

ESTIMACION DE LA MEZCLA GENICA EN DESCENDIENTES DE AFRICANOS DE LA CIUDAD DE MELO, URUGUAY, A TRAVES DE MARCADORES AUTOSOMICOS ASOCIADOS O ESPECIFICOS DE POBLACIONES

*Verónica L. Martínez Marignac*¹

*Mónica Sans*²

*Héctor M. Pucciarelli*¹

*Néstor O. Bianchi*³

PALABRAS CLAVE: Afroamericanos, Autosomas, Marcadores moleculares

RESUMEN: Se caracterizó la mezcla genética de 35 individuos seleccionados por autodefinirse como descendientes de africanos y por sus características fenotípicas. La mezcla génica se obtuvo a través de 8 marcadores bialélicos estudiados por medio de PCR y PCR-RFLP. Los resultados mostraron que la muestra recibió el aporte africano ($49,1\% \pm 3,8$), americano ($19,7\% \pm 3,8$) y europeo ($31,2\% \pm 0,7$). La adecuación del modelo empleado alcanzó el 99,88% (R^2) y la determinación del aporte europeo y americano fue similar a la que se presentó anteriormente para la misma población a partir de polimorfismos proteicos. Los resultados en el empleo de marcadores moleculares bialélicos específicos o con diferencias en sus distribuciones mayores al 30% entre las poblaciones parentales, se

1 División Antropología. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Universidad Nacional de La Plata. Paseo del Bosque s/n. 1900 La Plata. Argentina.

e-mail: v1mm_imbice_dna_pmg@email.com

2 Sección de Antropología Biológica. FHCE. Universidad de la República. Magallanes 1577. 11200 Montevideo. Uruguay.

3 Instituto Multidisciplinario de Biología Celular. Calle 526 e/10 y 11. 1900 La Plata. Argentina.

discuten conjuntamente con los resultados obtenidos anteriormente para la misma muestra con los linajes mitocondriales y del cromosoma Y. *Rev. Arg. Antrop. Biol.* 4(1): 49-59, 2002.

KEY WORDS: Afroamericans, Autosomals, Molecular markers

ABSTRACT: We characterized the genetic admixture of 35 individuals which were selected because they declared to be African descendants and due to their phenotype characteristics. The genetic admixture was obtained through 8 biallelic molecular markers characterized by means of PCR and PCR-RFLP. The results showed that the sample received the African ($49,1\% \pm 3,8$), American ($19,7\% \pm 3,8$), and European ($31,2\% \pm 0,7$) contribution. The adaptation of the pattern used reached 99,88% (R^2) and the determination of the European and American contribution was similar to the one previously presented for the same population by protein polymorphisms. The results obtained by the use of molecular specific biallelic markers showing 30% or higher differences in their distributions among the parental populations are discussed together with results previously obtained for the same sample with mitochondrial and Y chromosome lineages. *Rev. Arg. Antrop. Biol.* 4(1): 49-59, 2002.

INTRODUCCION

En el período de 1996-1997 un estudio llevado a cabo por el Instituto Nacional de Estadística del Uruguay determinó que aproximadamente el 6% de los uruguayos se autodefinían como negros o descendientes de africanos (Laborde, 2001).

La presencia de africanos en el territorio uruguayo se dió inicialmente en condiciones de esclavitud. Desde 1743 arribaron los primeros barcos negreros provenientes, principalmente de Angola, al puerto de Montevideo (Studer, 1958; Isola, 1975). Desde ese momento hasta la abolición de la esclavitud se estima que llegaron al Uruguay unos 20 mil esclavos en forma oficial o por contrabando desde el Brasil (Studer, 1958). En general, los esclavos eran utilizados en los trabajos en saladeros, quintas, en la labor doméstica y en la producción en pequeñas empresas familiares que satisfacían las necesidades básicas de la sociedad colonial (Haltros Ferguson, 1963).

La presencia de africanos en la República Oriental del Uruguay no se debe únicamente a la entrada de buques de esclavos al puerto de Montevideo. Además del contrabando, la abolición de la esclavitud en 1846, 40 años con anterioridad al Brasil, produce la entrada de esclavos negros en busca de libertad, desde el sur del Brasil al Uruguay (Mellafe, 1964).

Es en parte por las razones detalladas anteriormente que en la actualidad el porcentaje de genes de ancestros africanos en el norte del Uruguay, como por ejemplo en Tacuarembó, se estima que es mayor que en la población de Montevideo (Sans et al., 1997).

La ciudad de Melo fue fundada en 1795, se encuentra al noroeste del Uruguay próxima a la frontera con el Brasil y a 400 Km de Montevideo. De acuerdo al censo de 1985 la población contaba con 42.326 habitantes (Sexto Censo de Población y Cuarto de Viviendas, 1985) y según datos no publicados la población general posee un 11 a 13% de sus genes, de sistemas eritrocitario y de enzimas proteicas, de origen africano (Sans et al., 2002).

Los individuos analizados en el presente trabajo según estudios de Bravi et al. (1997) con marcadores de herencia uniparental en la misma muestra determinaron que el aporte materno corresponde en el 49% a un origen africano, en el 12% a un origen europeo y en el 32% a un origen amerindio, mientras que los linajes paternos corresponden en el 18% a cromosomas Y de origen africano, en el 23% al origen europeo no encontrándose aporte de linajes paternos amerindios.

La caracterización del origen geográfico de los linajes de herencia uniparental se logró en el 59% de los haplotipos del cromosoma Y, mientras que con linajes del ADNmt se logró estimar el origen étnico/geográfico en el 93% de los casos.

El trabajo de Sans et al. (2002) con 11 marcadores autosómicos multialélicos - dos sistemas de grupos sanguíneos y nueve sistemas de enzimas proteicas- en la muestra de Melo evidenció un 47% de aporte africano, 38% de origen europeo y un 16% de componente amerindio, con una adecuación del 96% del sistema de modelo trihíbrido.

El propósito del presente trabajo es adquirir mayor conocimiento en la composición genética de la población de descendencia africana de la ciudad de Melo y conocer la eficacia de esta determinación por medio de la obtención de la mezcla génica a partir de marcadores autosómicos bialélicos asociados a poblaciones o población específicos que muestran una mayor diferencia o delta en sus frecuencias alélicas entre las poblaciones parentales que dieron origen al actual grupo (europeas, africanas y americanas).

MATERIAL Y METODOS

Muestra. Se caracterizaron 35 individuos afrouruguayos de la ciudad de Melo, Uruguay, que no presentan relación de parentesco y que otorgaron su consentimiento informado. Todos fueron seleccionados por ser miembros de una asociación denominada "Club Uruguay" fundada y constituida por individuos de ascendencia africana autodefinidos como "afro-descendientes".

De las muestras de sangre entera se extrajo ADN por medio de resina Chelex® (BioRad) (Walsh et al., 1991) o por la técnica de fenol-cloroformo descrita por John et al. (1991).

Sistemas genéticos. Se determinaron 8 marcadores autosómicos bialélicos (Tabla 1) por medio de PCR y RFLP: 2 polimorfismos de insertos Alu (PV92 y Sb19.3); una inserción de 68 pb en la secuencia del gen de antitrombina 3 (AT3) y 5 polimorfismos de sitios de restricción en los loci: LPL, Fy-null, DR2D *BcII*, OCA2 y RB2300. Los polimorfismos fueron seleccionados por poseer frecuencias homogéneas entre subpoblaciones parentales y diferencias entre ellas mayores al 20%.

Las frecuencias alélicas para Amerindios, Europeos y Africanos se obtuvieron mediante un pool de más de 150 individuos para cada marcador y se convino en utilizar la denominación de alelo 1 al alelo que presentara el inserto Alu y la ausencia del sitio de restricción de acuerdo a Parra et al. (1998). Las frecuencias parentales empleadas se detallan en la Tabla 1.

Los marcadores de sitios de restricción, DR2D *BcII*, LPL y RB2300¹, se encuentran en secuencias intrónicas. El polimorfismo OCA2 corresponde a una transición G a A en el exón 10 del gene para la proteína transportadora P que produce una mutación silenciosa (National Center for Biotechnology). Opuestamente, el polimorfismo Fy-null está asociado a resistencia a malaria (Tournamille et al., 1995; Parra et al., 1998; Pfaff et al., 2001). El polimorfismo corresponde a una transición de T a C. Esta mutación perjudica la actividad del promotor del gen DARC al romper un sitio de ligamiento para su factor de transcripción, en consecuencia el receptor eritrocitario usado por el *Plasmodium vivax* para la infección se halla reprimido (Tournamille et al., 1995).

Hasta el momento, para los polimorfismos de inserción como el AT3 y los del tipo Alu no contamos con datos que demuestren que afectan la regulación de algún gen (Shriver, 2002).

Análisis estadístico. Las frecuencias alélicas de todos los marcadores fueron obtenidas por el conteo génico a partir de los correspondientes genotipos. El número de individuos homocigotas y heterocigotas medios esperados se obtuvo mediante el método de Chakraborty (1991) y se evaluó la desviación del equilibrio de Hardy Weinberg (HW) por medio de dos métodos, de X^2 de bondad de ajuste y el método G_{ST} (Sokal y Rohlf, 1981) para valores genotípicos esperados pequeños.

Para estimar la contribución africana, europea y americana se emplearon los 8 marcadores conjuntamente por medio del programa ADMIX3 cedido por Ranajit Chakraborty y modificado por Bernardo Bertoni, de la Universidad de la República, Montevideo,

¹ GenBank: DR2D acceso AF050737, LPL acceso AF050163 y RB2300 acceso AL392048. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Uruguay. Este programa requiere las frecuencias alélicas de la muestra de interés y de las posibles poblaciones parentales, además de calcular la contribución de cada parental a la muestra híbrida, genera un coeficiente de correlación múltiple (R^2) que demuestra la adecuación de las muestras parentales seleccionadas. La mezcla génica se estimó mediante el método basado en identidad genética de Chakraborty (1975; 1985). En el caso de los valores en las muestras parentales se empleó el promedio de muestras europeas, americanas y africanas obtenidas de la bibliografía (Batzer et al., 1996; Shriver et al., 1997; Parra et al., 1998; Bonilla et al., 2000) y para el marcador DR2D *BcII* las frecuencias de poblaciones parentales se obtuvieron del sitio SNP Search, del Centro Nacional de Biotecnología de los Estados Unidos (ver bibliografía citada).

Se compararon nuestros resultados para la contribución Amerindia, Europea y Africana con aquellos para la misma muestra obtenidos por marcadores proteicos por medio del test para comparación de proporciones (Z_c) (Zar, 1999).

RESULTADOS

Las frecuencias genotípicas para siete de los marcadores se correspondió al equilibrio de HW obtenido por los dos métodos empleados a niveles de significancia mayores a 0,01 (Tabla 2). Sin embargo, el marcador Sb19.3 mostró un desvío significativo ($X^2_{gl2}=9,52$, $P=0,009$; $G_{STgl2}=9,72$, $P=0,008$) del equilibrio de HW (Tabla 2). Se calculó el desvío de HW del total de los marcadores a través de la suma de los valores individuales para el X^2 y los grados de libertad. El resultado no se desvió del equilibrio de HW ($X^2_{gl16}=26,64$, $P=0,05$; $G_{STgl16}=27,09$, $P=0,04$).

Los resultados de mezcla génica mostraron que la muestra recibió el aporte africano ($49,1\% \pm 3,8$), europeo ($31,2\% \pm 0,7$) y americano ($19,7\% \pm 3,8$). El coeficiente de correlación múltiple (R^2) que expresa la adecuación del modelo trihíbrido empleado alcanzó un valor de 99,88% (Tabla 3). El valor obtenido de R^2 implica que en efecto la muestra de Melo es el resultado con 99,88% de la mezcla entre Amerindios, Europeos y Africanos en las proporciones obtenidas.

La comparación de proporciones de nuestros resultados para la mezcla génica no difieren significativamente ($P>0,05$) de los publicados anteriormente para la misma población con marcadores proteicos.

DISCUSION

A pesar de las políticas de estado desde el virreinato de mantener una sociedad fuertemente estratificada, donde los españoles conformaran pareja con españolas, los indios con indias y los esclavos negros con negras, en la realidad los tres grupos se mezclaron profusamente, formando un mosaico que los propios españoles llamaron castas (Mellafe, 1964).

En la región del Río de La Plata (Uruguay, Argentina y el Sur del Brasil) los esclavos africanos fueron obtenidos para trabajos domésticos o para labores como peones en saladeros y ranchos, lo que generó la mayor demanda de mujeres africanas en la región. Consecuentemente, las uniones ilegítimas entre europeos y mujeres africanas no fueron raras, como lo expresan diferentes crónicas y registros genealógicos desde la época colonial (Bouton, 1958; Mellafe, 1964).

El aporte genético amerindio a través de mujeres está sustentado además en las evidencias históricas y demográficas de la región (Sans et al., 1997). Debido a la falta de mujeres españolas durante la conquista era común que los varones europeos conformaran pareja con mujeres amerindias, generando al mestizo (Mörner, 1969). Igualmente, a partir de 1831 con la erradicación del pueblo charrúa, los sobrevivientes en su mayoría mujeres y niños fueron cedidos a familias en las zonas rurales (Cabrera, 1983).

La muestra afrouruguaya de la ciudad de Melo es, entonces, también el resultado de uniones direccionales que involucraron, al igual que la población general, a los tres grandes grupos étnicos: africanos, europeos e indígenas.

Los resultados descriptos por Bravi et al. (1997) para marcadores de herencia uniparental (cromosoma Y y ADNmt) evidenciaron la ocurrencia de uniones direccionales, donde el aporte amerindio y africano proviene principalmente de linajes maternos de ambos orígenes (Tabla 3) (Bravi et al., 1997; Sans et al., 2002). No se observó que la mezcla génica estimada por marcadores autosómicos sea el promedio de los resultados obtenidos para los linajes uniparentales, pues como era de esperar el efecto del proceso de apareamiento ha sido acumulativo desde la colonia y ha estado fuertemente influenciado por la subestructuración de la muestra por causas sociales, históricas y culturales que actúan sobre la elección del cónyuge.

Nuestros resultados comparados con aquellos de Bravi et al. (1997) para marcadores uniparentales y de Sans et al. (2002) permiten observar posibles cambios en el apareamiento direccional, desde la época colonial y la presencia en forma elevada del componente africano, podría estar evidenciando una subestructuración de la muestra por causas sociales, asociadas a elementos fenotípicos y culturales que necesitan de mayor revisión.

Los marcadores autosómicos empleados, al ser en su mayoría específicos o presentar diferencias mayores al 20% entre las poblaciones parentales, evidenciaron resultados con errores estándares levemente menores a los obtenidos con 11 marcadores proteicos y generaron una mayor adecuación del modelo en comparación a los resultados obtenidos previamente (Tabla 3, Sans et al., 2002), sin embargo los resultados de mezcla génica con los marcadores de ADN no presentaron diferencias significativas con los resultados previos ($P > 0,05$).

A diferencia de los resultados en Sans et al. (2002) donde ninguno de los polimorfismos estudiados se aleja del equilibrio de Hardy Weinberg ($P > 0,01$), en nuestros resultados el polimorfismo Alu Sb19.3 se separa del equilibrio.

La pérdida del equilibrio de Hardy Weinberg puede generarse por endogamia, estratificación de la muestra, mezcla génica o por selección entre otras causas.

Sin embargo, debido a que los resultados para los polimorfismos descritos por Sans et al. (2002) no se desvían del equilibrio de HW y que casi la totalidad de los marcadores aquí presentados están dentro del equilibrio, no podemos afirmar que el desvío del equilibrio de HW para el marcador Sb19.3 se deba a la subestructuración de la muestra de Melo; el desvío del polimorfismo Sb19.3 debe estar relacionado más que a características de la muestra a las propias características de este marcador y a posibles efectos de selección que no han sido descritos en la bibliografía hasta el momento.

Se estima que, a pesar de no contar con un conjunto de muestras parentales específicas a las que dieron origen a la población de Melo, los marcadores seleccionados al poseer una distribución de forma homogénea en todas las poblaciones europeas, africanas y amerindias estudiadas, permiten obtener una imagen clara del fondo étnico de una población híbrida.

Se sugiere que el empleo y desarrollo de marcadores autosómicos asociados a poblaciones o específicos de ellas, en conjunción a los de linajes uniparentales son adecuados para conocer la estructura genética de poblaciones afroamericanas de Sudamérica, ya que en ellas, a diferencia de las poblaciones norteamericanas, el aporte de indígenas americanos y europeos no puede ser desestimado (Parra et al., 1998; Sans et al., 2000).

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos cordialmente al Dr. Jorge López Camelo, Bernardo Bertoni y Carolina Bonilla por el aporte indispensable en el análisis estadístico y en los datos de frecuencia en poblaciones parentales. Queremos reconocer, además a la Lic. Beatriz Tosti y Dra. Graciela Bailliet, por las correcciones y lectura crítica del manuscrito.

Los autores agradecemos también, el apoyo financiero recibido de la Agencia de Ciencia y Técnica de la Argentina y del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

El presente trabajo es parte de la beca postdoctoral del CONICET de la Dra. Verónica Martínez Marignac.

Tabla 1

Marcadores autosómicos empleados para el cálculo de mezcla génica y frecuencia en poblaciones parentales

Locus	Tipo de marcador	Frecuencia alelo 1		
		América	Europa	Africa
AT3/D	68-bp inserción /delección	0,160	0,279	0,874
DR2D	transición C a T sitio <i>BclII</i>	0,628	0,144	0,063
Fy-null	sitio <i>StyI</i>	1,000	0,991	0,000
LPL	sitio <i>PvuII</i>	0,480	0,456	0,973
OCA2	sitio <i>HaeIII</i>	0,541	0,763	0,108
PV92	inserción Alu	0,773	0,242	0,187
RB2300	sitio <i>BamHI</i>	0,110	0,333	0,920
Sb19.3	inserción Alu	0,440	0,930	0,425

Tabla 2

Frecuencias alélicas, genotípicas y estimación del equilibrio de Hardy Weinberg en una muestra de Melo, Uruguay

Locus	Frecuencias alélicas		Genotipos N (frecuencia)					Hardy Weinberg			
	A ₁	A ₂	1.1	1.2	2.2	N	X ² _{gl2}	P	G _{STgl2}	P	
AT3/D	0,48	0,52	9 (0,30)	11 (0,37)	10 (0,33)	30	2,12	0,346	2,15	0,341	
DR2D	0,15	0,85	0 (0,00)	6 (0,30)	14 (0,70)	20	0,62	0,733	1,06	0,589	
Fy-null	0,64	0,36	16 (0,50)	9 (0,28)	7 (0,22)	32	4,85	0,088	4,82	0,089	
LPL	0,69	0,31	11 (0,61)	3 (0,17)	4 (0,22)	18	6,63	0,036	6,54	0,038	
OCA2	0,41	0,59	3 (0,11)	17 (0,61)	8 (0,28)	28	1,81	0,405	1,86	0,395	
PV92	0,11	0,89	1 (0,03)	6 (0,17)	28 (0,80)	35	0,83	0,660	0,68	0,712	
RB2300	0,59	0,41	8 (0,38)	9 (0,43)	4 (0,19)	21	0,26	0,878	0,26	0,878	
Sb19.3	0,35	0,65	7 (0,26)	5 (0,19)	15 (0,55)	27	9,52	0,009	9,72	0,008	
							26,64*	0,046	27,09	0,041	

* : Valores de análisis del desvío del equilibrio de HW globales

N : Número de individuos

g.l.: Grados de libertad

P : Probabilidad

Tabla 3

Proporciones estimadas del aporte africano, europeo y amerindio, en trabajos previos y en el presente para la misma muestra de Melo

Aporte Parental	ADNmt %* ¹	Cromosoma Y %* ¹	11 marcadores proteicos * ²	5 marcadores proteicos * ²	8 marcadores de ADN * ³
Africano	49	18	0,469±0,044	0,521±0,032	0,491±0,038
Europeo	12	23	0,376±0,041	0,392±0,044	0,312±0,007
Amerindio	32	0	0,155±0,055	0,087±0,036	0,197±0,038
Indeterminado	7	59	-	-	-
R ²			96,40%	99,60%	99,88%

*¹ Bravi et al., 1997

*² Sans et al., 2002

*³ Trabajo Presente

BIBLIOGRAFIA CITADA

Batzer MA, Santosh SA, Phinney JW, Alegria-Hartman M, Kass DH, Milligan SM, Kimpton C, Gill P, Hochmeister M, Ioannou PA, Herrera RJ, Boudreau DA, Scheer WD, Keats BJB, Deininger PL y Stoneking M (1996) Genetic variation of recent Alu insertions in human populations. *J. Mol. Evol.* 42:22-29.

Bonilla C, Parra EJ, Pfaff CL, Hiester KG, Sosonoski DM, Dios S, Gulden FO, Ferrell RE, Hamman RF y Shriver MD (2000) Native American admixture and its relationship to diabetes in Hispanic population of the Southwest. *Am. J. Hum. Genetics* 67(4), suplement 2:48.

Bouton RJ (1958) La vida rural en el Uruguay. *Revista Histórica. Publicación del Museo Histórico Nacional. Montevideo. Año LII. Tomo XXVIII: 41-52.*

Bravi CM, Sans M, Bailliet G, Martínez-Marignac VL, Portas M, Barreto Y, Bonilla C y Bianchi NO (1997) Characterization of mitochondrial DNA and Y-chromosome haplotypes in a Uruguayan population of African ancestry. *Human Biology* 69(5):641-652.

Cabrera L (1983) Los repartos indígenas de 1831. *Revista Antropológica. Montevideo* 2:31-34.

Chakraborty R (1975) Estimation of race admixture: a new method. *Am. J. Phys. Anthropol.* 42:507-511.

Chakraborty R (1985) Gene identity in racial hybrids and estimation of admixture rates. En Neel JV y Y Ahuja (eds): *Genetic Microdifferentiation in Man and Other Animals*. New Delhi: Indian Anthropological Association. Delhi University, pp. 171-180.

Chakraborty R (1991) Generalized occupancy problem and its application in population genetics. En Sing CF y CL Hanism (eds): *Impact of Genetic Variation on Individuals, Families and Populations*. New York, Oxford University Press.

Haltos Ferguson J (1963) *El Equilibrio Racial en América Latina*. Biblioteca de América. Libros del Tiempo Nuevo. EUDEBA.

Isola E (1975) *La Esclavitud en el Uruguay desde sus Comienzos hasta su Extinción, 1743-1852*. Montevideo, Comisión Nacional de Homenaje del Sesquicentenario de los Hechos Históricos de 1825.

John SWM, Weitzner G, Rozen R y Scriver CR (1991) A rapid procedure for extracting genomic DNA from leukocytes. *Nucleic Acids Research* 19:408.

Laborde G (2001) *La comunidad negra en el Uruguay*. Servicio Informativo Iberoamericano. Febrero, Nº 36. <http://www.campus-oei.org/sii/numero36/noticia04.htm>.

Mellafe R (1964) *La Esclavitud en Hispanoamérica*. Biblioteca de América. Libros del Tiempo Nuevo. EUDEBA. passim.

Mörner M (1969) *La Mezcla de Razas en la Historia de América Latina*. Buenos Aires, Editorial Paidós. passim.

National Center for Biotechnology. National Library of Medicine. National

Institutes of Health. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?searchType=adhoc_search&type=rs&rs=rs1800404

Parra EJ, Marcini A, Akey J, Martinson J, Batzer MA, Cooper R, Forrester T, Allison DB, Deka R, Ferrell R y Shriver MD (1998) Estimating African American admixture proportions by use of population specific alleles. *American Journal of Human Genetics* 63:1839-1851.

Pfaff CL, Parra EJ, Bonilla C, Hiester K, McKeigue PM, Kamboh MI, Hutchinson RG, Ferrell RE, Boerwinkle E y Shriver MD (2001) Population structure in admixed populations: effect of admixture dynamics on the pattern of linkage disequilibrium. *Am. J. Hum. Genet.* 68(1):198-207.

Sans M (2000) Admixture studies in Latin America: From the 20th to the 21st century. *Hum. Biol.* 72(1):155-177.

Sans M, Salzano FM y Chakraborty R (1997) Historical genetics in Uruguay: estimates of biological origins and their problems. *Hum. Biol.* 69(1):161-170.

Sans M, Weimer TA, Franco MHL, Salzano FM, Bentancor N, Alvarez I, Bianchi NO y Chakraborty R (2002) Unequal contributions of male and female gene pools from parental populations in the African descendants of the city of Melo, Uruguay. *Am. J. Phys. Anthropol.* 118(1):33-44.

Shriver M (2002) http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_search.cgi?searchType=byBatch&batch_id=5243.

Shriver M, Smith MW, Li J, Marcini A, Akey JM, Deka R y Ferrell RE (1997) Ethnic-affiliation estimation by use of population-specific DNA markers. *Am. J. Hum. Genet.* 60:957-964.

SNP Search. National Center for Biotechnology. National Library of Medicine. National Institutes of Health. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_retrieve.cgi?subsnp_id=4387021.

Sokal RR y Rohlf FJ (1981) *Biometry*. New York, W.H. Freeman.

Studer EFS (1958) *La trata de negros en el Río de la Plata durante el siglo XVIII*. Facultad de Filosofía y Letras. Instituto de Historia "Doctor Emilio Ravignani". Universidad Nacional de Buenos Aires. Departamento Editorial. *passim*.

Tournamille C, Colin Y, Cartron JP y Le Van Kim C (1995) Disruption of a GATA motif in the *Duffy* gene promoter abolishes erythroid gene expression in Duffy-negative individuals. *Nature Genetics* 10:224-228.

Walsh SP, Metzger DA y 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.

Zar JH (1999) *Biostatistical Analysis*. New Jersey, Ed. Prentice Hall. Simon and Schuster.