,0909	0,0476	0,0789
13-16	0,0363	0	0,0526
13-17	0	0	0,0394
13-18	0	0	0,0131
14-14	0,0363	0,2380	0,1578
14-15	0,1636	0,2380	0,1315
14-16	0,0545	0	0,0263
14-17	0	0,0476	0,0394
14-18	0	0	0,0131
15-15	0,0727	0,0476	0,0526
15-16	0	0	0,0526
15-17	0,0181	0	0,0131
15-18	0	0,0476	0
16-16	0,0363	0,0476	0
16-17	0,0181	0	0,0131

Figura 30.

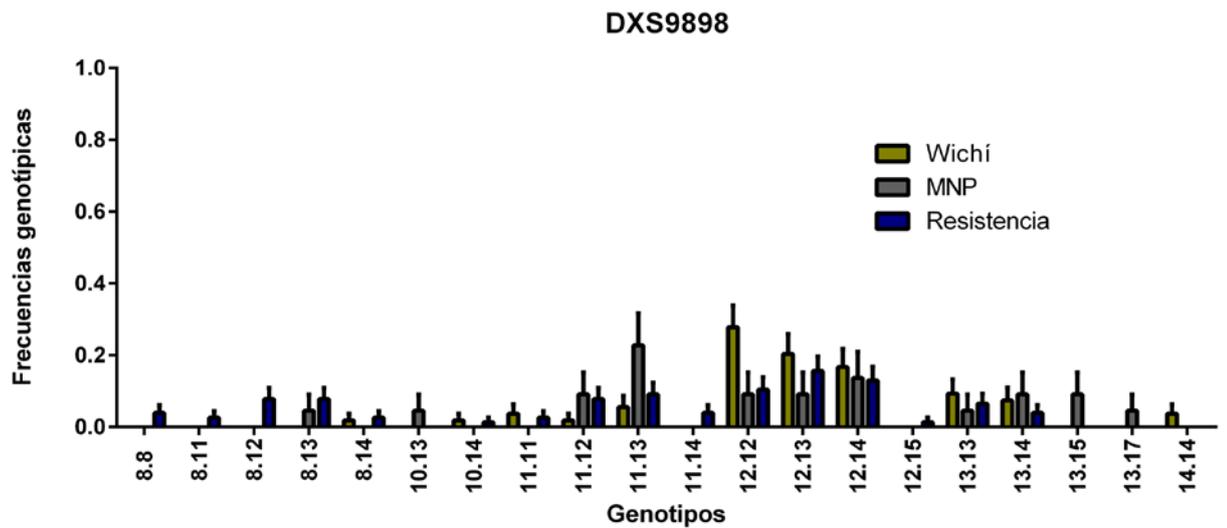


Para DXS9898 se observó algo similar que para DXS7132, se observaron varios genotipos, principalmente en las poblaciones criollas, compartiendo las poblaciones de Wichí y Resistencia las frecuencias de los genotipos más frecuentes (Tabla 51-Figura 31).

Tabla 51.

Genotipos	Wichi	MNP	Resistencia
8-8	0	0	0,0389
8-11	0	0	0,0259
8-12	0,0185	0	0,0779
8-13	0	0,0454	0,0779
8-14	0	0	0,0259
10-13	0	0,0454	0
10-14	0,0185	0	0,0129
11-11	0,0370	0	0,0259
11-12	0,0185	0,0909	0,0779
11-13	0,0555	0,2272	0,0909
11-14	0	0	0,0389
12-12	0,2777	0,0909	0,1038
12-13	0,2037	0,0909	0,1558
12-14	0,1666	0,1363	0,1298
12-15	0	0	0,0129
13-13	0,0925	0,0454	0,0649
13-14	0,0740	0,0909	0,0389
13-15	0	0,0909	0
13-17	0	0,0454	0
14-14	0,0370	0	0

Figura 31.

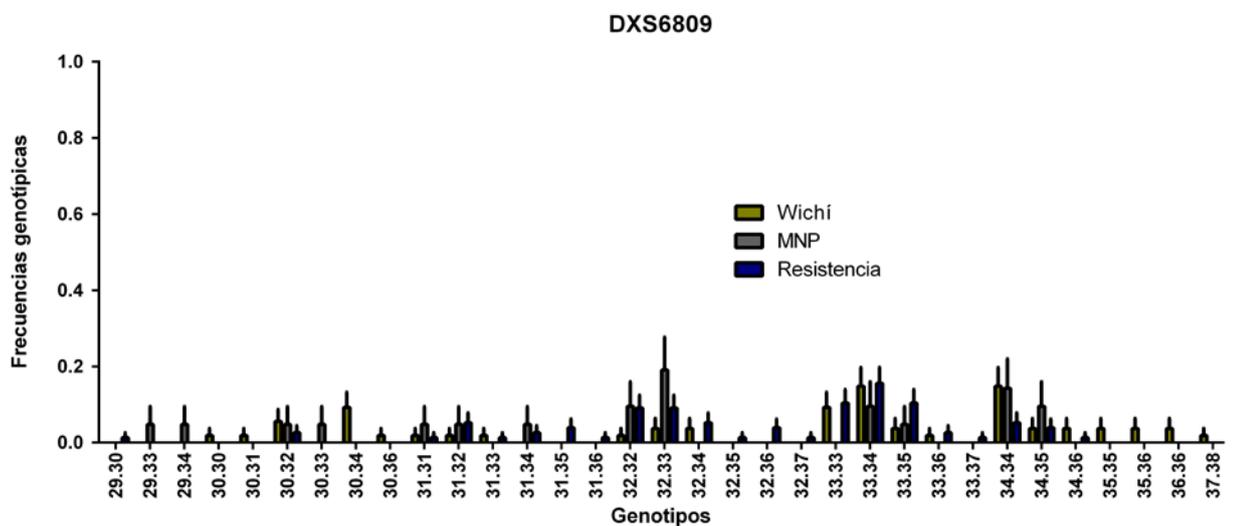


En el marcador DXS6809 se observó la mayor cantidad de genotipos, sin embargo la distribución de las frecuencias se acumuló en unos pocos (Tabla 52-Figura 32).

Tabla 52.

Genotipos	Wichí	MNP	Resistencia
29-30	0	0	0,0129
29-33	0	0,0476	0
29-34	0	0,0476	0
30-30	0,0185	0	0
30-31	0,0185	0	0
30-32	0,0555	0,0476	0,0259
30-33	0	0,0476	0
30-34	0,0925	0	0
30-36	0,0185	0	0
31-31	0,0185	0,0476	0,0129
31-32	0,0185	0,0476	0,0519
31-33	0,0185	0	0,0129
31-34	0	0,0476	0,0259
31-35	0	0	0,0389
31-36	0	0	0,0129
32-32	0,0185	0,0952	0,0909
32-33	0,0370	0,1904	0,0909
32-34	0,0370	0	0,0519
32-35	0	0	0,0129
32-36	0	0	0,0389
32-37	0	0	0,0129
33-33	0,0925	0	0,1038
33-34	0,1481	0,0952	0,1558
33-35	0,0370	0,0476	0,1038
33-36	0,0185	0	0,0259
33-37	0	0	0,0129
34-34	0,1481	0,1428	0,0519
34-35	0,0370	0,0952	0,0389
34-36	0,0370	0	0,0129
35-35	0,0370	0	0
35-36	0,0370	0	0
36-36	0,0370	0	0
37-38	0,0185	0	0

Figura 32.

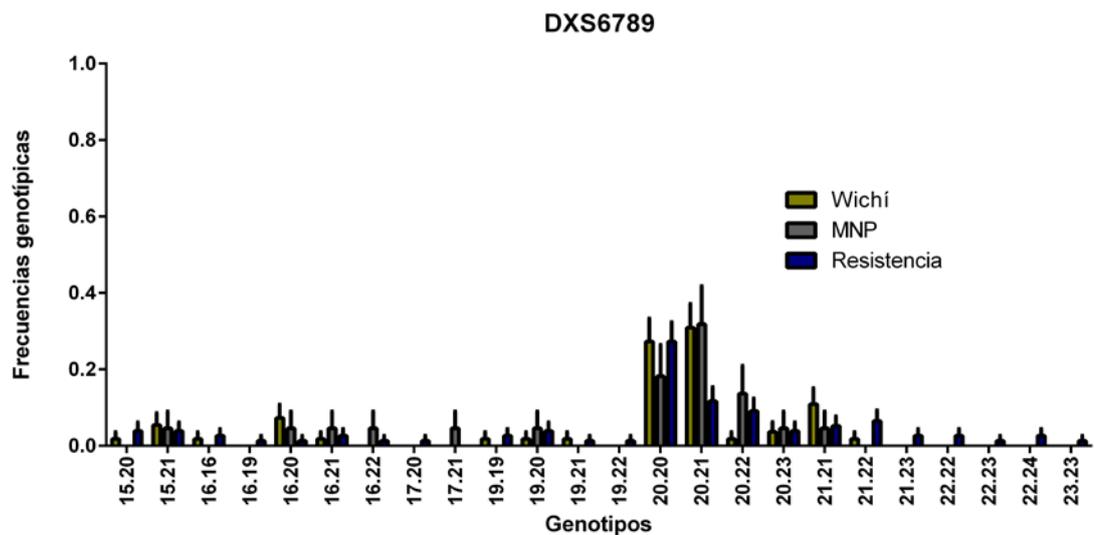


Para el X-STR DXS6789 se observó algo similar que para DXS6809, las frecuencias genotípicas se concentraron en cuatro genotipos 20-20, 20-21, 20-22 y 21-21, mostrando una distribución de las frecuencias similar en las tres poblaciones (Tabla 53-Figura 33).

Tabla 53.

Genotipos	Wichí	MNP	Resistencia
15-20	0,0181	0	0,0389
15-21	0,0545	0,0454	0,0389
16-16	0,0181	0	0,0259
16-19	0	0	0,0129
16-20	0,0727	0,0454	0,0129
16-21	0,0181	0,0454	0,0259
16-22	0	0,0454	0,0129
17-20	0	0	0,0129
17-21	0	0,0454	0
19-19	0,0181	0	0
19-20	0,0181	0,0454	0,0259
19-21	0,0181	0	0,0389
19-22	0	0	0,0129
20-20	0,2727	0,1818	0,2727
20-21	0,3090	0,3181	0,1168
20-22	0,0181	0,1363	0,0909
20-23	0,0363	0,0454	0,0389
21-21	0,1090	0,0454	0,0519
21-22	0,0181	0	0,0649
21-23	0	0	0,0259
22-22	0	0	0,0259
22-23	0	0	0,0129
22-24	0	0	0,0259
23-23	0	0	0,0129

Figura 33.

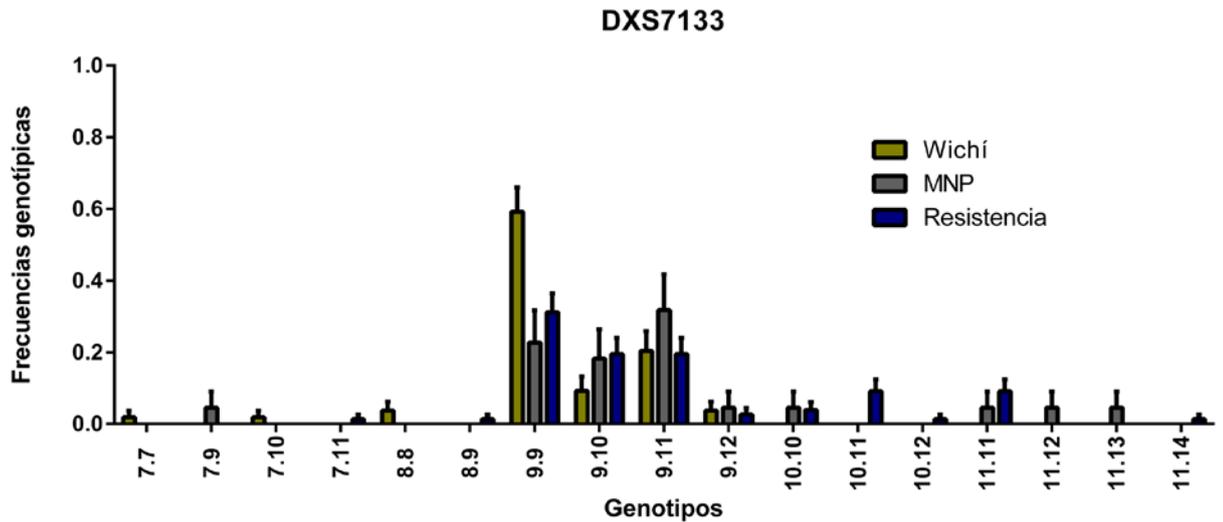


Para el marcador DXS7133 se observaron varios genotipos, pero con frecuencia muy baja, la distribución de las frecuencias genotípicas se concentró en tres genotipos, siendo en Wichí el más frecuente el homocigota 9-9, al igual que en Resistencia, pero esta población mostró una distribución más balanceada entre los genotipos 9-9, 9-10 y 9-11. Lo mismo se observó para la población MNP (Tabla 54-Figura 34).

Tabla 54.

Genotipos	Wichí	MNP	Resistencia
7-7	0,0185	0	0
7-9	0	0,0454	0
7-10	0,0185	0	0
7-11	0	0	0,0129
8-8	0,0370	0	0
8-9	0	0	0,0129
9-9	0,5925	0,2272	0,3116
9-10	0,0925	0,1818	0,1948
9-11	0,2037	0,3181	0,1948
9-12	0,0370	0,0454	0,0259
10-10	0	0,0454	0,0389
10-11	0	0	0,0909
10-12	0	0	0,0129
11-11	0	0,0454	0,0909
11-12	0	0,0454	0
11-13	0	0,0454	0
11-14	0	0	0,0129

Figura 34.

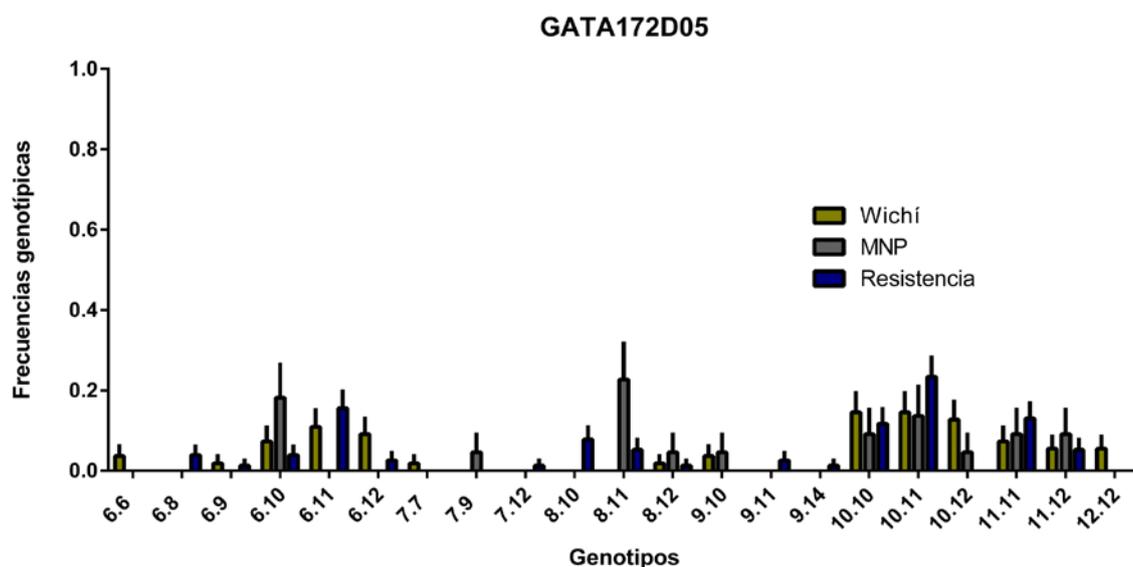


La distribución de las frecuencias genotípicas en GATA172E05 fue más equitativa en las tres poblaciones. Sin embargo los genotipos más frecuentes fueron diferentes entre las mismas (Tabla 55-Figura 35).

Tabla 55.

Genotipos	Wichí	MNP	Resistencia
6-6	0,0363	0	0
6-8	0	0	0,0389
6-9	0,0181	0	0,0129
6-10	0,0727	0,1818	0,0389
6-11	0,1090	0	0,1558
6-12	0,0909	0	0,0259
7-7	0,0181	0	0
7-9	0	0,0454	0
7-12	0	0	0,0129
8-10	0	0	0,0779
8-11	0	0,2272	0,0519
8-12	0,0181	0,0454	0,0129
9-10	0,0363	0,0454	0
9-11	0	0	0,0259
9-14	0	0	0,0129
10-10	0,1454	0,0909	0,1168
10-11	0,1454	0,1363	0,2337
10-12	0,1272	0,0454	0
11-11	0,0727	0,0909	0,1298
11-12	0,0545	0,0909	0,0519
12-12	0,0545	0	0

Figura 35.

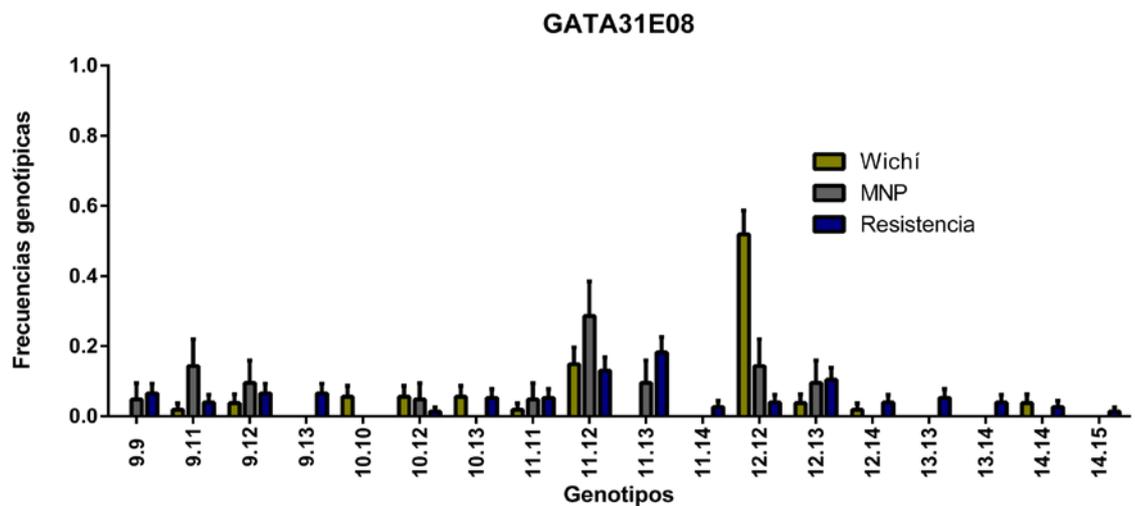


En la población Wichí se observaron varios genotipos para GATA31E08, sin embargo la distribución de la frecuencia se concentró en el homocigota 12-12, las poblaciones criollas presentaron una distribución más balanceada, pero no compartieron genotipos más frecuentes (Tabla 56-Figura 36).

Tabla 56.

Genotipos	Wichí	MNP	Resistencia
9-9	0	0,0476	0,0649
9-11	0,0185	0,1428	0,0389
9-12	0,0370	0,0952	0,0649
9-13	0	0	0,0649
10-10	0,0555	0	0
10-12	0,0555	0,0476	0,0129
10-13	0,0555	0	0,0519
11-11	0,0185	0,0476	0,0519
11-12	0,1481	0,2857	0,1298
11-13	0	0,0952	0,1818
11-14	0	0	0,0259
12-12	0,5185	0,1428	0,0389
12-13	0,0370	0,0952	0,1038
12-14	0,0185	0	0,0389
13-13	0	0	0,0519
13-14	0	0	0,0389
14-14	0,0370	0	0,0259
14-15	0	0	0,0129

Figura 36.

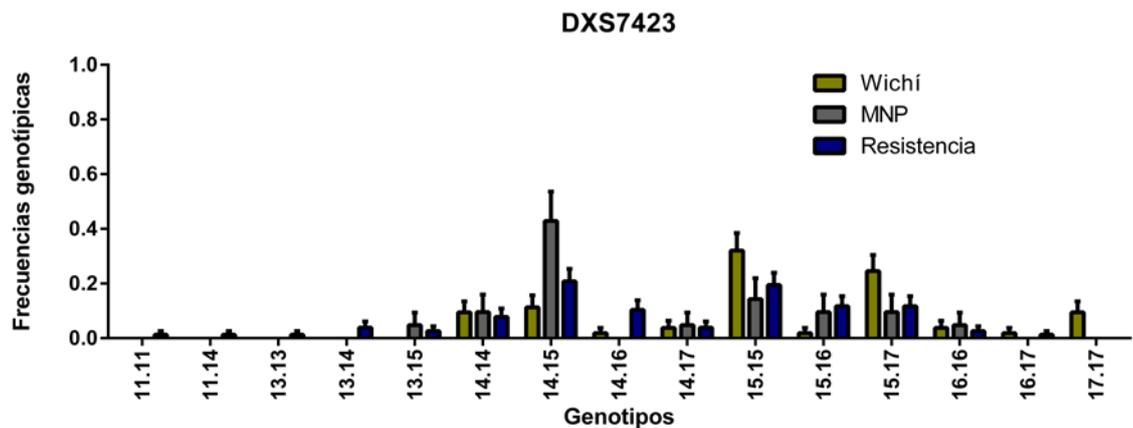


En la población de Resistencia se observaron genotipos para DXS7423 que no se encontraron para Wichí y MNP. Y la población Wichí no compartió la distribución de genotipos más frecuentes que las poblaciones criollas (Tabla 57-Figura 37).

Tabla 57.

Genotipos	Wichí	MNP	Resistencia
11-11	0	0,0129	0,0129
11-14	0	0,0129	0,0129
13-13	0	0,0129	0,0129
13-14	0	0,0389	0,0389
13-15	0	0,0259	0,0259
14-14	0,0943	0,0779	0,0779
14-15	0,1132	0,2077	0,2077
14-16	0,0188	0,1038	0,1038
14-17	0,0377	0,0389	0,0389
15-15	0,3208	0,1948	0,1948
15-16	0,0188	0,1168	0,1168
15-17	0,2452	0,1168	0,1168
16-16	0,0377	0,0259	0,0259
16-17	0,0188	0,0129	0,0129
17-17	0,0943	0	0

Figura 37.



La población Wichí presentó valores de F_{ST} significativos para la mayoría de los X-STR con las poblaciones criollas, principalmente con la población de Resistencia, en donde los diez X-STR fueron significativamente diferentes entre ambas poblaciones (Tabla 58).

Sin embargo la población Mocoví presentó valores significativos sólo para cinco X-STR con las poblaciones criollas. Las poblaciones criollas comparadas entre sí solamente presentaron valores significativos en dos X-STR.

Con respecto a los valores de AMOVA, se realizó el cálculo considerando el porcentaje de variación en el análisis de todas las poblaciones analizadas en este trabajo.

Tabla 58. Índice de Wright FST y análisis de varianza molecular entre poblaciones (AMOVA): Wichí, Mocoví, MNP y Resistencia. * = valores significativos (+: p<0,05).

FST	DXS8378	DXS9902	DXS7132	DXS9898	DXS6809	DXS6789	DXS7133	GATA172E05	GATA31D08	DXS7423
Wichí-Mocoví	0,0693 *	0,0197	-0,0049	0,06307 *	0,1127 *	-0,0041	0,1194 *	0,1086 *	0,0028	0,0376
Wichí-MNP	0,0991 *	0,0969 *	0,0291 *	0,08131 *	0,0091	0,0013	0,0622 *	0,0296 *	0,1457 *	0,0079
Wichí-Resistencia	0,1265 *	0,0788 *	0,0130 *	0,02898 *	0,0269 *	0,0158 *	0,0586 *	0,0276 *	0,1727 *	0,0204 *
Mocoví-MNP	-0,0122	0,1720 *	0,0011	0,01735	0,1015 *	-0,0195	0,0043	0,0749 *	0,0701 *	0,0049
Mocoví-Resistencia	-0,0049	0,1340 *	-0,0087	0,04368 *	0,0746 *	-0,0008	0,0129	0,0526 *	0,1134 *	0,0136
MNP-Resistencia	-0,0059	-0,0021	0,0096	0,02984 *	-0,0038	0,0021	-0,0069	-0,0012	0,0137 *	-0,0078
AMOVA	7,38 % *	6,94 % *	1,09 %*	3,98% *	3,08 % *	0,65 %	3,98 % *	3,12 % *	11,76 % *	1,23 %*

A diferencia del índice FST, los valores RST dieron menos valores significativos entre las cuatro poblaciones (Tabla 59).

Tabla 59. Índice RST y análisis de varianza molecular entre poblaciones (AMOVA) entre poblaciones: Wichí, Mocoví, MNP y Resistencia. * = valores significativos (+: p<0,05).

RST	DXS8378	DXS9902	DXS7132	DXS9898	DXS6809	DXS6789	DXS7133	GATA172E05	GATA31D08	DXS7423
Wichí-Mocoví	0,0874*	0,0180	0,0028	-0,01389	0,0672*	0,0001	0,2018*	0,0465	-0,0143	0,0565
Wichí-MNP	0,0202	0,0283	0,0050	-0,0102	0,0456 *	-0,0020	0,1581*	0,0040	0,0503*	0,0394*
Wichí-Resistencia	0,0575 *	0,0371 *	0,0165 *	0,0747 *	0,0289*	0,0130	0,1199*	-0,0040	-0,0044	0,0754*
Mocoví-MNP	-0,0073	-0,0153	-0,0241	-0,0185	-0,0111	-0,0150	-0,0232	0,1555*	0,0088	-0,0195
Mocoví-Resistencia	-0,0159	-0,0130	-0,0183	0,0761*	-0,0018	-0,0170	-0,0111	0,0957*	-0,0181	-0,0157
MNP-Resistencia	-0,0028	-0,0075	-0,0087	0,0531 *	-0,0010	-0,0082	-0,0063	-0,0025	0,0099	0,0007
AMOVA	3,05 % *	1,45 % *	0,31 %	5,33 % *	2,41 % *	0,14 %	8,23 % *	1,53 % *	0,37 %	4,18 % *

Posteriormente comparamos las poblaciones Wichí, Mocoví, MNP y Resistencia con otras poblaciones de la bibliografía (Gusmão *et al.*, 2009) incluyendo Misiones y Buenos Aires, y la población de Corrientes tipificada en el laboratorio de Diversidad Genética para los diez X-STR en conjunto, se observaron valores significativos para todos los valores de FST y RST, y el valor de AMOVA cuando el cálculo se realizó con RST mostró un valor elevado (Tabla 60).

Tabla 60. Índice de Wright FST y RST, análisis de varianza molecular (AMOVA) entre poblaciones: Wichí, Mocoví, MNP, Resistencia y Misiones, Buenos Aires y Corrientes. * = valores significativos (+: $p < 0,05$).

	FST	RST
Wichí-Misiones	0,1006 *	0,1582 *
Wichí-Corrientes	0,0539 *	0,0344 *
Wichí-Buenos Aires	0,0748 *	0,1267 *
Mocoví-Misiones	0,0849 *	0,1408 *
Mocoví-Corrientes	0,0599 *	0,0607 *
Mocoví-Buenos Aires	0,0731 *	0,1321 *
MNP-Misiones	0,0354 *	0,1394 *
MNP-Corrientes	0,0084 *	0,0213 *
MNP-Buenos Aires	0,0289 *	0,1306 *
Resistencia-Misiones	0,0321 *	0,1188 *
Resistencia-Corrientes	0,0050 *	0,0094 *
Resistencia-Buenos Aires	0,0229 *	0,1025 *
AMOVA	3,9 *	9,24 *

En las tablas 61 y 62 se muestran los valores de FST y RST para la comparación entre Wichí, MNP y Resistencia para los X-STR tipificados por el grupo del laboratorio del Dr. Sidney Santos. Se encontraron diferencias significativas en todas las comparaciones.

Tabla 61. Índice de FST y análisis de varianza molecular (AMOVA) entre poblaciones: Wichí, MNP y Resistencia. * = valores significativos (+: $p < 0,05$).

FST	Wichí	MNP	Resistencia	DG
Wichí	-	-	-	0,5697 +/- 0,3352
MNP	0,0366 *	-	-	0,6982 +/- 0,3988
Resistencia	0,0676 *	0,0290 *	-	0,7576 +/- 0,4262
AMOVA	4,64 *			

Tabla 62. Índice de RST y análisis de varianza molecular (AMOVA) entre poblaciones: Wichí, MNP y Resistencia. * = valores significativos (+: $p < 0,05$).

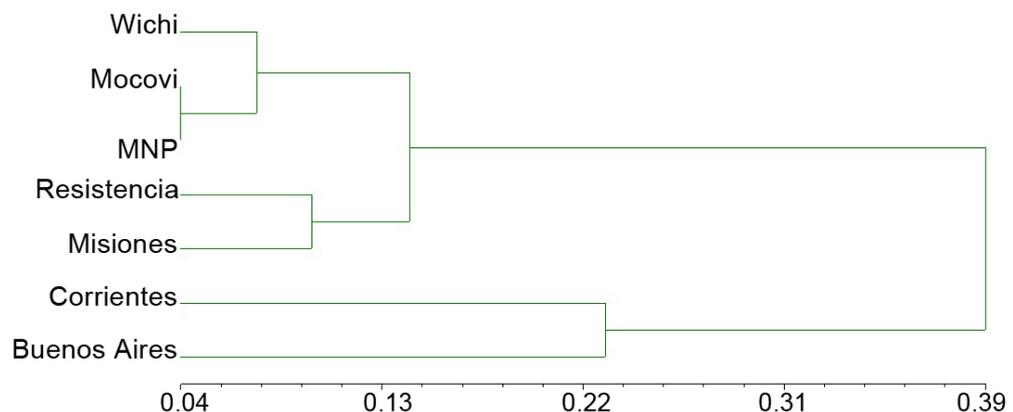
RST	Wichí	MNP	Resistencia
Wichí	-	-	-
MNP	0,04074 *	-	-
Resistencia	0,10116 *	0,04673 *	-
AMOVA	6,7 *		

Para la población de Resistencia, se realizó la comparación de los diez X-STR separando las muestras en dos grupos: Hospital Público (Hospital Odontológico) y Clínica Privada (Sanatorio Frangioli, Sanatorio Güemes), no mostrando diferencias significativas en los valores de FST y RST.

Las distancias genéticas se representaron mediante dendrogramas y matrices de distancia MDS (*multi dimensional scaling*) utilizando datos bibliográficos de las poblaciones Misiones y Buenos Aires, a los cuales se sumaron los datos de una población tipificada en el laboratorio de Diversidad Genética (población de Corrientes). De esta manera se cubrieron las condiciones para el programa NTSyS, que requiere al menos cinco poblaciones en el cálculo de distancias.

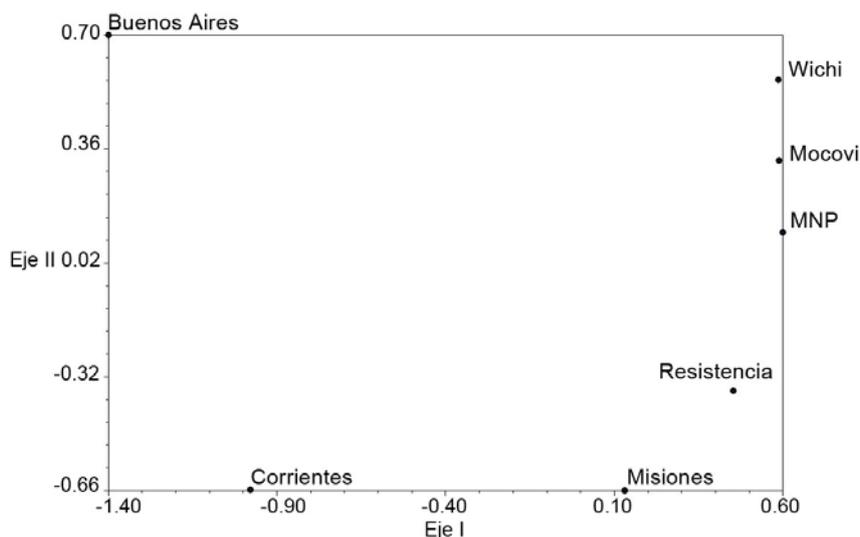
Adicionalmente, se construyó un dendrograma, en el cual la longitud de cada rama es proporcional a la distancia genética entre dos poblaciones. Este dendrograma muestra una agrupación con la menor distancia entre Mocoví-MNP, a este grupo se une la población Wichí a mayor distancia (Fig. 38).

Figura 38. Dendrograma obtenido a partir de las distancias genéticas de RST entre Wichí, Mocoví, MNP, Resistencia, y poblaciones de la bibliografía (Misiones, Corrientes, Buenos Aires) para los X-STR.



En el mapa génico bidimensional obtenido a partir de las distancias RST, las poblaciones nativas se agruparon cercanamente, junto con la población de MNP, mientras que la población de Resistencia se ubicó más cercana a la misionera. No se observó un agrupamiento definido (Fig. 39).

Figura 39. Escalamiento bidimensional de la matriz de distancia de (RST) para los X-STR (valor de STRESS= 0.00000).



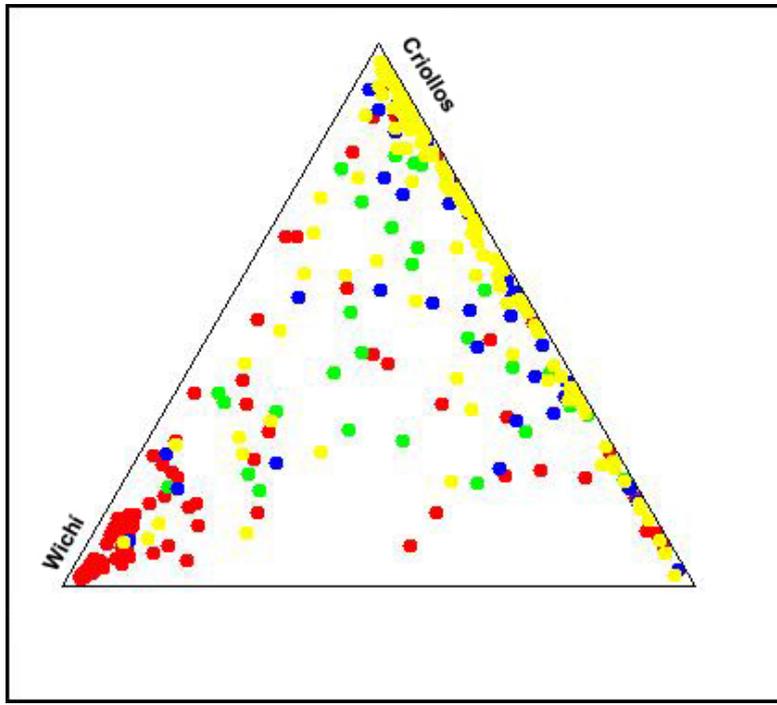
5.4.1.2 ESTRUCTURA POBLACIONAL

Al analizar las poblaciones con el programa Structure 2.3.4 obtuvimos los siguientes gráficos para el modelo sin mezcla (non admixture), con los individuos distribuidos según su población (Fig. 40) y según su composición genética (Fig. 41).

Los gráficos se obtuvieron para k de 2 a 4 para los modelos con y sin mezcla (Admixture model y Non admixture model). Se presentan los resultados obtenidos para el modelo Admixture $K=4$, observándose la misma distribución de las poblaciones para ambos modelos. A partir de ellos se puede suponer que ambas poblaciones criollas combinan dos acervos genéticos de composición similar, lo cual podría atribuirse tanto a la cercanía geográfica entre ellas y el consecuente intercambio continuo, como también a las corrientes migratorias similares que ocurrieron y ocurren en estas localidades. Por otra parte, la población Wichí formó un agrupamiento más cerrado y alejado principalmente de las poblaciones criollas, a diferencia de la población Mocoví, la cual tiene una distribución dispersa en el plot.

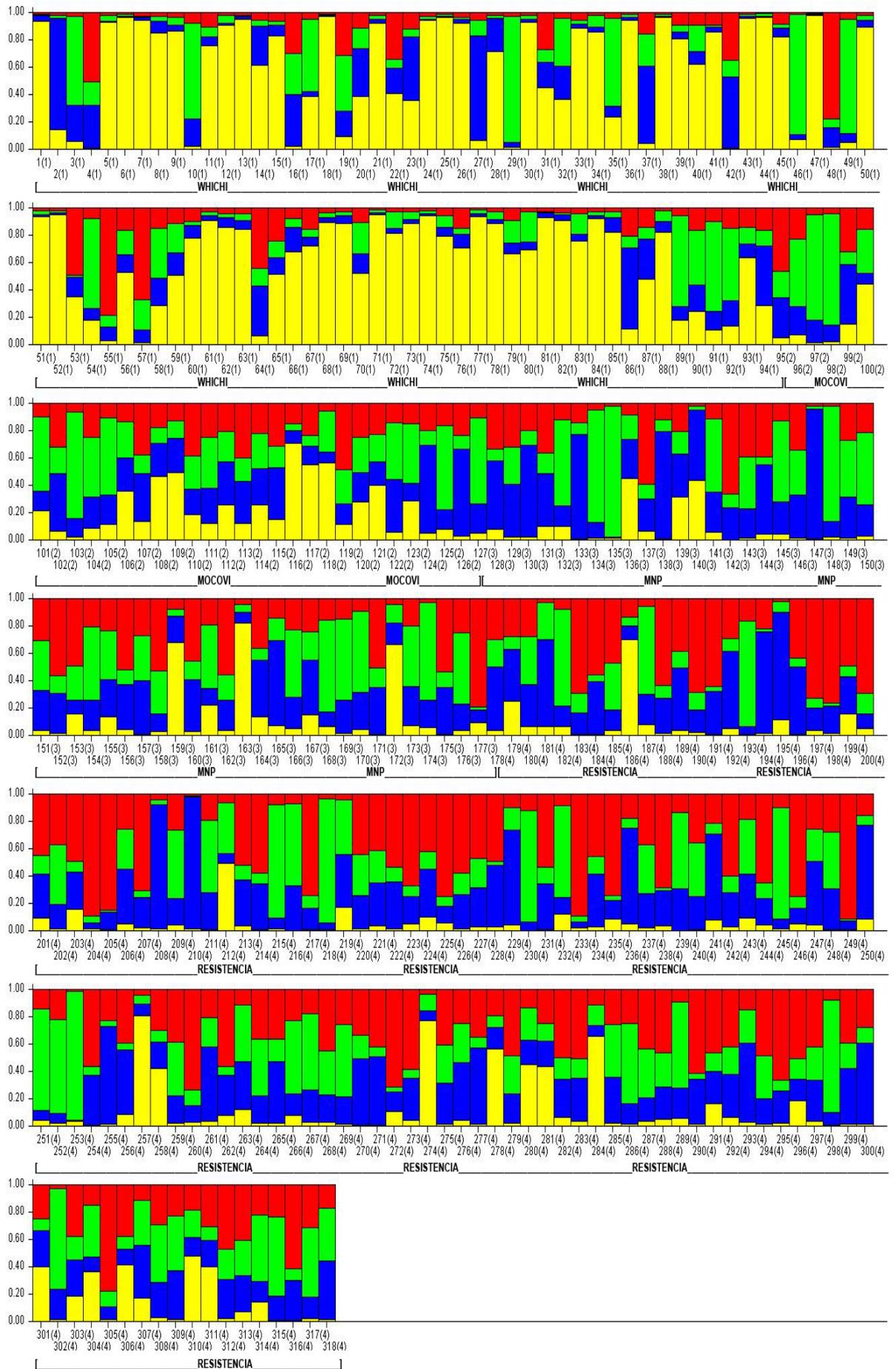
Cabe aclarar que el programa Structure con el cual se realizó este análisis sólo admite un grado leve de desequilibrio de ligamiento entre los marcadores analizados (Pritchard *et al.*, 2010). Por lo tanto, estos resultados pueden estar parcialmente sesgados por las limitaciones del software.

Figura 40. Estimación de estructura poblacional mediante el análisis bayesiano (Wichí: rojo, Mocoví: verde, Resistencia: amarillo, MNP: azul).



En la Figura 41 se muestra la posible ancestría de cada individuo de las cuatro poblaciones para $K=4$, en donde cada barra representa un individuo, fragmentado en cuatro posibles ancestrías. Se puede observar que sólo los Wichí presentan predominancia de una ancestría.

Figura 41. Gráfico de coeficientes de ancestría individual (1:Wichí, 2: Mocoví, 3: MNP, 4: Resistencia).

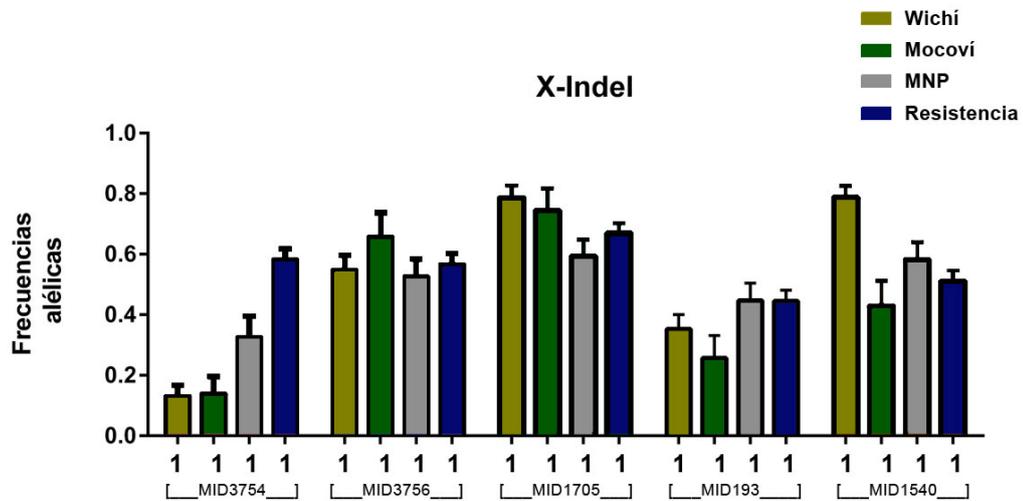


5.4.2 X-INDEL

5.4.2.1 COMPARACIÓN DE LA VARIACIÓN ENTRE LAS POBLACIONES

Al analizar las frecuencias alélicas del inserto para los cinco X-Indel, los marcadores MID3756, MID1705 y MID193 mostraron una distribución de las frecuencias alélicas similar en las cuatro poblaciones. Por otra parte, el indel MID3754 mostró diferencias entre nativos y criollos y en MID1540 se observó diferencia entre Wichí y las restantes poblaciones (Fig. 42).

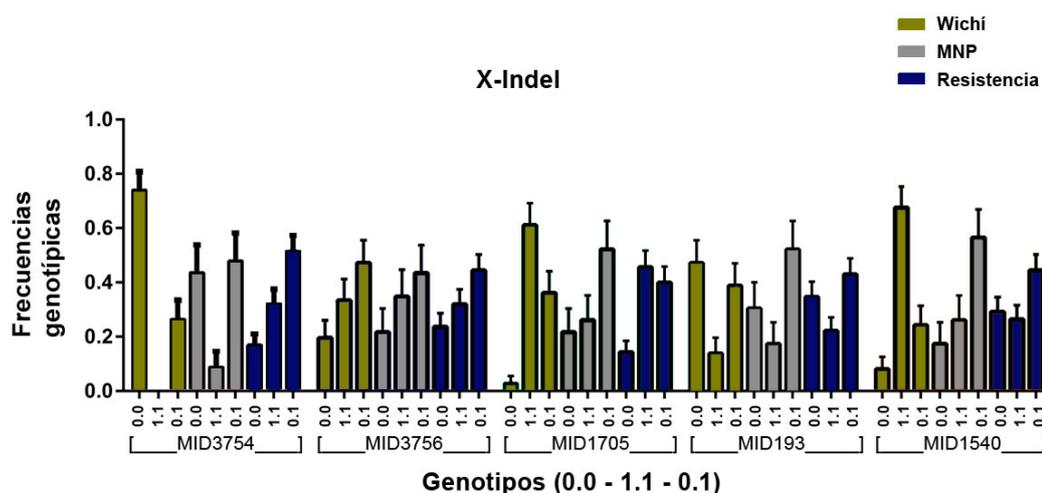
Figura 42. Frecuencias alélicas del inserto (1) de los X-Indel.



En Wichí no se observó el genotipo homocigota (1-1 inserto-inserto) de MID3754, y se observaron diferencias en las distribuciones genotípicas entre las poblaciones para este marcador. En los marcadores MID3756 y MID193 se observó una distribución similar de las frecuencias genotípicas entre las tres poblaciones.

La población Wichí se diferenció con las criollas en la distribución genotípica de MID1705 y MID1540 (Fig. 43).

Figura 43. Distribución de las frecuencias genotípicas de los X-Indel.



Los valores de FST fueron significativos principalmente entre la población Wichí y las dos poblaciones criollas; con la población Mocoví solamente se observaron dos valores significativos con las poblaciones criollas en los marcadores MID1540 y MID193 entre Mocoví-Resistencia. El marcador MID3756 no presentó diferencias estadísticamente significativas entre las poblaciones, con un valor de AMOVA de cero (dado que los valores negativos deben considerarse como cero). El marcador MID3754 fue el que más valores de FST estadísticamente significativos presentó y un porcentaje de variación interpoblacional elevado (Tabla 63).

Tabla 63. Índice de Wright FST y análisis de varianza molecular (AMOVA) entre las poblaciones: Wichí, Mocoví, MNP y Resistencia * = valores significativos (+: $p < 0,05$).

	MID1540	MID1705	MID3754	MID3756	MID193
Wichí-Mocoví	0,21256 *	-0,0096	-0,0182	0,0035	0,0041
Wichí-MNP	0,0862 *	0,0834 *	0,0596 *	-0,0106	0,0026
Wichí-Resistencia	0,1466 *	0,0313 *	0,3419 *	-0,0067	0,0058
Mocoví-MNP	0,0096	0,0244	0,0318	0,0120	0,0497
Mocoví-Resistencia	-0,0126	-0,0059	0,2954 *	-0,0017	0,0502 *
MNP-Resistencia	0,0022	0,0032	0,1612 *	-0,0059	-0,0093 *
AMOVA	8,06 % *	2,39 % *	24,37 % *	-0,4510	0,9711

Al comparar las poblaciones Wichí, Mocoví, MNP y Resistencia con datos de las poblaciones de Misiones (comunicación personal Paula Di Santo) y Corrientes (comunicación personal Nicolás Briozzo) para los cinco X-Indel en conjunto, solamente

se observaron valores no significativos entre los criollos de Resistencia y Misiones, y Resistencia y Corrientes (Tabla 64).

Tabla 64. Índice de Wright FST y análisis de varianza molecular (AMOVA) entre las poblaciones: Wichí, Mocoví, MNP, Resistencia, Misiones y Corrientes. * = valores significativos (+: $p < 0,05$).

	FST
Wichí-Misiones	0,1529 *
Wichí-Corrientes	0,1572 *
Mocoví-Misiones	0,1489 *
Mocoví-Corrientes	0,1797 *
MNP-Misiones	0,0602 *
MNP-Corrientes	0,0551 *
Resistencia-Misiones	-0,0025
Resistencia-Corrientes	0,0063
AMOVA	5,31 *

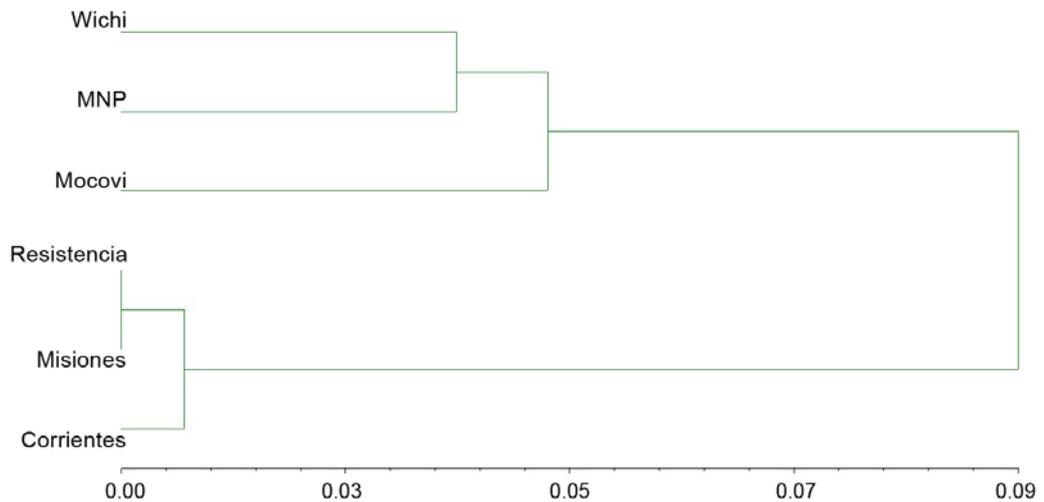
Cuando analizamos las tres poblaciones Wichí, MNP y Resistencia para los X-Indel tipificados por el laboratorio de Dr. Sydney Santos, todos los valores de FST mostraron diferencias significativas (Tabla 65).

Tabla 65. Índice de Wright FST y análisis de varianza molecular (AMOVA) entre las poblaciones: Wichí, Mocoví, MNP y Resistencia. * = valores significativos (+: $p < 0,05$).

FST	Wichí	MNP	Resistencia	DG
Wichí	-	-	-	0,2207 +/- 0,1153
MNP	0,05878 *	-	-	0,2925 +/- 0,1501
Resistencia	0,11295 *	0,01388 *	-	0,3171 +/- 0,1613
AMOVA	6,7 *			

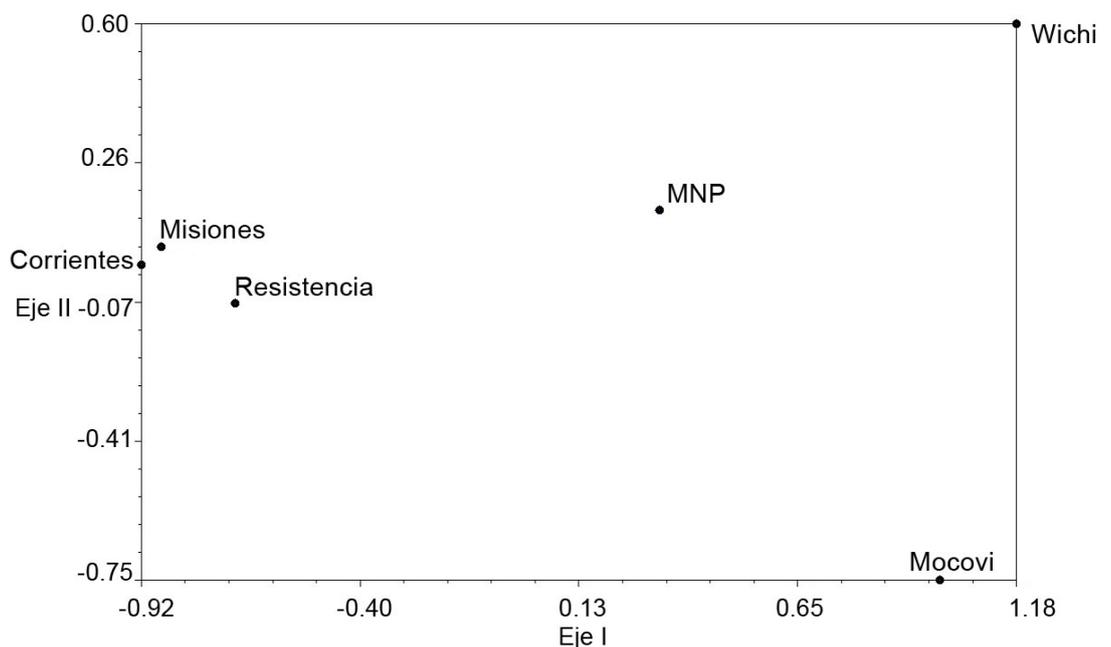
En el dendrograma realizado con las distancias genéticas de los cinco X-Indel, observamos que la población Wichí se encuentra a menor distancia de MNP y Mocoví. La población de Resistencia se mantiene por fuera del grupo que incluye a la población Wichí (Fig. 44).

Figura 44. Árbol UPGMA de distancias DA calculado a partir de las distribución de las frecuencias alélicas de las poblaciones Wichí, Mocoví, MNP, Resistencia, y de otras poblaciones cuyos valores fueron tomados de la bibliografía (Misiones, Corrientes) para los X-Indel.



Cuando realizamos mapas génicos multidimensionales (MDS) por ordenación a partir de distancias DA se observó un agrupamiento de poblaciones criollas, pero no de las nativas que se ubicaron alejadas tanto de las criollas como entre sí. En un punto intermedio se encontró la población de MNP (Fig. 45).

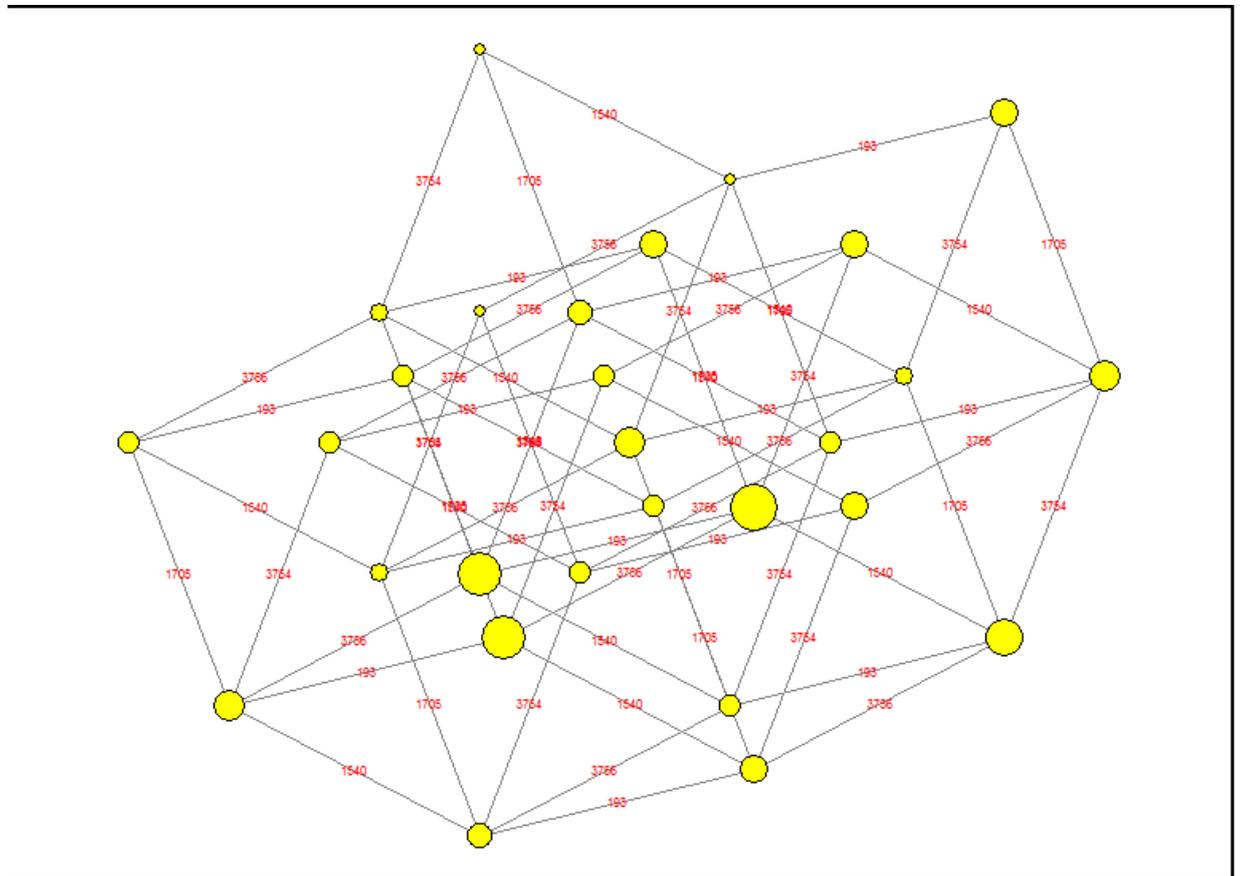
Figura 45. Escalamiento bidimensional de la matriz de distancia de DA para los X-Indel (valor de STRESS= 0.00000).



El análisis de haplotipos con el programa Network (solamente los datos de los varones de las cuatro poblaciones) mostró una gran diversidad haplotípica total (28 haplotipos diferentes). El tamaño de los círculos es proporcional a la cantidad de individuos que comparten el haplotipo (Fig. 46).

Entre los tres haplotipos más frecuentes, uno de ellos predomina en Wichí, y otro en Wichí y Mocoví. Solamente cuatro haplotipos no se comparten entre las cuatro poblaciones, con escasas frecuencias y observándose los mismos sólo en las poblaciones criollas y Mocoví (Tabla 4 en apéndice 1).

Figura 46. Red de haplotipos de X-Indel con las cuatro poblaciones (Wichí, Mocoví, MNP y Resistencia).



5.4.2.2 ESTRUCTURA POBLACIONAL

Cuando analizamos las poblaciones con el programa Structure para los X-Indel con $k=2-4$, ninguno de los modelos, con y sin mezcla, mostró un agrupamiento discreto de los individuos pertenecientes a las distintas poblaciones analizadas (datos no presentados).

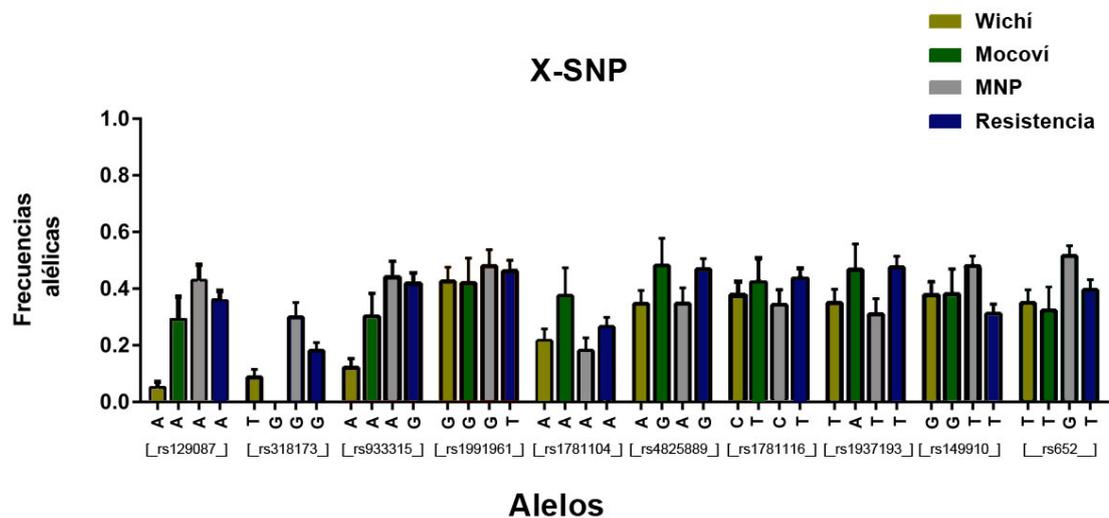
5.4.3 X-SNP

5.4.3.1 COMPARACIÓN DE LA VARIACIÓN ENTRE LAS POBLACIONES

Los X-SNP rs1299087, rs318173 y rs933315 fueron los que más difirieron en la distribución de frecuencias alélicas entre nativos y criollos, en la población Mocoví el rs318173 resultó monomórfico, no encontrándose el alelo ancestral.

El marcador rs1781104 mostró diferencias en las frecuencias alélicas entre Wichí, MNP, Resistencia con Mocoví (Fig. 47).

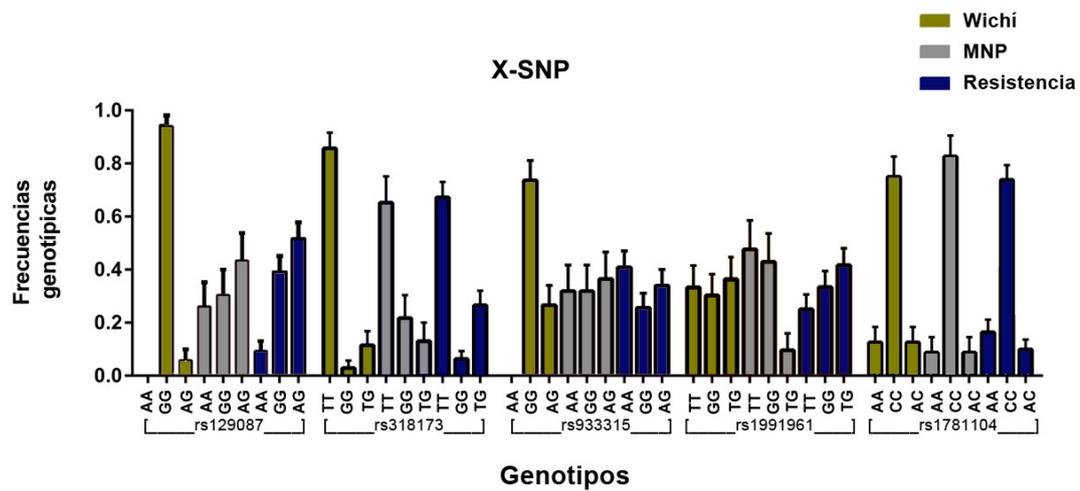
Figura 47. Distribución de las frecuencias del alelo menos frecuente de los X-SNP en las poblaciones Wichí, Mocoví, MNP y Resistencia.



La población Wichí mostró diferencias en la distribución de las frecuencias genotípicas con las poblaciones criollas en los marcadores rs129087 y rs933315 (en estos dos marcadores no se observaron homocigotas A-A en la población Wichí).

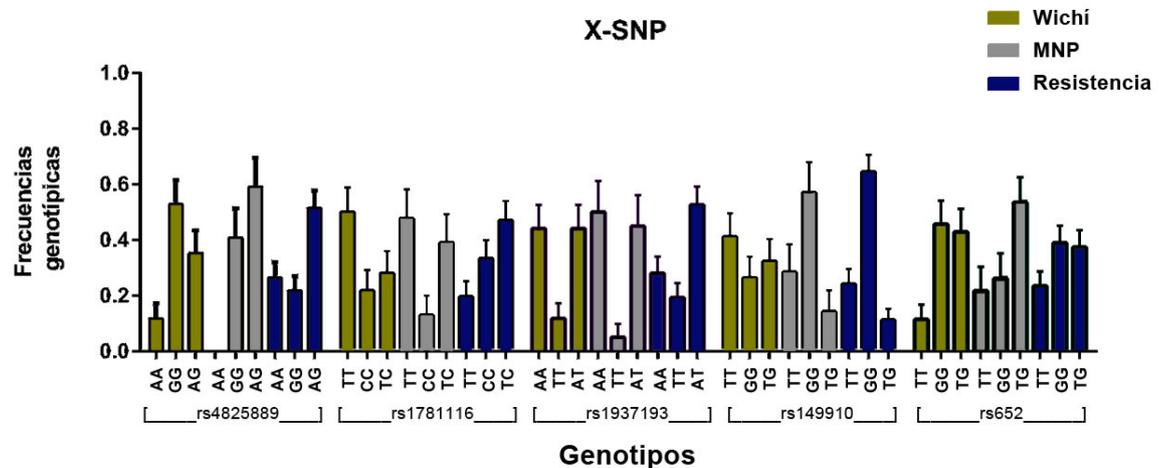
La población de MNP se diferenció con Wichí y Resistencia en la distribución de los genotipos para el rs1991961. Y los X-SNP rs318173 y rs1781104 mostraron una distribución similar de las frecuencias genotípicas entre las tres poblaciones (Fig. 48).

Figura 48. Distribución de las frecuencias genotípicas de los X-SNP: rs129087 y rs933315, rs1991961, rs-318173 y rs1781104 en las poblaciones Wichí, MNP y Resistencia.



Para el marcador rs4825889, rs1781116 y rs1937193 las frecuencias genotípicas difirieron entre Wichí, MNP con Resistencia. La población Wichí difirió en la distribución de las frecuencias genotípicas de rs149910 con las dos poblaciones criollas, y para el marcador rs-652 con la población de MNP (Figura 49).

Figura 49. Distribución de las frecuencias genotípicas de los X-SNP rs4825889, rs1781116, rs1937193, re149910 y rs652 en las poblaciones Wichí, MNP y Resistencia.



De los diez X-SNP, cuatro presentaron valores de AMOVA elevados, esos mismos fueron los que más valores significativos de FST presentaron. Los marcadores rs318173 y rs933315 fueron los que presentaron más valores de FST significativos, también entre las poblaciones criollas. Solamente los marcadores rs1299087 y rs933315 fueron los que dieron una diferencia significativa entre Wichí-Mocoví. Y los marcadores rs1991961 y rs1781104 mostraron bajos valores de AMOVA entre las poblaciones

analizadas, y sin diferencias significativas en los valores de FST (Tabla 66).

Tabla 66. Índice de Wright FST y análisis de varianza molecular AMOVA entre las poblaciones: Wichí, Mocoví, MNP y Resistencia. * = valores significativos (+: $p < 0,05$).

	rs1299087	rs318173	rs933315	rs1991961	rs1781104	rs4825889	rs1781116	rs1937193	rs149910	rs652
Wichí-Mocoví	0,2539 *	0,0386	0,0920 *	-0,0224	0,0396	0,0358	0,0548	0,0499	-0,0227	-0,0212
Wichí-MNP	0,3347 *	0,2034 *	0,2191 *	-0,0012	-0,0025	-0,0121	-0,0098	-0,0031	0,0562 *	0,0324 *
Wichí-Resistencia	0,2185 *	0,0233	0,3445 *	0,0158	-0,0025	0,0545 *	0,05997 *	0,0224	0,1547 *	-0,0045
Mocoví-MNP	0,0074	0,2732 *	0,0129	-0,0151	0,0059	0,0357	0,0774	0,1045 *	0,0428	0,0319
Mocoví-Resistencia	-0,0123	0,0945 *	0,1203 *	0,0013	0,0059	-0,0216	-0,0203	-0,0118	0,1465 *	-0,0124
MNP-Resistencia	-0,0009	0,0888 *	0,0308 *	-0,0074	-0,0059	0,0542 *	0,0807 *	0,0568 *	0,0157	0,0143
AMOVA	13,30% *	10,52% *	19,62% *	0,15%	-0,11%	3,56% *	4,74% *	3,18% *	8,78% *	0,66%

Cuando comparamos los diez X-SNP para las poblaciones Wichí, Mocoví, MNP y Resistencia con la base de datos de Pubmed (México, Italia, Colombia) y ALFRED (dos poblaciones de Italia, México y Amerindios), las diferencias resultaron con valores de FST significativos principalmente entre la población Wichí y las poblaciones de Italia, y en menor medida con México y Colombia. Solamente para rs1991961 el FST presentó valores significativos entre las cuatro poblaciones analizadas en este trabajo y el grupo amerindio de ALFRED. Los valores de AMOVA entre los grupos resultaron entre -7.88-13.88% y tres marcadores resultaron con valores significativos. En este último análisis se agrupó a las poblaciones Wichí, Mocoví, MNP y Resistencia en un grupo y las poblaciones de las bases de datos en otro grupo. De esta manera, los chaqueños quedan separados de otras poblaciones del mundo.

El dendrograma realizado con las distancias DA de los X-SNP mostró un agrupamiento similar al dendrograma de los X-Indel. Se presentan dos dendrogramas, en un análisis se incluyeron tres poblaciones (México, Colombia e Italia) obtenidas de la base de datos de Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) (Figura 50) y en el segundo análisis, se incluyeron datos de la base de datos de ALFRED (<http://alfred.med.yale.edu/alfred/recordinfod.asp?UNID=SI071671W>)(amerindios, México, y dos poblaciones italianas) (Fig. 51).

Figura 50. Árbol UPGMA de distancias DA calculado a partir de las distribución de las frecuencias alélicas de las poblaciones Wichí, Mocoví, MNP, Resistencia, y poblaciones de la base de datos de pubmed (México, Colombia e Italia) para los X-SNP.

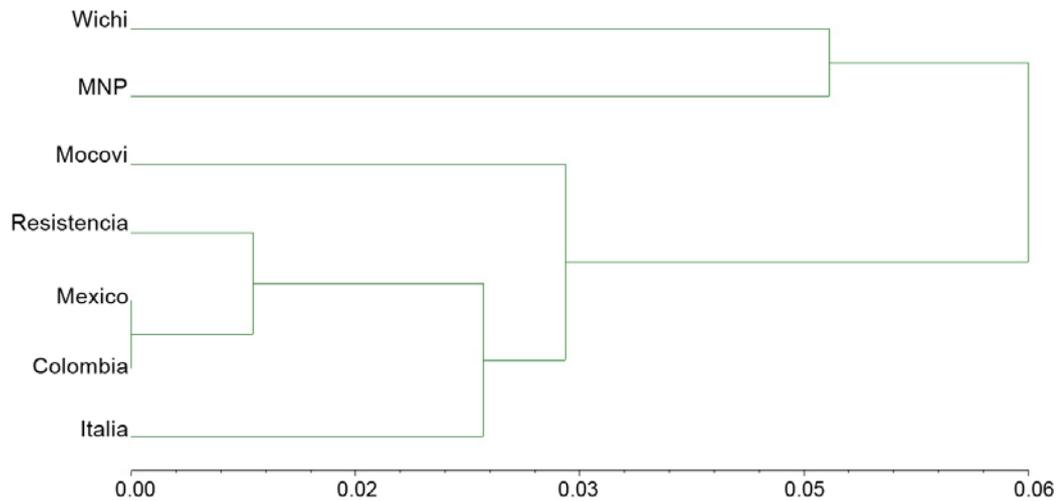
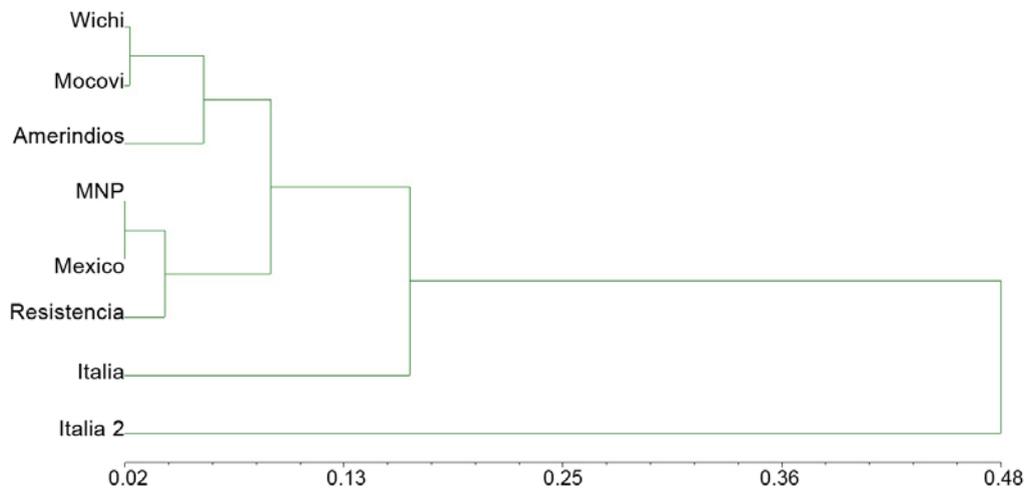


Figura 51. Árbol UPGMA de distancias DA calculado a partir de las distribución de las frecuencias alélicas de las poblaciones Wichí, Mocoví, MNP, Resistencia, y poblaciones de la base de datos de ALFRED (amerindios, México, y dos poblaciones italianas) para los X-SNP.



En la distribución espacial de las poblaciones para el análisis con los datos de Pubmed y ALFRED se observó un agrupamiento de poblaciones criollas, pero no de las nativas que se ubicaron alejadas de las criollas y un poco menos entre sí. (Figura 52 y 53).

Figura 52. Escalamiento bidimensional de la matriz de distancia de DA para los X-SNP (valor de STRESS= 0.00089).

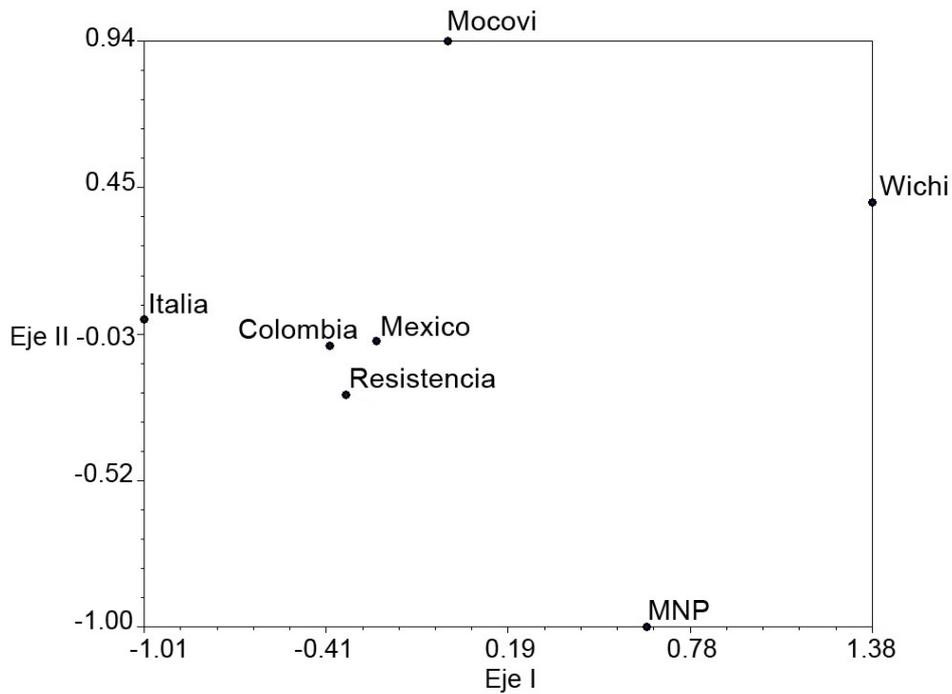
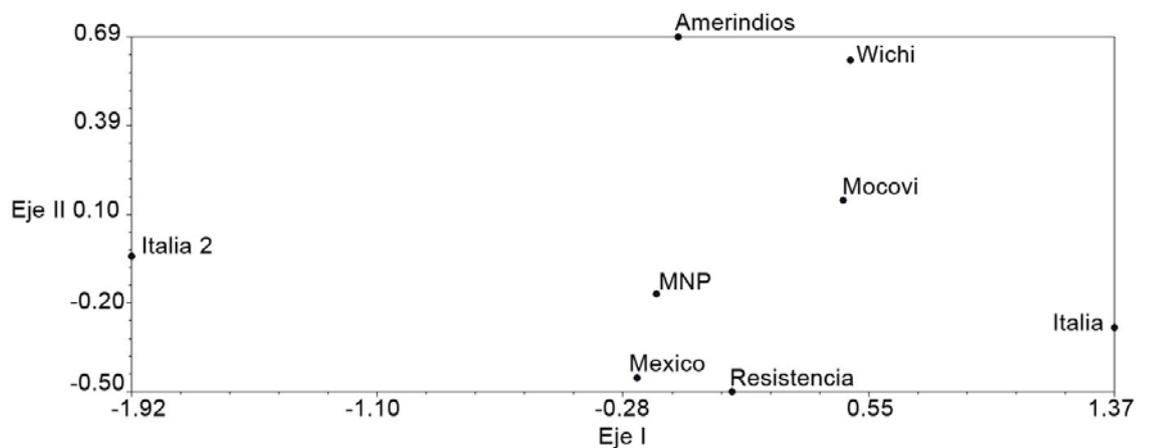


Figura 53. Escalamiento bidimensional de la matriz de distancia de DA para los X-SNP (valor de STRESS= 0.04024).



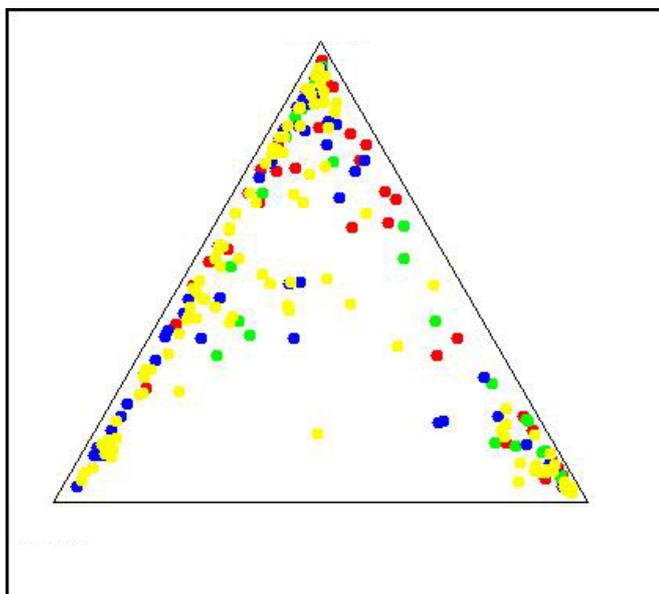
Cuando se graficaron las distancias de los haplotipos para los X-SNP con el programa Network, se observaron 61 haplotipos totales. De ellos, 45 haplotipos se hallaron en un solo individuo, la mayoría de los cuales se observaron en los individuos criollos (Wichí=10, Mocoví=7, MNP=18, Resistencia=21). (la distribución gráfica de haplotipos compartidos no presento relación con la procedencia de los individuos, datos no presentados).

Los haplotipos más frecuentes fueron cuatro, en donde solamente uno es compartido en las cuatro poblaciones (Tabla 5 en apéndice 1).

5.4.3.2 ESTRUCTURA POBLACIONAL.

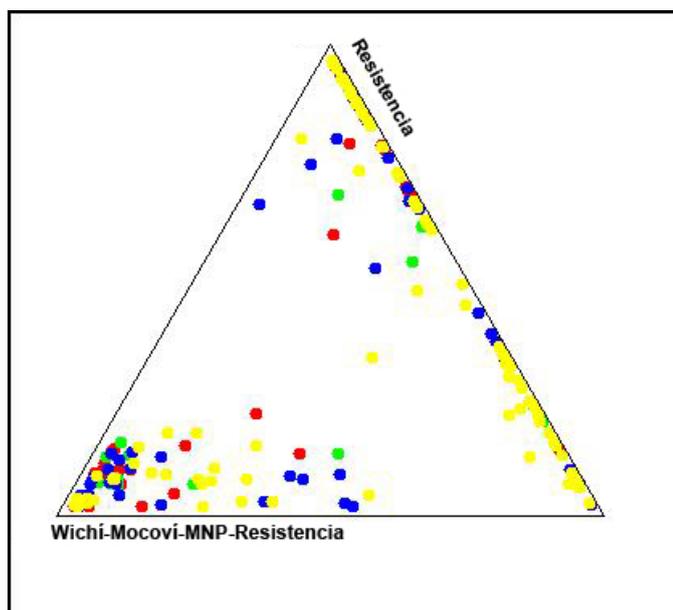
Cuando se analizaron las poblaciones con Structure con el modelo de mezcla se observó una distribución dispersa de los individuos de cada población (K=2-4) (Fig. 54).

Figura 54. Estimación de estructura poblacional mediante el análisis bayesiano (Wichí: rojo, Mocoví: verde, Resistencia: amarillo, MNP: azul).



Sin embargo cuando se analizaron las mismas poblaciones con el modelo no mezcla se observó cierto agrupamiento de las dos poblaciones nativas y MNP, quedando la mayor parte de la población de Resistencia en un agrupamiento diferente (Figura 55).

Figura 55. Estimación de estructura poblacional mediante el análisis bayesiano (Wichí: rojo, Mocoví: verde, Resistencia: amarillo, MNP: azul).



5.4.4 ANÁLISIS DE ADN MITOCONDRIAL

A partir de la tipificación de las regiones hipervariables I y II del ADN mitocondrial, realizado por el Lic. Francisco Di Fabio Rocca en la población de Resistencia, se determinaron los haplogrupos de 45 individuos encontrándose un 55,3% de haplogrupos nativos americanos, un 40% de haplogrupos europeos, 2,35% asiático y 2,35 africano.

5.4.5 BÚSQUEDA DE VARIANTES DISTINTIVAS DE LAS POBLACIONES NATIVAS CHAQUEÑAS

A partir del análisis de las frecuencias alélicas de los tres tipos de marcadores, se intentó construir un haplotipo nativo chaqueño. De acuerdo con Stewart (1993), se eligieron los alelos más frecuentes para cada marcador en los grupos nativos y se compararon estas frecuencias con las de los grupos no nativos.

Se consideró como grupo nativo a los individuos que presentaron al menos un linaje uniparental de origen nativo americano, incluyendo 26 individuos de Resistencia con haplogrupo nativo americano para ADN mitocondrial y 18 varones Mocoví con alelo T de la mutación M3, que representa una transición C-T del cromosoma Y (Glesmann *et al.*, 2011). Asimismo, se incluyeron 94 individuos de la población Wichí. Como grupo no nativo, se incluyó a la población de MNP, y a 19 individuos de Resistencia con haplogrupo mitocondrial europeo. El haplotipo se muestra en la tabla 67.

En 8 de los 25 marcadores analizados del cromosoma X fue posible identificar alelos más característicos de las comunidades nativas chaqueñas.

De acuerdo con los valores de FST y RST obtenidos (ver Resultados) los marcadores GATA31E08 y DXS9902 serían buenos indicadores de diferencias entre poblaciones chaqueñas nativas y criollas. Por otra parte, para el marcador DXS8378 no puede tomarse a la variante 11 como característico de las poblaciones nativas, ya que es uno de los alelos más frecuentes en las poblaciones criollas.

Cuando se analizó la distribución de las frecuencias alélicas de los X-Indel, si bien encontramos diferencias entre los grupos nativos y no nativos para MID1540, la inserción (alelo 1) fue la más frecuente en todas las poblaciones.

Para MID3754 se encontraron una elevada diferencia en la distribución de las frecuencias alélicas entre el grupo nativo y el grupo no nativo, siendo el alelo 0 (deleción) propio de la población nativa.

De los diez X-SNP los que mostraron mayores diferencias entre los individuos de ambos grupos fueron rs149910, rs4825889 y rs1937193. La variante más frecuente de rs1937193 es un alelo ancestral A.

Tabla 67. Haplotipo nativo chaqueño (* indica los alelos que también son frecuentes en criollos y haplogrupos europeos, ? son aquellos en los que no se pudo seleccionar un alelo nativo, ya que el alelo más frecuente no coincide dentro del grupo nativo).

DXS8378	DXS9902	DXS7132	DXS9898	DXS6809	DXS6789	DXS7133	GATA172D05	GATA31E08	DXS7423
11	12	14 o 15?	12*	34	21?	9*	10* o 11?	12	15* o 17?
MID1540	MID1705	MID3754	MID3756	MID193					
1*	1*	0	0*	0*					
rs1299087	rs318173	rs933315	rs4825889	rs1781116	rs1991961	rs149910	rs652	rs1937193	rs1781104
G*	T*	G?	G	T?	T*	T	G*	A	C?

DISCUSIÓN

La ciencia total sólo puede resultar de un esfuerzo total del hombre, es decir del conjunto del esfuerzo humano colectivo realizado por la evolución perfecta de la historia universal.

Alexandre Kojève

El presente trabajo se enfocó en la descripción de la estructura genética actual de las poblaciones que habitan actualmente la provincia de Chaco. El análisis fue realizado bajo el supuesto de que existen diferencias en la composición genética de las poblaciones criollas y nativas que habitan la provincia de Chaco, considerando esta última con una tasa migratoria menor, a diferencia de las poblaciones criollas que sufren un proceso de flujo génico mucho más elevado.

Asimismo, se esperaba encontrar frecuencias alélicas distintas de las europeas a causa de la posible influencia de comunidades autóctonas locales, principalmente en la localidad de MNP, mientras que en la población de Resistencia, la tasa creciente de inmigrantes de provincias limítrofes y la inmigración interna hacen esperar también un cambio en las frecuencias alélicas con respecto a las comunidades de origen europeo.

A través del estudio de tres tipos de polimorfismos genéticos de la región no pseudoautosómica del cromosoma X, se observa cómo las diferencias culturales inciden en la distribución de la variación genética de las distintas comunidades.

6.1 VARIABILIDAD DEL CROMOSOMA X EN LAS POBLACIONES CHAQUEÑAS ARGENTINAS

La variación genética de la población Wichí, como también de otros pueblos nativos de la región de Gran Chaco, ha sido analizada a través de polimorfismos del cromosoma Y, mitocondriales y repetitivos autosómicos (Catanesi *et al.*, 2006; Crossetti *et al.* 2008; Demarchi y Mitchel, 2004; Demarchi *et al.* 2009; Goicoechea *et al.*, 2001; Parolin y Carnese, 2009; Sevini *et al.*, 2013; Tourret *et al.*, 1999; 2000) encontrando siempre una marcada reducción de la variabilidad genética.

En el presente estudio, se presenta una situación similar para los marcadores repetitivos, Indel y SNP del cromosoma X. Para los polimorfismos repetidos, X-STR, los alelos modales mostraron frecuencias entre el 40%-70% concentrando la mayor parte de la variación en sólo uno o dos alelos. Aunque la población Wichí presentó más del 70% de los alelos descritos para los criollos de MNP y Resistencia, varios de ellos se presentaron en frecuencias muy bajas, lo que sugiere una pérdida de variabilidad. Un comportamiento similar se observó para los X-Indel y X-SNP, donde cuatro de los cinco X-Indel presentaron una frecuencia del 65-87% de uno de los alelos, dos X-SNP (rs1299087 y rs318173) presentaron frecuencias de los alelos G y T del 95 y 91%, mientras que solamente el marcador rs1991961 presentó un

equilibrio entre ambas variantes y los restantes X-SNP presentaron frecuencias de 62-88% de uno de los alelos.

A pesar de esta pérdida de variabilidad, la población Wichí presentó dos alelos de X-STR (DXS8378-14 y DXS6809-38) que no se hallaron en las otras tres poblaciones.

De lo expuesto se concluye que la población Wichí ha estado sometida a un proceso de deriva genética importante, que estaría actuando aún en la actualidad, demostrado también en los desajustes al EHW y en coincidencia con lo observado en investigaciones previas (Catanesi *et al.*, 2007; Demarchi y Mitchel, 2004; Crosetti *et al.*, 2008; Glesmann *et al.* 2013; Goicoechea *et al.*, 2001; Toscanini *et al.* 2008).

Por otra parte, los desajustes al EHW en la población Wichí dejan en evidencia una alta proporción de genotipos homocigotas. Un alto nivel de homocigosis en mujeres Wichí podría interpretarse como la existencia de alelos nulos que no se detectan. No obstante, esta posibilidad se descarta dado que encontramos una distribución similar en la genotipificación de las muestras masculinas (hemicigóticas), las cuales presentaron un alelo por marcador en todos los casos, sin evidenciar ningún alelo nulo. Asimismo, un exceso de homocigosis también se ha descrito en la población Wichí en un estudio de marcadores repetitivos autosómicos (Tourret *et al.*, 1999). Este exceso de homocigosis sería consecuencia de un alto nivel de endogamia. A esta evidencia se suma el número elevado de pares de marcadores ligados (X-STR y X-SNP) en la población Wichí, en comparación con los datos de no nativos, lo que sugiere cierto grado de consanguinidad (Crossetti *et al.*, 2008; Leite *et al.*, 2009).

La reducción de la variación en la población Wichí, concordante con un fuerte aislamiento de la misma, no se observa en forma tan pronunciada en la población Mocoví. En esta última los números de alelos observados (X-STR) fueron mucho menores, pero la diversidad génica no fue tan baja como en Wichí. A pesar del escaso número de cromosomas X analizados para la población Mocoví, la variabilidad en X-Indel y X-SNP fue mayor que en la población Wichí. Resultados similares se observaron en STR localizados en cromosomas autosómicos, en donde la población Mocoví presentó valores de diversidad más altos en comparación con otras comunidades nativas de Argentina, en particular con Chorote, Wichí, Mapuche y Tehuelche de Argentina, Ayoreo de Paraguay y Huilliche de Chile (Catanesi *et al.*, 2001; Tourret *et al.*, 2000). Por otra parte, el análisis de cinco X-STR también

mostraron una variabilidad en la población Mocoví mayor que en otros grupos nativos (Catanesi *et al.*, 2007).

En las poblaciones criollas de MNP y Resistencia se observó una elevada variabilidad en los X-STR, con altas diversidades génicas, además de compartir ambas varios alelos modales.

En las dos poblaciones criollas los genotipos más frecuentes fueron heterocigotas para la mayoría de los X-STR y X-Indel. Dado que estos marcadores se consideran neutros desde el punto de vista adaptativo, el aumento en la heterocigosis estaría evidenciando el efecto del flujo génico de estas poblaciones no nativas con otras poblaciones (De Pompert de Valenzuela, 2008; Maeder, 2012).

No obstante no se observó lo mismo en los X-SNP, probablemente debido a su menor variabilidad dada por una tasa mutacional menor y la presencia de sólo dos alelos en comparación con STR (Brightwell *et al.*, 2002).

Leite y col. (2009) comparó las frecuencias alélicas de 11 X-STR entre grupos nativos de americanos con una población de Rio Grande do Sur, encontró elevados valores de ligamiento en los grupos nativos, a diferencia de los pocos pares ligados en la población de Río Grande do Sul. Resultados similares se observaron en el presente trabajo; en las poblaciones criollas se encontraron tres pares de marcadores ligados de X-STR a diferencia del elevado ligamiento encontrado en la población Wichí.

En las poblaciones criollas fueron pocos los marcadores que no se ajustaron al EHW (DXS7132 en MNP, GATA172E05 en Resistencia, MNP para rs1991961, rs149910 para Resistencia, rs1781104 en ambas poblaciones criollas), diferenciándose nuevamente con la población Wichí, la cual presentó un elevado número de X-STR con desajustes del EHW.

La población de MNP mostró valores de heterocigosis observada mayores que la heterocigosis esperada en X-STR y en X-Indel, lo cual podría estar indicando procesos de miscegenación en dicha población. Si embargo la localidad de MNP se encuentra situada en el Impenetrable Chaqueño, lugar de difícil acceso (Altamirano y Salvay, 1996), por lo cual se esperaba encontrar una población criolla más homogénea. Dicha miscegenación puede deberse al constante flujo de individuos hacia otras ciudades de Chaco, jóvenes que viajan para llevar a cabo estudios universitarios o en busca de trabajo (Maeder, 2012) y suelen volver a su lugar de nacimiento muchas veces con familias conformadas. También dicha miscegenación

se favorece con la llegada de trabajadores estatales que provienen de la capital del departamento Gral. Güemes así como también de la capital provincial.

6.2 DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA ACTUAL DE LAS POBLACIONES ESTUDIADAS

Actualmente los Wichí de la provincia de Chaco se encuentran ubicados en asentamientos en torno a la región de MNP, dentro de territorios asignados por el estado; son comunidades conformadas por familias extensas y matrilocales, donde los individuos comparten cierto grado de consanguinidad y pueden considerarse parientes lejanos. Los hogares son exogámico entre ellos, y en cierta medida matrilocales, ya que el hombre se mueve generalmente a la casa donde vive su esposa (Franceschi y Dasso, 2010). Esta forma de vida puede llevar a la población Wichí a un mayor nivel de homocigosis. Sin embargo, es posible que los diferentes hogares sean ligeramente diferentes entre sí desde el punto de vista genético, causando un efecto de muestreo de la población o subestructura, según lo propuesto por Diegoli y Coble (2011) incluso para las poblaciones no nativas. Con respecto a la variación entre poblaciones, el presente trabajo mostró ciertas similitudes entre los Wichí que viven en la provincia de Chaco y la misma población Mocoví, donde las diferencias entre los dos grupos nativos son menores que con los criollos de MNP y Resistencia. Con respecto a la variación entre poblaciones, los diferentes patrones de variación en las poblaciones Wichí sugieren una diferenciación geográfica entre sus comunidades, posiblemente debida al flujo genético local dentro de cada provincia. De acuerdo con estos hallazgos, Leite y col. (2009) apoya la importancia de la distribución geográfica en la estructuración genética de las poblaciones amerindias. La diversidad genética Wichí fue similar a la encontrada en Mocoví, aunque se observaron diferencias para algunos de los marcadores, lo cual puede deberse a un proceso de deriva genética actuando en ambos grupos nativos en el presente. Este proceso contribuyó probablemente a algunas diferencias entre ellos, como lo sugieren los valores importantes que se encuentran sólo en el análisis de FST (que marca los procesos de deriva o de migración), pero no de RST (que señala los procesos de mutación). Es así que se considera que las poblaciones Wichí y Mocoví pasaron a través de una drástica reducción de su tamaño efectivo en el pasado reciente, lo que refuerza una posible acción de la deriva genética (Demarchi, 2009; Glesmann *et al.*, 2011; Martínez Sarasola, 2004).

Históricamente, la población Mocoví se dispersó gradualmente, muchos individuos fueron perseguidos y asesinados, sumado a esto, al igual que otras varias poblaciones nativas, los Mocoví padecieron enfermedades que generaron una gran reducción de estos grupos (Sarasola, 2005). Sin embargo, la población Mocoví analizada en este trabajo para los marcadores del cromosoma X, así como también para el cromosoma Y (Glesmann *et al.*, 2011) no mostró una baja variabilidad, a pesar de ser un grupo pequeño de cromosomas X estudiados (confirmado por varones). Por lo tanto, no podemos descartar que cierta variabilidad de la población Mocoví sea proveniente de una fuente externa, de la mezcla de este grupo con otros grupos nativos, y con poblaciones criollas (Citro, 2006).

Las comunidades Mocoví a diferencia del grupo Wichí, mantienen sus culturas pero no en forma libre, y de a poco van incorporándose a la población criolla mediante la educación y el trabajo, lo cual los conduce hacia una asimilación social. Sumado a las migraciones que realizaron hacia regiones cercanas a las ciudades, o a barrios periféricos, las comunidades Mocoví tienen actualmente un contacto más continuo con la población criolla o mestiza, y este contacto está conduciendo a grandes cambios culturales y sociales en estas poblaciones, muchas veces llevando al mestizaje (Franceschi y Dasso, 2010).

En contraste con las diferencias observadas entre poblaciones criollas y nativas, las criollas mostraron bajos valores de FST-RST significativos entre sí para los marcadores analizados. En la provincia de Chaco, al igual que otras provincias del país, la capital, en este caso Resistencia, es la población que posee un mayor flujo génico, dada por la inmigración interna, individuos que llegan del interior de la provincia en busca de trabajo, estudios superiores, o asistencia sanitaria (Maeder, 2012). La similitud encontrada entre dichas poblaciones criollas, puede estar indicando un origen similar en sus comienzos por inmigrantes europeos, principalmente italianos según datos históricos (De Pompert Valenzuela, 2008; Maeder, 2012).

Ambas poblaciones criollas mostraron marcadas diferencias con la población Wichí, para los tres tipos de marcadores analizados y los valores de FST-RST significativos fueron mayores entre Wichí y Resistencia. Estos valores podrían estar indicando que ambas poblaciones prácticamente carecen de contacto y no existiría flujo génico. Las causas pueden buscarse en el aislamiento cultural y geográfico de la población Wichí, a pesar de que suelen mantener un comportamiento de seminomadismo,

trasladándose en busca de trabajo hacia el interior de las provincias de Salta y/o Formosa o visitando a familiares, siempre manteniéndose dentro del mismo grupo cultural o de la misma comunidad (Méndez *et al.*, 2003; De Pomert de Valenzuela, 2008).

Sevini y col. (2013) en el análisis comparativo de marcadores del cromosoma Y y ADN mitocondrial entre Wichí y criollos de MNP, observó que aunque ambas poblaciones comparten el espacio de viviendas (parajes), se diferencian cultural y genéticamente. De acuerdo con esto, los valores de AMOVA muestran la estructura de dos poblaciones distintas, con valores de FST significativos entre ambas poblaciones. Asimismo, en diversos trabajos sobre variación genética del cromosoma Y y STR autosómicos de poblaciones nativas (Crossetti *et al.*; 2008; Demarchi y Mitchel, 2004; Sevini *et al.*, 2013; Toscanini *et al.*, 2008) la población Wichí de Chaco también se ubica alejada (en cuanto a distancia genética) de otras poblaciones nativas y principalmente de poblaciones con componente europeo.

En contraste con el trabajo de Avena y col. (2006) donde se mostraron diferencias en la composición genética de marcadores AIMs entre un hospital privado y hospital público de la ciudad autónoma de BsAs; en el análisis de los marcadores del cromosoma X, que realizamos comparando entre los sanatorios privados (Frangioli y Güemes) y el Hospital Odontológico de carácter público de la ciudad de Resistencia, no observamos diferencias significativas entre ambos grupos. Esta ausencia de diferenciación entre el ámbito público y el privado podría estar mostrando la presencia de un componente nativo (no Wichí) en la mayoría de la población.

Este componente nativo se demostró a partir del análisis de ADN mitocondrial, donde se evidenció un 55,3% de haplogrupos nativos americanos y un 40% de haplogrupos europeos, con un menor componente asiático y africano (4,7%) (Di Fabio Rocca, comunicación personal). Acompañando a la toma de muestra, se realizaron una serie de preguntas a los donantes voluntarios, acerca del lugar de nacimiento de sus cuatro abuelos, y si pertenecen o pertenecían a algún grupo nativo americano. De las respuestas obtenidas, se observó un encubrimiento del ancestro nativo, dado que solamente dos personas manifestaron tener ancestros nativos, mientras que casi el 35% dijo ser descendiente de europeos. En la provincia de Chaco existen diferentes programas oficiales de promoción y asistencia desde las últimas décadas, que intentaron “integrar al indio” o “preservar su cultura”. Sin

embargo, los resultados han sido negativos, y parece prevalecer la antigua idea de que los pueblos nativos son poco afectos al trabajo, orden y progreso (Guarino, 2006). La población de Resistencia, podría estar presentando un componente nativo incorporado por las inmigraciones de países limítrofes, principalmente Paraguay, y sumado a la inmigración interna en la provincia de Chaco, desde las zonas rurales hacia los centros urbanos, debido a la crisis agraria del interior provincial, y a las posibilidades de trabajo que presenta la ciudad, así como el acceso a bienes o servicios novedosos (Guarino, 2006).

Cuando analizamos la estructura de las poblaciones obtenida para los X-STR con el programa STRUCTURE, se observó a la población Wichí con un agrupamiento alejado de las poblaciones criollas, principalmente de Resistencia, sin embargo la población nativa Mocoví se encuentra entremezclada con las tres poblaciones. Un comportamiento similar se observó en los mapas génicos y dendrogramas obtenidos para X-STR, X-Indel y X-SNP, con las poblaciones nativas ubicadas a una mayor distancia de las poblaciones criollas. Cuando comparamos con otras poblaciones de Argentina y de la base de datos de pubmed y ALFRED, seguimos observando la misma distribución, las poblaciones nativas analizadas en este trabajo se distribuyen a una distancia más cercana a la población amerindia (ALFRED), y las criollas más cercanas a las poblaciones argentinas capitalinas de Misiones, Corrientes y Buenos Aires, como así también cercanas a poblaciones europeas italianas, y latinoamericanas (Colombia y México). Resultados similares se presentan en varios trabajos poblacionales con marcadores de cromosoma Y, ADN mitocondrial y STR autosómicos (Corach *et al.*, 2010; Seldin *et al.*, 2007; Sevini *et al.*, 2013).

6.3 DETERMINACIÓN DE POLIMORFISMOS DISTINTIVOS DE LAS POBLACIONES NATIVAS

A partir del análisis de las frecuencias alélicas y diferencias significativas entre los grupos nativos y no nativos, de acuerdo con lo expuesto en resultados podemos concluir que los marcadores: GATA31E08, DXS9902 MID3754, rs4825889, rs149910, y rs1937193 serían de utilidad para diferenciar a las poblaciones nativas, y las variantes= 12, 12, 0, G, T, A serían más características en estas poblaciones ya que se observaron frecuencias elevadas, a diferencia de lo observado en poblaciones criollas.

Cabe aclarar que los marcadores repetidos de tipo STR poseen tasas de mutación elevadas, por lo cual es frecuente la ocurrencia de homoplasias entre poblaciones, es decir, que un alelo presente en una población no necesariamente ha recorrido el mismo camino evolutivo que el mismo alelo presente en otra población. Por el contrario, los SNP y los Indel son marcadores de frecuencias de mutación generalmente menores, y en algunos casos se ha podido demostrar que determinada mutación ha ocurrido una única vez en la historia de la humanidad, como por ejemplo en el caso de la mutación M3, una transición C-T característica de muchos cromosomas Y nativos americanos (Underhill et al. 1999; Bianchi et al., 1998; Demarchi y Mitchel, 2004; Glesmann et al., 2011). Por lo tanto, podría concentrarse la atención en los marcadores rs4825889, rs149910, y rs1937193, cuyos alelos G, T y A indicarían que un cromosoma X pertenece con más probabilidad a una población nativa chaqueña, que a una criolla.

CONCLUSIONES

7.1 CONCLUSIÓN GENERAL

Se concluye que las poblaciones nativas y criollas analizadas en este trabajo están atravesando diferentes procesos poblacionales que se ven reflejados en determinados polimorfismos genéticos del cromosoma X.

Los marcadores del cromosoma X mostraron ser herramientas de gran utilidad para relacionar la variación genética con las diferencias culturales y la ubicación geográfica de las distintas comunidades que habitan actualmente la provincia de Chaco.

7.2 CONCLUSIONES PARTICULARES

- Los polimorfismos de los marcadores del cromosoma X analizados en este trabajo mostraron una mayor variabilidad en las poblaciones criollas de Misión Nueva Pompeya y Resistencia, a diferencia de las poblaciones nativas, sugiriendo la ocurrencia de procesos de inmigración y miscegenación en ambas poblaciones criollas.
- La variación observada en las dos poblaciones criollas es similar, indicando un origen semejante en sus comienzos por inmigrantes europeos (principalmente italianos).
- La población nativa Wichí mostró una baja variación genética y elevados valores de homocigosis, indicando un claro proceso de endogamia y de deriva genética.
- Presentó además una gran diferenciación con las poblaciones criollas, principalmente con Resistencia, probablemente debido a la ubicación geográfica de ambas poblaciones y a las profundas diferencias culturales entre ellas.
- De las poblaciones nativas, la población Mocoví fue la que presentó menor diferenciación con las poblaciones criollas, muy probablemente debido al flujo génico que estaría produciéndose entre esta población nativa y los grupos criollos.
- Los marcadores: MID3754, rs4825889, rs149910, y rs1937193 pueden ser de utilidad para diferenciar a las poblaciones nativas estudiadas, y las variantes= 0, G, T, A serían distintivas en estas poblaciones ya que se observaron frecuencias más elevadas en nativos, a diferencia de las poblaciones criollas.

APÉNDICE

8.1 APÉNDICE:

Tabla 1. Características de los X-STR analizados. El rango alélico corresponde al observado en las poblaciones analizadas en este trabajo. Fuente: Gusmão *et al.* (2009), ChrX-STR.org 2.0 (<http://www.chrx-str.org/>).

MARCADOR	TIPO DE REPETIDO	MOTIVO	LOCALIZ. CITOGENET.	OLIGO-NUCLEÓTIDOS 5'-3'	ALELOS	TAMAÑO pb	GRUPO DE LIGAM.
DXS8378	Tetranucleotídico	(CTAT)10-14	p22.31	TTAGGCAACCCG GTGGTCC ACAAGAACGAAA CTCCAATC	10-14	114-130	X1
DXS9902	Tetranucleotídico	(TAGA)9-15	p22.2	CTGGGTGAAGAG AAGCAGGA GGCAATACACAT TCATATCAGGA	9-15	174-198	
DXS7132	Tetranucleotídico	(TCTA)10-18	centrómero	TCCCCTCATCT ATCTGACTG CACTCCTGGTGCC AAACTCT	10-18	120-152	X2
DXS9898	Tetranucleotídico	(TATC)2-(ATC)- (TATC)8-15	q21.31	CGAGCACCTA CAAAAGCTG TAGGCTCACCTCA CTGAGCA	10-17	157-185	
		(TATC)2-(ATC)- (TATC)-(ATC)- (TATC)5			8.3	152	
DXS6809	Tetranucleotídico	(CTAT)7- 10(ATCT)3- N9(TATC)3- (ATCT)3-5- N10(ATCT)13-17	q21.33	TCCATCTTCTCT GAACCTTCC TGCTTTAGGCTGA TGTGAGG	29-38	238-274	
DXS6789	Tetranucleotídico	(TATG)9-11 (TATC)6	q21.33	CTTCATTATGTGC TGGGGTAAA ACCTCGTGATCAT GTAAGTTGG	15-17	253-261	
		(TATC) (TATG)10(TATC)7			18	265	
		(TATC) (TATG)9(TATC)9			19	269	
		(TATC) (TATG)10(TATC)9- 13			20-24	289	
DXS7133	Tetranucleotídico	(ATAG)7-14	q22.30	CACTTCCAAAAG GGGAAAAA ACTTGTACTTGGT GGGAGGAA	7-14	185-213	
GATA172D0 5	Tetranucleotídico	(TAGA)6-14	q23	TAGTGGTGATGG TTGCACAG ATAATTGAAAGC CCGGATTC	6-14	108-140	
GATA31E08	Tetranucleotídico	(AGAT)9-15	q27.1	GCAAGGGGAGAA GGCTAGAA TCAGCTGACAGA GCACAGAGA	9-15	232-256	
DXS7423	Tetranucleotídico	(TCCA)3TCTGTCC T(TCCA)8-14	q28	GTCTTCTGTTCAT CTCCAAC TAGCTTAGCGCCT GGCACATA	11-17	171-195	X4

Tabla 2. Características de los X-Indel analizados. Fuente: Freitas *et al.* 2010, Córdoba *et al.* 2010.

Nro. rs	X-InDel	MOTIVO	LOCALIZ. CITOGÉNÉT.	SECUENCIA OLIGONUCLEÓTIDOS 5'-3'	LONGITUD FRAGMENTO S-L ALELOS
rs57608175 (Freitas <i>et al.</i> , 2010)	MID3754	-/GGTCATCACGAG	q24	F: GATCCTTTGGTTTGACAATG R: CCCTGCTCTAATTCTCCCACT	129-141
rs72270198 (Freitas <i>et al.</i> , 2010)	MID3756	-/ TGGCAGAGCCATT	q25	F: CAGCGTTCATATCAGCACTCA R: TCCGCATCACCAGTTAAAGAC	111-124
rs2307901 (Córdoba <i>et al.</i> , 2012)	MID1705	-/TAGA	q25	F: TCATCCATGTTTCTGGGTAT R: GAAGCAAGAAATGTGTTGTCAT	134-138
rs16632 (Córdoba <i>et al.</i> , 2012)	MID193	-/AATA	q27	F: TTTGAAAACACAGAAATGCA R: CTGAAGTGACCATTGACCTC	101-105
rs2307736 (Freitas <i>et al.</i> , 2010)	MID1540	- /TTCCAACCAGCAGCAGGGTT	q28	F: CTGTCAAGTCCAAATCAAGCAG R: TTATACTTCCAAACAGCCCACA	231-251

Tabla 3. Características de los X-STR analizados. Fuente: US National Library of Medicine National Institutes of Health (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>).

MARCADOR	ALELO ANCESTRAL	LOCALIZ. CITOGENÉT.	SECUENCIA OLIGONUCLEÓTIDOS 5'-3'	ALELOS	TAMAÑO FRAGMENTO
rs1299087	G	q21.1	F: TTTTAGAGGGATTTCAGACACAAA R: CGCTTTGCAATTGGTTGTAT	A-G	156pb
rs318173	T	q22	F: GGTTTCTGTCTATGACAATTC R: CTCTGGGTATATTTCAGAAGCA R: CTCTGGGTATATTTCAGAAGCC	T-G	113pb
rs933315	A	q22	F: GCTGGGAAGACCAAAAAACAAGCAA F:	A-G	175pb
rs1991961	T	q25	F: ACGGAGAACCATGTGCTTAGCA R: TCTGACTAAGTGGAGACAACCG R: TCTGACTAAGTGGAGACACCCT	T-G	150pb
rs1781104	C	q25	F: GTCTGTCTTGTCCAATGCCGAGA F: GTCTGTCTTGTCCAATGCCTAGC R: GGCAAATTGACTGGAAGCCA	A-C	144pb
rs4825889	A	q25	F: TCCCTCTTTGGCTCCCCTAAA R: ATGAACCGAGTTTTGATTGGGAAT	A-G	256pb
rs1781116	T	q25	F: GCAAATATGTTGGCAAGACGTAT F: GCAAATATGTTGGCAAGACATAC R: CCCTTCCCCACCTTGGATAG	T-C	105pb
rs1937193	A	q25	F: GGGACTTTCTAGCATGACTGT R: GCCTCAAACCTTTTCTTCTCAT R: GCCTCAAACCTTTTCTTCAAAA	A-T	145pb
rs149910	G	q25	F: GGGCTCATTGCAGATGTTGAC R: ATCCATTGTTTCAATTCAAGATATC	T-G	124pb
rs652	T	q26	F: CTGTCCCACACCTACAGTGCG F: CTGTCCCACACCTACATTGCT R: ACTGGTACCTGTGCATGCATTT	T-G	180pb

Tabla 4.Haplotipos X-Indel Wichí, Mocoví, MNP y Resistencia.

					Wichí Frec. Haplotipo	Mocoví Frec. Haplotipo	MNP Frec. Haplotipo	Resistencia Frec. Haplotipo	Total
MID3754	MID3756	MID1705	MID193	MID1540					
0	0	0	0	0	0	2	1	0	3
0	0	0	0	1	1	2	0	0	3
0	0	0	1	0	0	1	0	0	1
0	0	0	1	1	2	0	1	1	4
0	0	1	0	0	2	2	1	0	5
0	0	1	0	1	6	2	3	2	13
0	0	1	1	0	1	0	2	1	4
0	0	1	1	1	1	2	1	2	6
0	1	0	0	0	0	1	0	1	2
0	1	0	0	1	0	1	1	3	5
0	1	0	1	0	1	0	1	1	3
0	1	0	1	1	1	0	1	3	5
0	1	1	0	0	0	7	1	1	9
0	1	1	0	1	4	4	3	3	14
0	1	1	1	0	2	0	1	0	3
0	1	1	1	1	4	4	2	1	11
1	0	0	1	0	0	0	1	0	1
1	0	1	0	0	0	0	1	4	5
1	0	1	0	1	0	0	1	2	3
1	0	1	1	0	0	0	0	3	3
1	0	1	1	1	0	0	1	2	3
1	1	0	0	0	1	1	0	3	5
1	1	0	1	0	0	1	0	0	1
1	1	0	1	1	0	0	0	1	1
1	1	1	0	0	1	2	0	3	6
1	1	1	0	1	2	0	1	2	5
1	1	1	1	0	0	1	0	2	3
1	1	1	1	1	0	0	1	3	4
				Total de haplotipos por cada población	13	15	19	21	

Tabla 5.Haplotipos X-SNP Wichí, Mocoví, MNP y Resistencia.

rs1299087	rs318173	rs933315	rs1991961	rs1781104	rs4825889	rs1781116	rs1781116	rs149910	rs652	Wichí Frec. Haplotipo	Mocoví Frec. Haplotipo	MNP Frec. Haplotipo	Resistencia Frec. Haplotipo	Total
0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1
0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	2
0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1
0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	2	2
0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1
0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1
0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1
0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1
0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1
0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1
0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1
0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	2	3
0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1
0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1
0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	2	0	0	0	2
0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1
0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	2
0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	2	1	1	0	4
0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	4	0	0	0	4
0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1
0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	3	0	0	3
0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0	3	0	0	3
0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1
0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1
0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
0	0	1	1	0	1	0	0	1	1	2	2	3	1	8
0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1
0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1
0	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1
0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	2	0	0	0	2
0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1
0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	2	0	1	0	3
0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1
0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1
0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1
0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1
1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1
1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1
1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	2	0	2
1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1
1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1
1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1
1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	3	3
1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1
1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1
1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
1	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	1
1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1
1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1
1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1
1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1
1	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1
									Total de haplotipos por población	24	20	23	28	

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acreche N., Albeza M., Caruso G., Broglia V., Acosta R. (2004). Diversidad biológica humana en la provincia de Salta. *CUADERNOS FHYCS-UNJu* 22:171-194.

- Albeza M., Picornell A., Acreche N., Tomas C., Castro J., Ramon M. (2002). Genetic variability at 14 STR loci in the Puna population of north western Argentina. *Int. J. Legal Med.* 116(3): 126-132.

- Altamirano M., and C. Salvay. 1996. Misión Nueva Pompeya, Labor franciscana entre los “Wichi” del territorio del Chaco (1899-1949). In: 2das. Jornadas de Historia Eclesiástica, Buenos Aires, Argentina 5-28pp.

- Avena S., Goicoechea A., Rey J., Dugoujon J., Dejean C., Carnese F. (2006). Gene mixture in a population sample from Buenos Aires City. *Medicina* (Buenos Aires) 66(2): 113-118.

- Avena S., Via M., Ziv E., et al. (2012). Heterogeneity in Genetic Admixture across Different Regions of Argentina. *PloS ONE* 7(4): e34695. doi:10.1371/journal.pone.0034695

- Bailliet G., Castilla E., Adams J., Orioli I., Martínez-Marignac V., Richard S., Bianchi N. (2001). Correlation between molecular and conventional genealogies in Aicuña: a rural population from Northwestern Argentina. *Hum. Hered.* 5 (3):150-159.

- Bailliet G., Santos M., Alfaro E., Dipierri J., Demarchi D., Carnese F., Bianchi N. (2007). Allele and genotype frequencies of metabolic genes in Native Americans from Argentina and Paraguay. *Mutat. Res. Mar* 5;627(2):171-7.

- Bandelt H-J., Forster P., Röhl A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 16(1): 37-48.

- Barúa G., y Rodríguez Mir J. (2009). Introducción: el área cultural del Gran Chaco. *Revista Española de Antropología Americana* 39(2):139-149.

- Bedoya G., Montoya P., Garcia J., et al. (2006). Admixture dynamics in Hispanics: A shift in the nuclear genetic ancestry of the South American population isolate. *PNAS* 103(19): 7234-7239.

- Bianchi N., Catanesi I., Bailliet G., *et al.* (1998). Characterization of ancestral and derived Y-chromosoma haplotypes of New World native populations. *Am. J. Hum. Genet.* 63(6):1862-1871.

- Bittles A. & Neel J. (1994). The costs Human inbreeding and their implications for variation at the DNA level. *Nature Genetic* 8: 117-121.

- Bobillo C., Marino M., Sala A., Corach D. (2006). Características genético-poblacionales de siete microsatélites del cromosoma X (X-STRs) en la población argentina. *BAG, J. basic appl. genet.* XVII (Supl.II):179.

- Bobillo C. Sala A., Gusmão L., Corach D. (2011). Genetic analysis of 10 X-STRs in Argentinian population. *Forensic Sci Int Genet.* 5(1): 14-16.

- Bobillo C., Navoni J., Olmos V., Merini L., Villaamil Lepori E., Corach D. (2014). Ethnic characterization of a population of children exposed to high doses of arsenic via drinking water and a possible correlation with metabolic processes. *Int. J. Mol. Epidemiol. Genet.* 5(1):1-10.

- Bolstein D., White M., Skolnick M., Davis R. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.* 32: 314-331.

- Brightwell G., Wycherley R., Potts G., Waghorn A. (2002). A high-density SNP map for the FRAX region of the X chromosome. *J. Hum. Genet.* 47: 567-575.

- Briones C. (2004). Construcciones de aboriginalidad en Argentina. *Société des Américanistes/Schweizerikanisten-Gesellschaft Bulletin* 68: 63-90.

- Catanesi, C., Tourret M., Vidal Rioja L. (2001). Genetic diversity at LPL and CD4 microsatellite loci in South American populations. *BAG, J. basic appl. genet.* 14(1): 41-46.

- Catanesi C., Martina P., Giovambattista G., Zukas P., Vidal Rioja L. (2007). Geographic structure in Gran Chaco Amerindians based five X-STRs. *Hum. Biol.* 79 (4): 463-474.

- Catanesi, C. I., N. Tourret, F.R. Carnese *et al.* (2006). South American Amerindian diversity at the vWA STR locus. *J. basic appl. genet.* 17 (1): 35-40.

- Cavalli-Sforza L., Bodmer W. (1981). *Genética de las Poblaciones Humanas*. Ed. Omega. Barcelona.

- Cavalli-Sforza L., Menozzi P., Piazza A. (1996). *The history and geography of human genes*. Princeton University Press, Princeton, N. Jersey.

- Colazo S. (2003). *Relatos orales, historia y temporalidad*. Jornadas de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas, H-013. SEGCyT, Univ. Nac. del Nordeste.

- Citro S. (2006). *La Fiesta del 30 de Agosto entre los mocovíes de Santa Fe*. Buenos Aires, Facultad de Filosofía y Letras, Universidad de Buenos Aires.

- Citro S. (2006). *Tácticas de invisibilización y estrategias de resistencia de los mocoví santafesinos en el contexto postcolonial*. *INDIANA* 23: 139-170.

- Corach D., Lao O., Bobillo C., van Der Gaag K., *et al.* (2010). *Inferring Continental Ancestry of Argentineans from Autosomal, Y-Chromosomal and Mitochondrial DNA*. *Annals of Human Genetics* 74: 65–76.

- Córdoba L., García J., Hoyos L., *et al.* (2012). *Composición genética de una población del suroccidente de Colombia*. *Revista Colombiana de Antropología* 48 (1): 21-48.

- Crawford Michael H. (2007). *Foundations of Anthropological Genetics*. Anthropological Genetics. Editor: Michael Crawford .Cambridge University Press, New York. (1): 1-2.

- Crossetti S., D.A. Demarchi, P.E. Raimann, *et al.* (2008). *Autosomal STR Genetic Variability in the Gran Chaco Native Population: Homogeneity or Heterogeneity?*. *Am. J. Hum. Biol.* 20: 704-711.

- De Pompert de Valenzuela M. C. (2008) *El poblamiento del Chaco*. Editado por la autora, Introducción: 5-18pp, Misión Nueva Pompeya: 110pp, Resistencia: 130-133pp.

- Dejean, C., Crouau-Roy B., Goicoechea A., *et al.* (2004). *Genetic variability in Amerindian populations of Northern Argentina*. *Genet. Mol. Biol.* 27 (4): 489-495.

- Demarchi, D., and R. Mitchel. (2004). Genetic Structure and Gene Flow in Gran Chaco Populations of Argentina: Evidence from Y-Chromosome Markers. *Hum. Biol.* 76 (3): 413-429.

- Demarchi, D. (2009). Microsatélites, Distancias Genéticas y Estructura de Poblaciones Nativas Sudamericanas. *Rev. Arg. Antrop. Biol.* 11(1): 73-88.

- Diegoli, T. and M. Coble. (2011). Development and characterization of two mini-X chromosomal short tandem repeat multiplexes. *Forensic Sci. Int.-Genet.* 5: 415–421.

- Dipierri J., Alfaro E., Martínez-Marignac V., Bailliet G., Bravi C., Cejas S., Bianchi N. (1998). Paternal directional mating in two Amerindian subpopulations located at different altitudes in northwestern Argentina. *Hum Biol.* 1998 Dec;70(6):1001-1010.

- Erlich H., Gelfand D., Sninsky J. (1991). Recent advances in the Polymerase Chain Reaction. *Science* 252: 1643-1650.

- Excoffier L., Lischer H. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, Vol. 10, Issue 3: 564–567.

- Freitas N., Resque R., Ribeiro-Rodrigues E., Guerreiro J., Santos N., Ribeiro-dos-Santos A, Santos S. (2010). X-linked insertion/deletion polymorphisms: forensic applications of a 33-markers panel. *Int. J. Legal Med.* 124: 589-593.

- Franceschi, Z.A. and M.C. Dasso. 2010. Etno-Grafías, La escritura como testimonio entre los Wichí. El universo Wichí: historia y cultura. Editorial Corregidor, Buenos Aires 336 pp total.

- García A., Demarchi D. (2006). Linajes parentales amerindios en poblaciones del norte de Córdoba. *Rev. Arg. Antrop. Biol.* 8(1): 57-71.

- Gemmell N., Akiyama S. (1996). An efficient method for the extraction of DNA from vertebrate tissues. *Trends in Genetics* 12(9): 338.

- Gibson G., Muse S. (Editores) (2004). A Primer of Genome Sequence. Segunda Edición. Sinauer Associates.

- Glesmann L., Martina P., Méndez M., Catanesi C. (2011). High Genetic Variation in Y Chromosome Patterns of the Mocoví Population. *Rev. Mus. Antropol.* 4: 179-186.
- Glesmann L., Martina P., Catanesi C. (2013). Genetic variation of X-STRs in the Wichí population from Chaco province, Argentina. *Hum. Biol.* 85(5): 687-98.
- Goodman S. (1997). R_{st} Calc: a collection of computer programs for calculating estimates of genetic differentiation from microsatellite data and determining their significance. *Molecular Ecology* 6: 881-885.
- Goicoechea A., Carnese F., Dejean C. et al. (2001). Genetic relationships between Amerindian populations of Argentina. *Am. J. Phys. Anthropol.* 115(2): 133-143.
- Gualdieri B. (2004). Apuntes sociolingüísticos sobre el pueblo mocoví de Santa Fe. *Actas del Primer Simposio Internacional sobre Bilingüismo y Educación Bilingüe en Latinoamérica (BilingLatAm)* Buenos Aires, Argentina 119-129pp.
- Guarino G. (2006). Los Tobas de la ciudad de Resistencia: El desafío de vivir en los márgenes. *Cuaderno Urbano N° 5*, pp. 35-54, Resistencia, Argentina.
- Gusmão, L., C. Alves, P. Sánchez-Diz, et al. (2008). Results of the GEP-ISFG collaborative study on an X-STR Decaplex. *Forensic Sci. Int.: Genetics S Series* 1: 677-679.
- Gusmão, L., P. Sánchez-Diz, C. Alves, et al. (2009). A GEP-ISFG collaborative study on the optimization of an X-STR decaplex: data on 15 Iberian and Latin American populations. *Int. J. Legal Med.* 123(3): 227-234.
- Gusmão L., Alves C., Gomes I., Sánchez-Diz P. (2012). Capillary electrophoresis of an X-chromosome STR decaplex for kinship deficiency cases. *Methods Mol Biol.* 830:57-71.
- Hartl D., Clark A. (2007). Principles of Population Genetics. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts.
- Harris E. & Meyer D. (2006). The Molecular Signature of Selection Underlying Human Adaptations. *Am. J. Phys. Anthropol. Suppl.* 43:89-130.

- Hubisz, M., Falush, D., Stephens, M., and Pritchard, J. (2009). Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol Ecol Resour.* 9(5):1322-1332
- Hudson R. (1990). Gene genealogies and the coalescent process, pp1-44 en Oxford Surveys in Evolutionary Biology, *editado por Futuyama y Antonovics*. Oxford University Press, Nueva York, USA.

- Ibarra A, Restrepo T, Rojas W, Castillo A, Amorim A, *et al.* (2014). Evaluating the X Chromosome-Specific Diversity of Colombian Populations Using Insertion/Deletion Polymorphisms. *PLoS ONE* 9(1): e87202. doi:10.1371/journal.pone.0087202

- Kimura M. (1985) The Neutralis theory of molecular evolution. Cambridge university Press, Cambridge.

- Kimura M., Ohta T. (1971). Theoretical aspects of population genetics. Princeton, N.Jersey.

- Kittles R., Perola M., Peltonen L., Bergen W., Aragon R., Virkkunen M., Linnoila M., Goldman D., Long J. (1998). Dual Origins of Finns Revealed by Y Chromosome Haplotype Variation. *Am. J. Hum. Genet.* 62: 1171-1179.

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

- Leite F., Santos S., Rodríguez E., Callegaret *et al.* (2009). Linkage Disequilibrium Patterns and Genetic Structure of Amerindian and Non-Amerindian Brazilian Populations Revealed by Long-Range X-STR Markers. *Am. J. Phys. Anthropol.* 139:404–412.

- Lewin B. (1998) Genes VI. *Ed. Oxford University Press*. Oxford, Inglaterra.

- Lewin B. (2001) Genes VII.*Ed. Oxford University Press*. Oxford, Inglaterra.

- Li C. (1976). First course in population genetics. Boxwood, Pacific Grove, CA.

- Luque-Cabrera J., Herráez Sánchez A. (2002) Biología Molecular e Ingeniería Genética.*Ed. Elsevier Sciencie*. Madrid, España.

- Maeder E. (2012) Historia del Chaco. Editorial ConTexto. Resistencia, Chaco. 299pp total

- Martínez Sarasola C. (2004). Las comunidades que ocupaban nuestro territorio en el siglo XVI. Nuestros Paisanos los Indios. Vida, historia y destino de las comunidades indígenas en la Argentina. Editorial EMECE, Buenos Aires, Argentina. I:77-82.

- Martínez-Sarasola Carlos, 2005. Nuestros paisanos los indios. Editorial EMECE, Buenos Aires, Argentina. 256pp total.

- Méndez M., Ferrarino S., Pan M. (2003). Ecología de la fertilidad en trece etnias del Gran Chaco Sudamericano. Quaderni di Thule 2. Centro Studi Americanistici "Circolo Amerindiano", Perugia, Italia 675-681.

- Mielke James H. and Fix Alan G. (2007). The confluence of Anthropological Genetics and Anthropological Demography. Anthropological Genetics. Editor: Michael Crawford. Cambridge University Press, New York. (5):113,124,125,217.

- Mills R., Luttig C., Larkins C., Beauchamp A., Tsui C., Pittard W., Devine S. (2006). An initial map of insertion and deletion (INDEL) variation in the human genome. Genome Res. 16(9): 1182-90.

- Montani R. (2008). La etnicidad de las cosas entre los wichís del Gran Chaco. *INDIANA* 25: 117-142.

- Mullis K. (1990). Reacción en cadena de la polimeraza. *Investigación y Ciencia*, 30-37.

- Mulligan C., Hunley K., Cole S., Long J. (2004). Population genetics, history, and health patterns in native Americans. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 5: 295-315.

- Nei M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, N. York.

- Naumann M. (2006): Atlas del Gran Chaco Sudamericano. Sociedad Alemana de cooperación Técnica (GTZ). ErreGé & Asoc. Buenos Aires. 92 pp.

- Parolin M., Carnese F. (2009). HLA-DRB1 alleles in four Amerindian populations from Argentina and Paraguay. *Genet. Mol. Biol.* 32 (2): 212-219.

- Paz N., Schlatter A., Letiz G., Ferrer M. (2003) Caracterización molecular de poblaciones locales de maíz. Publicación de INTA-Pergamino (Buenos Aires, Argentina) Revista de Investigaciones Agropecuarias: http://inta.gov.ar/pergamino/info/documentos/t_maiz/astirc14.htm.

- Perusset M. y Rosso C. (2009). Guerra, canibalismo y venganza colonial: los casos mocoví y guaraní. *Memoria Americana* 17 (1): 61-83.

- Pritchard J., Stephens M., Donnelly P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945–959.

- Pritchard J.K., Wena X., Falush D. (2010). Documentation for structure software: Version 2.3. Department of Human Genetics University of Chicago, & Department of Statistics University of Oxford.

- Resque R., Freitas Ndo S., Rodrigues E., *et al.* (2010). Estimates of Interethnic Admixture in the Brazilian Population Using a Panel of 24 X-Linked Insertion/Deletion Markers. *Am. J. Hum. Biol.* 22(6):849-52.

- Ribeiro Rodrigues E., Dos Santos N., Campos Ribeiro dos Santos A., *et al.* (2009). Assessing Interethnic Admixture Using an X-Linked Insertion-Deletion Multiplex. *Am. J. Hum. Biol.* 21:707–709.

- Ribeiro-Rodrigues E., de Jesus Brabo Ferreira Palha T., Auler Bittencourt E., Ribeiro-dos-Santos A., Santos S. (2011). Extensive survey of 12 X-STRs reveals genetic heterogeneity among Brazilian populations. *Int. J. Legal Med.* 125:445–452.

- Rondón F., Oosorio J., Peña A., Garcés H., Barreto G. (2008). Diversidad genética en poblaciones humanas de dos regiones colombianas. *Colomb Med.* 39 (Supl 2): 52-60

- Sala A., Penacino G., Corach D. (1998). Comparison of Allele Frequencies of Eight Str loci from Argentinian Amerindian and European Populations. *Hum. Biol.* 70 (5): 937-947.

- Sala A., Marino M., Bobillo M., Corach D. (2006). Evaluación de la correlación entre atributos genéticos y apellidos: características de STRs autosómicos en individuos con apellido mapuche y europeo. *Rev. Arg. Antrop. Biol.* 8(1): 9-21.

- Salzano F. and Bortolini M. (2002). The Evolution and Genetics of Latin American Populations. *Cambridge University Press, Cambridge*, 512 pp.
- Sambrook J., Fritsch E., Maniatis T. (1989). *Molecular Cloning a laboratory Manual*. 2nd Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring harbor, N.Y.
- Schneider S., Roessli D., Excoffier L. (2000). Arlequin ver. 2.0: a software for population genetics data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, Univ. of Ginebra, Suiza.
- Seldin M., Tian C., Shigeta R., et al. (2007). Argentine Population Genetic Structure: Large Variance in Amerindian Contribution. *Am. J. Phys. Anthropol.* 132(3):455-62.
- Sevini F., Yao D., Lomartire L., Barbieri A., Vianello D., et al. (2013). Analysis of Population Substructure in Two Sympatric Populations of Gran Chaco, Argentina. *PLoS ONE* 8(5): e64054. doi:10.1371/journal.pone.0064054
- Shriver M., Jin L., Boerwinkle E., Deka R., Ferrel R., Chakraborty R. (1995). A Novel Measure of Genetic Distance for Highly Polymorphic Tandem Repeat Loci. *Mol. Biol. Evol.* 12 (5): 914-920.
- Solá M. (2009). Región Chaqueña: Wichís. Aborígenes Argentinos. Región Chaqueña. Editorial Gradifco, Buenos Aires, Argentina 44-51pp.
- Strickberger M. (1976) *Genética, Ed. Omega*, Barcelona.
- Stewart C. (1993). The powers and pitfalls of parsimony. *Nature* 361: 603-607.
- Szibor R., Krawczak M., Hering S., Edelmann J., Kuhlisch E., Krause D. (2003). Use of X-linked markers for forensic purposes. *Int. J. Legal Med.* 117(2):67-74.
- Szibor R. (2007). X-chromosomal markers: Past, present and future. *Forensic Sci. Int.-Genet.* 1: 93-99.
- Tissera R. d. I. M. (2008). Chaco, Historia General. Subsecretaría de Cultura, Min. De Educación, Cultura, Ciencia y Tecnología de la provincia de Chaco. Librería de la Paz, Resistencia, Chaco, Argentina, 46, 401, 404.

- Turret, N., J. López Camelo, L. Vidal-Rioja. (1999). Allele frequencies of six STR loci in Argentine populations. *J. Forensic Sci.* 44(6): 1265-1269.
- Turret, M.N., C.I. Catanesi, L.B. Vidal Rioja. (2000). Variability of the F13B locus in South American Populations. *Hum. Biol.* 72 (4): 707-714.
- Toscanini U., Gusmão L., Berardi G., *et al.* (2008). Y chromosome microsatellite genetic variation in two Native American populations from Argentina: Population stratification and mutation data. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2(4): 274-80.
- Underhill P., Jin L., Zemans R., Oefner P., Cavalli-Sforza L. (1996). A pre-Columbian Y chromosome-specific transition and its implications for human evolutionary history. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93, *Genetics*: 196-200.
- Valls A. (1985). Introducción a la Antropología. Fundamentos de la evolución y la variabilidad biológica del Hombre. *Ed. Labor Universitaria, Barcelona.*
- Vidal A. (2006). Cambio lingüístico en situaciones de contacto multilingüe: Los pilagá y los wichí de la provincia de Formosa (Argentina). *Indiana* 23: 171-198.
- Walsh P., Metzgr D., Higuchi R. (1991). Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques* 10, 4:506-513.
- Weber J., David D., Heil J., Fan Y., Zhao C., Marth G. (2002). Human Diallelic Insertion/Deletion Polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 71:854–862.

9.2 REFERENCIAS ELECTRONICAS:

- ChrX-STR.org 2.0: <http://www.chrx-str.org/>

- Criollo Rayo A. (2012). Caracterización molecular de la variación genética en cuatro etnias indígenas (Pijao, Paez, Embera y Zenu) y dos poblaciones mestizas de Colombia (Tolima y Cordoba) mediante marcadores del mDNA, NRY y AIMs. Ibagué: Universidad de Tolima. 167pp. <http://ut-repositorio.metabiblioteca.org/handle/001/1087>

- de Godoy M. (2003), Historia y evolución de la sociedad chaqueña. En: <http://www.chaco.gov.ar/Cultura/leopoldo%20marechal/marechal1.htm>

- Encuesta Complementaria de Pueblos Indígenas (ECPI) 2004-2005: http://www.indec.gov.ar/micro_sitios/webcenso/ECPI/index_ecpi.asp

- Historia de Resistencia: http://www.mr.gov.ar/v2/sitio/html/paginas.php?pag_id=1

- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos: Censo poblacional 2001: http://www.indec.mecon.ar/micro_sitios/webcenso/publicados.asp

- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos: Censo poblacional 2010: <http://www.censo2010.indec.gov.ar/index.asp>

- Ministerio del interior: http://www.mininterior.gov.ar/migraciones/museo/museo_el_camino.htm

- Primer3 Software Distribution: http://www-genome.wi.mit.edu/genome_software/other/primer3.html

- Primer Blast: www.ncbi.nih.gov.

- Prism 5 for Windows. 1992-200 GraphPad Software inc. All rights reserve.

- US National Library of Medicine National Institutes of Health (Pubmed): <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>

- Rodríguez de Llamas V.; Bruno V. C., (2006). "Chaco Seco" de la Fundación de Historia Natural Félix de Azara. www.ambiente.gov.ar/.../Plan_de_manejo_PPFE_Indice-Capitulo_I.pdf

- The ALlele FREquency Database (ALFRED): <http://alfred.med.yale.edu/alfred/>