

Patrones de frecuencias en 100 marcadores informativos de ancestría entre dos etnias indígenas y dos poblaciones mestizas de Colombia.

Frequency pattern analysis of 100 ancestry informative markers between two ethnics groups and two populations of Colombia.

Ángel Criollo-Rayó^{1*}, Carlos Puentes¹, Mabel Bohórquez¹, Ángel Carracedo², Luis Carvajal³, Ian Tomlinson⁴, Consorcio CHIBCHA⁵, María Magdalena Echeverry¹.

- ¹. Grupo de Citogenética, Filogenia y Evolución de Poblaciones, Facultades de Ciencias y Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad del Tolima. Ibagué, Colombia.
- ². Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica (SERGAS)-CIBERER, Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España. Angel.carracedo@usc.es.
- ³. Genome Center, Department of Biochemistry and Molecular Medicine, School of Medicine- University of California, Davis. GBSF, 451 Health Science Drive Davis, California. 95616-8816. USA.
- ⁴. The Wellcome Trust Centre for Human Genetics, University of Oxford, Reino Unido.

Recibido: Agosto 10 del 2019

Aceptado: Noviembre 20 del 2019

*Correspondencia del autor: Ángel Alejandro Criollo Rayó

E-mail: kwv626@gmail.com

Resumen

Colombia es el segundo país con mayor cantidad de etnias Amerindias del continente gracias a su ubicación geográfica y a que se encuentra en el Noroccidente del continente Sur Americano tuvo que haber sido un corredor para las migraciones de los Amerindios. Pero debido a la mezcla amerindia, europea y africana, ocurrida en diferentes proporciones a lo largo del país hubo cambios en las dinámicas poblacionales. **Ojetivo:** se caracterizó molecularmente una muestra indígena proveniente de dos etnias – Pijao y Nasa Paez, - y otra muestra de individuos mestizos no relacionados del Tolima; con el fin de identificar heterocigocidad, frecuencias alélicas y distancias Fst, mediante el análisis de 100 marcadores informativos de ancestría (SNPs autosómicos). **Metodología:** Para la realización de este estudio se obtuvo ADN a partir de muestras de sangre tomadas en personas indígenas y mestizas de las regiones ya mencionadas, para tipificar 100 SNPs autosómicos o Marcadores de informativos de Ancestría (AIMs). **Resultados:** los análisis de la Heterocigocidad (Het) mostraron que los valores bajos se presentaban en las etnias indígenas Nasa (0,181) y Pijaos (0,250), mientras que los de Planadas (0,402) e Ibagué (0,415) presentaron los valores altos. Los análisis realizados de manera global mostraron que las poblaciones del Tolima son menos heterocigotas que las poblaciones ancestrales. **Conclusiones:** La población nativa Nasa, es la de mayor conservación de la variación nativa ancestral reflejada con los análisis de heterocigocidad y posee una mayor distancia genética con respecto a las poblaciones mestizas.

Palabras clave: Heterocigocidad, Distancia genética, Marcadores informativos de ancestría, Indígenas, Mestizos.

Abstract

Colombia is the second country with the largest number of amerindian ethnic groups on the continent thanks to its geographical location and that it is located in the Northwest of the South American continent, it had to have been a corridor for the Amerindian migrations. But due to the Amerindian, European and African mix, which occurred in different proportions throughout the country, there were changes in population dynamics. **Objective:** an indigenous sample from two ethnic groups - Pijao and Nasa Paez, was molecularly characterized - and another sample of unrelated mestizo individuals from Tolima; to identify heterozygosity, allelic frequencies and Fst distances, by analyzing 100 informative markers of ancestry (autosomal SNPs). **Methodology:** To carry out this study, DNA was obtained from blood samples taken in indigenous and mestizo people from the aforementioned regions, to type 100 autosomal SNPs or ancestry informative markers (AIMs). **Results:** Heterozygous (Het) analyzes showed that low values were presented in the Nasa (0,181) and Pijaos (0,250) indigenous ethnic groups, while those of Planadas (0,402) and Ibagué (0,415) presented high values. Analyzes performed globally showed that Tolima populations are less heterozygous than ancestral populations. **Conclusions:** The Nasa native population is the one with the greatest conservation of the ancestral native variation reflected with the heterozygous analyzes and has a greater genetic distance concerning the mestizo populations.

Keywords: Heterozygosity, genetic distance, informative markers of ancestry, indigenous, mestizos.

Introducción

El conocimiento de la ancestría biogeográfica, el grado de la mezcla genética y la estructuración poblacional es relevante para los estudios de asociación genética (1), así como también el análisis de migraciones y poblamiento (2–5), principalmente en regiones como la latinoamericana, donde ha ocurrido un proceso reciente de mezcla intercontinental. El estudio de marcadores genéticos ha permitido conocer el comportamiento en los sistemas genéticos de las diversas poblaciones humanas con fines identificativos. Se han realizado diferentes estudios sobre genética de poblaciones que han revelado distintos aspectos sobre las migraciones humanas a lo largo de la historia (6,7). Estos estudios en conjunto han demostrado que la variación regional en la historia demográfica y la biogeografía juegan un papel importante en la estructura genética de las poblaciones latinoamericanas.

La población colombiana posee una diversidad étnica reconocida y distribuida diferencialmente en todo su territorio (8). Se ha encontrado que estas diferencias regionales pueden estar relacionadas con la distribución de los principales componentes genéticos ancestrales que hacen parte de los colombianos, como el amerindio, el europeo y el africano (9,10). Los análisis de los

Marcadores Informativos de Ancestrías (AIMs), en poblaciones Amerindias y Mestizas han sido de utilidad para dilucidar la historia del poblamiento de América, su estructura y diversidad genética (3,10–13). La importancia del uso de los AIMs radica en que es posible ver la distribución de la diversidad y las proporciones ancestrales en una población dada (9,14). En Colombia ya se han realizado estudios en los cuales se han analizado marcadores del ADN mitocondrial, marcadores de la región no recombinante del cromosoma Y, y AIMs de forma simultánea (15,16). Sin embargo, es necesario ampliar el número de marcadores para dilucidar la estructura, diversidad genética y proporciones ancestrales en una muestra de la población tolimense y cordobense, tanto nativa como la mezclada. Es por esto que este estudio cobra importancia, por un lado, para el conocimiento de la historia genética de la región, y por otro, para poder avanzar en el desarrollo de estudios de asociaciones genéticas, como el mapeo de la mezcla, que buscan genes vinculados con un estado ancestral particular. Esto, permitirá realizar inferencias acerca de la estructuración genética de las comunidades y correlacionarla con otras que poseen una historia demográfica diferente. De esta manera el estudio consistió en caracterizar molecularmente una muestra indígena proveniente de tres etnias – Pijao, Paez, y Embera - y otra muestra de individuos mestizos no relacionados del

Tolima y Córdoba; con el fin de identificar, heterociguidad, frecuencias alélicas y distancias genéticas Fst, mediante el análisis de 100 marcadores informativos de ancestría (SNPs autosómicos).

Materiales y métodos

Poblaciones y muestras.

Permiso ético y consentimiento informado. Para obtener las muestras de sangre, necesarias para la realización de los estudios genético-moleculares, se requirió primero la aprobación del proyecto y de los consentimientos informados, ante el comité de bioética de la universidad del Tolima.

Se diseñaron dos tipos de consentimientos informados (CI) para las muestras indígenas: el CI individual, firmado por la persona donante de la muestra y el CI comunitario, firmado por el líder de la comunidad indígena. Para los casos de la población general o no-indígena, se empleó un tercer formato de CI. Adicionalmente se diseñó una entrevista para indagar acerca de la historia familiar del donante.

Se tomaron muestras de sangre en tres comunidades indígenas, el resguardo de la etnia Nasa-Paez de Gaitania en Planadas-Tolima, el resguardo Pijao Lomas de Hilarco en Coyaima-Tolima, el resguardo Pijao Guatavita Tua en Ortega-Tolima. De igual manera, se tomaron muestras de sangre a personas de la población general, en municipios o localidades cercanas a los resguardos o cabildos indígenas, con el objeto de analizar el flujo genético y efectos de continuidad genética. Todas las muestras se almacenaron en el laboratorio de Citogenética, Filogenia y Evolución de Poblaciones de la Universidad del Tolima.

Selección de Individuos no emparentados y grupos familiares. Con base en las entrevistas realizadas en campo, se elaboró una base de datos con la información personal y familiar. De esta manera se establecieron los grupos familiares que componían la muestra de cada población. Posteriormente, se seleccionó un grupo de individuos no emparentados por población, los cuales fueron incluidos para los análisis genético-moleculares.

Poblaciones de referencia. Para los análisis de ancestría genética mediante AIMs, fue necesario contar con datos genotípicos de poblaciones de referencia indígena, europea, africana y asiática, para obtener la estructura genética más probable, en vista de que algunas se

contemplan como posibles poblaciones parentales de aquellas analizadas. Los genotipos fueron obtenidos de las bases de datos del proyecto 1000 genomas.

Extracción, cuantificación y dilución del ADN. Una vez se definieron los grupos familiares y el conjunto de individuos no emparentados, se procedió a realizar la extracción y cuantificación de ADN en el laboratorio de Citogenética, Filogenia y Evolución de Poblaciones de la Universidad del Tolima. Para los Nasa (n=96), Pijao (n=52), población general de Ibagué (n=116), Ortega (n=44), Planadas (n=47). A partir de la muestra de sangre, se extrajo DNA genómico total mediante el equipo automatizado Maxwell 16 -*Human Whole Blood Genomic DNA* (Promega tested)- empleando el kit Maxwell -16 *blood DNA purification*- (cat. AS1010). La cuantificación se hizo mediante nanodrop ND-2000, se verificó que la concentración de cada muestra estuviera por encima de 10 ng/ μ l, al igual que la calidad (relación 260/280 entre 1.7 y 1.9). Para la genotipificación de los marcadores, las muestras de DNA se prepararon en platos de 96 pozos a concentración de 20 ng/ μ l en el *Wellcome Trust Centre for Human Genetics* de la Universidad de Oxford-UK. Todas las muestras se organizaron en 6 platos (96-Well PCR Plate, THERMO- AB-2396).

Marcadores Genéticos y Genotipificación. Se seleccionaron 100 SNPs autosómicos bialélicos a partir de un conjunto de 446 que hacen parte del panel LACE, diseñado por la *Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica (SERGAS)-CIBERER*, Universidad Santiago de Compostela-España. Este panel proporciona un conjunto de marcadores con capacidad para distinguir entre las tres poblaciones ancestrales de los latinoamericanos, es decir los Ami, Afr y Eur, debido a que presentan amplias diferencias en las frecuencias interpoblacionales (17).

La genotipificación de los AIMs se realizó mediante la plataforma de Sequenom MassARRAY iPLEX (18,19), estandarizada en la *Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica (SERGAS)-CIBERER*, Universidad Santiago de Compostela - Galicia, España. Esta plataforma permite dos niveles de especificidad, primero un PCR locus-específico (PCR de amplificación), y segundo, una reacción de extensión de cebadores SNP-específica (ensayo iPLEX), en la cual el primer oligonucleotídico anilla inmediatamente corriente arriba del SNP que se va a genotipificar. Una ventaja de este método es que se pueden amplificar y extender en un mismo volumen de reacción por muestra desde 1 a 40 SNPs

simultáneamente.

Análisis estadísticos. Los datos genotípicos de los AIMs se organizaron en dos archivos formato de texto plano para el programa Plink, el .ped (ID familia, ID individuo, ID padre, ID madre, sexo y fenotipo en filas y en columnas los genotipos) y el archivo .map (código de los SNPs, cromosoma y posición). En Plink se realizó el control de calidad de los datos genotípicos excluyendo aquellos individuos con menos del 5% de datos y posteriormente se excluyeron los SNPs con menos del 5% de datos.

También se calculó mediante el programa plink y R, la heterocigocidad esperada y la observada y las frecuencias genotípicas. Se calcularon los valores para la heterocigocidad, las matrices pareadas de valores F_{st} interpopulacionales.

Las proporciones de ancestría individual y poblacional se calcularon mediante el uso de los métodos aplicando los algoritmos de agrupación Bayesiana aplicados en el programa STRUCTURE v 2.3.3.

Resultados

Se obtuvieron los genotipos de 355 individuos del Toli-

ma para los 100 AIMs. Después de esto los datos fueron guardados en formatos .ped y .map para ser usados en el programa PLINK, a los cuales se les realizó el control de calidad para sacar del estudio aquellos individuos y SNPs con más del 10% de datos genotípicos faltantes. Posterior al control de calidad, 36 (10,14%) individuos fueron excluidos y se realizaron los análisis a 319 individuos.

Patrones de frecuencias en las poblaciones. En la figura 1 se aprecia la distribución de las frecuencias de cada uno de los alelos para los 100 AIMs en las muestras poblacionales indígenas (Pijao y Nasa) y las mestizas (Ibagué, Ortega y Planadas) del Tolima, contrastándolas con las poblaciones europeas, y africanas del proyecto 1000 genomas. Las poblaciones parentales (IND, EUR y AFR) siguieron un patrón bimodal, y después de analizar los parámetros de distribuciones mixtas, se hallaron las medias para cada pico en IND (media1=0,089, media2=0,73, Loglik=42,47), EUR (media1=0,149, media2=0,68, Loglik=22,78) y AFR (media1=0,078, media2=0,87, Loglik= 32,28). En el caso de la muestra mestiza, la distribución presentó un pico con media 0,4, no solapado a las poblaciones parentales (Fig. 1).

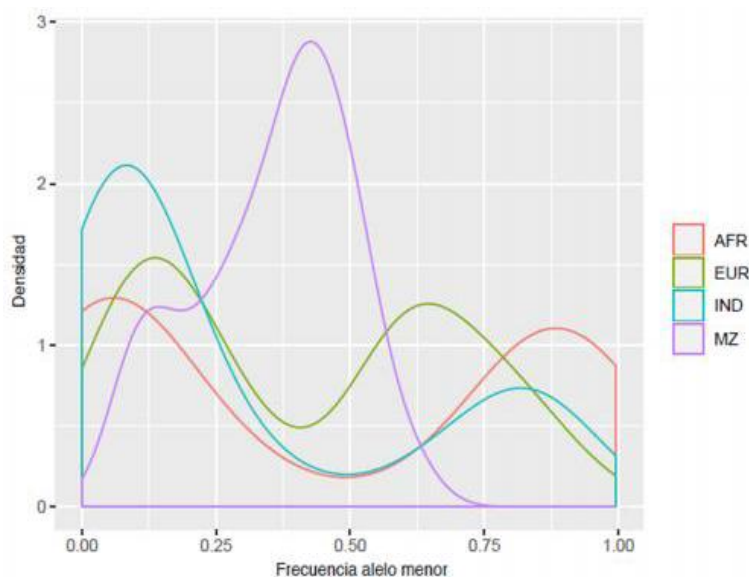


Figura 1: Perfil de distribución de las frecuencias alélicas de 100 AIMs en poblaciones mestizas del Tolima (MZ), indígenas (IND), comparadas con las poblaciones africanas (AFR) y europeas (EUR) de 1000 genomas. Las curvas se obtuvieron mediante un estimador no paramétrico de la densidad kernel en R (método gaussiano implementado ggplot2). Fuente: Los autores

Aunque las poblaciones parentales muestran distribuciones similares, los marcadores que están aportando a cada pico de densidad son distintos; por ejemplo, en la figura 2 se aprecia el número de SNPs con una frecuencia del alelo menor $< 0,5$ que están compartidos o no entre indígenas, europeos y africanos (Fig. 2). Se observó en los indígenas, que de los 100 SNPs analizados 73 se encontraron con una frecuencia menor a $0,5$, de los cuales 34 fueron compartidos con los africanos y 25 con los europeos, por tener la misma tendencia de frecuencia menor. Solo un SNP común a las tres muestras, presentó una frecuencia menor a $0,5$.

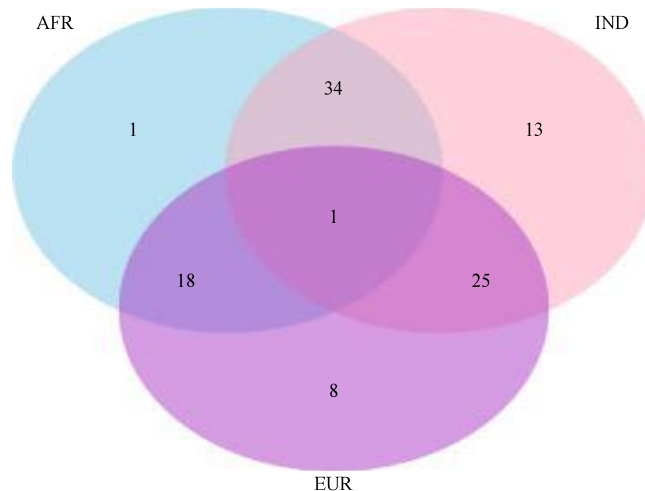


Figura 2. Número de SNPs que presentaron una tendencia similar en cuanto a su frecuencia, comparando los indígenas (IND) del presente estudio, con las poblaciones africanas (AFR) y europeas (EUR) de 1000 genomas. Fuente: Los autores

Posteriormente se formaron parejas de coordenadas basadas en las frecuencias de uno de los alelos para cada SNP analizado, entre pares de poblaciones, como se muestra en la figura 3. Las comparaciones muestran que las frecuencias de los SNPs empleados son opuestas, razón por la cual las frecuencias pareadas entre poblaciones se distribuyen en las esquinas del plano cartesiano (Fig. 3a). Cuando se observó a la muestra mestiza, las frecuencias pareadas con IND (Fig. 3b) y con EUR (Fig. 3c), mostraron una variación continua.

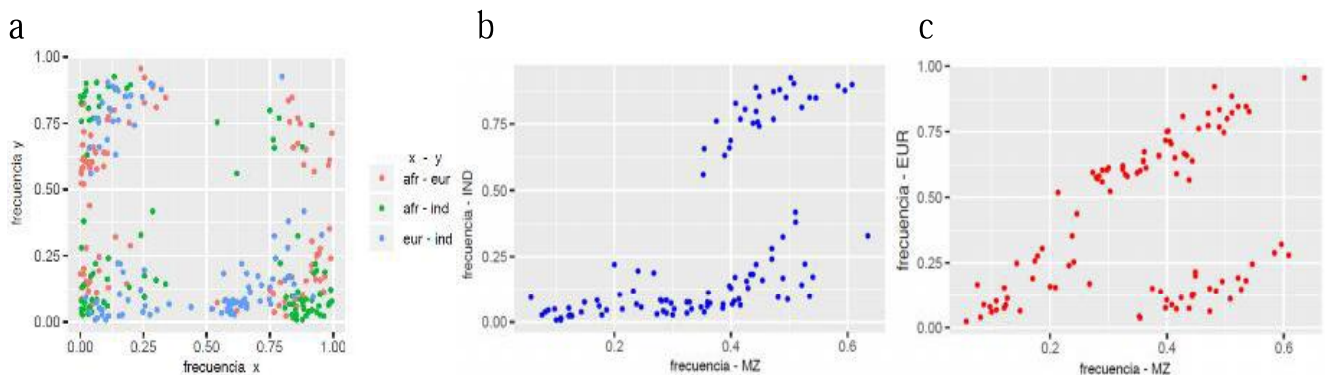


Figura 3. Comparaciones de frecuencias pareadas entre poblaciones parentales (a) o entre los mestizos con los indígenas (b), y con los europeos (c).

Diversidad genética autosómica. Se realizaron los análisis de la Heterocigidad (Het) en PLINK y en R. En la figura 4 se observa que los indígenas muestreados en el Tolima presentaron una menor heterocigidad observada (Nasa=0,18, Pijao=0,25), comparada con los mestizos de la misma región (Ibague=0,415, Ortega=0,39 y Planadas=0,402) (Fig. 1a). Al tener en cuenta a todas las poblaciones, los africanos presentaron la menor heterocigidad (0,16), mientras que en los europeos fue mayor a los indígenas, pero menor que en los mestizos (0,32).

Las curvas de densidad del kernel, para las heterocigocidades observadas mostraron a las poblaciones mestizas separadas de la indígena Nasa, mientras que los Pijao presentaron patrones intermedios (Fig. 4b). Las diferencias de medias se analizaron mediante una prueba de t, corregida por Bonferroni (Tabla 1). La muestra indígena Nasa se diferenció significativamente de todas las demás poblaciones, excepto de la africana, mientras que las poblaciones mestizas entre sí no se diferenciaron significativamente. La muestra poblacional europea también se mostró significativamente diferente de las demás poblaciones (Tabla 1).

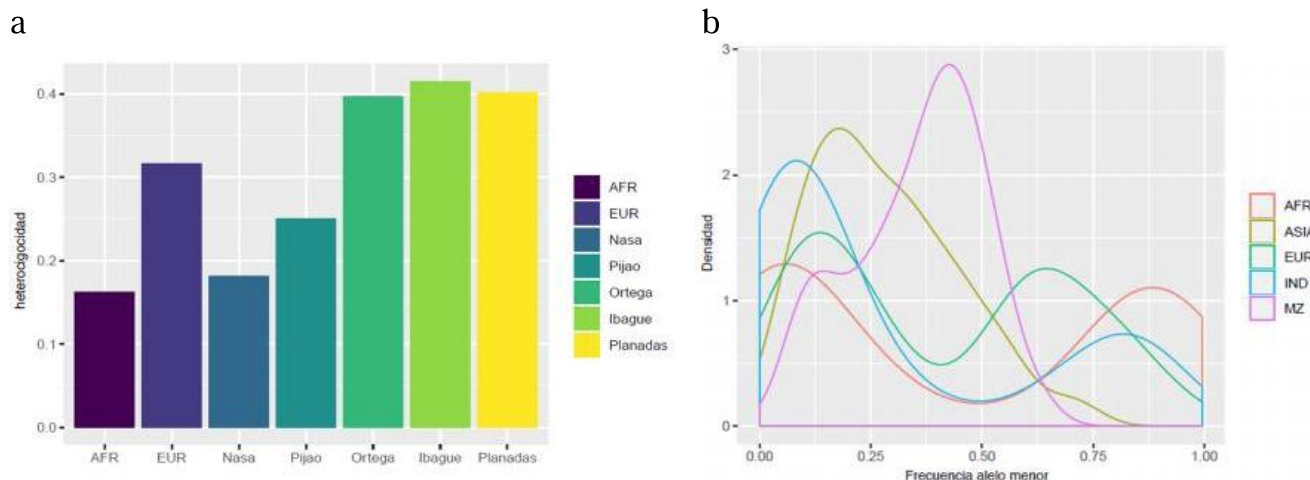


Figura 4. Heterocigüedad observada en las muestras del presente estudio y en las europeas y africanas. Comparación entre poblaciones parentales y mestizas (a); curvas de densidad de kernel obtenida mediante un estimador no paramétrico en R (método gaussiano implementado ggplot2-R) (b). Fuente: Los autores.

Diferenciación entre poblaciones (Fst). De acuerdo a los datos obtenidos de las medias de distancias genéticas Fst por poblaciones pareadas, se obtuvo que las poblaciones más cercanas genéticamente son las de África-Europa y las más lejanas son las de África-Asia y Tolima-Asia (Fig. 5).

Tabla 1. Valores *p* de la prueba de t pareada entre poblaciones, para comparar la heterocigüedad observada. En negrilla se resaltan los valores significativos.

	AFR	EUR	Ibagué	Nasa	Ortega	Pijao
EUR	3,49e-15					
Ibagué	1,68e-37	1,68e-06				
Nasa	1	7,37e-12	1,08e-32			
Ortega	8,28e-33	2,47e-04	1	3,19e-28		
Pijao	3,67e-05	6,34e-03	2,83e-17	3,50e-03	7,81e-14	
Planadas	4,2e-34	6,68e-05	1	1,88e-29	1	9,13e-15

Fuente: los autores

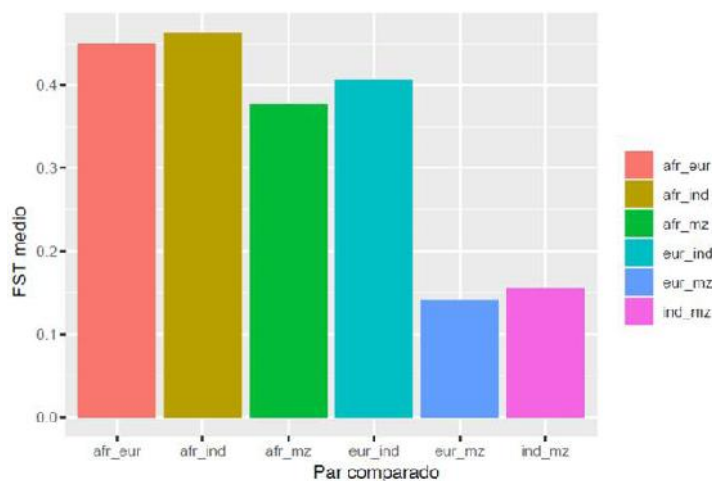


Figura 5. Valores Fst entre pares de poblaciones indígenas (IND) y mestizas (MZ) del Tolima, con las europeas (EUR) o africanas (AFR) de 1000 genomas. Fuente: Los autores

Al comparar las distancias F_{st} entre las poblaciones del Tolima (indígenas y mestizos), con africanos y europeos, se puede observar una alta diferenciación entre los africanos y el resto de las poblaciones ($F_{st_{EUR-AFR}}=0,45$, $F_{st_{IND-AFR}}=0,46$, $F_{st_{MZ-AFR}}=0,38$); mientras que las diferencias más bajas se encontraron entre los mestizos comparados con los europeos ($F_{st}=0,141$) o indígenas (Nasa y Pijaos juntos) ($F_{st}=0,156$). Analizando las distancias F_{st} entre las poblaciones mestizas del Tolima, en general fueron menores a 0,05 ($F_{st_{Ibague-Ortega}}=0,0075$, $F_{st_{Ibague-Planadas}}=0,0049$, $F_{st_{Ortega-Planadas}}=0,00079$), valor que se considera de diferenciación poblacional muy baja (20); en cuanto a las comparaciones entre Nasa y Pijaos, los niveles de diferenciación fueron muy bajos también ($F_{st}=0,27$).

Discusión

América fue el último continente en ser colonizado por los humanos modernos y muy probablemente los ancestros asiáticos llegaron a través del estrecho de Bering, la porción de tierra que conecta Asia y América en algunos periodos estacionales, los asentamientos más antiguos de Norte y Sur América datan desde 14.500 años (21). Esto condujo al desarrollo de nuevas culturas y lenguas, restringiendo el contacto entre diferentes grupos poblacionales indígenas, disminuyendo así el flujo genético y por lo tanto incrementando la diferenciación entre los grupos (22,23). Posteriormente el contacto europeo, causó casi el colapso total de la población nativa, muchos grupos enteros desaparecieron, ocurrió fusión de etnias y mezcla genética con grupos no-indígenas (24). Cada una de estas fases ha tenido profundos efectos, incluso con la posibilidad de haber transformado o eliminado las huellas genéticas de sucesos antiguos.

Los 100 marcadores informativos de ancestría -AIMs-, ofrecen un panorama genómico global de la variación, ya que estos están distribuidos por todo el genoma humano. El patrón de diversidad obtenido con los SNPs autosómicos define e integra con alta resolución, algunos patrones de diversidad detectados aisladamente por línea materna o paterna, como ya ha sido previamente estudiado (25). Las poblaciones indígenas del Tolima muestran reducidos niveles de diversidad con relación a los

mestizos; este patrón compartido de los indígenas los hace cercanos, formando un grupo separado de las demás poblaciones analizadas y estrechamente vinculado entre sí, como lo demuestra el análisis de distancias F_{st} (baja distancia genética entre los Nasa y Pijaos, $F_{st}=0,027$). Esta reducción de diversidad se puede haber originado como consecuencia de la deriva ocasionada por el aislamiento en regiones geográficas apartadas, como se ha observado en otros grupos indígenas de Suramérica (26). El aislamiento geográfico puede jugar un rol importante en el grado de diferenciación poblacional de los nasas y se ha visto que la baja heterocigocidad de poblaciones indígenas como los zapotecas, se debe a su aislamiento geográfico (27), es posible encontrar patrones similares en otras poblaciones nativas americanas (28). Los mestizos de Ibagué, Ortega y Planadas, que presentan una mezcla principalmente nativa indígena y europea (25), constituyen un grupo diferenciado, con diversidades altas, incluso es el de mayor cohesividad y cercanía genética, indicando que no existe algún proceso de estratificación entre ellos de acuerdo a lo obtenido en los datos de las medias de distancias F_{st} , perfiles de frecuencias y heterocigocidad.

Los marcadores autosómicos como los AIMs, son importantes para definir la estructura genética de las poblaciones, estos AIMs se seleccionaron con base en amplias diferencias en las frecuencias interpoblacionales y contemplaron un alto grado de información, los SNPs usados en el presente trabajo fueron tomados de un panel diseñado para establecer proporciones ancestrales en poblaciones latinoamericanas (17), y esto fue claramente representado por las diferencias extremas en las frecuencias entre las poblaciones consideradas parentales (europeos, africanos y nativos) de los mestizos tolimenses. Esto también se reflejó en la baja heterocigocidad en la muestra africana, europea y nativa americana, si se le compara con los mestizos; indicando una mayor proporción de homocigotos para los marcadores empleados.

Detectar las subdivisiones poblacionales basado en las frecuencias de los SNPs en las poblaciones amerindias no es sencillo, en un estudio realizado

en el cual se emplearon 2500 SNPs los autores encontraron un patrón poco definido o sin estructuración en grupos del Amazonas. Las poblaciones amerindias son similares entre ellas y es necesario realizar un diseño de paneles de marcadores que tengan diferencias intracontinentales (29). Por esta razón se hace necesario emplear nuevas metodologías para detectar subestructura dentro de los indígenas colombianos, que implique el análisis de haplotipos contruidos con un panel de SNPs más denso.

En conclusión, el estudio de la estructura genética en poblaciones mestizas e indígenas colombianas es relevante para conocer, por un lado, el impacto de la cultura y el ambiente en la diversidad genética, y por otro la historia demográfica. De igual forma, con un conocimiento detallado de los niveles de diversidad empleando sistemas multi locus, podrá analizarse el impacto del mestizaje en diversos rasgos fenotípicos de interés, dentro de los cuales se encuentran las variaciones en la susceptibilidad

a enfermedades complejas como el cáncer, la diabetes, entre otras enfermedades crónicas no transmisibles, para las que se desconoce cómo impacta el mestizaje genético en su heredabilidad.

Conflicto de intereses

No existe conflicto de interés en el presente trabajo.

Agradecimientos

A la Oficina de Investigaciones de la Universidad del Tolima, al Genome Center and Department of Biochemistry and Molecular Medicine de la Universidad de California-Davis, a la Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica (SERGAS)-CIBERER, Universidade de Santiago de Compostela, a The Wellcome Trust Centre for Human Genetics, University of Oxford, Reino Unido y a todos los integrantes del grupo de Citogenética, Filogenia y Evolución de Poblaciones de la Universidad del Tolima.

Referencias

1. Winkler CA, Nelson GW, Smith MW. (2010) Admixture Mapping Comes of Age. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 11:65–89.
2. Sandoval K, Moreno-Estrada A, Mendizabal I, Underhill PA, Lopez-Valenzuela M, Peñaloza-Espinosa R, et al. (2012) Y-chromosome diversity in Native Mexicans reveals continental transition of genetic structure in the Americas. *Am J Phys Anthropol.* 148:395–405.
3. Reich D, Patterson N, Campbell D, Tandon A, Mazieres S, Ray N, et al. (2012) Reconstructing Native American population history. *Nature.* p. 370–4.
4. Martínez-Cortés G, Salazar-Flores J, Gabriela Fernández-Rodríguez L, Rubi-Castellanos R, Rodríguez-Loya C, Velarde-Félix JS, et al. (2012) Admixture and population structure in Mexican-Mestizos based on paternal lineages. *J Hum Genet.* 57:568–74.
5. Salas A, Richards M, Lareu MV, Scozzari R, Coppa A, Torroni A, et al. (2004) The African Diaspora: Mitochondrial DNA and the Atlantic Slave Trade. *Am J Hum Genet.* 74:454–65.
6. Melton PE, Briceño I, Gómez A, Devon EJ, Bernal JE, Crawford MH. (2007) Biological relationship between Central and South American Chibchan speaking populations: Evidence from mtDNA. *Am J Phys Anthropol.* 133:753–70.
7. Beleza S, Alves C, Reis F, Amorim A, Carracedo A, Gusmão L. (2004) 17 STR data (AmpF/STR Identifier and Powerplex 16 System) from Cabinda (Angola). *Forensic Sci Int.* 141(2–3):193–6.
8. DANE. Colombia una nación multicultural: su diversidad étnica. Dirección de Censos y Demografía. 2006.

9. Rojas W, Parra MV, Campo O, Caro MA, Lopera JG, Arias W, et al. (2010) Genetic make up and structure of Colombian populations by means of uniparental and biparental DNA markers. *Am J Phys Anthropol.* 143(1):13–20.
10. Bryc K, Auton A, Nelson MR, Oksenberg JR, Hauser SL, Williams S, et al. (2010) Genome-wide patterns of population structure and admixture in West Africans and African Americans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 107(2):786–91.
11. Perego UA, Angerhofer N, Pala M, Olivieri A, Lancioni H, Kashani BH, et al. (2010) The initial peopling of the Americas: A growing number of founding mitochondrial genomes from Beringia. *Genome Res.* 20(9):1174–9.
12. O'Rourke DH, Raff JA. (2010) The Human Genetic History of the Americas: The Final Frontier. *Current Biology.* p. 202–7.
13. Schurr TG, Sherry ST. (2004) Mitochondrial DNA and Y chromosome diversity and the peopling of the Americas: Evolutionary and demographic evidence. *Am J Hum Biol.* 16(4):420–39.
14. Corach D, Lao O, Bobillo C, van Der Gaag K, Zuniga S, Vermeulen M, et al. (2010) Inferring continental ancestry of argentineans from autosomal, Y-chromosomal and mitochondrial DNA. *Ann Hum Genet.* 74(1):65–76.
15. Rondón F, Osorio JC, Peña ÁV, Garcés HA, Barreto G. (2008) Diversidad genética en poblaciones humanas de dos regiones Colombianas. *Colomb Med.* 39(2):52–60.
16. Rondón, F., Vallejo, G., Osorio, E., & Barreto G. (1999) Frecuencias haplotípicas mitocondriales en la comunidad Indígena Coyaima del departamento del Tolima, Colombia. *Rev Asoc Colomb Cienc Biol.* 11:45–53.
17. Galanter JM, Fernandez-Lopez JC, Gignoux CR, Barnholtz-Sloan J, Fernandez-Rozadilla C, Via M, et al. (2012) Development of a panel of genome-wide ancestry informative markers to study admixture throughout the americas. *PLoS Genet.* 8(3):1002554.
18. Serre D, Pääbo S. (2004) Evidence for gradients of human genetic diversity within and among continents. *Genome Res.* 14(9):1679–85.
19. Karafet TM, Mendez FL, Meilerman MB, Underhill PA, Zegura SL, Hammer MF. (2008) New binary polymorphisms reshape and increase resolution of the human Y chromosomal haplogroup tree. *Genome Res.* 18(5):830–8.
20. Wills C. (2007) Principles of Population Genetics, 4th edition. *J Hered.* 257–311.
21. Shastri BS. (2006) Role of SNPs and haplotypes in human disease and drug development. In: *BioMEMS and Biomedical Nanotechnology.* Springer; p. 447–58.
22. Hunley KL, Spence JE, Merriwether DA. (2008) The impact of group fissions on genetic structure in Native South America and implications for human evolution. *Am J Phys Anthropol.* 135(2):195–205.
23. Hunley K, Long JC. (2005) Gene flow across linguistic boundaries in Native North American populations. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 102(5):1312–7.
24. Mulligan CJ, Hunley K, Cole S, Long JC. (2004) Population genetics, history, and health patterns in native americans. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 5:295–315.
25. Criollo-Rayó AA, Bohórquez M, Prieto R, Howarth K, Culma C, Carracedo A, et al. (2018) Native American gene continuity to the modern admixed population from the Colombian Andes: Implication for biomedical, population and forensic studies. *Forensic Sci Int Genet.* 36:e1–7.
26. Catelli ML, Álvarez-Iglesias V, Gómez-Carbala A, Mosquera-Miguel A, Romanini C, Borosky A, et al. (2011) The impact of modern migrations on present-day multi-ethnic Argentina as recorded on the mitochondrial DNA genome. *BMC Genet.* 12:77.
27. Silva-Zolezzi I, Hidalgo-Miranda A, Estrada-Gil J, Fernandez-Lopez JC, Uribe-Figueroa L, Contreras A, et al. (2009) Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in Mexico. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 106(21):8611–6.
28. Li JZ, Absher DM, Tang H, Southwick AM, Casto AM, Ramachandran S, et al. (2008) Worldwide human relationships inferred from genome-wide patterns of variation. *Science (80-).* 319(5866):1100–4.
29. Kidd JR, Friedlaender F, Pakstis AJ, Furtado M, Fang R, Wang X, et al. (2011) Single nucleotide polymorphisms and haplotypes in Native American populations. *Am J Phys Anthropol.* 146(4):495–502.