

Estimación del mestizaje en dos poblaciones venezolanas usando marcadores informativos de ancestralidad y haplogrupos del ADN mitocondrial

Estimation of admixture in two Venezuelan populations using Ancestry Informative Markers and haplogroups of mitochondrial DNA

 Álvaro Rodríguez-Larralde¹ |  Sara Flores-Gutiérrez¹ |  Liana Fernández Gil¹ |  Irene Paradisi¹ |  Giulianna Antonelli¹ |  Dinorah Castro de Guerra^{1*}

1) Laboratorio de Genética Humana. Centro de Medicina Experimental. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Caracas. Venezuela.

REVISTA ARGENTINA DE ANTROPOLOGÍA BIOLÓGICA

Volumen 23, Número 1
Enero-Junio 2021

Financiamiento: IVIC- 152 y 154.

*Correspondencia a: Dinorah Castro de Guerra. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Carretera Panamericana Km11. 1020-A. Caracas. Venezuela.
E-mail: dinorah_castro@hotmail.com

RECIBIDO: 8 de Noviembre 2020

ACEPTADO: 11 Febrero 2021

DOI: [10.24215/18536387e035](https://doi.org/10.24215/18536387e035)

e-ISSN 1853-6387

<https://revistas.unlp.edu.ar/raab>

Entidad Editora
Asociación de Antropología Biológica
Argentina

Resumen

Los marcadores informativos de ancestralidad (AIM) autosómicos y los del ADN mitocondrial (ADNmt) son muy útiles para identificar el origen y los patrones de migración de las poblaciones. En este trabajo se estimó el mestizaje a partir de siete AIM en 188 individuos venezolanos, 84 del estado Guárico y 104 de la región centro occidental de Venezuela (RCO), se estimó la ancestralidad mitocondrial en el estado Guárico y se compararon ambas poblaciones según su origen y desarrollo histórico. Este estudio representa la primera aproximación a la composición genética de Guárico y es el primer reporte para Venezuela utilizando marcadores tipo AIM. Los resultados revelaron que los aportes amerindio y europeo predominan en estas poblaciones, pero el amerindio es mayor en Guárico (50,57%) que en RCO (44,92%), y el europeo lo es en RCO (38,46% vs. 33,72%). El origen del ADNmt en Guárico es de predominio amerindio (80%), tendencia similar a lo reportado para RCO (75%). El aporte amerindio en Guárico es el más alto reportado para Venezuela. Se concluye que las diferencias encontradas entre ambas muestras podrían deberse a la colonización más temprana de la RCO y a su desarrollo industrial moderado durante el siglo XIX. Así mismo, planteamos que los AIM aquí utilizados lograron una buena discriminación del aporte de los tres grupos ancestrales principales y que su uso simultáneo con polimorfismos de origen uniparental permite obtener, en forma económica, una mejor aproximación genética para explicar la dinámica del proceso

de mestizaje que dio origen a la población venezolana actual. *Rev Arg Antrop Biol* 23(2), 2021. doi: 10.24215/18536387e035

Palabras Clave: mestizaje, poblaciones venezolanas, marcadores de ancestralidad, ADN mitocondrial

Abstract

Ancestral informative markers (AIMs) and mitochondrial DNA (mtDNA) are highly useful to understand the origin of populations and their migration patterns. In this work, admixture was estimated using seven AIMs in 188 Venezuelan individuals, 84 belonging to the state of Guárico and 104 belonging to the central western region of Venezuela (RCO). Mitochondrial ancestry of Guárico was also determined, and both populations were compared according to their origin and historical development. This study constitutes the first approximation to the genetic composition of Guárico, and it is the first report for Venezuela using AIMs. The results revealed that Amerindian and European contributions predominate in these populations, but Amerindian is higher in Guárico (50.57%) than in RCO (44.92%), while European is higher in RCO (38.46% vs. 33.72%). In Guárico mtDNA is predominantly Amerindian (80%), as previously reported for RCO (75%). The Amerindian contribution in Guárico is the highest reported for Venezuela. We conclude that the differences found between both samples could be due to an earlier colonization of RCO and to its moderate industrial development during the nineteenth century. We also conclude that the AIMs used here made a good differentiation of the contribution of the three main ancestral groups at a relatively low cost, so that their use, together with polymorphisms of uniparental origin, allows a better genetic approach to explaining the dynamics of the mixing process giving rise to the current Venezuelan population. *Rev Arg Antrop Biol* 23(2), 2021. doi: 10.24215/18536387e035

Keywords: admixture, Venezuelan populations, ancestry informative markers, mitochondrial DNA

Numerosos estudios sobre el mestizaje en América Latina evidencian que sus poblaciones actuales se formaron a partir de procesos intensos de intercambio genético entre grupos con diferentes orígenes e historias evolutivas (Salzano y Sans, 2014; Sans, 2000). Los patrones desiguales de contribución genética ancestral han permitido detectar una gran variabilidad inter- e intra-poblacional, influenciada por la densidad poblacional indígena antes de la conquista de América y por los procesos de desarrollo sociodemográficos propios al interior de cada región (Homburger *et al.*, 2015; Salzano y Sans, 2014; Silvia-Zolezzi *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2007). Por esa razón, los estudios sobre mestizaje y estructura genética se han convertido en un apoyo importante para conocer mejor el origen de estas poblaciones y sus patrones de migración.

Los avances en el conocimiento sobre la estructura del ADN han permitido identificar marcadores con frecuencias marcadamente diferentes entre ciertos grupos poblacionales; se puede entonces seleccionar marcadores con buen nivel de discriminación para estimar el aporte genético de diferentes grupos, como son los de origen africano, europeo y nativo americano, lo que ofrece un mayor poder para la inferencia sobre mestizaje en poblaciones

latinoamericanas (Shriver *et al.*, 1997). En ese sentido, se han definido los Marcadores Informativos de Ancestralidad (AIM, del inglés *Ancestry Informative Markers*), como marcadores autosómicos que han resultado muy útiles para estimar ancestralidad genómica de poblaciones o individuos, porque permiten discriminar de una manera más eficiente la contribución de los diferentes grupos continentales en comparación con grupos de marcadores autosómicos seleccionados aleatoriamente (Bonilla *et al.*, 2004; Rizzatti Luizon, Mendes-Junior, De Oliveira y Simões, 2008; Royal *et al.*, 2010). Al respecto se han descrito varios polimorfismos bialélicos como las inserciones *Alu*, los de inserción/delección (Indel) y los mononucleotídicos (SNP) que, debido a su estado ancestral conocido y estabilidad evolutiva, hacen que un número limitado permitan una buena aproximación a la estimación del origen de la composición genética de una población (Bastos-Rodríguez, Pimenta y Pena, 2006; Díaz-Rousseau, García y Demarchi, 2019; Gómez-Pérez, Alfonso-Sánchez, Pérez-Miranda, de Pancorbo y Peña, 2007; Price *et al.*, 2007). Por otra parte, también son muy informativos los marcadores genéticos transmitidos exclusivamente por línea materna (ADN mitocondrial) o por línea paterna (cromosoma Y), que revelan sobre la ancestralidad de una población de acuerdo con los patrones de migración de hombres y mujeres (Mesa *et al.*, 2000; Salzano y Sans, 2014; Wang *et al.*, 2007).

En el caso de Venezuela, la información histórica evidencia que el proceso de mestizaje se inició tempranamente con repercusión en toda su dimensión biológica, histórica, social y cultural (Brito Figueroa, 1966; Castro de Guerra y Suárez, 2010). Los reportes sobre mestizaje o ancestralidad genética en este país se han basado en el uso de polimorfismos de grupos sanguíneos y proteínas, de algunos STR del ADN de herencia biparental y marcadores uniparentales. En términos generales reportan que existe heterogeneidad en relación al origen de los diferentes marcadores moleculares: el autosómico es predominantemente europeo con importante aporte amerindio, el ADN mitocondrial (ADNmt) es principalmente amerindio, mientras que el cromosoma Y es europeo (Acosta Loyo, Castro de Guerra, Izaguirre y Rodríguez-Larralde, 2004; Castro de Guerra *et al.*, 2011; Martínez, Rodríguez-Larralde, Izaguirre y Castro de Guerra, 2007; Rodríguez-Larralde, Castro de Guerra, González-Coira y Morales, 2001; Simmons, Rodríguez-Arroyo y Rodríguez-Larralde, 2007). Sin embargo, esos estudios genéticos se han realizado mayoritariamente en el norte del país, en poblaciones con diferentes condiciones históricas en su origen y desarrollo. Poco se sabe sobre la composición genética de la población de la zona central de Venezuela donde se ubica el estado Guárico, que es de especial interés en este trabajo. La única información disponible corresponde a lo que Rodríguez-Larralde *et al.* (2001) denominaron región central, donde se estima el mestizaje basado en los grupos sanguíneos ABO y Rh, y reportan una proporción de 60% para el aporte de origen español, seguido del amerindio con un 23,5% y el africano 16,5%. Sin embargo, esa estimación está basada sólo en dos grupos sanguíneos e incluye al Distrito Capital, que tiene importante densidad poblacional e historia de elevada inmigración interna, lo que plantea la interrogante sobre la concordancia de esos valores con la composición genética del estado Guárico, que ocupa una amplia área geográfica de los llanos centrales venezolanos y que tiene un origen y desarrollo socioeconómico diferente.

En términos generales, se describe que el poblamiento del estado Guárico ocurrió inicialmente por grupos indígenas Arawacos y posteriormente por indígenas de filiación lingüística Caribe. Se considera que esta zona de los llanos altos venezolanos era principalmente de paso, con pocos establecimientos poblados en el siglo XVI y buena parte del XVII (Vila, 1965). El incremento en el poblamiento ocurrió a finales del siglo XVII y durante casi todo el siglo XVIII con la formación de "pueblos de misión" para el adoctrinamiento religioso de los grupos indígenas y también por europeos y descendientes de estos, motivados por

el control de tierras para la ganadería (Vila, 1965). La llegada de “negros y mulatos” como esclavos para la actividad ganadera se reporta desde mediados del siglo XVII (Rodríguez, 1994). No se tiene información sobre estudios de mestizaje en este estado. Por su parte, la región centro occidental de Venezuela (RCO) también de interés para esta investigación, estaba habitada por numerosos grupos indígenas de Arawacos al momento de la llegada de los conquistadores. Los primeros asentamientos de europeos en esta zona datan de principios del siglo XVI, debido a la fertilidad de sus suelos y la disponibilidad de mano de obra indígena. Durante el período colonial, la región nor-occidental venezolana formaba parte de lo que administrativamente se llamaba la Provincia de Caracas o Venezuela, que también incluía territorio del norte-centro venezolano. La información histórica evidencia heterogeneidad en las condiciones históricas en que surgieron las poblaciones en esta región; se reconocen áreas que son identificadas por surgir a partir de asentamientos de descendientes de esclavos africanos, otras como pueblos de españoles y otras que aún conservan gran parte de descendientes de los pobladores indígenas originales (Brito Figueroa, 1966; Simmons *et al.*, 2007). Los estudios sobre el proceso de mestizaje en la RCO, realizados exclusivamente con grupos sanguíneos y marcadores STR, muestran que el componente genético más importante hallado fue el europeo, con una proporción en torno al 54-58%, seguido del aporte indígena con valores entre 25 y 32% y con menor aporte del africano en torno al 15-17% (Acosta Loyo *et al.*, 2004; Rodríguez-Larralde *et al.*, 2001; Simmons *et al.*, 2007) mientras que por línea materna más del 70% del aporte genético es de origen amerindio y por línea paterna es el europeo con más del 80% (Castro de Guerra *et al.*, 2011).

Debido a lo expuesto, en este trabajo se investiga sobre el mestizaje y la ancestralidad por línea materna en la población del estado Guárico y de la región centro-occidental (RCO), a partir de 7 AIM y de haplogrupos del ADN mitocondrial. Se analizan estos resultados en función del origen y desarrollo histórico de ambas poblaciones. Este es el primer reporte para Venezuela utilizando este tipo de marcadores moleculares autosómicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras y análisis de laboratorio

La ubicación geográfica del estado Guárico y la RCO (integrada por tres estados: Lara, Yaracuy y Portuguesa) se observa en la Fig. 1. Se estudió el ADN de 188 individuos adultos sanos venezolanos. Para estimar la ancestralidad por vía biparental y mitocondrial en el estado Guárico se seleccionaron 84 individuos cuyos padres y abuelos eran originarios de ese estado. Los participantes fueron reclutados, evitando incluir personas relacionadas en primer o segundo grado, a partir de donantes de sangre y personal hospitalario que asistieron durante noviembre 2011 y marzo 2012 al Banco de Sangre del Hospital “Israel Ranuárez Balza” de San Juan de los Morros. El ADN fue extraído en el laboratorio de Genética Humana del IVIC a partir de sangre completa, utilizando el método de extracción salino descrito por Lahiri y Nurnberger (1991), modificado en dicho laboratorio. Las personas que aceptaron participar en el estudio leyeron y firmaron un consentimiento informado aprobado por el Comité de Bioética del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). Para la RCO se trabajó con una muestra de 104 individuos procedentes de esa región, para la que previamente se reportó 58,5% de origen europeo, 25% para el amerindio y 16,5% del africano, a partir de los grupos ABO y RH junto a otros 9 marcadores tipo STR (Simmons *et al.*, 2007); mientras que otro estudio reportó que los haplogrupos mitocondriales son 75% de origen amerindio, 24% africanos y 1% europeo (Castro de Guerra *et al.*, 2011).



FIGURA 1. Mapa de Venezuela donde se muestra la ubicación geográfica del estado Guárico y de la Región Centro Occidental (RCO).

La **Tabla 1** muestra los marcadores informativos de ancestralidad utilizados en esta investigación, junto a su ubicación cromosómica; fueron seleccionados en función de sus valores Delta (δ) de Shriver (Shriver *et al.*, 1997). Se eligieron 7 marcadores con valores δ mayores a 0,6 y por ende que discriminan mejor entre alguna de las 3 posibles comparaciones entre pares de poblaciones parentales (africana-amerindia, africana-europea y amerindia-europea) los cuales son: *APOA1*, *PV92*, *FXIII B* (polimorfismos de inserciones *Alu*), *MID-93*

TABLA 1. Marcadores informativos de ancestralidad utilizados en este estudio, frecuencias ponderadas y valores de δ

Marcador	Cromosoma	Frecuencias ponderadas en las poblaciones parentales			Valores de δ		
		Amerindia	Europea	Africana	Af-Am	Af-Eu	Am-Eu
<i>APOA1*1</i> (rs3138522)	11q23.3	0,990	0,884	0,063	0,927	0,821	0,106
<i>PV92*1</i> (rs3138523)	16q24.1	0,838	0,223	0,281	0,557	0,058	0,615
<i>FXIII B*1</i> (rs70942849)	1q31.3	0,881	0,424	0,145	0,736	0,279	0,457
<i>FY-null*C</i> (rs2814778)	1q23.2	0,009	0,007	0,997	0,988	0,99	0,002
<i>OCA2*G</i> (rs12913832)	15q11.2	0,459	0,237	0,892	0,433	0,655	0,222
<i>CKM*T</i> (rs4884)	19q13.32	0,860	0,003	0,291	0,569	0,288	0,857
<i>MID-93*1</i> (rs16383)	22q13.2	0,919	0,003	0,728	0,191	0,725	0,916

Af: africano, Am: amerindio, Eu: europeo. En negrita se resaltan los valores mayores. Para los polimorfismos *APOA1*, *PV92*, *FXIII B* y *MID-93* el alelo 1 corresponde a la presencia de la inserción.

(polimorfismo Indel de tres pares de bases), *FY-null*, *OCA2* y *CKM* (polimorfismos mononucleotídicos, SNP). Los oligómeros usados y las condiciones de laboratorio se obtuvieron de la literatura (Batzer *et al.*, 1996; Bonilla *et al.*, 2004; Parra *et al.*, 1998), con la excepción de los utilizados para el sistema *FY-null* (5'-AGGCTTGTGCAGGCAGTG-3'; 3'-GTTTCAGGCCCGCAGACAGA-5'), los cuales fueron diseñados en el Laboratorio de Genética Humana, IVIC.

Se determinaron los haplogrupos mitocondriales en el estado Guárico a través de marcadores SNP y del análisis RFLP, según procedimientos descritos previamente y que permiten identificar los haplogrupos A2, B2, C1, D1, L, L3e y L3d y H (Bailliet, Rothhammer, Carnese, Bravi y Bianchi, 1994; Toro-Labrador, Wever y Martínez Cruzado, 2003). Para RCO se utilizó la información reportada por Castro de Guerra *et al.*, 2011.

Análisis estadístico de los datos

Las frecuencias alélicas de los AIM se calcularon por conteo directo de los genes. El ajuste al equilibrio Hardy-Weinberg (H-W) se realizó con el programa MAXLIK (Read y Schull, 1968), mediante una prueba de ji cuadrado (χ^2). Las proporciones de mestizaje se calcularon mediante el programa ADMIX3, basado en el método de Identidad Génica de Chakraborty (1986). Las frecuencias alélicas en las poblaciones parentales se seleccionaron de la literatura y de la base de datos dbSNP, disponible en <http://ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>. Se utilizó el promedio ponderado por tamaño muestral de las frecuencias para cada población parental; para la africana se utilizaron poblaciones de África central y subsahariana, para la amerindia, poblaciones de norte, centro y sur América y para la europea, poblaciones de España. Las poblaciones utilizadas y sus respectivas referencias se muestran en el material suplementario (Tabla Suplementaria 1).

Las proporciones de mezcla amerindia, africana y europea obtenidas para Guárico y RCO se compararon mediante una aproximación a la distribución t de Student, con la siguiente fórmula: $t = (x-z) / \sqrt{\sigma_x^2 + \sigma_z^2}$ (Pinto-Cisternas, Zimmer y Barraí, 1990), donde x y z representan las proporciones de Guárico y RCO, y las varianzas correspondientes, 184 g.l, en este caso.

Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) basado en las frecuencias de todos los alelos, para inferir la relación entre los grupos parentales y las poblaciones de este estudio. Se utilizó el programa R versión 3.2.4 (<http://r-project.org>), usando los paquetes *FactoMineR* (Lê, Josse y Husson, 2008) y *factoextra* (Kassambara y Mundt, 2016).

Las frecuencias de cada uno de los haplogrupos mitocondriales se calcularon a través del conteo directo. Para determinar el origen continental mitocondrial se sumaron las frecuencias de los haplogrupos según su origen: amerindio (A2, B2, C1 y D1), africano (L, L3e y L3d) y europeo (H). Las frecuencias de Guárico fueron comparadas con las de la RCO, mediante la aproximación a la distribución normal de la diferencia entre proporciones (Shork y Remington, 2000).

RESULTADOS

En la Tabla 2 se muestran las frecuencias alélicas para los 7 marcadores estudiados en las poblaciones de Guárico y RCO. Todos fueron polimórficos en ambas poblaciones y se encontraron en equilibrio de H-W. Se observó la presencia de la inserción *Alu* (alelo 1) en *APOA1* con frecuencias altas, de 0,863 en Guárico y 0,842 en RCO; mientras que para *PV92* y *FXIIIIB* las frecuencias son intermedias, pero mayores en Guárico que en RCO; estos alelos predominan en

TABLA 2. Frecuencia de los marcadores informativos de ancestralidad en el estado Guárico y la región centro occidental (RCO)

Marcador	Frecuencias alélicas ± error típico	
	Guárico	RCO
<i>APOA1*1</i>	0,863 ± 0,027	0,842 ± 0,026
<i>PV92*1</i>	0,506 ± 0,039	0,389 ± 0,034
<i>FXIII B*1</i>	0,613 ± 0,038	0,495 ± 0,035
<i>FY-null*C</i>	0,196 ± 0,031	0,175 ± 0,026
<i>OCA2*G</i>	0,470 ± 0,039	0,413 ± 0,034
<i>CKM*T</i>	0,494 ± 0,039	0,572 ± 0,034
<i>MID-93*1</i>	0,583 ± 0,038	0,534 ± 0,035

Para los polimorfismos *APOA1*, *PV92*, *FXIII B* y *MID-93* el alelo 1 corresponde a la presencia de la inserción.

poblaciones amerindias para los tres loci (Tabla 1). Para los SNP se encontró que el alelo *FY-null*C*, marcador de origen africano, presentó bajas frecuencias en Guárico y RCO, de 0,196 y 0,175 respectivamente. Para *OCA2* el alelo G presentó frecuencias intermedias, de 0,470 en Guárico y de 0,413 en RCO; estas frecuencias son similares a la de la población parental amerindia (0,459). Por su parte, el alelo *CKM*T*, que predomina en amerindios, presentó frecuencias de 0,494 en Guárico, mientras que en RCO fue de 0,572 (Tabla 1). Finalmente, en cuanto a la presencia del Indel *MID-93*1*, que predomina en amerindios y africanos, presenta frecuencias intermedias en Guárico y RCO, de 0,583 y 0,534 respectivamente.

La Fig. 2 muestra el gráfico bi-dimensional (Biplot) del Análisis de Componentes Principales (ACP); se observa que los dos primeros componentes han sido capaces de recoger el 98,47% de la variación acumulada, mostrando que los AIM utilizados permiten una cla-

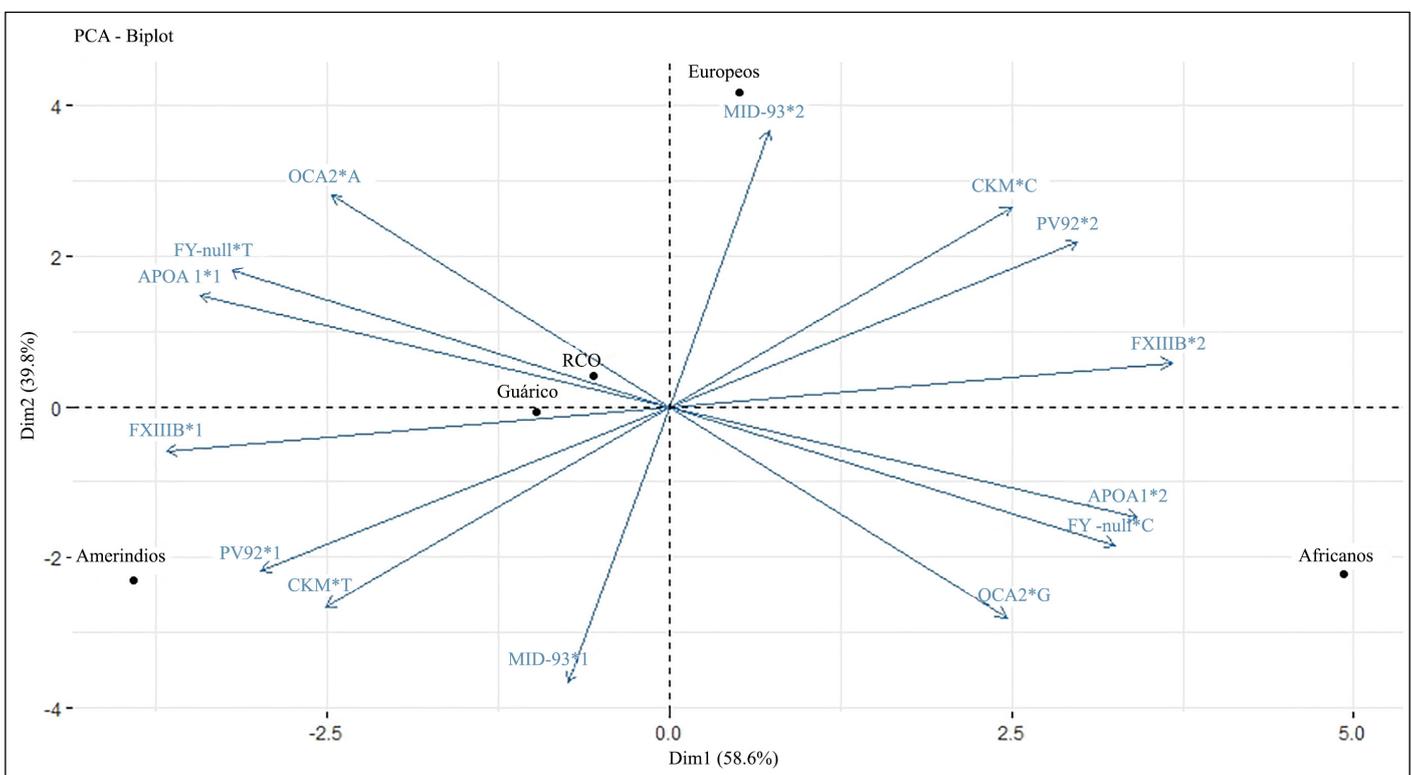


FIGURA 2. Gráfico bi-dimensional del análisis de componentes principales (PCA-Biplot), que muestra la relación de los AIM utilizados con las poblaciones parentales y las poblaciones estudiadas.

ra diferenciación de las poblaciones parentales amerindia, europea y africana, así como la ubicación de Guárico y RCO entre los aportes ancestrales amerindio y europeo, aunque Guárico más cercano al componente amerindio; ambas muy alejadas de los africanos.

La estimación de mezcla (Tabla 3) corrobora lo obtenido con el ACP; el componente amerindio tuvo una mayor contribución en la formación de ambas poblaciones, 50,57% en el estado Guárico y 44,92% en la RCO; seguido por el componente europeo, 33,72% en Guárico y 38,46% en RCO. La población ancestral africana tuvo la menor contribución en ambas poblaciones, de 15,71% en Guárico y de 16,63% en RCO. El valor de R² de este análisis (99,99%) indica que el ajuste de los datos al modelo trihíbrido fue muy bueno.

TABLA 3. Estimación de mestizaje en las muestras del estado Guárico y la región Centro Occidental (RCO), con el uso de AIM

Población ancestral	Proporción de mezcla ± error típico	
	Guárico	RCO
Amerindio	0,5057 ± 0,0020	0,4492 ± 0,0011
Europeo	0,3372 ± 0,0022	0,3846 ± 0,0013
Africano	0,1571 ± 0,0015	0,1663 ± 0,0009
R ²	0,9999	0,9999

Con relación al origen del genoma mitocondrial en Guárico (Tabla 4), se encontró que los haplogrupos A2 y C1, ambos amerindios, mostraron frecuencias de 25% y 31% respectivamente. En total, 80% son de origen amerindio, 12% africano y, por último, 4% europeo; el 4% de los haplogrupos no pudo ser determinado con el método utilizado. Los resultados correspondientes para RCO también aparecen en la Tabla 4 y son el resultado de otra publicación (Castro de Guerra *et al.*, 2011). Se observa que los haplogrupos más frecuentes también son amerindios, el B2 (37%) y el A2 (22%), sumando todos los de ese origen el 75%, mientras que los africanos son 24% y solo 1% de europeo, que está representado en esta población por el haplogrupo J.

TABLA 4. Frecuencias y origen de los haplogrupos del ADNmt en Guárico y la región Centro Occidental (RCO)

Haplogrupos	Guárico		RCO*	
	%	Origen	%	Origen
A2	25	Amerindio	22	Amerindio
B2	13	80%	37	75%
C1	31		6	
D1	11		10	
L, L3e y L3d	12	Africano 12%	24	Africano 24%
H	4	Europeo 4%	0	Europeo 1%
J	ND		1	
Sin determinar	4	4%	0	
Total	100		100	

*Datos correspondientes al estado Lara (Castro de Guerra *et al.*, 2011). ND: No determinado.

DISCUSIÓN

Los resultados reflejan que los componentes amerindio y europeo son los que contribuyen en mayor proporción en la formación de las poblaciones de Guárico y RCO; sin embargo, el componente indígena es mayor en Guárico (50,57% vs 44,92%; $p < 0,001$), mientras que en RCO la contribución europea es mayor (38,46% vs 33,72%; $p < 0,001$); la contribución genética africana fue similar; sin embargo, la pequeña diferencia también fue significativa (0,16 para Guárico vs. 0,17 para RCO; $p < 0,001$).

Por su parte, el ADN mitocondrial muestra el predominio de los haplogrupos de origen amerindio en Guárico (80%) que no fue significativamente diferente ($p > 0,20$) a lo reportado previamente para el estado Lara (75%), que es uno de los estados considerados por Rodríguez-Larralde *et al.* (2001), como integrante de RCO. Este resultado concuerda con los patrones observados en otras poblaciones mestizas de Venezuela, en las que el ADN mitocondrial de origen americano presenta frecuencias superiores al 60%, aunque con distintas distribuciones entre los diferentes haplogrupos (Castro de Guerra *et al.*, 2011). El ADN mitocondrial de origen africano tiene mayor proporción en Lara (24%) con relación a Guárico (12%) ($0,02 < p < 0,05$), mientras que el europeo es minoritario, 4% en Guárico (haplogrupo H) y 1% en Lara (haplogrupo J) y no significativo ($p > 0,1$). Se observó una diferencia importante en la distribución de los haplogrupos amerindios entre estas dos poblaciones, con predominio del C1 en Guárico (31%), mientras que en Lara (RCO) predomina el B2 (37%). La importancia de este resultado en relación con el origen de la población prehispánica en estas dos regiones escapa a los objetivos de este trabajo y será analizada en mayor detalle en otra publicación; sin embargo, se ha descrito el predominio de los haplogrupos B en el occidente del país mientras que los A predominan en el Oriente; por su parte los C y D tienen mayores frecuencias en la zona centro-oriental (Castro de Guerra *et al.*, 2011). Ese patrón podría estar reflejando diferencias descritas a partir de registros arqueológicos sobre el predominio de grupos prehispánicos de origen Arawaco en el occidente y Caribes en centro-oriente (Tarble y Zucchi, 1984). Las diferencias encontradas en el origen de la contribución genética de herencia autosómica y mitocondrial entre Guárico y RCO, sugiere patrones de poblamientos distintos en ambas regiones geográficas.

Centrando la atención en el estado Guárico, llama la atención el alto componente amerindio obtenido, tanto autosómico como mitocondrial, que son los mayores en relación con los estudios realizados anteriormente en Venezuela, lo que podría explicarse por varios factores. Desde el punto de vista histórico, la región del actual estado Guárico fue una de las últimas en ser colonizada, debido a que la entrada de los conquistadores fue complicada por la alta y prolongada resistencia indígena y por el difícil acceso a la región por la existencia de caudalosos ríos (Martínez, 2005). Los primeros colonizadores fueron ganaderos de origen español, seguidos por misioneros de pueblos de indígenas a partir de mediados de 1660; esto propició un fenómeno que no sucedió en otras zonas de Venezuela que significó la incorporación de los indígenas en la realización de las actividades ganaderas, posiblemente contribuyendo a que su disminución no fuese tan marcada como en otras zonas del país.

Se tienen datos de la población del estado Guárico en la década de 1780, que reflejan la presencia de los diferentes componentes étnicos en proporciones importantes, descritos por Vila (1965) como: Blancos: 7.174 individuos, Indios: 4.101, Negros: 4.498, Esclavos: 3.571 y Pardos: 5.349, siendo los pardos aquellos individuos nacidos de uniones entre personas de grupos étnicos diferentes. Se tiene poca información sobre el ingreso de

población africana a Guárico, no obstante, se menciona la existencia de “negros del Guárico” durante la Guerra de Independencia (Martínez, 2005), lo que hace pensar que en su mayoría eran hombres y que esta guerra generó posiblemente una disminución drástica de su población, junto a las continuas guerras civiles que se produjeron en el país posteriormente (Martínez, 2005; Vila, 1965). Las circunstancias descritas pueden justificar la ocurrencia de mayores uniones entre indígenas y españoles en Guárico, sugiriendo que el aporte amerindio se mantiene a través de las mujeres de ese origen y sus descendientes, mientras que el aporte europeo debe tener origen masculino, inferido por el bajo valor de la contribución mitocondrial respectiva.

En relación con el origen y desarrollo histórico de la RCO, se ha descrito que el proceso de colonización fue de inicio más temprano (iniciando el siglo XVI) en comparación con el estado Guárico, a partir de actividades económicas vinculadas a la agricultura y la minería. Ello significó heterogeneidad en el origen de sus habitantes iniciales y un proceso de mestizaje temprano, según se puede deducir de algunos datos censales para la Provincia de Venezuela, de la cual la RCO formaba parte, y que reportan la siguiente estructuración social: Blancos: 25,6%, Indios: 12,2%, Negros: 24,3% y Pardos: 37,9% (Arcila Farías, 1946). Esta región logró un moderado desarrollo industrial en el siglo XIX, que lo convirtió en receptor de migraciones internas, procedentes principalmente de estados geográficamente cercanos. Las circunstancias descritas pueden ayudar a comprender que el componente europeo en RCO sea más elevado que en Guárico. Al igual que el fenómeno observado en Guárico y el resto del país, en RCO el componente indígena se mantiene a través de las mujeres, mientras que el aporte europeo es de origen casi totalmente masculino, de 92% como sugiere un estudio previo (Castro de Guerra *et al.*, 2011).

Otro aspecto importante por considerar en los resultados obtenidos es que las estimaciones de porcentajes de mezcla dependen mucho de los marcadores seleccionados, de las frecuencias parentales usadas en el análisis y de las características de la muestra. Es posible que el alto valor obtenido en esta investigación para la contribución indígena, cuando se compara con estudios previos en Venezuela, no sea exclusivo de Guárico, sino que pueda deberse a que los marcadores utilizados en este estudio discriminen mejor los aportes parentales amerindio, europeo y africano, con relación a los grupos sanguíneos, proteínas y STR utilizados en estimaciones anteriores. En el estudio de Simmons *et al.* (2007), se reportan los resultados para la región RCO utilizando 9 marcadores moleculares tipo STR, además de los grupos sanguíneos ABO y Rh. En la estimación que realizaron del mestizaje, usando también el método de Identidad Génica de Chakraborty, encontraron que la población parental que más contribuyó fue la europea (58,5%), seguida por la amerindia (25,5%) y en tercer lugar la africana (16,5%). Estos valores son parcialmente discordantes con los que se presentan en esta investigación; aunque hay coincidencia en mostrar que predominan los aportes amerindio y español; las nuevas estimaciones utilizando AIM muestran que la contribución principal es la indígena seguida de la europea, con valores de 44,92% y 38,46% respectivamente. En virtud de la mayor capacidad de los AIM de discriminar el origen ancestral, planteamos que los polimorfismos utilizados en esta investigación lograron una mejor diferenciación del aporte amerindio con relación al europeo.

Con relación a lo reportado en Venezuela, Rodríguez-Larralde *et al.* (2001) a través del uso de marcadores clásicos (grupos sanguíneos ABO y Rh), obtuvieron que la principal población ancestral que contribuyó a la formación de 5 regiones del país (región central, centroccidental, nororiental, oriental y Los Andes), fue la europea, con una gama entre 42,3% y 72,6%. El aporte amerindio, que fue el segundo en importancia, fluctuó

entre 23,5% y 33%, mientras que el africano alcanzó un valor máximo de 24,7%. Por otra parte, diferentes estudios en los que se utilizaron marcadores STR también reportaron mayor importancia de la contribución europea (52% en Churuguara y 75% en el estrato socioeconómico alto de Caracas), seguida del amerindio (25% en RCO y 40% estrato socioeconómico bajo de Caracas) (Acosta Loyo *et al.*, 2004; Martínez *et al.*, 2007; Simmons *et al.*, 2007). Sin embargo, la ancestralidad por vía uniparental evidencia que por vía mitocondrial el aporte amerindio es elevado, superior al 60%, mientras que el cromosoma Y refleja un aporte europeo por encima del 80% (Castro de Guerra *et al.*, 2011).

El aumento en la proporción del aporte amerindio que se obtuvo con la reestimación de mestizaje en RCO con AIM, sumado a la elevada proporción de ADN mitocondrial de ese origen en Venezuela, nos permite sugerir que el aporte amerindio en Venezuela debe ser superior al reportado previamente, aunque el aporte europeo sigue siendo muy importante.

La conformación genética de las poblaciones latinoamericanas actuales es producto de una compleja mezcla, por lo que su estimación exige el uso de un grupo de marcadores mucho mayor al que hemos utilizado en este trabajo para una asignación más ajustada del origen ancestral de los componentes americanos, europeos y africano (Galanter *et al.*, 2012). Sin embargo, planteamos que el grupo de polimorfismos que se ha utilizado en esta investigación ofrece una buena aproximación, aportando estimaciones de mestizaje con errores típicos muy pequeños, indicando el buen ajuste al modelo estudiado, por lo que resulta en una estrategia asequible para estudios de la población venezolana. Además, su uso simultáneo con polimorfismos de origen uniparental, permite una mejor estimación de la contribución genética para explicar la dinámica del proceso de mestizaje que dio origen a la población venezolana actual.

En conclusión, el mestizaje, tanto en el estado Guárico como en la RCO, ocurrió principalmente entre los pobladores indígenas que habitaban el lugar y los colonizadores españoles. Los datos sugieren que se ha preservado el aporte amerindio a través de las mujeres, mientras que el aporte europeo debe haber ocurrido principalmente por vía masculina. Futuros estudios que incorporen otros marcadores, incluyendo los del cromosoma Y, permitirán un mejor acercamiento al conocimiento del proceso de desarrollo y conformación genética de la población del estado Guárico. Este estudio representa la primera estimación de la composición genética del estado Guárico y el primer reporte sobre el uso de AIM para estimar ancestralidad en Venezuela.

AGRADECIMIENTOS

Los investigadores agradecen a las personas del estado Guárico que gentilmente aceptaron participar en esta investigación. A Luis José Díaz por su apoyo en el trabajo de laboratorio y Esther D. Gutiérrez en el análisis de los datos. Los datos presentados constituyen parte de la tesis para obtener el título de MSc. en Genética Humana de Liana Fernández, y de la tesis para obtener el título de antropóloga de Giulianna Antonelli. En memoria de Mary Helen Izaguirre.

LITERATURA CITADA

- Acosta Loyo, M., Castro de Guerra, D., Izaguirre, M.H. y Rodríguez-Larralde, A. (2004). Admixture estimates for Churuguara, a Venezuelan town in the state of Falcón. *Annals of Human Biology*, 31, 669-680. doi:10.1080/03014460400019760
- Antunez de Mayolo, G., Antunez de Mayolo, A., Antunez de Mayolo, P., Papiha, S. S., Hammer, M., Yunis, J. J.,...Herrera, R. J. (2002). Phylogenetics of worldwide human populations as determined by polymorphic *Alu* insertions. *Electrophoresis* 23, 3346-56. doi:10.1002/1522-2683(200210)23:19<3346::AID-ELPS3346>3.0.CO;2-J
- Arcila Farías, E. (1946). *Economía Colonial de Venezuela*. Fondo de Cultura Económica. México.
- Bailliet, G., Rothhammer, F., Carnese, F., Bravi, C. M. y Bianchi, N. (1994). Founder mitochondrial haplotypes in amerindian populations. *American Journal of Human Biology*, 54, 27-33.
- Bastos-Rodríguez, L., Pimenta, J. R. y Pena S. D. J. (2006). The genetic structure of human populations studied through short insertion-deletion polymorphisms. *Annals of Human Genetics*, 70, 658-665. doi:10.1111/j.1469-1809.2006.00287.x

- Battilana, J., Fagundes, N. J. R., Heller, A. H., Goldani, A., Freitas, L. B., Tarazona-Santos, E.,... Bonatto, S. L. (2006). *Alu* insertion polymorphisms in Native Americans and related Asian populations. *Annals of Human Biology* 33, 142-160. doi:10.1080/03014460500487347
- Batzer, M. A., Arcot, S. S., Phinney, J. W., Alegria-Hartman, M., Kass, D., Milligan, S. M.,... Stoneking, M. (1996). Genetic variation of recent *Alu* insertions in human populations. *Journal of Molecular Evolution*, 42, 22-29.
- Bonilla, C., Parra, E., Pfaff, C. L., Dios, S., Marshall, J. A., Hamman, R. F.,... Shriver M. P. (2004). Admixture in the hispanic of the San Luis, Colorado and its implications for complex trait gene mapping. *Annals of Human Genetics*, 68, 139-153. doi:10.1046/j.1529-8817.2003.00084.x
- Brito Figueroa, F. (1966). *Historia económica y social de Venezuela, una estructura para su estudio*. Caracas, Venezuela: Dirección de Cultura, Universidad Central de Venezuela.
- Castro de Guerra, D., Figuera Pérez, C., Izaguirre, M. H., Arroyo Barahona, E., Rodríguez-Larralde, A. y Vivenes de Lugo, M. (2011). Gender differences in ancestral contribution and admixture in Venezuelan populations. *Human Biology*, 83, 345-361. doi:10.3378/027.083.0302
- Castro de Guerra, D. y Suarez, M. (2010). Sobre el proceso de mestizaje en Venezuela. *Interciencia*, 35(9), 654-658.
- Chakraborty, R. (1986). Admixture in human populations: model and predictions. *Yearbook of Physical Anthropology*, 29, 1-43.
- Díaz-Rousseau, G. A., García, A. y Demarchi, D. A. (2019). Análisis de la estructura genética del Valle de Traslasierra a partir de inserciones *Alu*. *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 21(1). doi:10.17139/raab.2019.0021.01.03
- Dornelles, C. L., Battilana, J., Fagundes, N. J. R., Freitas, L. B., Bonatto, S. L., y Salano, S. L. (2004). Mitochondrial DNA and *Alu* insertions in a genetically peculiar population: The Ayoreo Indians of Bolivia and Paraguay. *American Journal of Human Biology* 16, 479-488. doi:10.1002/ajhb.20038
- Gaya-Vidal, M., Dugoujon, J. M., Esteban, E., Athanasiadis, G., Rodríguez, A., Villena, M.,... Moral, P. (2010). Autosomal and X chromosome *Alu* insertions in Bolivian Aymaras and Quechuas: Two languages and one genetic pool. *American Journal Human Biology* 22, 154-62. doi:10.1002/ajhb.20967
- Galanter, J. M., Fernandez-Lopez, J. C., Gignoux, C., Barnholtz-Sloan, J., Fernandez-Rozadilla, C., Via, M.,... Carracedo, A. (2012). Development of a panel of genome-wide ancestry informative markers to study admixture throughout the Americas. *PLoS Genetics*, 8(3), e1002554. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002554>
- García-Obregón, S., Alfonso-Sánchez, M. A., Pérez-Miranda, A. M., Vidales, C., Arroyo, D., Peña, J. A. (2006). Genetic position of Valencia (Spain) in the Mediterranean basin according to *Alu* insertions. *American Journal of Human Biology* 18, 187-95. doi:10.1002/ajhb.20487
- Gómez-Pérez, L., Alfonso-Sánchez, M. A., Pérez-Miranda, A. M., de Pancorbo, M. M. y Peña, J. (2007). Utilidad de las inserciones *Alu* en los estudios de mestizaje. *Antropo*, 14, 29-36.
- Herrera, R. J., Rojas, D. P., Terreros, M. C. (2007). Polymorphic *Alu* insertions among Mayan populations. *Journal of Human Genetics*, 52, 129-142. doi:10.1007/s10038-006-0089-y
- Homburger, J. R., Moreno-Estrada, A., Gignoux, C. R., Nelson, D., Sanchez, E., Ortiz-Tello, P.,... Bustamante, C. D. (2015) Genomic insights into the ancestry and demographic history of South America. *PLoS Genetic*, 11(12), e1005602. doi:10.1371/journal.pgen.1005602
- Kassambara, A., y Mundt, F. (2016). *Factoextra: Extract and visualize the results of multivariate data analyses*. Recuperado de <https://rpkgs.datanovia.com/factoextra/index.html>
- Lahiri, D. K. y Nurnberger, J. L. Jr. (1991). A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Research*, 19, 5444.
- Lê, S., Josse, J. y Husson, F. (2008). FactoMineR: An R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software*, 25(1). doi:10.18637/jss.v025.i01
- Luizon, M. R., Mendes-Junior, C. T., De Oliveira, S. F., and Simões, A. L. (2008). Ancestry informative

- markers in Amerindians from Brazilian Amazon. *American Journal of Human Biology*, 20, 86-90. doi: [10.1002/ajhb.20681](https://doi.org/10.1002/ajhb.20681)
- Martínez, A. (2005). *Mi Estado Guárico. San Juan de los Morros*. Ediciones Ince Guárico. Gráficas Los Morros, CA.
- Martínez, H., Rodríguez-Larralde, A., Izaguirre, M. H. y Castro de Guerra, D. (2007). Admixture estimates for Caracas, Venezuela, based on autosomal, Y-chromosome and mtDNA markers. *Human Biology*, 79, 201-213. doi:[10.1353/hub.2007.0032](https://doi.org/10.1353/hub.2007.0032)
- Martínez-Marignac, V. L., Sans, M., Pucciarelli, H. M., Bianchi, N. O. (2002). Estimación de la mezcla génica en descendientes de africanos de la ciudad de Melo, Uruguay, a través de marcadores autosómicos asociados o específicos de poblaciones. *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 4, 49-59.
- Martínez-Marignac, V. L., Valladares, A., Cameron, E., Chan, A., Perera, A., Globus-Goldberg, R.,... Parra, E. J. (2007). Admixture in Mexico City: implications for admixture mapping of type 2 diabetes genetic risk factors. *Human Genetics*, 120, 807-819. doi: [10.1007/s00439-006-0273-3](https://doi.org/10.1007/s00439-006-0273-3)
- Mesa, N. R., Mondragón, M. C., Soto, I. D., Parra, M. V., Duque, C., Ortíz-Barrientos, D.,... Ruiz-Linares, A. (2000). Autosomal, mtDNA, and Y-chromosome diversity in Amerinds: Pre-and post-Columbian pattern of gene flow in South America. *American Journal of Human Genetics*, 67, 1277-1286. doi:[10.1016/S0002-9297\(07\)62955-3](https://doi.org/10.1016/S0002-9297(07)62955-3)
- Mesa, N. R., Mondragón, M.C., Soto, I.D., Parra, M.V., Duque, C., Ortíz-Barrientos, D.,... Ruiz-Linares, A. (2000). Autosomal, mtDNA, and Y-chromosome diversity in Amerinds: Pre-and post-Columbian pattern of gene flow in South America. *American Journal of Human Genetics*, 67, 1277-1286. doi:[10.1016/S0002-9297\(07\)62955-3](https://doi.org/10.1016/S0002-9297(07)62955-3)
- Mateus Pereira, L. H., Socorro, A., Fernandez, I., Masleh, M., Vidal, D., Bianchi, N. O.,... Herrera, R. J. (2005). Phylogenetic information in polymorphic L1 and *Alu* insertions from East Asians and Native American Populations. *American Journal of Physical Anthropology*, 128, 171-184. doi: [10.1002/ajpa.10441](https://doi.org/10.1002/ajpa.10441)
- NCBI. *National Center of Biotechnology Information*. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- Parra, E. J., Marcini, A., Akey, J., Martinson, J., Batzer, M. A., Cooper, R.,... Shriver, M. D. (1998). Estimating african american admixture proportions by use of population-specific alleles. *American Journal of Human Genetics*, 63, 1839-1851. doi:[10.1086/302148](https://doi.org/10.1086/302148)
- Pinto-Cisternas, J., Zimmer, E. y Barrai I. (1990). Comparisons of Lasker's coefficient of relationship in a Venezuelan town in two different periods. *Annals of Human Biology*, 17, 305-314. doi:[10.1080/03014469000001082](https://doi.org/10.1080/03014469000001082)
- Price, A. L., Patterson, N., Yu, F., Cox, D. R., Walszewska, A., McDonald, G. J.,... Reich, D. (2007). A genome-wide admixture map for Latino populations. *American Journal of Human Genetics*, 80, 1024-1036. doi:[10.1086/518313](https://doi.org/10.1086/518313)
- Read, T. y Schull, W. J. (1968). A general maximum likelihood method estimation program. *American Journal of Human Genetics*, 20, 579-580.
- Schorck, M. A. y Remington, R. D. (2000). *Statistics with applications to the biological and health sciences*. New Jersey, United States: Prentice Hall.
- Rizzatti Luizon, M., Mendes-Junior, C. T., De Oliveira, S. F. y Simões, A. L. (2008). Ancestry informative markers in Amerindians from Brazilian Amazon. *American Journal of Human Biology*, 20, 86-90. doi:[10.1002/ajhb.20681](https://doi.org/10.1002/ajhb.20681)
- Rodríguez, A. (1994). *El Estado Guárico. Orígenes, Mundo y Gente*. Comisión Regional Conmemorativa de V Centenario del Encuentro de dos Mundos. República de Venezuela. Estado Guárico
- Rodríguez-Larralde, A., Castro de Guerra, D., González-Coira, M. y Morales, J. (2001). Frecuencia génica y porcentaje de mezcla en diferentes áreas geográficas de Venezuela, de acuerdo a los grupos Rh y ABO. *Interciencia*, 26, 8-12.

- Royal, Ch. D., Novembre, J., Fullerton, S., Goldstein, D. B., Long, J. C., Bamshad, M. J.,... Clark, A. G. (2010). Inferring genetic ancestry: opportunities, challenges and implications. *American Journal of Human Genetics*, 86, 661-673. doi:10.1016/j.ajhg.2010.03.011
- Sans M. (2000). Admixture studies in Latin America: from the 20th to the 21th Century. *Human Biology*, 72, 155-177.
- Salzano, F. M. y Sans, M. (2014). Interethnic admixture and the evolution of Latin American populations. *Genetics and Molecular Biology*, 37, 151-170. doi:10.1590/s1415-47572014000200003
- Shriver, M. D., Smith, M. W., Jin, L., Marcini, A., Akey, J. M., Deka, R.,... Ferrell, R. E. (1997). Ethnic-affiliation estimation by use of population-specific DNA markers. *American Journal of Human Genetics*, 60, 957-964.
- Silvia-Zolezzi, I., Hidalgo Miranda, A., Estrada Gil, J., Fernández López, J. C., Uribe Figueroa, L., Contre-ras, A.,... Jiménez-Sánchez, G. (2009). Analysis of genomic diversity in Mexican mestizo populations to develop genomic medicine in Mexico. *Proceeding National Academy of Science*, 106, 8611-8616. doi:10.1073/pnas.0903045106
- Simmons, A. D., Rodríguez-Arroyo, G. y Rodríguez-Laralde, A. (2007). Admixture estimates based on ABO, Rh and nine STRs in two Venezuelan regions. *Annals of Human Biology*, 34, 56-67. doi:10.1080/03014460601075736
- Stoneking, M., Fontius, J. J., Clifford, S. L., Soodyall, H., Arcot, S. S., Saha, N., Jenkins, T.,... Batzer, M. (1997). *Alu* insertion polymorphisms and human evolution: Evidence for a larger population size in Africa. *Genome Research* 7, 1061-107. doi: 10.1101/gr.7.11.1061
- Tarble, K. y Zucchi, A. (1984). Nuevos datos sobre la arqueología tardía del Orinoco: la serie Valloide. *Acta Científica Venezolana*, 35, 434-45.
- Toro-Labrador, G., Wever, O. y Martínez Cruzado, J. C. (2003). Mitochondrial DNA analysis in Aruba: strong maternal ancestry of closely related Amerindians and implications for the peopling of Northwestern Venezuela. *Caribbean Journal of Science*, 39, 11-22.
- Vila, M. A. (1965). Aspectos Geográficos del Estado Guárico. Corporación Venezolana de Fomento. Serie "Monografías Estadales". Caracas.
- Wang, S., Lewis, C. M., Jakobsson, M., Ramachandran, S., Ray, N., Bedoya, G.,... Ruiz-Linares, A. (2007). Genetic variation and population structure in Native Americans. *PLoS Genetics*, 3, e185. doi:10.1371/journal.pgen.0030185