

**Relación entre los Principales Linajes Indígenas del ADN Mitocondrial en las
Islas de Puerto Rico y República Dominicana**

Por:

Edna Patricia Tascón Peñaranda

Tesis sometida en cumplimiento de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

en

Biología

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO

RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ

2014

Aprobado por:

Taras K. Oleksyk, Ph. D
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Fernando J. Bird-Picó, Ph. D
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Juan Carlos Martínez Cruzado, Ph.D.
Presidente, Comité Graduado

Fecha

Nanette Difffoot Carlo, Ph.D.
Directora Departamento de Biología

Fecha

Carmen Santana, Ph.D
Representante de Estudios Graduados

Fecha

Abstract

It is well known that indigenous mitochondrial haplogroups A and C are predominant in the Dominican Republic and Puerto Rico. Medium networks built of sequences of the hypervariable regions of mtDNA have identified 13 lineages belonging to these haplogroups in Puerto Rico and 20 in the Dominican Republic. Specifically, we have identified 9 lineages for haplogroup A in Puerto Rico and 14 lineages in the Dominican Republic, of which are 4 shared with Puerto Rico. In relation to haplogroup C, 4 lineages were found in Puerto Rico and 6 in the Dominican Republic, 2 of which are shared with each other. The purpose of this research was to identify the continental origin of these maternal lineages by complete sequencing (16,569 bp) of mtDNA at least one of each of these lineages in each country. Comparing these sequences with mtDNA lineages of literature by phylogenetic analysis, it was found that for haplogroup A2, samples of Puerto Rico and Dominican Republic had a Mesoamerican origin. In relation to haplogroup C1, results indicate that lineages C1c and C1b keep a closer relationship with South American lineages.

Keywords: Mitochondrial DNA, haplogroups , lineages, Puerto Rico and Dominican Republic.

Resumen

Es bien conocido que los haplogrupos mitocondriales indígenas A y C son los predominantes en la República Dominicana y Puerto Rico. Redes medianas construidas sobre la base de las secuencias de las regiones hipervariables del ADNmt han identificado 13 linajes pertenecientes a estos haplogrupos en Puerto Rico y 20 en la República Dominicana. Específicamente, se han identificado 9 linajes para el haplogrupo A en Puerto Rico y 14 linajes en la República Dominicana, de los cuales comparte 4 con Puerto Rico. En lo relacionado al haplogrupo C, se encontraron 4 linajes en Puerto Rico y 6 en la República Dominicana, 2 de los cuales son compartidos entre sí. El propósito de esta investigación fue identificar el origen continental de estos linajes maternos mediante la secuenciación completa (16,569 pb) de por lo menos un ADNmt de cada uno de estos linajes en cada país. Al comparar estos linajes con secuencias de ADNmt de la literatura mediante análisis filogenético, se encontró que para el haplogrupo A2, las muestras de Puerto Rico y República Dominicana presentaban un origen mesoamericano. En lo relacionado al haplogrupo C1 se encontró que los linajes de C1b y C1c guardan una relación más cercana con linajes suramericanos.

Palabras Claves: ADN Mitocondrial, Haplogrupos A2 y C1, Linajes, Puerto Rico y República Dominicana.

© Edna Patricia Tascón Peñaranda 2014

Dedicatoria

A mis padres, Martha Peñaranda y Fernando Tascón; a mis hermanos Fernando y Ana Lucía, por su apoyo incondicional. Y a mi esposo Donato, por darme la motivación y apoyo para seguir adelante.

Agradecimientos

En primer lugar a DIOS por haberme dado la oportunidad de haber llegado a Puerto Rico y haber hecho posible la realización de este trabajo de tesis.

Al Dr. Juan Carlos Martínez Cruzado por haberme dado la oportunidad de ser parte de su grupo de investigación, por su ayuda incondicional y sus valiosos consejos. A los demás miembros de mi comité graduado, el Dr. Taras K. Oleksyk y el Dr. Fernando J. Bird-Picó por sus recomendaciones y contribuciones para realizar este trabajo.

Al Dr. Rafael Montalvo y al Dr. Carlos Santos por su tiempo y ayuda en la interpretación de árboles filogenéticos. A Yashira Afanador, Israel Rivera, Gualberto Rosado y Jacob López por su paciencia y el tiempo dedicado en la enseñanza de los diferentes programas para la interpretación de los resultados.

A la Universidad de Puerto Rico, Recinto de Mayagüez, pero en especial al Departamento de Biología, por su apoyo incondicional y el aguantarme durante estos años.

A mis papás, hermanos, suegros y cuñada, porque confiaron en mí brindándome su apoyo y constante motivación.

A mi esposo, Donato Seguí Crespo, por su estar ahí cuando más lo necesite y por seguirme brindando su ayuda y apoyo incondicional. A mi amiga y hermana Catherine Osorio Quintero, con la cual emprendí este viaje y que se mantuvo incondicional a mi lado. A mis amigos Nilda Negrón, Edwin Torres, Gloria Natal, Daniel Lugo, Joannathan Santiago, Cristian Celis, Angie Córdoba, Mariana Torres y Carlos Calero por su amistad.

Tabla de contenido

Abstract.....	ii
Resumen.....	iii
Dedicatoria.....	v
Agradecimientos.....	vi
Lista de Tablas.....	xi
Lista de Figuras.....	xii
Lista de Apéndices.....	xv
1. Introducción.....	1
2. Justificación	3
3. Objetivos.....	5
3.1. Objetivo general.....	5
3.2. Objetivos específicos.....	5
4. Revisión de Literatura.....	6
4.1 El ADN mitocondrial (ADNmt).....	6
4.2 Haplogrupo.....	7
4.3 Evidencia del ADN mitocondrial a favor del origen africano del ser humano.....	8
4.4 Evidencia de migración por el Estrecho de Bering de los haplogrupos indígenas.....	9
4.5 Evidencia y características de los haplogrupos indígenas.....	11
4.6 Estudios en Centro y Sur América.....	14
4.7 Evidencia arqueológica del Caribe.....	17
4.7.1 Edad Pre-Cerámica.....	17

4.7.2 Edad Cerámica.....	18
4.8 Prevalencia del ADNmt indígena en Puerto Rico.....	19
4.9 Estudios del ADNmt en República Dominicana.....	21
4.10 Haplotipos que comparten Puerto Rico y República Dominicana.....	22
5. Materiales y Métodos.....	27
5.1 Población de estudio.....	27
5.2 Muestras de Estudio.....	27
5.3 Amplificación por PCR.....	30
5.4 Purificación de Amplicones.....	30
5.5 Secuenciación automatizada.....	31
5.6 Análisis de datos.....	32
5.6.1 Comparación de secuencias.....	32
5.6.2 Redes de Uniones Medianas.....	32
5.6.3 Distancia genética y reloj molecular de los haplogrupos A2 y C1.....	32
5.6.4 Medida de Diversidad Genética Poblacional.....	33
5.6.5 Árboles filogenéticos para los haplogrupos A2 y C1.....	33
6. Resultados.....	34
6.1 Secuenciación completa de los haplogrupo A2 y C1.....	34
6.2 Redes de uniones medianas para determinar el porcentaje de ADNmt indígenas compartidos entre Puerto Rico y República Dominicana.....	35
6.2.1 Red de uniones medianas del haplogrupo A2 para Puerto Rico.....	35
6.2.2 Red de uniones medianas del haplogrupo A2 para República Dominicana.....	36

6.2.3 Red de uniones medianas del haplogrupo A2 para Puerto Rico y República Dominicana.....	37
6.2.4 Red de uniones medianas del haplogrupo C1 para Puerto Rico.....	39
6.2.5 Red de uniones medianas para del haplogrupo C1 República Dominicana.....	40
6.2.6 Red de uniones medianas para del haplogrupo C1 Puerto Rico y República Dominicana.....	41
6.3 Distancia genética y reloj molecular de los haplogrupos A2 y C1.....	43
6.4 Valores de F_{ST} para Puerto Rico y República Dominicana en relación a otros países.....	45
6.4.1 Valores de F_{ST} para el haplogrupo A2.....	45
6.4.2 Valores de F_{ST} para el haplogrupo C1b.....	46
6.4.3 Valores de F_{ST} para el haplogrupo C1c.....	46
6.5 Árboles Filogenéticos de los haplogrupo A2 y C1.....	47
6.5.1 Árboles Filogenéticos para el haplogrupo A2.....	47
6.5.2 Árboles Filogenéticos para el haplogrupo C1b.....	68
6.5.3 Árboles Filogenéticos para el haplogrupo C1c.....	74
6.5.4 Árboles Filogenéticos para el haplogrupo C1d.....	79
7. Discusión.....	82
7.1 Variabilidad comparada dentro de Puerto Rico y República Dominicana.....	82
7.2 Migraciones más recientes para Puerto Rico y República Dominicana	83
7.3 Diferenciación de Puerto Rico y República Dominicana en relación al continente.....	84
7.4 Posibles orígenes de los linajes en Puerto Rico y República Dominicana.....	84
8. Conclusiones.....	88
9. Recomendaciones.....	89

10. Literatura Citada.....	90
11. Apéndices.....	97

Lista de Tablas

Tabla 1. Distancia genética en años del haplogrupo A2 y C1.....	44
Tabla 2. Valores de F_{ST} para el haplogrupo A2.....	45
Tabla 3. Valores de F_{ST} para el haplogrupo C1b.....	46
Tabla 4. Valores de F_{ST} para el haplogrupo C1c.....	47
Tabla 5. Comparación del Haplogrupo A2 para los algoritmos de MEGA y MrBayes.....	67
Tabla 6. Comparación del Haplogrupo C1 para los algoritmos de MEGA y MrBayes.....	81

Lista de Figuras

Figura 1. Red de uniones medianas del haplogrupo A de República Dominicana y Puerto Rico utilizando secuencias de las regiones HVR-I y HVR-II.....	24
Figura 2. Red de uniones medianas del haplogrupo C1 de República Dominicana y Puerto Rico utilizando secuencias de las regiones HVR-I y HVR-II.....	25
Figura 3. Red de uniones medianas del haplogrupo A2 para República Dominicana.....	28
Figura 4. Red de uniones medianas del haplogrupo A2 para Puerto Rico.....	29
Figura 5. Red de uniones medianas del haplogrupo C1 para Puerto Rico y República Dominicana.....	29
Figura 6. Red de uniones medianas del haplogrupo A2 para Puerto Rico del ADNmt completo.....	36
Figura 7. Red de uniones medianas del haplogrupo A2 para República Dominicana del ADNmt completo.....	37
Figura 8. Red de uniones medianas del haplogrupo A2 para Puerto Rico y República Dominicana del ADNmt completo.....	39
Figura 9. Red de uniones medianas del haplogrupo C1 para Puerto Rico del ADNmt completo.....	40
Figura 10. Red de uniones medianas del haplogrupo C1 para República Dominicana del ADNmt completo.....	41
Figura 11. Red de uniones medianas del haplogrupo C1 para Puerto Rico y República Dominicana del ADNmt completo.....	43
Figura 12. Árbol filogenético del haplogrupo A2 de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MEGA6 con máxima verosimilitud.....	49
Figura 12a. Árbol filogenético del haplogrupo A2 de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MEGA6 con máxima verosimilitud (Grupo I)	50
Figura 12b. Árbol filogenético del haplogrupo A2 de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MEGA6 con máxima verosimilitud (Grupo II)	52

Figura 13. Red de uniones medianas de la muestra Alpha A2 del haplogrupo A2.....	54
Figura 14. Red de uniones medianas de la muestra MG1 del haplogrupo A2.....	55
Figura 15. Red de uniones medianas de la muestra 241 del haplogrupo A2.....	56
Figura 16. Red de uniones medianas de la muestra Alpha D2 del haplogrupo A2.....	57
Figura 17. Árbol filogenético del haplogrupo A2 de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MrBayes.....	58
Figura 17a. Árbol filogenético del haplogrupo A2 de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MrBayes (Grupo VI).....	59
Figura 17b. Árbol filogenético del haplogrupo A2 de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MrBayes (Grupo IV y V).....	60
Figura 17c. Árbol filogenético del haplogrupo A2 de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MrBayes (Grupo III).....	61
Figura 18. Red de uniones medianas de la muestra PJ07 del haplogrupo A2.....	62
Figura 19. Red de uniones medianas de las muestras J12 y L24 del haplogrupo A2.....	63
Figura 20. Red de uniones medianas de las muestras G11, QA4, KE5a y L29 del haplogrupo A2.....	64
Figura 21. Red de uniones medianas de las muestras ZC4 y AE del haplogrupo A2.....	65
Figura 22. Red de uniones medianas de las muestras KB6b del haplogrupo A2.....	66
Figura 23. Árbol filogenético del haplogrupo C1b de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MEGA6 con máxima verosimilitud.....	69

Figura 24. Árbol filogenético del haplogrupo C1b de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MrBayes.....	71
Figura 25. Red de uniones medianas de MI2 del subhaplogrupo C1b.....	72
Figura 26. Red de uniones medianas de NA6a, RC3 y JC07 del subhaplogrupo C1b.....	73
Figura 27. Red de uniones medianas de IAI del subhaplogrupo C1b.....	74
Figura 28. Árbol filogenético del haplogrupo C1c de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MEGA6 con máxima verosimilitud.....	76
Figura 29. Árbol filogenético del haplogrupo C1c de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MrBayes.....	77
Figura 30. Red de uniones medianas de las muestras PJ14, GB1a y TEAixa del subhaplogrupo C1c.....	78
Figura 31. Árbol filogenético del haplogrupo C1d de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MEGA6 con máxima verosimilitud.....	80

Lista de apéndices

Apéndice 1. Secuencias completas del haplogrupo A2 de ZC4, AE, MG1, 241, Alpha D2, QA4, AlphaA2, KE5a, G11, SA8b, L29, J12, KB6a y J7.....	97
Apéndice 2. Secuencias completas de ADNmt del haplogrupo A2 obtenidas en la literatura...	101
Apéndice 3. Secuencias completas del haplogrupo C1 de IAI, RC3, TEAixa, MI2, JC07, NA6a, JC03, GB1a y P14.....	103
Apéndice 4. Secuencias completas de ADNmt del haplogrupo C1b obtenidas en la literatura..	107
Apéndice 5. Secuencias completas de ADNmt del haplogrupo C1c obtenidas en la literatura.....	108
Apéndice 6. Secuencias completas de ADNmt del haplogrupo C1d obtenidas en la literatura.....	109
Apéndice 7. Red mediana del haplogrupo A2 de Puerto Rico y República Dominicana de los grupos I-IV con muestras de la literatura.....	112
Apéndice 8. Red mediana del haplogrupo A2 de Puerto Rico y República Dominicana del grupo V con muestras de la literatura.....	113
Apéndice 9. Red mediana del haplogrupo A2 de Puerto Rico y República Dominicana de los grupos VI con muestras de la literatura.....	114
Apéndice 10. Red mediana del haplogrupo C1b de Puerto Rico y República Dominicana con muestras de la literatura.....	115

1. Introducción

El ADN mitocondrial (ADNmt), el cual fue completamente secuenciado por primera vez por Anderson et al. (1981), es una molécula circular de 16,569 pares de bases. Posee características únicas como su herencia por vía materna, ausencia de recombinación y una alta tasa de mutación (Cann et al. 1987).

El ADNmt posee dos regiones, conocidas como codificante y control. La primera región contiene 37 genes: 2 de ácido ribonucleico ribosomal (rARN), 22 de ARN de transferencia (tARN) y 13 de polipéptidos que son subunidades de enzimas de los complejos de la fosforilación oxidativa. La región control, o *D-loop* de 1.1 kb, se extiende desde la posición 16024 hasta 576, y en ella se encuentran las regiones hipervariables I y II (Bandelt et al. 2006). Según Soares et al. (2009), la región hipervariable I (HVS-I) se encuentra entre las posiciones 16051 y 16400, y la región hipervariable II (HVS-II) entre las posiciones 68 a 263. Además se ha reportado la presencia de otra región hipervariable que se encuentra entre las posiciones 440 y 560, la cual recibe el nombre de región hipervariable III (Lutz et al. 1996).

La región control ha sido la más utilizada para estudiar migraciones, ya que presenta el 30% de las mutaciones en tan solo el 7% de la molécula. La mayoría de los haplogrupos pueden ser identificados a base de la secuencia de su región control (Graven et al. 1995). Los haplogrupos se fijan a lo largo de las generaciones, presentando una gran importancia para definir los orígenes de las poblaciones humanas, desde la salida de África hacia los demás continentes.

Por lo anterior, se han realizado muchos estudios de ADN mitocondrial para determinar cómo es la distribución poblacional. Estos estudios han arrojado que la mayoría de los haplogrupos son continente-específico, ya que solo se encuentran en un solo continente. Las

poblaciones mestizas presentan haplogrupos pertenecientes a los continentes parentales de la población. En el caso de Puerto Rico, esto son los africanos, europeos y amerindios. Estos últimos son conocidos como A, B, C, D y un residuo adicional llamado X (Bandelt et al. 1995; Lalueza et al. 1997; Stone y Stoneking 1998). Entre algunos estudios se destacan los realizados en las Antillas Mayores, como es el caso Puerto Rico (Martínez Cruzado et al. 2005), Cuba (Mendizabal et al. 2008) y República Dominicana (Martínez Cruzado et al. 2008).

Con el presente estudio se pretende descubrir la relación existente del ADN mitocondrial indígena de las islas de Puerto Rico y República Dominicana a base del análisis de la secuenciación completa de algunos linajes pertenecientes a los haplogrupos A y C.

2. Justificación

Al estudiar la arqueología de Puerto Rico y República Dominicana, se ha encontrado que la cultura saladoide permaneció mucho tiempo en Puerto Rico sin que esta cultura se difundiera a La Española, en donde había muchas culturas que parecen haber evolucionado de las arcaicas, siendo mayormente cazadores-recolectores.

Cuando por fin la cultura de Puerto Rico se difunde a La Española, ya la cultura saladoide había desaparecido y lo que hay es una cultura cacical denominada ostionoides. Por lo tanto, ¿será esta cultura cacical una evolución de la saladoide?, ¿O representa una nueva migración hacia Puerto Rico y hacia La Española?

En el 2008 Martínez y colaboradores realizaron un análisis de la región control del ADN mitocondrial de 560 muestras recolectadas de 43 provincias de la República Dominicana para contribuir al conocimiento de las relaciones genéticas entre los aborígenes de Puerto Rico y La Española. Los resultados obtenidos demuestran que el haplogrupo A es el más frecuente, con un 57.8% para República Dominicana y un 52.4% para Puerto Rico, seguido de los haplogrupos C, B y D en ese orden. La diferencia más notable es que el haplogrupo C es más común en Puerto Rico, con un 35.6% y solo el 25.2% está para República Dominicana.

Sobre la base de lo anterior, se realizó una secuenciación completa del ADNmt de los haplogrupos A2 y C1, en donde se seleccionaron las muestras que mostraron diferencias para los linajes encontrados de acuerdo a sus secuencias de la región control. Algunos de los linajes de la República Dominicana compartían una secuencia control con otros de Puerto Rico, de lo cual se pudo postular que pertenecían a un mismo linaje.

También, se pudo observar en las redes medianas obtenidas, un haplotipo fundador en ambos países del cual se derivaban varios linajes. Este linaje se considera fundador del Nuevo

Mundo y se encuentra en Norte, Centro y Sur América, por lo cual es posible que haya llegado de forma independiente a ambas islas. Determinar si pertenecen a un mismo linaje o no, nos permitirá postular si son o no producto de un mismo proceso migratorio. Como algunos linajes se comparten entre Puerto Rico y República Dominicana se pretendió descubrir si ambas islas presentaban un mismo haplotipo fundador o si unos en una isla son derivados del otro.

3. Objetivos

3.1 Objetivo General

- Determinar el grado de relación existente entre Puerto Rico y República Dominicana sobre la base de los linajes de los haplogrupos A2 y C1.
- Determinar en lo que sea posible el origen continental de los linajes maternos indígenas de Puerto Rico y República Dominicana.

3.2 Objetivos Específicos

- Secuenciar el ADNmt completo (16,569 pb) de 25 muestras seleccionadas de estudios previos de Puerto Rico y República Dominicana para los linajes de los haplogrupos A2 y C1.
- Sobre la base de estos linajes, determinar el porcentaje de ADNmts indígenas para cada país que es compartido con el otro.
- Determinar F_{ST} para Puerto Rico y República Dominicana y también en relación a otros países.
- Realizar construcciones filogenéticas como árboles filogenéticos y redes medianas del ADNmt indígena del continente para los haplogrupos A2 y C1 de Puerto Rico y República Dominicana, incluyendo secuencias reportadas de las bases de datos públicas para así poder identificar el origen continental de todos estos linajes maternos.

4. Revisión de Literatura

4.1 El ADN mitocondrial (ADNmt)

El ADNmt posee un alto número de copias por célula, es estrictamente de herencia materna y no lleva a cabo recombinación en la meiosis (Giles et al. 1980; De Francesco et al. 1980).

Desde 1981 se secuenció por completo el ADNmt humano, la secuencia de referencia de Cambridge (CRS), la cual ha servido para realizar estudios de evolución humana, genética de poblaciones y enfermedades mitocondriales. La secuencia original fue de ascendencia europea, aunque también contiene algunas secuencias de ADNmt de células HeLa (línea celular humana procedente de un tumor de útero) y de bovinos. Estas secuencias fueron utilizadas para completar los segmentos que faltaban por secuenciar, para sí obtener la secuencia completa del ADNmt (Anderson et al. 1981).

Andrews et al. (1999) realizaron una nueva secuenciación del CRS, encontrando errores y polimorfismos raros. Hay 11 posiciones de nucleótidos en la secuencia original que contiene el nucleótido incorrecto (CRS de la hebra liviana). Se encontró un dupleta de CC en las posiciones 3,106 y 3,107 en la secuencia original, que es en realidad un sólo residuo de citosina. Los otros errores son en la identificación de pares de bases individuales y típicamente implican la asignación incorrecta de un residuo de guanina. Los errores en los nucleótidos 14,272 y 14,365 resultan de la utilización de la secuencia de ADNmt bovino en sitios ambiguos. Hay además siete posiciones en las que CRS original es correcto, pero donde representan alelos polimórficos raros (Howell et al. 1992).

4.2 Haplogrupo

Los análisis con RFLP han permitido la detección del 15% al 20% de algunas secuencias de ADNmt, las cuales han servido para estudios realizados en Asia, Europa y las Américas (Schurr et al. 1990; Ballinger et al. 1992; Torroni et al. 1993a, 1993b). Sobre la base de lo anterior, el ADNmt se define por uno o más polimorfismos que son continente-específico, formando los haplogrupos. Un haplogrupo tiene como base una variante de nucleótidos específica la cual forma grupos de ADNmt que la comparten y que los distingue de cualquier otro ADNmt. Podemos definirlo como un grupo de haplotipos que comparten un origen evolutivo en común, y que pueden distinguirse del resto de los haplotipos por poseer una mutación que han heredado de una ancestra evolutiva compartida. Por su alta frecuencia, los haplogrupos se convierten en marcadores genéticos de gran alcance que pueden inferir el origen étnico y geográfico de los humanos modernos y antiguos (Torroni et al. 1993a). Su especificidad geográfica y étnica también indica que estas mutaciones surgieron después de la separación genética de las poblaciones humanas ancestrales, las cuales dieron origen a los principales grupos étnicos modernos. El mayor de los haplogrupos de cada continente suele ser la más divergente y, por tanto, el más antiguo (Torroni et al. 1993a). La edad de un haplogrupo puede ser estimada por la diversidad genética contenida en este, la acumulación de mutaciones en función del tiempo, la formación de nuevos haplotipos dentro de un haplogrupo y la diversidad haplotípica resultante (Forster et al. 1996). Los haplogrupos a su vez producen linajes que son un conjunto de ADNmt relacionados entre sí por compartir una asociación común y única de un sitio de restricción que no es observada en otros ADNmt (Torroni et al. 1992).

4.3 Evidencia del ADN mitocondrial a favor del origen africano del ser humano

Las poblaciones africanas se encuentran entre los primeros grupos humanos que se analizaron para la variación del ADNmt por RFLP (Denaro et al. 1981). Aunque el procedimiento ejecutado por éstos permite la detección de sólo el 2% al 3% de la variación, más del 76% de los ADNmt de África (100% de los pigmeos y el 67,3% de los senegaleses) formó un polimorfismo antiguo monofilético, el haplogrupo L, que se caracteriza por una ganancia en el sitio *HpaI* en la posición nucleotídica 3,592 en relación al CRS (Cann et al. 1987). Se han encontrado mutaciones adicionales que lo han subdivido en los haplogrupos L1 y L2 y el paragrupo L0. Inicialmente, el haplogrupo L1 se caracteriza por transiciones en las posiciones 3666, 7055, 7389, 13789, 14178 y 14560, mientras que el haplogrupo L2 se caracteriza por las siguientes mutaciones en la región constante: 2416, 8206, 9221, 10015 y 13590 (Van Oven 2009).

Los subhaplogrupos contienen menor diversidad en los europeos y los asiáticos. La comparación de la secuencia de divergencia intrapoblacional en las poblaciones africanas y no africanas, confirma que las poblaciones africanas presentan el mayor grado de diversidad del ADNmt, un resultado que apoya la hipótesis de que los africanos representan el grupo humano más antiguo y que todos los seres humanos modernos tienen un reciente origen africano (Johnson et al. 1983; Scozzari et al. 1988). Según Soares et al. (2009), la edad de la variación de África se estima que fue hace 160.000 años antes del presente, mientras que la edad del haplogrupo L se estimó en 70.000 años antes del presente. Estos valores exceden sustancialmente las edades de todos los haplogrupos mitocondriales asiáticos y europeos que fue de 45.000 años antes del presente.

Mientras que el haplogrupo L es el más prevalente y divergente en las poblaciones africanas modernas, no parece que se haya expandido hacia las poblaciones en el Oriente Medio, Asia y Europa. Los únicos casos en que los haplogrupos ADNmt L se han encontrado fuera de África, son explicables por flujos de genes evolutivamente recientes en estas regiones (Chen et al. 1995).

Otra línea de evidencia que apunta al origen africano del ser humano es que se ha presentado una correlación negativa entre la diversidad genética de cualquier población no africana y su distancia geográfica al este de África. Esto se ha confirmado con análisis de microsatélites en donde se ha demostrado que la distancia geográfica del este de África ha presentado una disminución en la diversidad genética del 85% dentro de las poblaciones humanas. Esta disminución de la diversidad con la distancia desde el este de África es consistente con los orígenes en el este de África de los humanos no africanos (Handley et al. 2007).

4.4 Evidencia de migración por el Estrecho de Bering de los haplogrupos indígenas

El papel de las costas en dicha dispersión fuera de África se ha convertido en objeto de mayor escrutinio en los últimos años, con una alta evidencia que apunta a que han sido facilitadores de las migraciones (Fix 2005). Las migraciones ocurridas hacia el Nuevo Mundo fueron realizadas por el estrecho de Bering desde Asia (Fagan 2004). Las poblaciones asentadas en las costas se han estudiado para determinar la dispersión inicial hacia el continente americano, en especial en el proceso de colonización de las Américas desde el extremo noroeste del continente (Ramachandran et al. 2005). El período de transición entre la separación de los haplogrupos nativos americanos de sus ancestros asiáticos y el inicio de su diversificación y

expansión en las Américas se estimó en 5000 años (Fagundes et al. 2008), lo cual implica que la población proto-amerindia estuvo aislada en la región de Bering por ese periodo de tiempo en la Edad de Hielo antes de introducirse de lleno al Nuevo Mundo.

Varias evidencias sugieren que los humanos que ingresaron a América lo realizaron de forma distinta, es decir, la colonización del Nuevo Mundo se produjo en forma tripartita, con tres poblaciones y lingüísticamente diferentes. Estas poblaciones son conocidas como los paleo-indios (ancestro de amerindios), los na-dene, y los esquimales-aleutianos (Greenberg et al. 1986; Greenberg 1987).

Los primeros estudios de diversidad del ADNmt de los amerindios y na-dene, sugirió que los amerindios llegaron a las Américas mucho antes que los na-dene, por lo tanto, se presentaron migraciones por separado (Shields et al. 1992; Torroni et al. 1992).

Estudios previos del ADNmt de nativos americanos revelan la presencia de una posible derivación de cuatro haplogrupos independientes (Wallace 1995). Por otra parte, utilizando el rango de las estimaciones publicadas para la tasa de divergencia del ADNmt y el grado de diversidad que se encuentra en los amerindios y na-dene, se comprueba que la diversidad del ADNmt amerindio era compatible con una colonización anterior a la cultura Clovis del Nuevo Mundo (Schurr et al. 1990; Torroni et al. 1992).

Las estimaciones sobre el momento de la llegada de los primeros nativos al Nuevo Mundo, se fundamentan en reportes de restos óseos y líticos de artefactos de la cultura Clovis, presentado una evidencia de excavaciones en Texas que proporcionan evidencia de la presencia humana de hace 15,5 miles de años (Waters et al. 2011). En lo relacionado al tiempo de la colonización de América del Sur, Monte Verde en Chile, se estima que arqueológicamente fue hace 14,1-14,6 miles de años (Dillehay et al. 2008).

Al comparar estos datos con los obtenidos para el ADNmt de las poblaciones aborígenes de Siberia, se observó que presentaban haplogrupos fundadores comunes, pero la radiación genética de estos haplogrupos se produjo de forma independiente para cada continente (Torroni et al. 1993a). Esto indica que la diversidad de los haplogrupos de las poblaciones nativas americanas se produjo desde su llegada a las Américas.

4.5 Evidencia y características de los haplogrupos indígenas.

Algunos estudios han demostrado que las poblaciones nativas americanas existentes presentan cinco haplogrupos del ADN mitocondrial, A-D y X (Schurr 2004). Entre estos haplogrupos existen algunos que son autóctonos, A2, B2, C1, D1 y X2a (Bandelt et al. 2003). Se han realizado estudios que proponen que hubo una temprana colonización de las Américas por la costa del Pacífico Norte, y la posterior entrada del haplogrupo X2a por el Estrecho de Bering (Schurr 2004.)

En lo relacionado al haplogrupo X, se encuentra en una frecuencia relativamente baja y sólo en América del Norte, pero es muy raro encontrarlo en el oeste de Europa y está casi ausente en Siberia (Reidla et al. 2003). Sin embargo, Brown et al. (1998), confirmaron en sus estudios que el haplogrupo X está en las poblaciones de los nativos americanos y europeos y que son dos grupos distintos relacionados evolutivamente. El subhaplogrupo de X que entró al Nuevo Mundo con los amerindios se conoce como el X2a.

Los haplogrupos A-D se encuentran en todo el Nuevo Mundo y son frecuentes en Asia, y se sugiere que entraron al Nuevo Mundo en un solo proceso migratorio (Merriwether et al. 1995). Además se tiene evidencia de que los haplogrupos A-D y X2a entraron todos al Nuevo Mundo hace aproximadamente 15 mil a 18 mil años, por lo que se

presume entraron todos juntos al Nuevo Mundo. Esto es así porque cada uno de los cinco haplogrupos tiene una raíz profunda en su árbol filogenético cuya fecha se estima en 19 mil a 23 mil años. Sobre la base de modelos filogenéticos de coalescencia, se obtuvo evidencia que sugiere que los cinco haplogrupos experimentaron poco después un periodo de expansión poblacional en el cual la población creció a un tamaño cien veces mayor hace aproximadamente 15 mil años (Fagundes et al. 2008).

Cada haplogrupo del ADNmt indígena tiene una característica específica. En el caso del haplogrupo A se presenta una ganancia para *HaeIII*, en donde hay una transición de A por G en la posición nucleotídica 663 (Torroni et al. 1993). El haplogrupo A se divide en un haplogrupo A2, el cual posee 11 subhaplogrupos (A2a-A2k), en donde A2a se caracteriza por dos transiciones de C por T en las posiciones nucleotídicas 16,192 y 3,330. En A2b se presenta una transición de T por C en la posición nucleotídica 11,365 que es reconocible por la pérdida del sitio *AluI* en la posición nucleotídica 11,362. El subhaplogrupo A2c se caracteriza por dos transiciones, T12468C y G14364A. Por otra parte el subhaplogrupo A2d presenta una transición de C por T en la posición nucleotídica 6,308 y el subhaplogrupo A2e presentan una transición de G por A en la posición nucleotídica 3,316 que elimina un sitio *HaeIII* en la posición nucleotídica 3,315. El subhaplogrupo A2f está representado por una transición de G por A en la posición nucleotídica 13,708 y el subhaplogrupo A2g se caracteriza por transversión de A por T en la posición nucleotídica 7,724. El subhaplogrupo A2h presenta una transición, G1888A, pero el subhaplogrupo A2i en la posición nucleotídica 3,308 presenta una transversión de T por A, además de una posterior inserción de una C. El subhaplogrupo A2j presenta una transición de A por G en la posición nucleotídica 11,548 que elimina un sitio *RsaI* en la posición nucleotídica

11,546. El último haplogrupo el A2k posee una transición de T por C en la posición nucleotídica 3,202 (Achilli et al. 2008).

En lo relacionado al haplogrupo B se distingue por la eliminación de 9 pares de bases que ocurre entre las posiciones nucleotídicas 8,272-8,289 (Torroni et al. 1993). En la filogenia del haplogrupo B2 se observa cuatro subhaplogrupos (B2a - B2d). B2a se define por las transiciones C16111T y G16483A, mientras que el subhaplogrupo B2b se caracteriza por la presencia de una transición G6755A. El subhaplogrupo B2c posee una transición de A por G en la posición nucleotídica 7,241 y fue identificado por la ganancia de un sitio *RsaI*. En lo relacionado al subhaplogrupo B2d presenta cuatro transiciones, A4122G, A4123G, T8875C y T9682C (Achilli et al. 2008).

Los haplogrupos C y D pertenecen al superhaplogrupo M, el cual presenta una ganancia del sitio *DdeI* en la posición nucleotídica 10,394 y la ganancia de *AluI* en la posición nucleotídica 10,397. El haplogrupo C se caracteriza por una transición de A por G en la posición nucleotídica 13,263, que al mismo tiempo elimina un sitio *HincII* en la posición nucleotídica 13,259 y crea un sitio *AluI* en la posición nucleotídica 13,262 (Torroni et al. 1993). En cuanto a haplogrupo C1, el cual se distingue por una transición 16,325 y una delección de las bases 290 y 291, se divide en tres subhaplogrupos, C1b, C1c y C1d. El subhaplogrupo C1b se caracteriza por una transición de A por G en la posición nucleotídica 493. En lo relacionado al subhaplogrupo C1c se presentan dos transiciones de G por A en las posiciones nucleotídicas 1,888 y 15,930. Por último está el subhaplogrupo C1d que presenta una transición de G por A en la posición nucleotídica 7,697 y otra transición de A por G en la posición nucleotídica 16,051 (Achilli et al. 2008).

En el haplogrupo D se presenta una transversión de C por A en la posición nucleotídica 5,178 que elimina un sitio *AluI* en la posición nucleotídica 5,176. (Torroni et al. 1993). El haplogrupo D1 se caracteriza por la transición de C por T en la posición nucleotídica 2,092 y la transición de T por C en la posición 16,325 (Bandelt et al. 2003).

Por último está el haplogrupo X que presenta mutaciones en la región codificante, siendo una mutación no sinónima en la posición nucleotídica 13,966 y tres mutaciones sinónimas en las posiciones nucleotídicas 6,221, 6,371 y 14,470. Además, se presentan tres transiciones en la región control en las posiciones nucleotídicas 153, 16,189 y 16,278. El haplogrupo X se subdivide en un subhaplogrupo llamado X2a, el cual está definido por cinco transiciones, tres en la región codificante (8,913, 12,397, y 14,502) y dos en la región de control (200 y 16,213) (Reidla et al. 2003).

4.6 Estudios en Centro y Sur América

Desde la perspectiva de la historia de la población, la separación temprana de los andinos y no andinos, también es consistente con la distribución geográfica de las lenguas amerindias. La población andina se empezó a extender más hacia el sur, siendo probable que representen los primeros colonos de la región. La evidencia arqueológica sugiere que el tamaño de las poblaciones humanas era relativamente grande a lo largo de la costa del Pacífico (Dixon 2001), incluso antes del desarrollo de la agricultura, sostenida por los recursos pesqueros. La agricultura se fue desarrollando y estableciendo a lo largo de los Andes centrales, otorgando una población más densa que culminó en el desarrollo del Imperio Inca (Bellwood, 2001).

Las tribus del este de América Central han presentado eventos de cuellos de botella recientemente, dando lugar a sucesos de expansión poblacional y una baja frecuencia de

haplotipos únicos, pero no tan bajos como en las tribus del Amazonas (Melton et al. 2007). Los haplotipos únicos se refieren a aquellos haplotipos que aparecen con frecuencia de uno en una red mediana.

Los estudios realizados con el ADNmt, el cromosoma X, el cromosoma Y y los autosomas, han presentado una diversidad genética con un gradiente reduciéndose de norte a sur, consistente con un patrón de migraciones en la misma dirección (Ramachandran et al. 2005; Wang et al. 2007; Li et al. 2008).

Estudios craneométricos, en los cuales se analizan proporciones y medidas de elementos óseos en diferentes grupos étnicos, indican una diferenciación importante entre las poblaciones de Oriente y Occidente de América del Sur (Gould, 1981). La información arqueogenética sugiere una separación temprana de las poblaciones andinas con las poblaciones amazónicas. Las poblaciones andinas se distinguen por un alto nivel de flujo génico y un tamaño poblacional efectivo grande, mientras que el flujo génico entre las tribus amazónicas es muy limitado y las expone a un bajo tamaño poblacional efectivo (Wang et al. 2007).

Al comparar las diferentes regiones geográficas, América del Sur muestra la diversidad genética más baja en todos los sistemas de marcadores, pero los datos de F_{ST} al noroeste de América del Sur también muestran un aumento de la diferenciación genética, en relación con Mesoamérica y los Andes (Yang et al. 2010; Stadler et al. 2009). Lo anterior se debe a un evento de cuello de botella seguido de una expansión poblacional. Este fenómeno se presenta porque se han borrado señales de crecimiento de la población en el pasado dando lugar a presentar un tamaño efectivo de la población mucho menor al original (Yang et al. 2010).

En lo relacionado a las migraciones en los Andes y Amazonía se han realizado estudios del cromosoma Y y el ADNmt, apoyándose en datos históricos y registros arqueológicos. Con

respecto a las poblaciones andinas, se ha encontrado un gran tamaño efectivo de la región y un alto flujo genético entre las poblaciones, dado a que muestra una alta variabilidad dentro de la región y un exceso de alelos raros. También se ha observado que la frecuencia de haplotipos únicos de HVR-I en cinco tribus andinas, es igual o mayor que el de todas las tribus de América Central y la Amazonía (Martínez Cruzado 2010). En contraste, las poblaciones del Amazonas muestran una baja frecuencia de alelos raros debido al bajo tamaño efectivo de la población causado por el aislamiento y la restricción del flujo genético. A su vez la distancia genética entre las tribus amazónicas es muy alta (Fuselli et al. 2003).

Wang et al. (2007) realizaron un estudio con 396 individuos de 22 poblaciones de nativos americanos, de los cuales 114 eran hombres y 283 eran mujeres, teniendo en cuenta datos geográficos y lingüísticos de América del Norte, Mesoamérica, los Andes, el noroeste y este de América del Sur. Se estudiaron STRs como marcadores de herencia autosómicas y de los cromosomas X y Y. También se realizó la secuenciación de la región control *D-loop* del ADN mitocondrial. Se encontró una mayor diferenciación de la población en el este de América del Sur y menor en Mesoamérica y la región andina. Los análisis regionales indican una desviación del equilibrio mutación-deriva, al compararlos con la expansión de la población en Mesoamérica y los Andes y la contracción de la población en el noroeste y el este de América del Sur. Estos datos dan a entender que se presentó una divergencia temprana de andinos y no andinos y sudamericanos, en un periodo de diferencias demográficas de las poblaciones en estas regiones (Yang et al. 2010).

4.7 Evidencia arqueológica del Caribe

4.7.1 Edad Pre-Cerámica

La primera cultura en la Edad Pre-Cerámica en Puerto Rico, la Lítica, de la cual hacen parte los casimiroides, se caracterizaron por el uso del pedernal para fabricar herramientas en piedra, siendo corto-punzantes. Hace 6,200 años hubo lugares en donde estuvo presente esta cultura, como Levisa, situada en el sureste de Cuba. Algunos otros hallazgos han sido encontrados en las costas oeste y sur de La Española. Al no reportarse sitios más antiguos, se cree que esta cultura surge con la aparición de migrantes de navegación (Rouse 1992).

También se encontró en Belice el uso del pedernal en tiempos de la Era Arcaica, donde las regiones habitadas fabricaban herramientas de piedra para trabajar el suelo. Por lo anterior, se propuso que los casimiroides se pudieron haber originado de dos penínsulas: Yucatán y otra que ahora está bajo agua y que se extendía desde la actual frontera entre Honduras y Nicaragua hacia Jamaica por medio de un archipiélago (Bloque de Chortis).

En Puerto Rico, Angostura, y en Venezuela, en la quebrada llamada Ño Carlo, hace presencia una reminiscencia de una antigua cultura nómada y representa una cultura arcaica que se caracteriza por el uso de trabajar el suelo con piedra y el uso de ocre rojo. Después esta cultura se transforma en la banwaroide, la cual era una cultura orientada hacia el mar, y se sostenía mediante la pesca y la recolección de mariscos en los manglares. Se caracteriza por el uso de las agujas de hueso de pescado, piedras como plumadas, raspadores netos de coral, y el uso de morteros para la molienda. Al no observarse ninguna evidencia de pedernal se dice que se presentó un traslado al norte de las Antillas (García 2010).

4.7.2 Edad Cerámica

Las principales migraciones de las Antillas en la Edad Cerámica se originaron en la costa norte de América del Sur hace 2500 años. Según estudios realizados se ha encontrado la existencia de la cultura saladoide y huecoide.

Las primeras migraciones saladoides reportadas se presentaron en Trinidad y Venezuela, en la Islas de Sotavento y el este de Puerto Rico. Dentro de los saladoides existe la subcultura cedrosana que se caracteriza por diferencias socio-políticas, migraciones independientes y pinturas de cerámica de blanco sobre rojo. La cultura huecoide se caracteriza porque sus cerámicas son sin pintura, están hechas en barro y presentan líneas finas, que se encuentran en forma de inciso entrecruzado. Se realizaban amuletos del cóndor andino que era originario de los Andes venezolanos. Ambas culturas han sido encontradas en Montserrat. Por otra parte, la industria lapidaria de la cultura huecoide proporciona evidencia de un intenso comercio entre las islas y América del Sur. Además la flora suramericana y las vajillas de cerámica con representaciones de la fauna, sugieren que existe una conexión mitológica, la cual se mantuvo en el continente (Chanlatte Baik 1984).

Mucho tiempo después se ha reportado que las conexiones entre las islas y América del Sur disminuyeron, en donde los estilos de vida fueron distintos. Esta disminución en la calidad de la cerámica dio lugar a otras culturas como trumasoide, suazoide y ostionoide, esta última presente en Puerto Rico, la cual no presentaba mucho vínculo con las anteriores. Por lo anterior, la cultura saladoide, que fue una cultura igualitaria, fue sustituida por una sociedad gobernada por caciques. La cultura cacical ostionoide dio lugar a las subculturas elenoide, en el este de Puerto Rico, y a la subcultura ostionoide en el oeste de Puerto Rico. Desde alrededor del año

600, esta cultura ostionoides se estableció rápidamente en el resto de las Antillas Mayores y las Bahamas (Rouse 1992).

Luego en los años 660 se encuentran en La Española las cerámicas de las subculturas melliacán y chicana. Para el año 800, la cerámica chicana fue encontrada en el sureste de La Española y la cerámica de melliacán fue encontrada en el oeste de La Española, Cuba y Jamaica. Se ha descrito que la diversidad cultural en La Española aumentó drásticamente. Esto se puede explicar como el resultado de más migraciones de América del Sur, la expansión y la divergencia de la subcultura Ostionan (Veloz Maggiolo 1991; Rouse 1992).

Concluimos que la evidencia arqueológica, sugiere que los primeros pobladores de Puerto Rico vinieron de la América Central y que fueron seguidos por los banwaroides de América del Sur. Éstas fueron culturas pre-cerámicas que posteriormente recibieron la llegada de culturas cerámicas con actividades agrícolas de alta intensidad provenientes de América del Sur.

4.8 Prevalencia del ADNmt indígena en Puerto Rico.

En lo relacionado a Puerto Rico, hay evidencia de que la población indígena sufrió una rápida disminución durante la colonización española.

Existe una gran documentación histórica que demuestra que se presentó una importación de esclavos americanos en Puerto Rico a partir de una amplia región geográfica que abarca desde el norte de México a Brasil durante el período de la dominación española. Otros estudios evidencian la presencia de un mayor porcentaje de ADNmt de amerindios que de África subsahariana, 61.3% y 27.3% respectivamente. Esto ocurre a pesar de que el número de mujeres africanas traídas a Puerto Rico a lo largo de cuatro siglos, fue mucho más grande que las mujeres indígenas. Esto da a entender, que se estuvo primero poblado por mujeres indígenas y que se

presentó un éxito reproductivo que no fue superado por la gran cantidad de mujeres africanas que llegó al país (Martínez Cruzado et al. 2005).

En Puerto Rico, otra evidencia encontrada a favor del origen taíno del ADNmt sería que forma grupos filogenéticos apoyados en las redes medianas de sus secuencias de HVR que demuestran diversidad. Además, no se presenta un gran número de haplotipos aislados, como se esperaría si representara simplemente migraciones post-colombinas provenientes de diversas regiones continentales (Martínez Cruzado 2010).

Achilli et al. (2008), al estudiar el ADNmt completo designaron que los linajes que presentaban la transición 493 pertenecían a un nuevo subhaplogrupo dentro del haplogrupo C, C1b. Martínez Cruzado (2010) presentó 488 muestras de ADNmt de amerindios, de las cuales 104 pertenecían al haplotipo AM79 (Torroni et al. 1993a), y se les denominó como el linaje C-I, el cual representaba el 21.31% de todos los ADNmt amerindios de Puerto Rico. El linaje C-I posee la transición en la posición 493 que lo identifica como uno perteneciente al subhaplogrupo C1b. Se llegó a la conclusión de que esto representa parte de la migración de Sur América a Puerto Rico, ya que solo se encuentra este haplotipo en el Amazonas.

Martínez Cruzado (2010) presentó estudios de la región control en 122 ADNmts de origen amerindio siendo una muestra representativa de la población puertorriqueña. Fueron tenidas en cuenta hipótesis sobre migraciones de mujeres a la isla en tiempos precolombinos y las expansiones poblacionales que ocurrieron. Se realizaron redes medianas identificando 19 linajes maternos, de los cuales 9 de ellos muestran características consistentes con la llegada a la isla en tiempos precolombinos, siendo divididos en tres largos periodos migratorios. Estos 9 linajes componen el 84.1% de todo el ADNmt indígena en Puerto Rico. El restante 15.9% se distribuye entre los diez grupos filogenéticos monomórficos, los cuales en su mayoría

representan probablemente el ADNmt amerindio que no es autóctono de Puerto Rico. Para determinar la edad de cada linaje se combinaron las dos regiones hipervariables, HVR-I y HVR-II. Se postuló que cuatro de los linajes arribaron en tiempos pre-arahuacos, tres linajes arribaron más tarde en el periodo de los arahuacos y los dos linajes restantes sufrieron expansiones poblacionales poco después de su llegada. También se pudo detectar que los dos linajes de la tercera migración y un linaje del segundo periodo migratorio son de origen sudamericano.

4.9 Estudios del ADNmt en República Dominicana

Aunque los indígenas habían poblado La Española durante miles de años, la población actual es principalmente representada por los africanos y los europeos, quienes desplazaron a los indígenas dentro de los primeros cincuenta años de la colonización (Forte 2006). En un estudio realizado por Martínez Cruzado (2008) se encontró que el 70.9% de todas las muestras tenían ADNmt de origen africano subsahariano, el 14.8% de origen indígena, y el 14.3% de origen euroasiático occidental. La baja frecuencia de ADNmt de origen indígena levanta la posibilidad de que gran parte o la mayoría de ellos hayan sido el resultado del tráfico de esclavas indígenas durante el Periodo Colonial. Por lo tanto no puede concluirse a *prima facie* que estas personas sean descendientes de taínos.

Feliciano (2006) realizó un estudio donde secuenció la región control del ADNmt de treinta y dos muestras del haplogrupo A en República Dominicana. Además, identificó los haplotipos más representativos, se calculó un tiempo probable de entrada, la diversidad de nucleótidos, divergencia genética y el número de sitios segregantes (S). Los resultados encontrados al analizar la red mediana conllevaron a identificar seis linajes indígenas, A-I, A-III, A-IV, A-VII, A-VIII y A-IX. Tres de estos linajes, A-III, A-VII y A-VIII, no se encuentran en

otros lugares. El linaje A-I correspondió al haplotipo fundador HVR-I del Nuevo Mundo y está presente en todo el continente americano. El linaje A-IV fue observado en Puerto Rico y Cuba (Martínez-Cruzado 2010; Lalueza-Fox et al. 2003). En lo relacionado al linaje A-IX posee una mutación que se encuentra en América del Sur (Alves-Silva et al. 2000). Con lo anterior, se demuestra que República Dominicana presentó una menor prevalencia de ADNmt indígena pero una mayor diversidad en su haplogrupo A2.

En lo relacionado a la edad de cada haplotipo se estimó que el linaje A-III (16,181) se presentó aproximadamente hace 12,108 años de edad, lo cual representa un linaje arcaico que se formó en La Española, dado que es único en la isla. Los linajes A-IV (16,129) y A-IX (16,266) presentaron un tiempo estimado de 5,045 años. Para el linaje A-VII (16,175, 16,259 y 16,300) posee una edad aproximada de 6,727 años y el linaje A-I (16,092) llegó aproximadamente 4,484 años antes del presente. Con estos resultados se puede inferir que se presentaron migraciones antes de la Edad Cerámica en la Española (Feliciano 2006).

4.10 Haplotipos que comparten Puerto Rico y República Dominicana.

Al estudiar el patrimonio genético de Puerto Rico y República Dominicana, se tiene en cuenta que en la edad precolombina se produjo un cuello de botella significativo en Centro América, presentándose una disminución poblacional y una alta frecuencia de alelos únicos (Yang et al. 2010). Además, se ha encontrado un mayor porcentaje de ADNmt indígena en Puerto Rico que en República Dominicana. Sin embargo, los estudios para el cromosoma Y han presentado diferencias en su origen, ya que en Puerto Rico es de ascendencia europea y en República Dominicana es mayormente africana (Bryc et al. 2010).

Por la edad temprana de las poblaciones del Nuevo Mundo, los haplogrupos específicos han reducido su diversidad. Del mismo modo, teóricamente, la fecha aproximada de los linajes que llegaron a Puerto Rico y República Dominicana en tiempos precolombinos se puede estimar sobre la base de su diversidad en las islas (Martínez Cruzado 2010).

Como otros países latinoamericanos, Puerto Rico presenta una fuerte asimetría sexual en el origen continental de su patrimonio genético. La línea paterna es principalmente de origen europeo, mientras que el linaje indígena se transmite principalmente por la línea materna. Por lo tanto, la realización de estudios moleculares de la población de su ADNmt ha contribuido al conocimiento de asentamientos precolombinos que han ocurrido.

Como Puerto Rico y República Dominicana pertenecen ambos a las Antillas Mayores se ha realizado un estudio de las regiones hipervariables I y II. Estos análisis de ADNmt en las poblaciones modernas indican que el haplogrupo A2 es el más frecuente en el Caribe. En Puerto Rico, en los cuales el 61% de la población pertenecía a los haplogrupos amerindios, el 52.4% correspondió al haplogrupo A (Martínez-Cruzado et al. 2005). En la República Dominicana, donde el 14.8% eran de origen amerindio, el haplogrupo A obtuvo una frecuencia de 57.8% entre los ADNmt amerindios (Martínez Cruzado et al. 2008).

Al realizar una comparación entre los haplogrupos del ADNmt indígena entre Puerto Rico y República Dominicana se encontró un total de 34 linajes que contienen solamente 70 haplotipos. De los 34 linajes se comparten sólo 7. Esto sugiere que la gran mayoría de las migraciones del continente hacia estas dos Antillas Mayores ocurrieron por procesos diferentes que llevaron mujeres a una u otra isla pero no a ambas. Sin embargo, no puede descartarse un escenario en el cual tuvieran un origen común, y que gran parte de los linajes mitocondriales se extinguieran posteriormente en ambas islas, dejando así pocos linajes compartidos. En lo

relacionado al haplogrupo A2, se encontró una diversidad de 9 linajes en Puerto Rico, en donde los linajes A-VIII y A-IX solo difieren en dos transiciones en sitios de alta variabilidad. En la red mediana se puede observar que tres haplotipos y cuatro linajes, son los únicos que Puerto Rico comparte con República Dominicana en el haplogrupo A (Martínez Cruzado et al., 2008) (Figura 1).

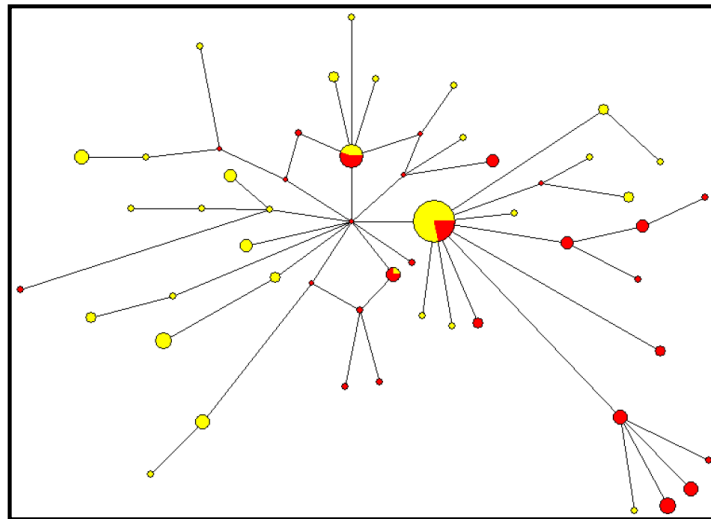


Figura 1. Red de uniones medianas del haplogrupo A de República Dominicana y Puerto Rico utilizando secuencias de las regiones HVR-I y HVR-II. Las muestras de República Dominicana se representan en amarillo y las de Puerto Rico en rojo. Los dos haplotipos más comunes, representados por los círculos con mayor área, son compartidos y son parte de linajes dispersos por todo el continente americano. En la esquina derecha inferior y en la parte central inferior de la red pueden observarse linajes que tienen diversidad en Puerto Rico y que cuentan con una sola muestra dentro de la República Dominicana. Tomado de Martínez Cruzado et al., (2008).

Pero no se sabe cuál es el haplotipo hipotético que está en intermedio de estos dos haplotipos. Con la desaparición de este haplotipo, sería muy probable que este haplotipo nunca haya existido en las islas, esto representaría la opción de que existieron distintos linajes femeninos que migraron a las Antillas Mayores. Además el origen continental no se puede determinar, ya que los haplotipos fundadores de estos dos linajes son muy comunes en América del Norte, así como en Centro y Sur América.

En lo relacionado al haplogrupo C1 se realizó la secuenciación de la región control en 32 muestras de República Dominicana y 39 de Puerto Rico. En algunas tribus amazónicas se ha encontrado una mutación en donde hace falta un sitio de restricción *RsaI* en la posición 7013, que es determinante en la presencia del linaje puertorriqueño C-I, otorgándole así un origen biológico suramericano no-andino. Más aún, el haplotipo fundador de este linaje se encuentra con una frecuencia mucho mayor que el resto de los haplotipos del linaje (Martínez Cruzado et al., 2008) (Figura 2).

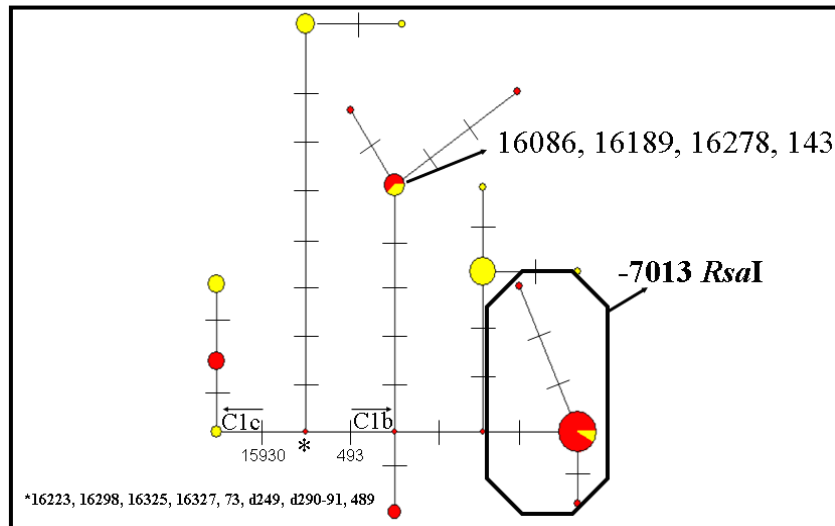


Figura 2. Red de uniones medianas del haplogrupo C1 de República Dominicana y Puerto Rico utilizando secuencias de las regiones HVR-I y HVR-II. Las muestras de República Dominicana se representan en amarillo y las de Puerto Rico en rojo. La secuencia del haplotipo hipotético indicado con un apóstrofe se especifica abajo. A partir de dicho haplotipo, las mutaciones 493 y 15930 definen los subhaplogrupos C1b y C1c, respectivamente. El haplotipo HVR-I-II del linaje restante es consistente con el subhaplogrupo C1d. Los linajes que se caracterizan por la ausencia de un sitio de restricción *RsaI* en la posición 7013 y por el haplotipo HVR-I-II 16086, 16189, 16278, 143 son resaltados. Tomado de Martínez Cruzado et al., (2008)

Se han realizado estudios para el linaje C-I en donde el tiempo de la expansión poblacional se presentó entre 1195±690 A.P. Se tuvo en cuenta $S > \pi > 1.5\rho$, donde S representa el número de sitios segregantes, π el número promedio de diferencias entre parejas, ρ el número

promedio de diferencias entre una muestra y el haplotipo fundador (Forster et al. 1996). El linaje C-II está representado por el haplotipo 16086-16189-16278-143 y, al igual que C-I, parece tener un origen suramericano no-andino. Igualmente, tiene en común con C-I que su haplotipo fundador se halla en ambas islas, pero sólo Puerto Rico presenta haplotipos derivados, lo cual sugiere que el linaje es más antiguo en Puerto Rico que en República Dominicana.

5. Materiales y Métodos

5.1 Población de estudio

Las Antillas Mayores son Cuba, Puerto Rico, la Española (con República Dominicana y Haití) y Jamaica. Puerto Rico es la cuarta isla, en tamaño, la cual posee una posición central entre las islas del Caribe Norte. Se localiza entre los 18 y 18.5 grados de Latitud Norte y los 65 a 67.4 grados de longitud Oeste. Está directamente al Este de la República Dominicana y al Norte de Venezuela, como 1,000 millas al Sureste de Miami. Limita con el Mar Caribe por el sur, con el Océano Atlántico por el norte con el Canal de la Mona por el oeste y con el Pasaje de Anegada por el este.

República Dominicana se encuentra ubicada en la región de América Central Insular, con un territorio de 48,670.82 km² y está localizada entre las coordenadas geográficas 17° 36 14 - 19° 55 57 de latitud norte y los 68° 19 24 - 72° 00 33 de longitud oeste ocupando la parte este de la Isla de La Española. Los límites geográficos que delimitan su territorio son: al norte, el Océano Atlántico; al sur, el Mar Caribe; al este el Canal de la Mona y la Isla de Puerto Rico; y al oeste, la República de Haití.

5.2 Muestras de Estudio

A partir del estudio realizado por Martínez-Cruzado et al. (2008), en donde se secuenciaron las regiones hipervariables I y II de muestras de Puerto Rico y República Dominicana, se procedió a seleccionar las muestras para los haplogrupos A y C. Se tomó en cuenta que las muestras representaran distintos linajes encontrados y que fueran las más representativas para dichos haplogrupos. Para obtener resultados confiables y de bajo costo, se realizó la secuenciación completa del ADNmt. Se seleccionaron 25 muestras, de las cuales 16

fueron del haplogrupo A, 9 para República Dominicana (Figura 3) y 7 para Puerto Rico (Figura 4) y las restantes 9 pertenecían al haplogrupo C, 4 para Puerto Rico y 5 para República Dominicana (Figura 5). Las muestras se seleccionaron por su diversidad, frecuencia, evidencia de procedencia, si eran comunes en ambas islas y teniendo en cuenta que ninguno de los linajes se hubieran estudiado con anterioridad.

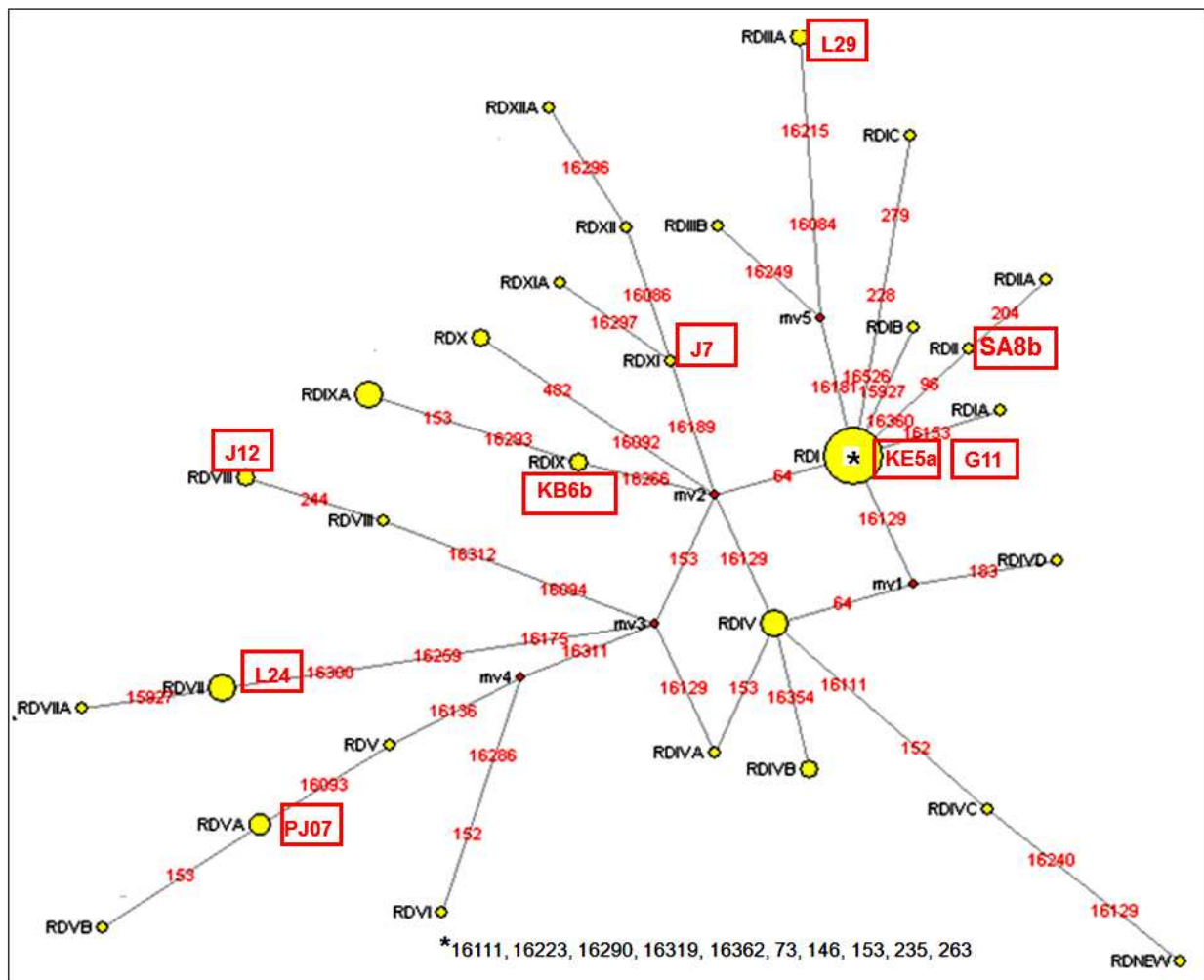


Figura 3. Red de uniones medianas del haplogrupo A2 para República Dominicana. Las muestras seleccionadas fueron KE5A, G11, SA8b, L29, PJ07, L24, J12, KB6b y J7. Tomado de Martínez Cruzado et al., (2008).

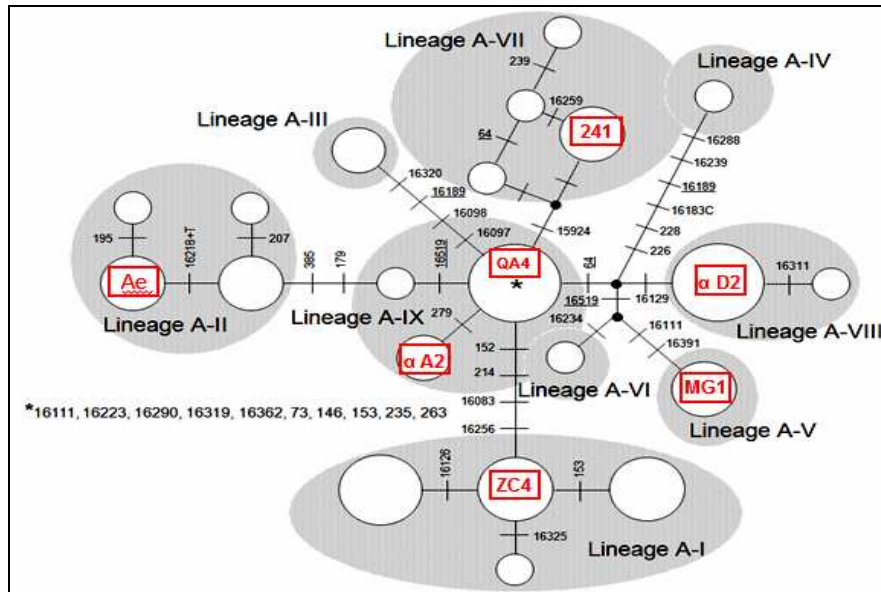


Figura 4. Red de uniones medias del haplogrupo A2 para Puerto Rico. Las muestras seleccionadas fueron ZC4, Ae, MG1, 241, α D2, QA4 y α A2. Tomado de Martínez Cruzado et al., (2008).

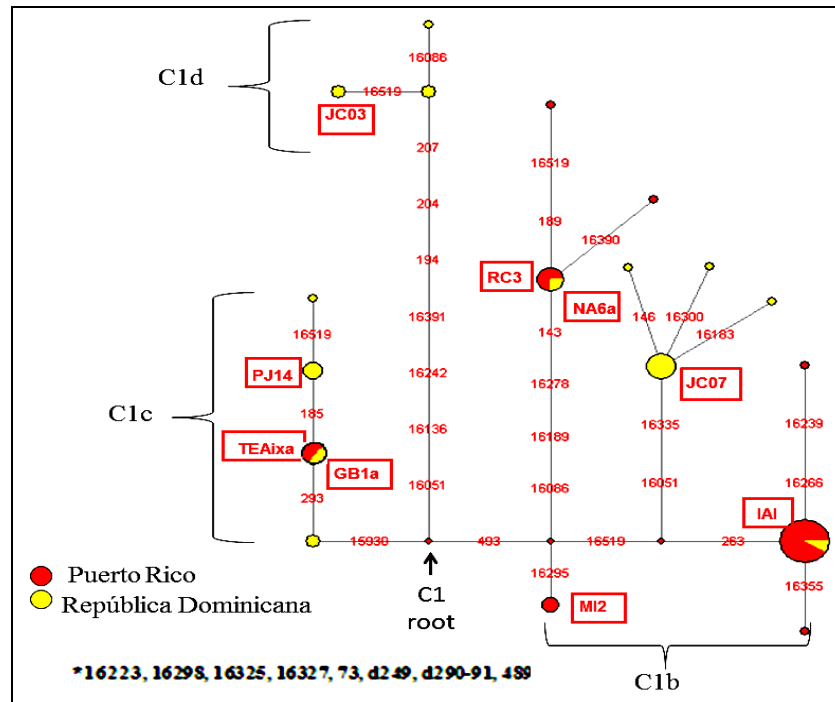


Figura 5. Red de uniones medias del haplogrupo C1 para Puerto Rico y República Dominicana. Las muestras de República Dominicana se representan en amarillo y las de Puerto Rico en rojo. Las muestras seleccionadas fueron IAI, RC3, TEAIXa y MI2 para Puerto Rico, y JC07, NA6a, JC03, GB1a y PJ14 para República Dominicana. Tomado de Martínez Cruzado et al., (2008).

5.3 Amplificación por PCR

Se amplificó completamente todo el ADNmt utilizando 25 µl de una reacción de PCR que contenía: 9.6 µl de ddH₂O; 2.5 µl de solución tampón 10X (100 mM Tris-HCl, 500 mM KCl, pH 8.3 a 25°); 3 µl de dNTP (2.5 mM); 1.5 µl MgCl₂ (25 mM); 1.3 µl de cada iniciador (20 µM) (Reider et al. 1998); 0.5 µl de BSA (10 mg/ml); 0.3 µl Taq ADN polimerasa (5,000 U/ml; New England BioLabs®); y 5 µl de ADN molde. En un termociclador Eppendorf® (Mastercycler) con el programa PCR Mito 54-35 se realizó la amplificación de los diferentes segmentos, el cual conllevaba los siguientes pasos: una desnaturalización a 94°C por 30 segundos; 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 54°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto y 10 segundos; y una extensión final a 72°C por 5 minutos. Para algunos iniciadores se realizaron cambios en su temperatura de emparejamiento, es decir, se aumentó 2°C para los iniciadores del segmento 16, y 4°C para los iniciadores del segmento 18.

Al finalizar la PCR, se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 2%, en donde se observaron los productos de amplificación y se compararon con un marcador de peso molecular (PhiX174 ADN digerido con *Hae*III, 1mg/ml New England BioLabs®). Para observar los productos amplificados se realizó tinción con bromuro de etidio a 0.5 µg/ml (200 ml ddH₂O y 10 µl bromuro de etidio a 10mg/ml) y se visualizó con luz ultravioleta. Por último se realizó un registro fotográfico con GelDoc-It™ Imaging System, utilizando el programa Launch VisionWorksLS (UVP), versión 7.0.1.

5.4 Purificación de Amplicones

Se llevó a cabo el protocolo del kit de purificación de productos de PCR de alta pureza de Roche Diagnostics Corp®, versión 14.0. Se tomó 25µl del producto de amplificación y se agregó

125µl de Binding Buffer y se mezcló bien. Luego se añadió a un tubo con filtro, el cual está sobre un microtubo colector de 1.5ml, se centrifugó por 1 minuto a velocidad máxima. Luego, se transfirió lo obtenido al tubo con filtro y se virió una vez más sobre el filtro y se centrifugó. Se descartó el contenido del microtubo colector y se le añadió 500µl de Wash Buffer al tubo con el filtro. Nuevamente, se centrifugó por 1 minuto a 11,200rpm y se procedió a descartar el producto obtenido. Después se añadió 200µl de Wash Buffer al tubo con filtro y se centrifugó a 11,200 rpm por 1 minuto. Se descartó el microtubo colector y lo obtenido en él, y se colocó el tubo con el filtro en otro microtubo de 1.5ml y se dejó secar a temperatura de salón por 5 minutos. Se añadió 50 µl de Elution Buffer, se dejó reposar por 5 minutos a temperatura de salón y se centrifugó por 1 minuto a 11,200 rpm para obtener el ADN purificado.

5.5 Secuenciación automatizada

Después de la purificación de cada muestra se procedió a realizar una electroforesis en gel de agarosa al 2%, en donde se compararon los productos de amplificación con el marcador de peso molecular (PhiX174 ADN digerido con *HaeIII*, 1mg/ml New England BioLabs®), y se determinó la concentración aproximada de cada producto purificado. De las muestras se tomó un volumen específico teniendo en cuenta que su cantidad final fuera de 80 ng (en la mayoría de los casos en los que el producto de PCR medía aproximadamente 800 pb de largo) o 40 ng (en el caso del fragmento 23, que medía aproximadamente 400 pb y cubría desde la posición 310 a la 710), y se les añadió 2 µl de cada iniciador a una concentración de 1 µM. Después se colocaron en un secador Savant modelo DNA120-120 por 30 minutos. Luego fueron enviadas a Nevada Genomics, donde se determinaron las secuencias.

5.6 Análisis de datos

5.6.1 Comparación de secuencias

Cada muestra secuenciada fue editada utilizando el programa Chromas 1.62 (Technelysium Pty Ltda.®) y luego alineadas con MEGA versión 6.06 (Tamura et al. 2013). Luego se compararon las secuencias obtenidas con la secuencia de referencia revisada de Cambridge (rCRS), y así se determinó las diferentes mutaciones que presentaba cada secuencia para el haplogrupo A2 y C1.

5.6.2 Redes de Uniones Medianas

Se utilizó el programa NETWORK 4.6.1.2 para construir las redes de uniones medianas en donde se analizaron los linajes que presentaban Puerto Rico y República Dominicana. Luego se determinó el porcentaje de ADNmt indígena compartían. Se usaron las secuencias completas del ADNmt de las muestras de esta investigación.

5.6.3 Distancia genética y reloj molecular de los haplogrupos A2 y C1

Para determinar la distancia genética de las muestras del haplogrupo A2 y C1 se utilizó la calculadora diseñada por Soares et al. (2009), en donde se tuvieron en cuenta los valores de Rho y el error estandar que se hallaron según Saillard et al. (2000). Se calculó aproximadamente la edad estimada de cada muestra del haplogrupo A2 basado en el número de mutaciones desde el ancestro hipotético más cercano compartido con alguna muestra continental en la red mediana, y utilizando el reloj molecular para ADNmt completo de Soares et al. (2009)

Para realizar la prueba del reloj molecular de los haplogrupos A2 y C1 se usó el programa MEGA6 utilizando el método de máxima verosimilitud bajo el modelo de Tamura-Nei (1993). Se tuvo en cuenta la premisa de Battistuzzi et al. (2001) en donde si el valor de Z es mayor o

igual a 1.96 la hipótesis del reloj molecular puede ser rechazada a un nivel de significancia del 5%.

5.6.4 Medida de Diversidad Genética Poblacional

Se calculó el índice de diversidad F_{ST} el cual mide la variación de las frecuencias alélicas entre poblaciones, y por tanto la diferenciación genética entre ellas. Cuando el valor de F_{ST} es igual a 0, se dice que las poblaciones son idénticas, pero si el valor de F_{ST} es cercano a 1, las poblaciones son diferentes. Este índice de diversidad F_{ST} se calculó utilizando DnaSP, versión 5.10 (Librado y Rozas, 2009). Los datos se dividieron en las poblaciones de Norte, Centro, Suramérica y México (Apéndices 2 y 4). En las muestras de Centroamérica se analizaron cuatro muestras de Honduras que fueron secuenciadas por Francez Curbelo en el laboratorio de Esteban G. Burchard en la Universidad de California en San Francisco, y se determinó la relación genética existente entre estas poblaciones con relación a Puerto Rico y República Dominicana.

5.6.5 Árboles filogenéticos para los haplogrupos A2 y C1

Se realizaron análisis evolutivos filogenéticos y moleculares para los haplogrupos A2 y C1 y así se pudo mostrar la similaridad entre las secuencias analizadas con otras secuencias de ADNmt del Genbank (Apéndices 2 y 4).

Se usó el programa MEGA versión 6.06 mediante el método estadístico de máxima verosimilitud basado en el modelo de Tamura-Nei con un bootstrap de 500 repeticiones (Tamura et al. 2013). El otro programa usado para realizar los árboles filogenéticos fue MrBayes® de inferencia bayesiana utilizando el modelo de substitución de HKY85 y una distribución para la tasa de variación entre-sitios de forma gamma y un millón de repeticiones (método de cadena de Markov Monte Carlo - MCMC) (Ronquist y HuelsenBeck 2003). Esto se hizo con ayuda del programa Geneious versión 6.1.6.

6. Resultados

6.1 Secuenciación completa de los haplogrupo A2 y C1

Se realizó la secuenciación completa de 16,569pb de 25 muestras pertenecientes a Puerto Rico (16) y República Dominicana (9). Estas muestras pertenecen a los haplogrupos indígenas A2 y C1, y presentan diferentes linajes para estos haplogrupos.

Al analizar la secuenciación completa de las muestras del haplogrupo A2 se encontraron mutaciones específicas para este haplogrupo, pero además se hallaron inserciones y deleciones (*Indels*). Algunas de las mutaciones más conspicuas fueron en dos muestras. En la muestra AE de Puerto Rico, se presentó una inserción de 9 nucleótidos (CCCCCTCTA) en la posición 8289. Esta secuencia por lo general se encuentra duplicada. La deleción de una de las dos copias de esta duplicación de 9 pares de bases es diagnostica del haplogrupo B. En este caso lo que ocurre es una triplicación de estas 9 pares de bases. La otra muestra, SA8b, fue de República Dominicana, a la cual se le encontró una deleción de 6 nucleótidos (GGAGCA) en la posición 106 (Apéndice 1).

En lo relacionado a la secuenciación completa de las muestras del haplogrupo C1 pertenecientes a los subhaplogrupos C1b, C1c y C1d, se encontraron nuevas mutaciones que no han sido reportadas en la literatura. Por ejemplo, la muestra MI2 de Puerto Rico presentó una transversión en la posición 10310 de una guanina (G) por un citosina (C) (Apéndice 3).

6.2 Redes de uniones medianas para determinar el porcentaje de ADNmt indígenas compartidos entre Puerto Rico y República Dominicana.

6.2.1 Red de uniones medianas del haplogrupo A2 para Puerto Rico.

La secuencia de referencia CRS provee una raíz para la red y nos permite determinar el orden en que divergieron los distintos linajes. Al analizar la red mediana obtenida para el haplogrupo A2 se observó la formación de siete linajes diferentes que derivan de una muestra del haplogrupo A2 de Achilli et al., (2008), la cual es el haplogrupo fundador del Nuevo Mundo. La formación de estos siete linajes era de esperarse porque las muestras fueron seleccionadas sobre la base de su segregación en redes medianas construidas para las secuencias de la región control del ADNmt (Figura 6). Al comparar la red mediana obtenida con la red mediana de la Figura 4, en donde las muestras QA4 y Alpha A2 pertenecían al mismo linaje, se observó que se diferencian del centro de la red mediana de dos mutaciones para la muestra QA4 y a tres mutaciones de la muestra Alpha A2, lo cual sugiere que estas muestras pertenecen a linajes distintos.

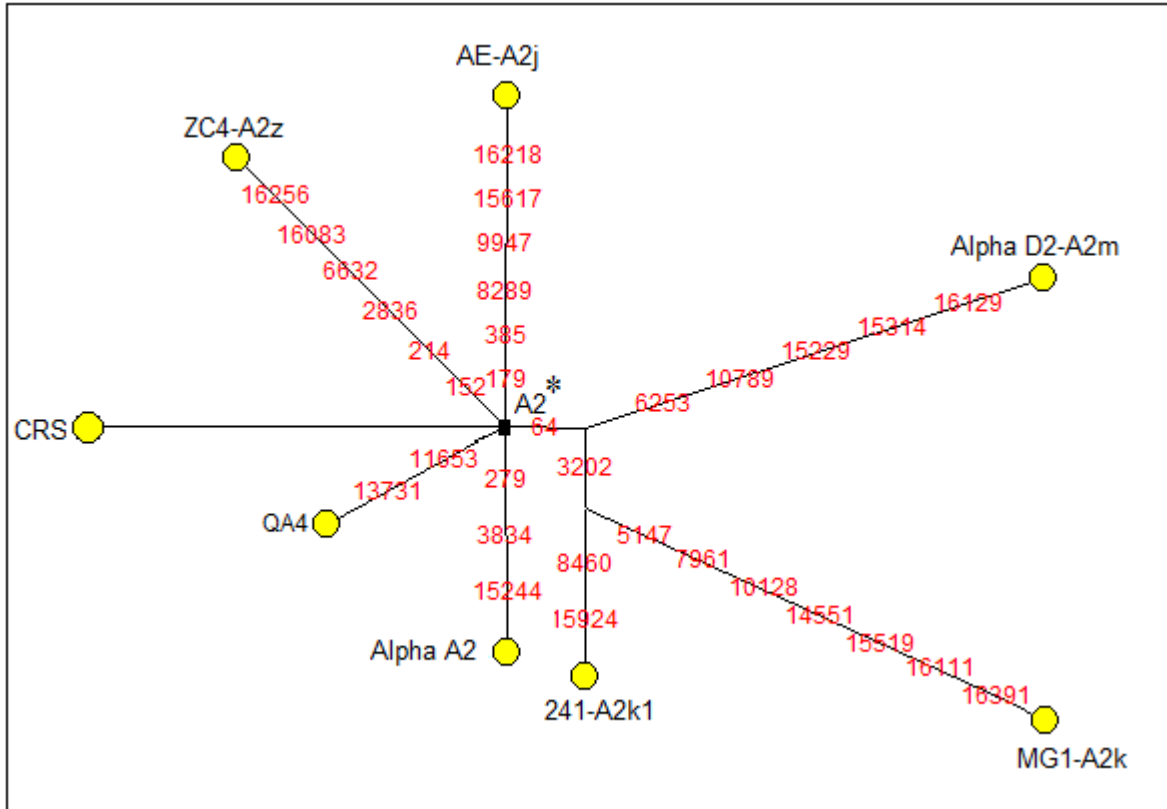


Figura 6. Red de uniones medianas del haplogrupo A2 para Puerto Rico del ADNmt completo. Las muestras analizadas fueron AE, ZC4, MG1, 241, AlphaA2, QA4 y AlphaD2. El CRS es la raíz de la red mediana. A2(*) representa el haplotipo fundador del Nuevo Mundo para el haplogrupo A2 según Achilli et al., (2008) y contiene las siguientes mutaciones en relación al CRS: 73, 146, 153, 235, 263, 663, 750, 1438, 1736, 2706, 4248, 4769, 4824, 7028, 8027, 8794, 8860, 11719, 12007, 12705, 14766, 15326, 16111, 16223, 16290, 16319 y 16362. (i) es una inserción (8289iCCCCCTCTA8290).

6.2.2 Red de uniones medianas del haplogrupo A2 para República Dominicana

Al comparar la red mediana de la figura 3 con la obtenida en donde se usó el CRS como raíz se observó una topología muy parecida. En esta red del haplogrupo A2 de la República Dominicana se observó la formación de 8 linajes.

A partir del haplogrupo fundador del Nuevo Mundo A2 (Achilli et al., 2008), en la Figura 7 se observó la formación de dos grupos, los cuales solo presentaron una sola mutación de diferencia entre ellos. Uno de los grupos formados por las muestras PJ07, L24, J7, KB6b y J12 presentaron una similitud en su distribución, ya que comparten entre sí la transición en la

posición 64. Algo parecido se presentó en el otro grupo formado por las muestras G11, KE5a, SA8b y L29 donde presentaron una relación filogenética parecida entre sí al compartir la transición en la posición 153.

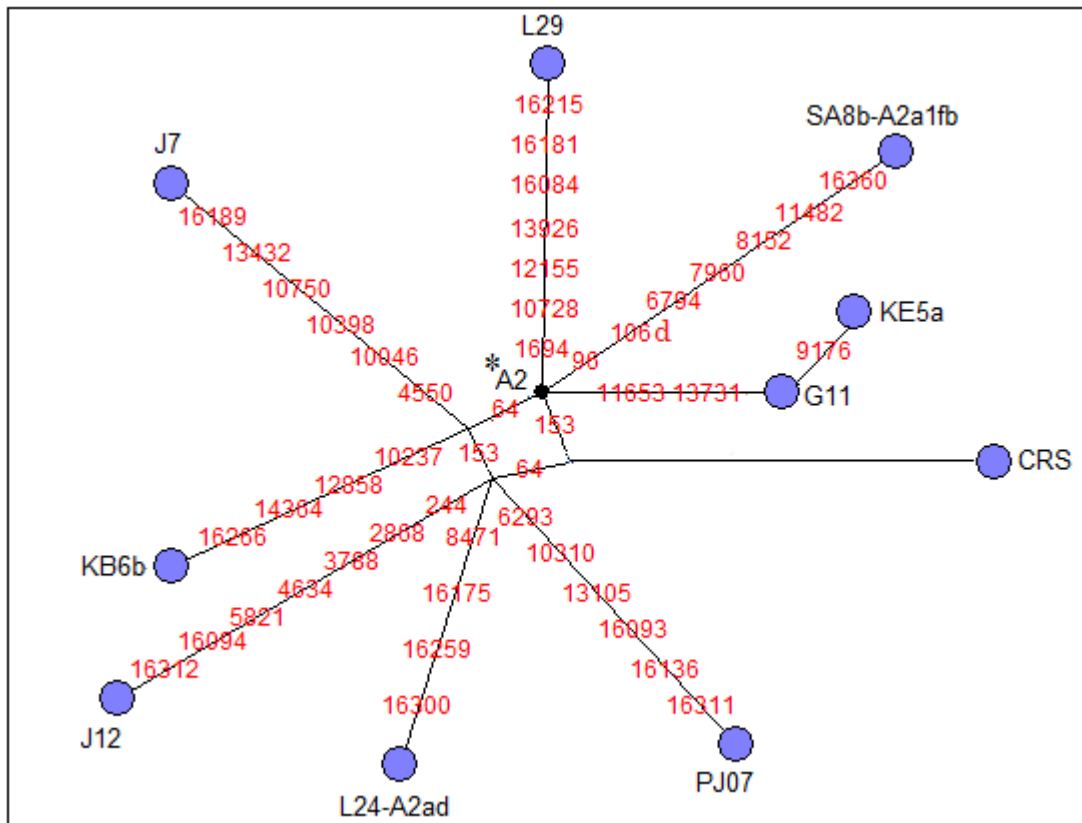


Figura 7. Red de uniones medianas del haplogrupo A2 para República Dominicana del ADNmt completo. Las muestras analizadas fueron L29, SA8b, KE5a, G11, PJ07, L24, J12, KB6b y J7. El CRS es la raíz de la red mediana. A2(*) representa el haplotipo fundador del Nuevo Mundo para el haplogrupo A2 según Achilli et al., (2008) y contiene las siguientes mutaciones en relación al CRS: 73, 146, 235, 263, 663, 750, 1438, 1736, 2706, 4248, 4769, 4824, 7028, 8027, 8794, 8860, 11719, 12007, 12705, 14766, 15326, 16111, 16223, 16290, 16319 y 16362. (d) es una deleción (106-111d). La línea debajo de una mutación significa que esa mutación se repite en la red.

6.2.3 Red de uniones medianas del haplogrupo A2 para Puerto Rico y República Dominicana

Al realizar una red mediana para el haplogrupo A2 entre Puerto Rico y República Dominicana se encontraron la formación de 13 linajes diferentes pero existe relación entre ellos

(Figura 8). Al observar el número de mutaciones entre los linajes se observó que como mínimo hay dos mutaciones de diferencias entre ellas.

En lo relacionado a las muestras G11 y QA4 se observó que presentan las mismas mutaciones a lo largo de la red mediana. Al comparar estas muestras con KE5a, todas ellas presentan un linaje en común que se distingue del haplotipo fundador del Nuevo Mundo por las transiciones en las posiciones 11653 y 13731. Cada una de las tres muestras se diferencia de cualquiera de las otras dos por tan sólo dos mutaciones, y forman un subhaplogrupo compacto con miembros de ambas islas que sugiere un proceso migratorio en común para ambas islas. Otro linaje que se comparte fue entre las dos muestras MG1 y 241, en donde se observó que ambas presentan la mutación 3202.

Al haber 13 linajes de los cuales 2 de ellos se comparten (QA4 con KE5a y MG1 con 241) se puede inferir que el porcentaje de ADNmt indígena compartido fue del 15.4% entre Puerto Rico y República Dominicana. Un 12.5% de los linajes dominicanos son compartidos con Puerto Rico y un 17% de los linajes puertorriqueños son compartidos con linajes dominicanos. Al haber tan pocos linajes compartidos se puede explicar con que se presentó un proceso inicial de poblamiento en la Antillas que presentaba una alta diversidad y algunos linajes pudieron haberse ubicado en una isla y no en la otra.

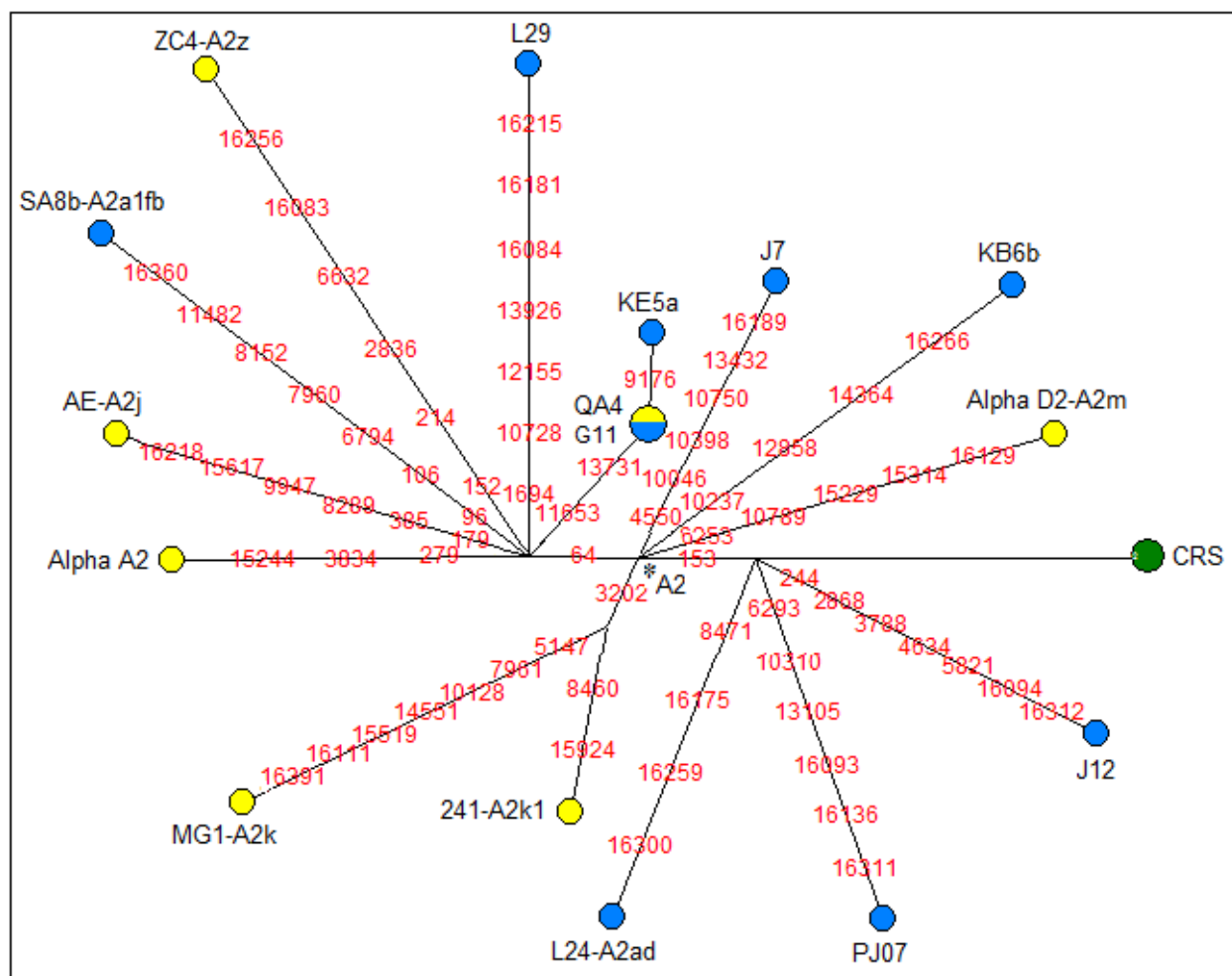


Figura 8. Red de uniones medianas del haplogrupo A2 para Puerto Rico y República Dominicana del ADNmt completo. Las muestras analizadas de República Dominicana se representan en azul y las de Puerto Rico en amarillo. El CRS es la raíz de la red mediana (verde). A2(*) representa el haplotipo fundador del Nuevo Mundo para el haplogrupo A2 según Achilli et al., (2008) y contiene las siguientes mutaciones en relación al CRS: 73, 146, 235, 263, 663, 750, 1438, 1736, 2706, 4248, 4769, 4824, 7028, 8027, 8794, 8860, 11719, 12007, 12705, 14766, 15326, 16111, 16223, 16290, 16319 y 16362. (d) es una delección (106-111d). (i) es una inserción (8289iCCCCCTCTA8290).

6.2.4 Red de uniones medianas del haplogrupo C1 para Puerto Rico

Al analizar la red mediana del haplogrupo C1 de Puerto Rico se observó la formación de 4 linajes, en donde las muestras RC3, IAI y MI2 presentan una relación filogenética entre sí (Figura 9). Como se esperaba, estas muestras que pertenecen al subhaplogrupo C1b se

diferencian por 1 mutación, 493, de la muestra TEAixa, que pertenece al subhaplogrupo C1c.

Por lo tanto, TEAixa se presenta aislada de este grupo.

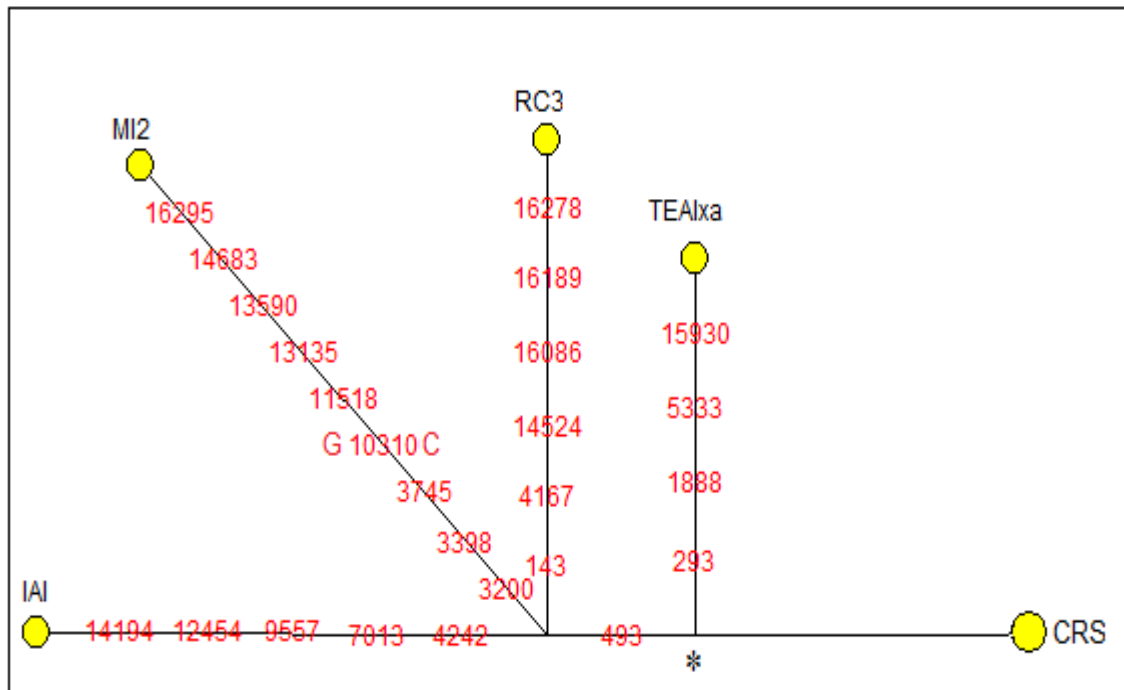


Figura 9. Red de uniones medianas del haplogrupo C1 para Puerto Rico del ADNmt completo. Las muestras analizadas fueron IAI, RC3, MI2 y TEAixa. El CRS es la raíz de la red mediana. (*) contiene las siguientes mutaciones: 73, d249, 263, d290-291, 489, 750, 1438, 2706, 3552A, 4715, 4769, 7028, 7196A, 8584, 8701, 8860, 9540, 9545, 10398, 10400, 10873, 11719, 11914, 12705, 13263, 14318, 14766, 14783, 15043, 15301, 15326, 15487T, 16223, 16298, 16325 y 16327. En la muestra RC3 hay una transversión de A por C en la posición 16183.

6.2.5 Red de uniones medianas para el haplogrupo C1 de República Dominicana

El CRS fue la raíz usada para la red mediana del haplogrupo C1 de República Dominicana y se observó la formación de cuatro linajes (Figura 10). Al observar las muestras JC03 (C1d) y NA6a (C1b) ambos poseen en común una mutación (16086), pero después se ramifican en dos linajes diferentes. Las muestras GB1a y PJ14 se encontraron formando un

mismo linaje, ya que ambas pertenecen al subhaplogrupo C1c. La muestra JC07 fue la que presentó un mayor número de cambios (12) en relación a las demás, que presentaron un promedio de nueve cambios.

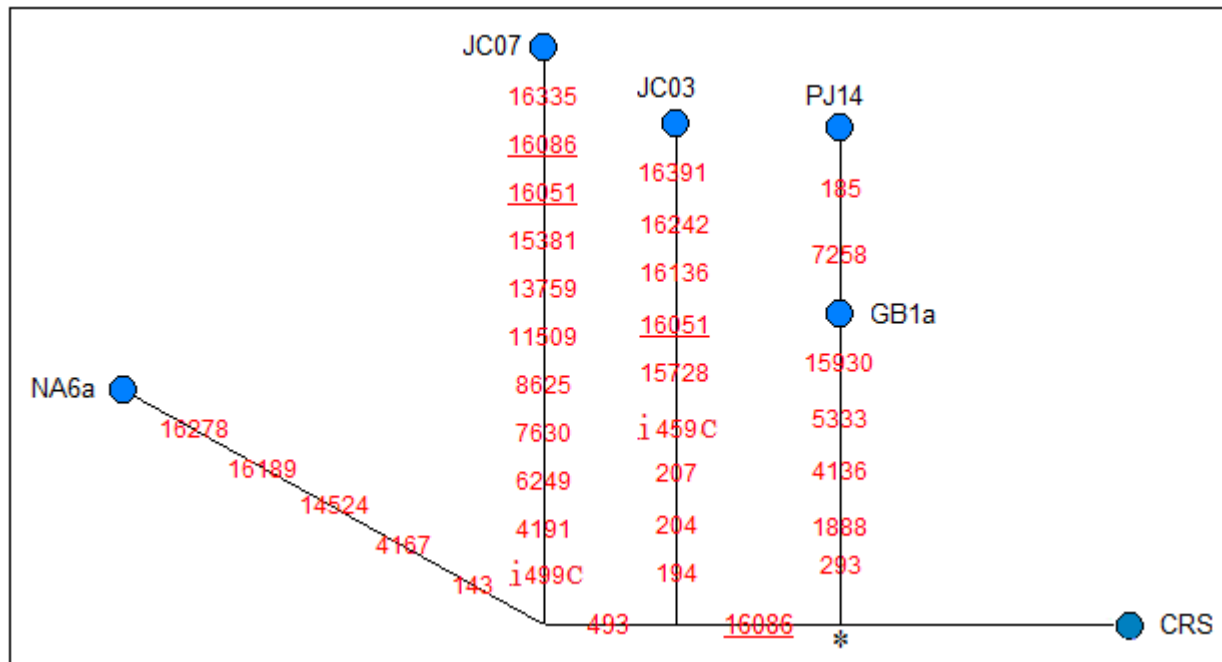


Figura 10. Red de uniones medianas del haplogrupo C1 para República Dominicana del ADNmt completo. Las muestras analizadas fueron NA6a, GB1a, PJ14, JC0 y JC03. El CRS es la raíz de la red mediana. (*) contiene las siguientes mutaciones: 73, d249, 263, d290-291, 489, 750, 1438, 2706, 3552A, 4715, 4769, 7028, 7196A, 8584, 8701, 8860, 9540, 9545, 10398, 10400, 10873, 11719, 11914, 12705, 13263, 14318, 14766, 14783, 15043, 15301, 15326, 15487T, 16223, 16298, 16325 y 16327. En la muestra NA6a hay una transversión de A por C en la posición 16183. (i) denota una inserción. La línea debajo de una mutación significa que esa mutación se repite en la red

6.2.6 Red de uniones medianas para del haplogrupo C1 Puerto Rico y República Dominicana

Al analizar las figuras 9 y 10 se obtuvieron un total de ocho linajes para Puerto Rico y República Dominicana, pero al observar la red mediana para el haplogrupo C1 de ambos países se encontró la formación de 4 linajes de C1b, un linaje de C1d y un linaje de C1c compuesto de

tres muestras donde se observó que se refleja una mayor relación entre las dos muestras dominicanas que con la puertorriqueña (Figura 11).

Unos de los linajes formados por las muestras IAI, RC3, NA6a, JC07 y MI2 las cuales pertenecen al subhaplogrupo C1b poseen la mutación 493. Las muestras NA6a y RC3 se presentan formando un mismo linaje, ya que poseen las mismas mutaciones

Otro de los linajes formados fue el subhaplogrupo C1c que contiene las muestras TEAixa, GB1a, y PJ14 las cuales no presentan la mutación 493 y además se puede observar que todas presentan las mutaciones 293, 18880 y 15930 que son diagnosticas del haplogrupo C1c, Además, todas presentan la mutación en la posición 5333, lo que sugiere que todas pertenecen a un subhaplogrupo de C1c.

El último linaje a formarse fue el subhaplogrupo C1d que contiene la muestra JC03 presentando la mutación 16086 y 16051.

Al haber seis linajes de los cuales dos se comparten se puede inferir que el porcentaje de ADNmt indígena obtenido fue de 33% para el haplogrupo C1. En lo relacionado al subhaplogrupo C1b se observó que se comparte un 25% de los linajes dominicanos y puertorriqueños. Para el subhaplogrupo C1c se observó que compartían un 33% entre el linaje puertorriqueño y dominicano.

Tabla 1. Distancia genética en años del haplogrupo A2 y C1

Haplogrupo	Muestra	Edad estimada en años
A2	SA8b	15,243
	Alpha A2	7,892
	L29	19,012
	AE	11,985
	ZC4	14,486
	G11	5,216
	QA4	5,216
	KE5a	5,216
	J12	21,892
	PJ07	11,985
	J7	7,892
	KB6b	7,892
	MG1	14,766
	L24	12,447
	241	10,610
	Alpha D2	12,447
C1	GB1a	3,449
	PJ14	3,449
	TEAixa	3,449
	JC03	10,610
	JC07	27,772
	NA6a	642
	RC3	642
	IAI	428
	MI2	24,809

En lo relacionado al reloj molecular para los haplogrupos A2 y C1 se obtuvo un nivel de significancia del 5% ($Z = 0.62$ para el haplogrupo A2 y 0.99 para el haplogrupo C1). Teniendo en cuenta la premisa de Battistuzzi et al. (2001), nuestros valores de Z no fueron mayores a 1.96, por lo tanto se pudo decir que no se observaron mayores violaciones a la expectativa del reloj molecular, ya que guardan una relación entre las mutaciones en relación al ancestro hipotético.

6.4 Valores de F_{ST} para Puerto Rico y República Dominicana en relación a otros países.

Se usó el programa de DnaSP5 para hallar la relación que existe entre las muestras de Puerto Rico, República Dominicana y países de Norte, Centro y Sur América (Apéndices 2 y 4) , y así poder medir la diferenciación genética que pueda existir entre ellos. Se pudo determinar los valores de F_{ST} para los haplogrupos A2, C1b y C1c, pero no para el haplogrupo C1d, ya que solo se tenía una muestra para las Antillas Mayores y esto no se puede considerar como una población. Este criterio es basado en el programa de DnaSP, versión 5.10 que solo acepta a una población cuando contiene más de dos muestras.

6.4.1 Valores de F_{ST} para el haplogrupo A2

Para realizar este análisis se dividieron las muestras en las siguientes 6 poblaciones: Sur América, Centro América, Norte América, Mesoamérica (México), Puerto Rico y República Dominicana. Al comparar las poblaciones de Puerto Rico y República Dominicana se observó que los dos valores menores de F_{ST} (0.01205 y 0.03549) están en la población de Mesoamérica (Tabla 2).

Tabla 2. Valores de F_{ST} para el haplogrupo A2

Población 1	Población 2	F_{ST}
Sur América	Centro América	0.14509
Sur América	Mesoamérica	0.02506
Sur América	Puerto Rico	0.07559
Sur América	República Dominicana	0.03752
Sur América	Norte América	0.01470
Centro América	Norte América	0.11844
Centro América	Mesoamérica	0.12713
Centro América	Puerto Rico	0.15178
Centro América	República Dominicana	0.09671
Mesoamérica	Puerto Rico	0.03549
Mesoamérica	República Dominicana	0.01205
Mesoamérica	Norte América	0.12070
Puerto Rico	República Dominicana	0.05135
Puerto Rico	Norte América	0.04299
República Dominicana	Norte América	0.10072

6.4.2 Valores de F_{ST} para el haplogrupo C1b

Las poblaciones analizadas para este subhaplogrupo fueron tres: Sur América, México, la unión de Puerto Rico y República Dominicana, ya que República Dominicana solo posee dos muestras para este haplogrupo. No se tiene una población de Centro América, porque no se encontraron muestras reportadas en la literatura para este subhaplogrupo. En lo relacionado con Norte América no se obtuvieron muestras, por lo cual tampoco se tendrá en cuenta como una población. Al analizar los valores de F_{ST} se encontró que las poblaciones más relacionadas con las Antillas Mayores fueron las de Sur América (0.12549), pero los valores de F_{ST} de Mesoamérica no son muy distantes (0.15347). Al observar el valor de F_{ST} de Sur América y las Antillas Mayores con Mesoamérica, se observó que las Antillas Mayores están más distantes de Mesoamérica que de Sur América (Tabla 3).

Tabla 3. Valores de F_{ST} para el haplogrupo C1b

Población 1	Población 2	F_{ST}
Sur América	Mesoamérica	0.06886
Sur América	Puerto Rico y R. Dominicana	0.12549
Mesoamérica	Puerto Rico y R. Dominicana	0.15347

6.4.3 Valores de F_{ST} para el haplogrupo C1c

Para hallar los valores de F_{ST} para el subhaplogrupo C1c se analizaron las siguientes tres poblaciones: Sur América, México y la unión de Puerto Rico y República Dominicana. No se tiene una población de Centro América, porque no se encontraron muestras reportadas en la literatura para este subhaplogrupo. El valor de F_{ST} más bajo fue de 0.09176 entre las poblaciones de las Antillas Mayores y Sur América, dando lugar a decir que estas dos poblaciones son las más relacionadas entre sí (Tabla 4). Al comparar la relación entre Sur América con Mesoamérica se observó que guarda una relación casi igual que Mesoamérica con las Antillas Mayores.

Tabla 4. Valores de F_{ST} para el haplogrupo C1c

Población 1	Población 2	F_{ST}
Sur América	Puerto Rico y R. Dominicana	0.09176
Sur América	Mesoamérica	0.12909
Mesoamérica	Puerto Rico y R. Dominicana	0.17973

6.5 Árboles Filogenéticos para el haplogrupo A2 y C1

6.5.1 Árboles Filogenéticos para el haplogrupo A2

Después de tener la secuencia completa, se procedió a realizar una alineación con secuencias completas de ADNmt obtenidas de la literatura (Apéndice 2) y correspondientes a haplotipos meso, centro y suramericanos, además de un haplotipo cubano y el CRS, para así construir un árbol filogenético. No fue necesario utilizar ningún programa para el alineamiento debido a las pocas diferencias entre las muestras ($\pi_A = 0.00066$, $\pi_C = 0.00091$). Estos datos fueron obtenidos con el programa DnaSP5. Para el árbol filogenético se usaron los programas, MEGA6 con el algoritmo de verosimilitud máxima, y MrBayes®.

Para realizar el árbol filogenético de verosimilitud máxima con MEGA6 se usaron 85 muestras del haplogrupo A2 tomadas de la literatura exceptuando cuatro muestras de Honduras que fueron secuenciadas por Francez Curbelo en el laboratorio de Esteban G. Burchard en la Universidad de California en San Francisco (datos no publicados). Además se usó el CRS como grupo externo y 16 muestras analizadas para esta investigación (Figura 12).

La primera divergencia que se observa a través del tiempo es la esperada: el CRS, de origen europeo, se separa primero del resto de los haplotipos, que son indígenas. Con varias excepciones, la tendencia general es que los linajes con raíces de mayor profundidad son de

México y Centroamérica, mientras que la politomía de la que sale la mayor parte de los ADNmts representan principalmente linajes suramericanos.

Se observó con claridad la formación de dos grupos. En el grupo más pequeño se observó que la muestra de México (MA001) se separó primero de todas las muestras, lo cual está demostrando que puede ser ancestral a todos los indígenas del haplogrupo A2.

En el otro grupo, el más grande, se observaron la formación de 34 clados, los cuales se dividen en un grupo más ancestral (I en la Figura 12) con 9 clados incluyendo 8 de nuestras muestras, y un grupo derivado que consiste de una sola politomía de 21 clados (II en la Figura 12) con 8 de nuestras muestras. Uno de los 9 clados del grupo más ancestral está formado por la muestra Alpha A2 de Puerto Rico perteneciente al linaje A-IX, pero no se puede confirmar su origen continental. Después se encuentra la única muestra Apache en el estudio y una muestra de México, que surgen como linajes posteriores a Alpha A2.

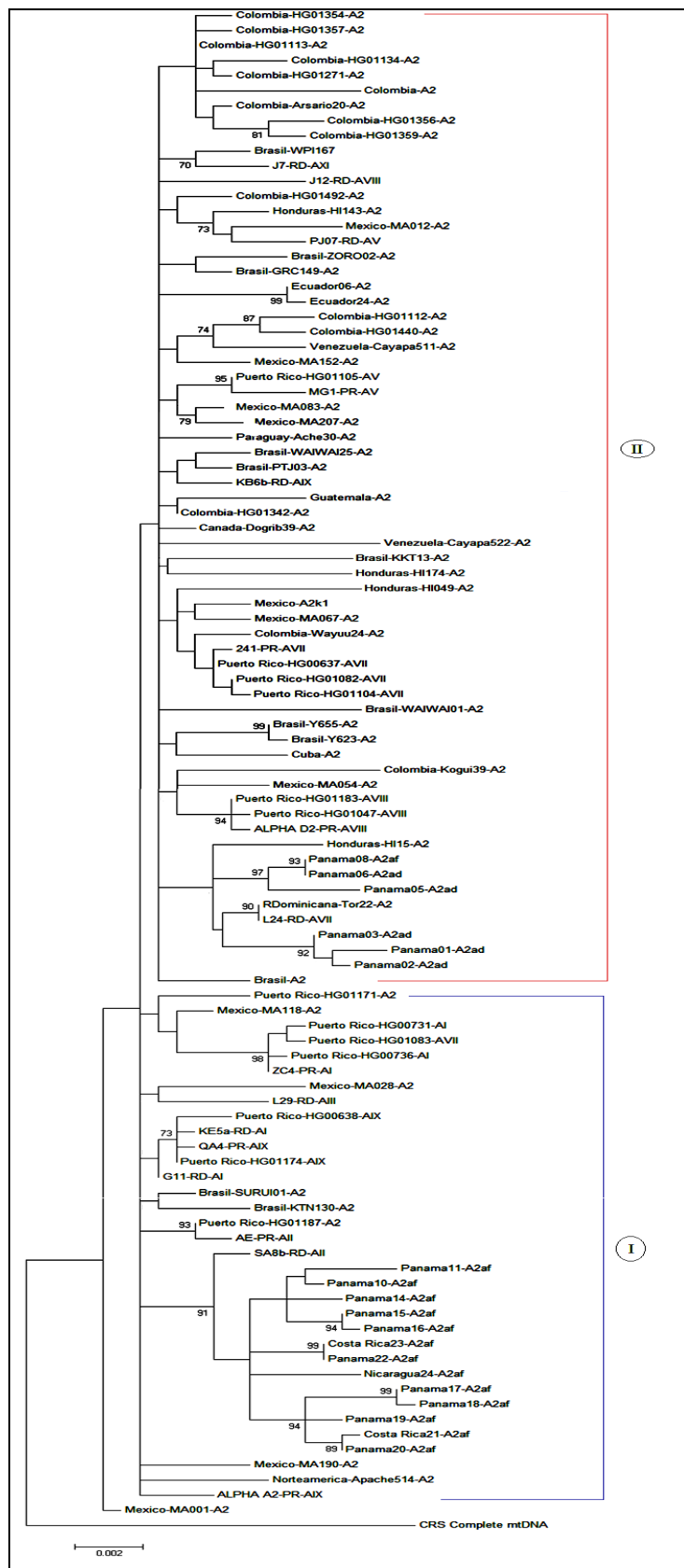


Figura 12. Árbol filogenético del haplogrupo A2 de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MEGA6 con máxima verosimilitud. Grupo externo es el CRS y los valores del bootstrap mostrados son los mayores al 70%. El valor de 0,002 representa las sustituciones por posición de base. Con un 0.002 de I: Se refiere a grupos con raíces más profundas que el grupo politómico II.

En la parte inferior del árbol filogenético (grupo I, Figura 12a) se puede observar el primer clado, en donde se encuentra la muestra SA8b de República Dominicana que pertenece al linaje dominicano A-II. Concluimos que es de origen centroamericano ya que es ancestral a un grupo exclusivo de muestras de Panamá, Costa Rica y Nicaragua. Subiendo en el árbol está la muestra AE de Puerto Rico perteneciente al linaje A-II, relacionada con una muestra de Puerto Rico del Proyecto 1000 Genomas pero con la información otorgada por este árbol filogenético, no se puede decir con exactitud, cuál sería el origen continental de esta muestra.

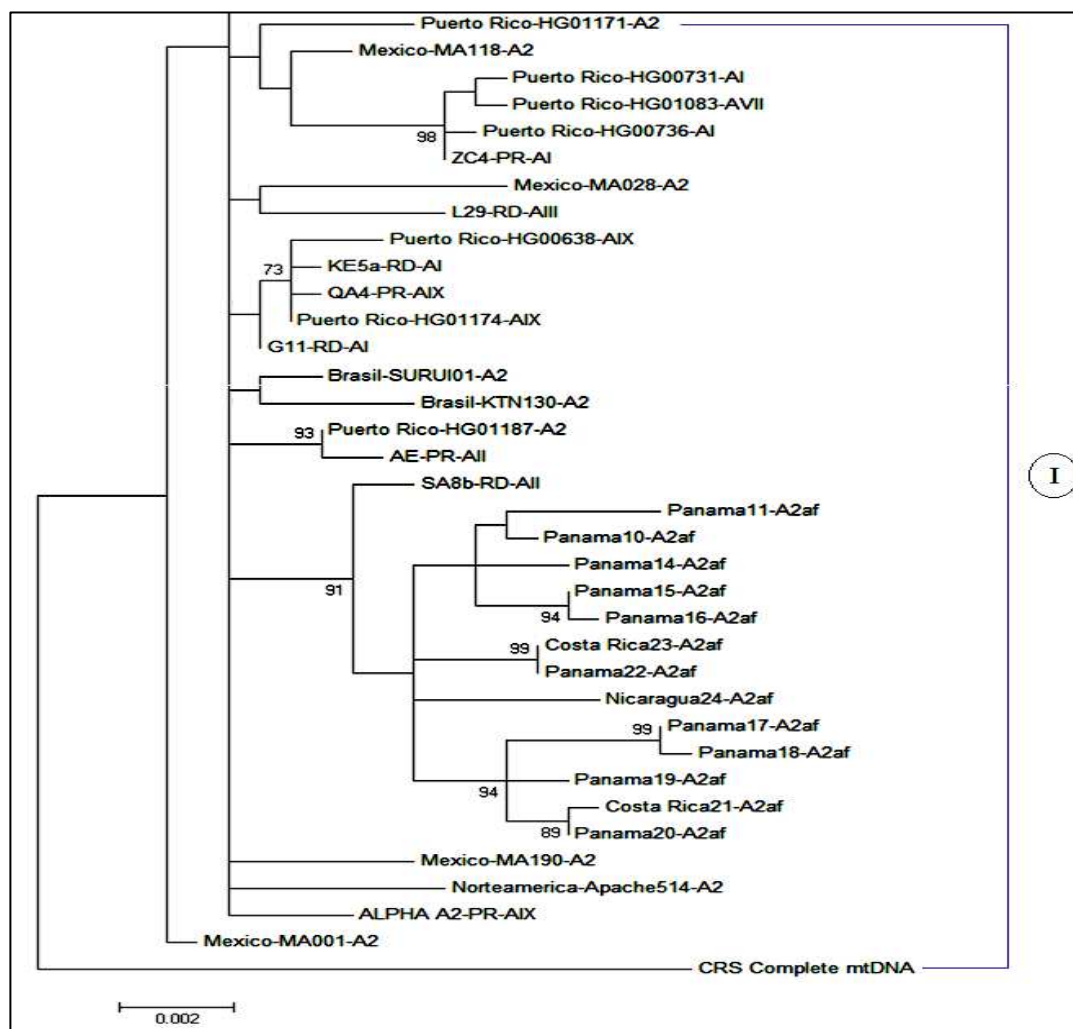


Figura 12a. Árbol filogenético del haplogrupo A2 de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MEGA6 con máxima verosimilitud (Grupo I). El grupo externo es el CRS. El valor de 0,002 representa las sustituciones por posición de base.

Después encontramos un clado dándole un posible origen en común a las muestras G11 y KE5a, ambas de República Dominicana, pertenecientes al linaje A-I y QA4 de Puerto Rico, del linaje A-IX. También se presentó una separación más temprana de G11 en relación a KE5a y QA4. Al analizar con más detalles estas muestras, se puede confirmar lo encontrado en las redes medianas del estudio realizado por Martínez Cruzado y colaboradores en el 2008, en donde estos linajes eran compartidos por Puerto Rico y República Dominicana. Sin embargo, no se obtuvieron muestras de la literatura dentro de este clado, por lo que el origen continental sigue siendo desconocido. Aún así este resultado sugiere que el poblamiento de ambas islas por un haplotipo sugiere un proceso migratorio en común para ambas islas. Luego aparece un clado en donde está la muestra L29 de República Dominicana del linaje A-III, la cual está relacionada con México, dándole un origen mesoamericano.

En un siguiente clado están las muestras ZC4 de Puerto Rico del linaje A-I y del Proyecto 1000 Genomas pertenecientes a Puerto Rico, todas ellas precedidas por una muestra de México, lo cual les otorga un origen mesoamericano.

En la parte inferior del grupo II (Figura 12b) del árbol filogenético se encuentra la muestra L24 de República Dominicana que pertenece al linaje A-VII, la cual está dentro del grupo de muestras de Panamá y Honduras, llegando a la confirmación que L24 es de origen centroamericano. Posteriormente, se encuentra la muestra Alpha D2 de Puerto Rico, perteneciente al linaje A-VIII, la cual está relacionada con una muestra de México y Colombia, en donde no se puede confirmar su origen continental.

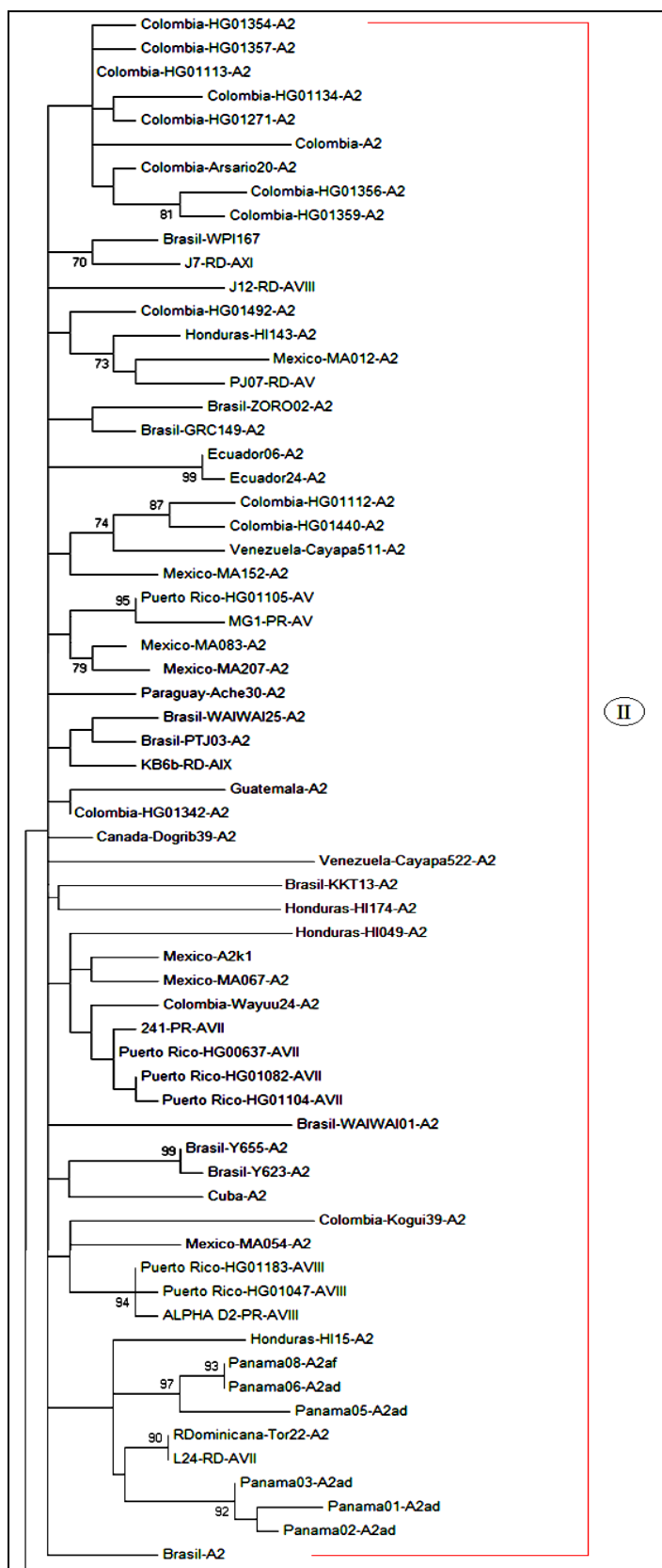


Figura 12b. Árbol filogenético del haplogrupo A2 de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MEGA6 con máxima verosimilitud (Grupo II). Grupo externo es el CRS y los valores del bootstrap mostrados son los mayores al 70%.

Subsiguientemente está la muestra 241 de Puerto Rico del linaje A-VII, emparentado con tres muestras del Proyecto 1000 Genomas, y éstas se encuentran precedidas de una muestra de Colombia de los Wayuu de La Guajira, dándoles un origen suramericano.

Después aparece la muestra KB6b de República Dominicana perteneciente al linaje A-AIX la cual se encuentra junto a dos muestras de Brasil dándole un origen suramericano a dicha muestra. Posteriormente encontramos la muestra MG1 de Puerto Rico del linaje A-V que está con una muestra de Puerto Rico del Proyecto de 1000 Genomas y estas están precedidas de dos muestras de México, otorgándole un origen mesoamericano

Más arriba en el grupo II encontramos la muestra PJ07 del linaje A-V de República Dominicana con una muestra de México, relacionadas con un origen mesoamericano. Luego aparece la muestra J12 de República Dominicana perteneciente al linaje A-VIII pero no se puede determinar su origen continental. La última muestra en analizar fue la muestra J07 de República Dominicana perteneciente al linaje A-XI, está relacionado con una muestra de Brasil, permitiendo decir que esta muestra es de origen suramericano.

Para analizar con más detalle las diferencias entre las muestras analizadas y las muestras de la literatura, se realizaron redes medianas. La primera muestra fue Alpha A2 la cual se encontraba con dos muestras de México y una muestra de Norteamérica de los Apaches, y como era de esperar la muestra Alpha A2 presentó una mayor relación con las muestra de Norteamérica (Figura 13).

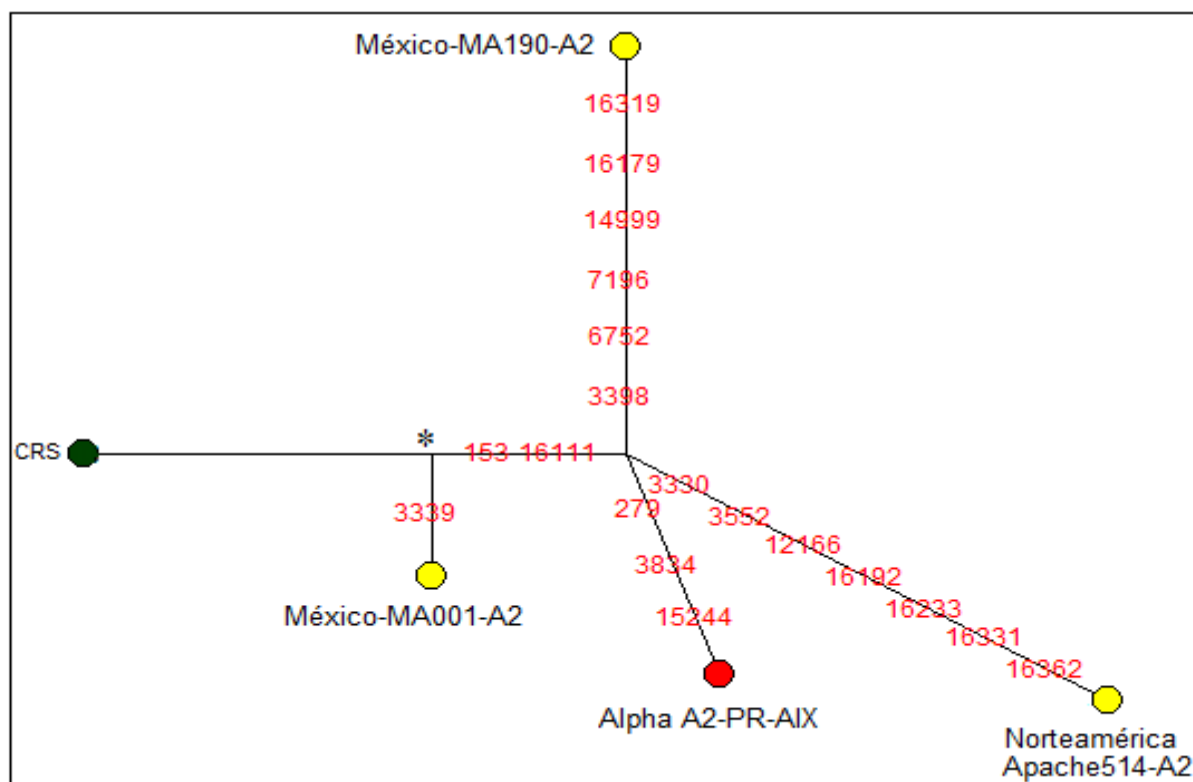


Figura 13. Red de uniones medianas de la muestra Alpha A2 del haplogrupo A2. Esta muestra está representada en rojo. El CRS es la raíz de la red mediana (verde). (*) contiene las siguientes mutaciones: 73, 146, 235, 263, 663, 750, 1438, 1736, 2706, 4248, 4769, 4824, 7028, 8027, 8794, 8860, 11719, 12007, 12705, 14766, 15326, 16223, 16290, 16319 y 16362.

Después se analizó la muestra MG1, la cual estaba emparentada con tres muestras de México y una del Proyecto de 1000 Genomas. La muestra de México-MA152 se diferencia del resto por no presentar la mutación 16,391 y las muestras de Puerto Rico se diferencian de las otras dos muestras de México por no tener dos mutaciones en las posiciones 7,724 y 16,111 (Figura 14).

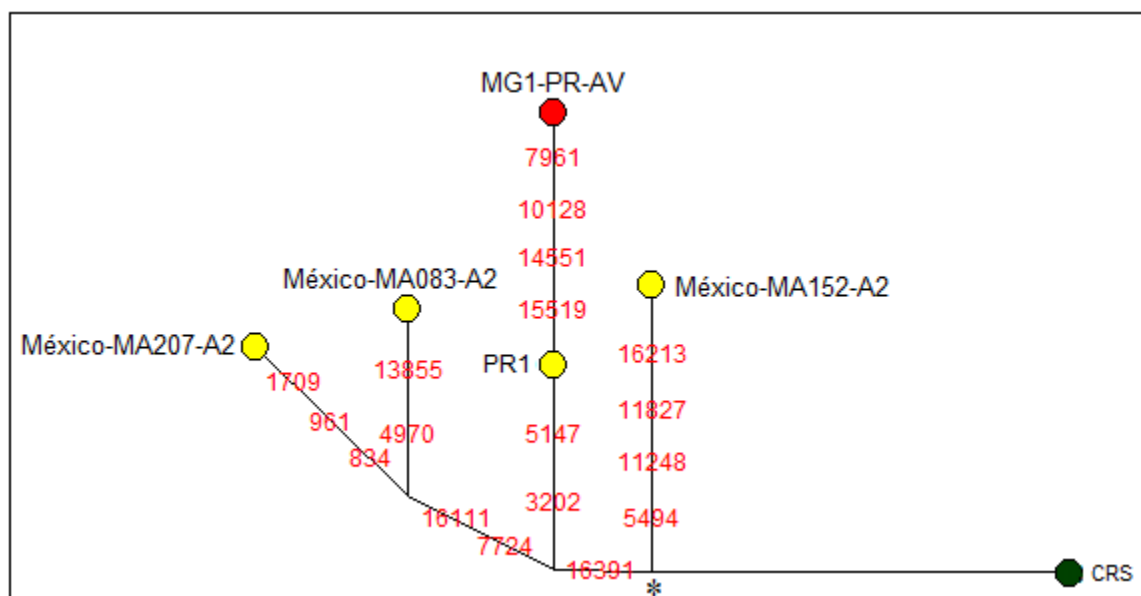


Figura 14. Red de uniones medianas de la muestra MG1 del haplogrupo A2. Esta muestra está representada en rojo. El CRS es la raíz de la red mediana (verde). (*) contiene las siguientes mutaciones: 64, 73, 146, 153, 235, 263, 663, 750, 1438, 1736, 2706, 4248, 4769, 4824, 7028, 8027, 8794, 8860, 11719, 12007, 12705, 14766, 15326, 16223, 16290, 16319 y 16362. PR1 es la muestra del Proyecto 1000 Genomas PR-HG01105-AV.

La siguiente red mediana realizada fue para la muestra 241 de Puerto Rico con dos muestras de México, tres muestras del Proyecto 1000 Genomas, una muestra de Colombia de la tribu Wayuu y una muestra de Honduras. Se observa que todas las muestras presentan un mismo origen, pero la muestra que presentó mayor número de mutaciones fue la Honduras, y las dos muestras de México se diferencian de las de Puerto Rico y Colombia por la presentar la mutación 9055. La muestra de Colombia y las muestras de Puerto Rico tienen en común la mutación 3202, pero se diferencian entre ellas porque las muestras de Puerto Rico presentan la mutación 8460. La muestra 241 presentó las mismas mutaciones de la muestra de Puerto Rico HG00637 del Proyecto de 1000 Genomas (Figura 15).

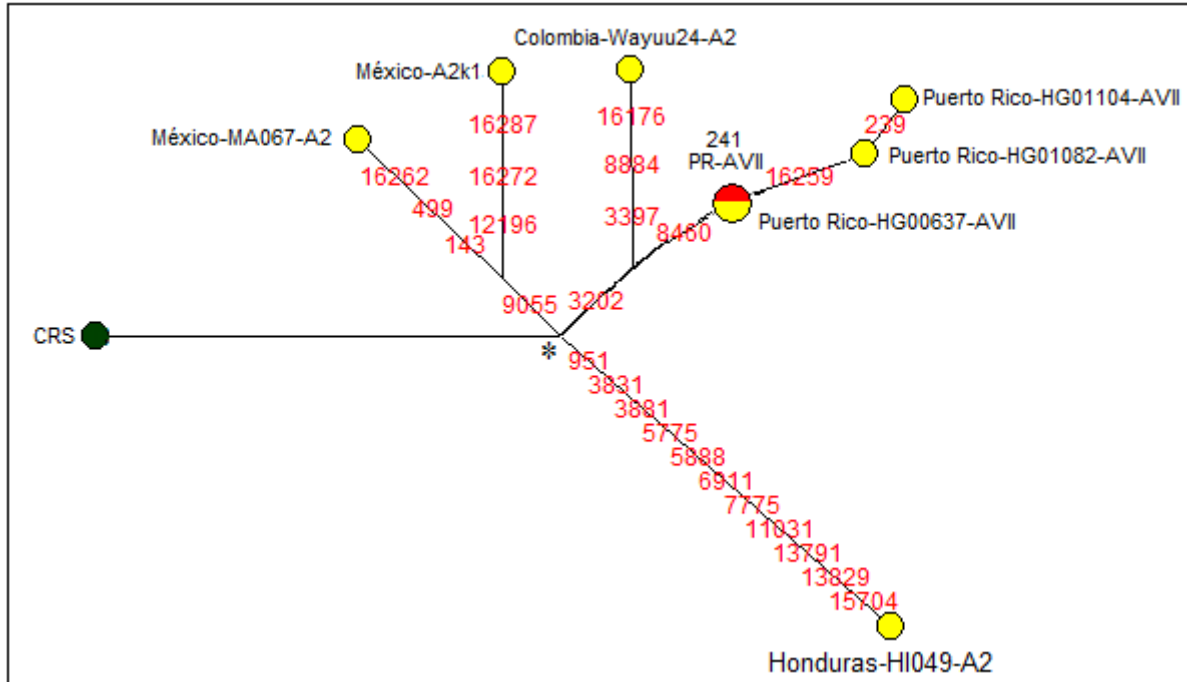


Figura 15. Red de uniones medianas de la muestra 241 del haplogrupo A2. Esta muestra está representada en rojo. El CRS es la raíz de la red mediana (verde). (*) contiene las siguientes mutaciones: 64, 73, 146, 153, 235, 263, 663, 750, 1438, 1736, 2706, 4248, 4769, 4824, 7028, 8027, 8794, 8860, 11719, 12007, 12705, 14766, 15326, 15924, 16111, 16223, 16290, 16319 y 16362. La línea debajo de una mutación significa que esa mutación se repite en la red.

La siguiente red mediana fue obtenida para la muestra Alpha D2, una muestra de México, dos del Proyecto 1000 Genomas y una muestra de Colombia del grupo indígena Kogui. Como era de esperarse según el árbol filogenético obtenido en la figura 12b todas las muestras presentan un origen en común, pero con la diferencia de la mutación en la posición 146 que hace que las muestras de México y Puerto Rico se diferencien de la de Colombia. La muestra Alpha D2 presenta la mutación 10,789, la cual la hace ser diferente de las dos muestras del Proyecto 1000 Genomas (Figura 16).

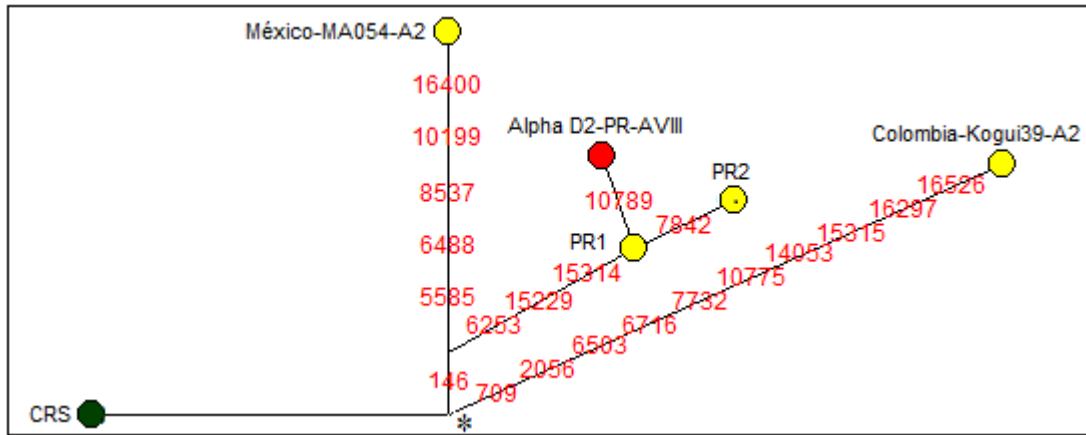


Figura 16. Red de uniones medianas de la muestra Alpha D2 del haplogrupo A2. Esta muestra está representada en rojo. El CRS es la raíz de la red mediana (verde). (*) contiene las siguientes mutaciones: 64, 73, 153, 235, 263, 663, 750, 1438, 1736, 2706, 4248, 4769, 4824, 7028, 8027, 8794, 8860, 11719, 12007, 12705, 14766, 15326, 16111, 16129, 16223, 16290, 16319 y 16362. La línea debajo de una mutación significa que esa mutación se repite en la red. PR1 (Puerto Rico-HG01183-AVIII), PR2 (Puerto Rico-HG01047-AVIII).

Cuando se analiza el árbol filogenético realizado en MrBayes® (Figura 17), el CRS y la muestra MA001 de México son las que forman la raíz de dicho árbol. También en ese perfil hay una muestra de México y, en una raíz más reciente, que preside a las muestras ZC4 y tres muestras del Proyecto de 1000 Genomas, otorgándoles un origen mesoamericano (grupo I). Seguidamente encontramos la muestra AE con una muestra puertorriqueña del Proyecto 1000 Genomas, las cuales están relacionadas con una muestra de México, otorgándoles un origen continental mesoamericano (grupo II). Si se observa con detenimiento hacia el interior del árbol filogenético, se da la formación de otros cuatro grupos filogenéticos distintos (III, IV, V y VI) en donde están las otras muestras de esta investigación.

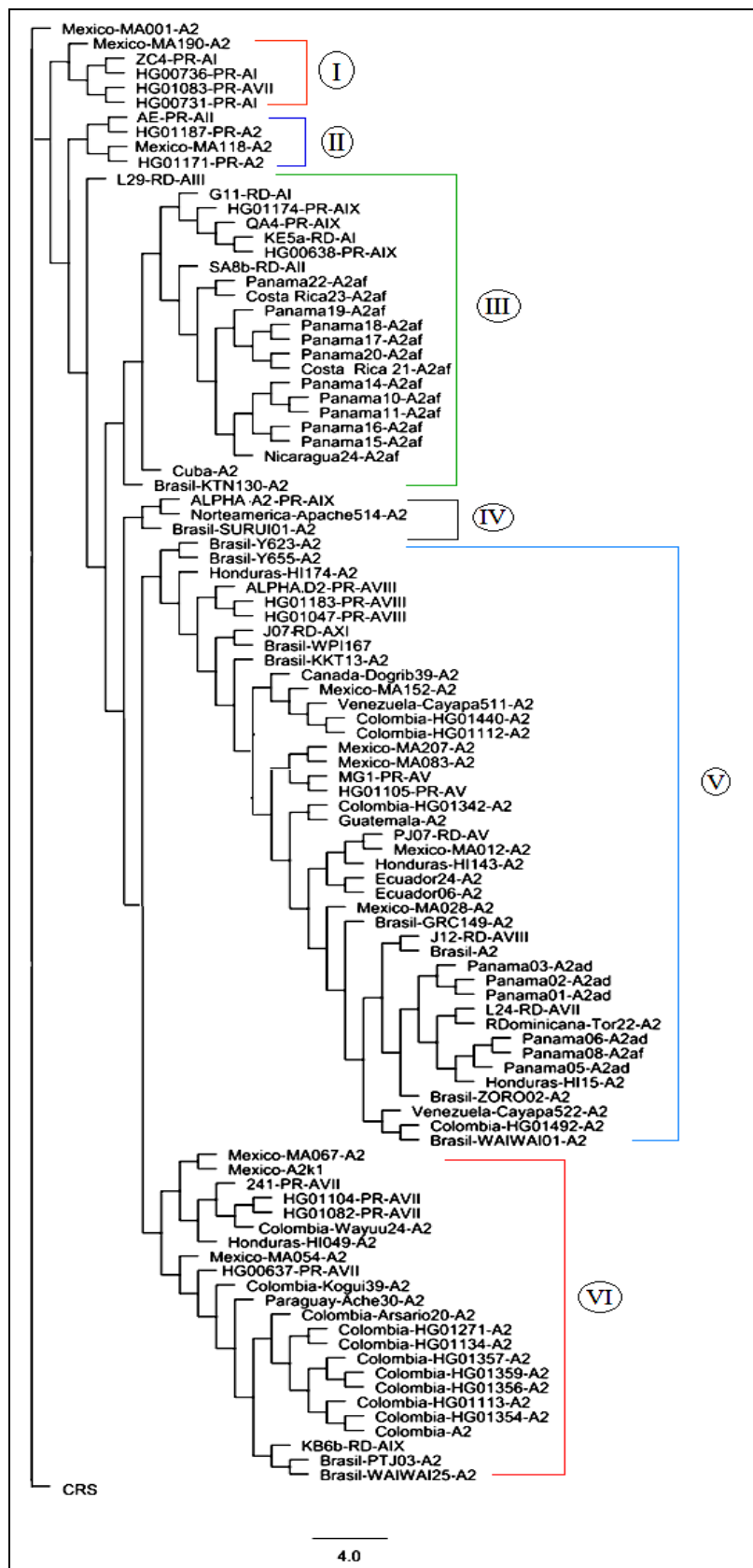


Figura 17. Árbol filogenético del haplogrupo A2 de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MrBayes®. Grupo externo es el CRS. El valor de 4,0 representa las sustituciones por posición de base.

En el primer clado en la parte inferior del árbol (grupo VI, Figura 17a) se encuentran las muestras KB6b y 241. En lo relacionado a la muestra KB6b se encuentra con dos muestras de Brasil, dándole un origen suramericano a dicha muestra. La muestra 241 se encuentra precedida de una muestra de Honduras y seguida de una muestra de Colombia por lo que su origen no es evidente.

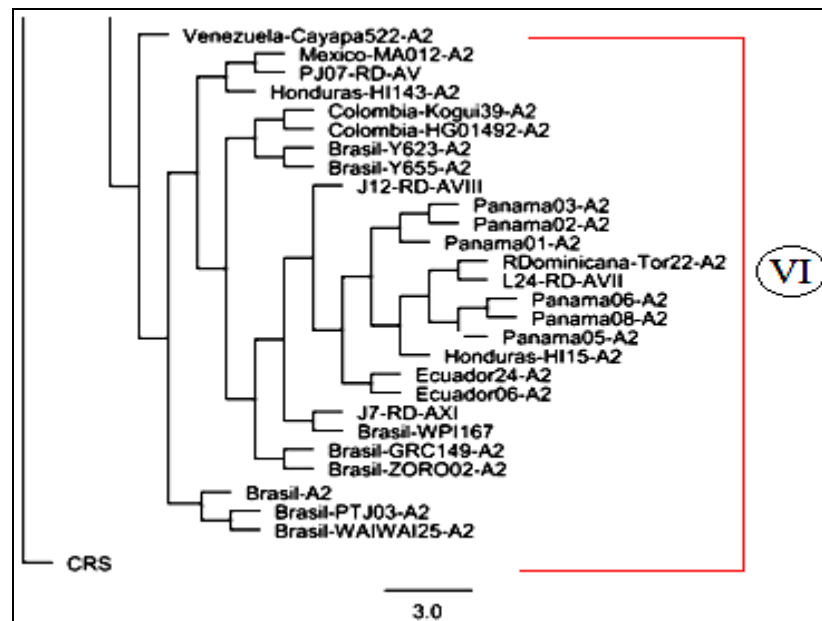


Figura 17a. Árbol filogenético del haplogrupo A2 de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MrBayes® (Grupo VI). Grupo externo es el CRS.

Siguiendo en el análisis, observamos la Figura 17 (grupo IV y V) en donde está la muestra L24 de República Dominicana con la muestra del mismo país, las cuales están relacionadas con muestras de Panamá y Honduras, otorgándoles un origen centroamericano. Al observar la muestra J12 se puede decir con seguridad que su origen continental es suramericano, ya que se encuentra relacionado con una muestra de Brasil. Posteriormente, encontramos una muestra de México relacionada con la muestra PJ07 la cual le otorga un origen mesoamericano a

nuestra muestra. Después está la muestra MG1 con una muestra puertorriqueña del Proyecto 1000 Genomas precedidas por dos muestras de México, dándole un origen continental mesoamericano a la muestra MG1.

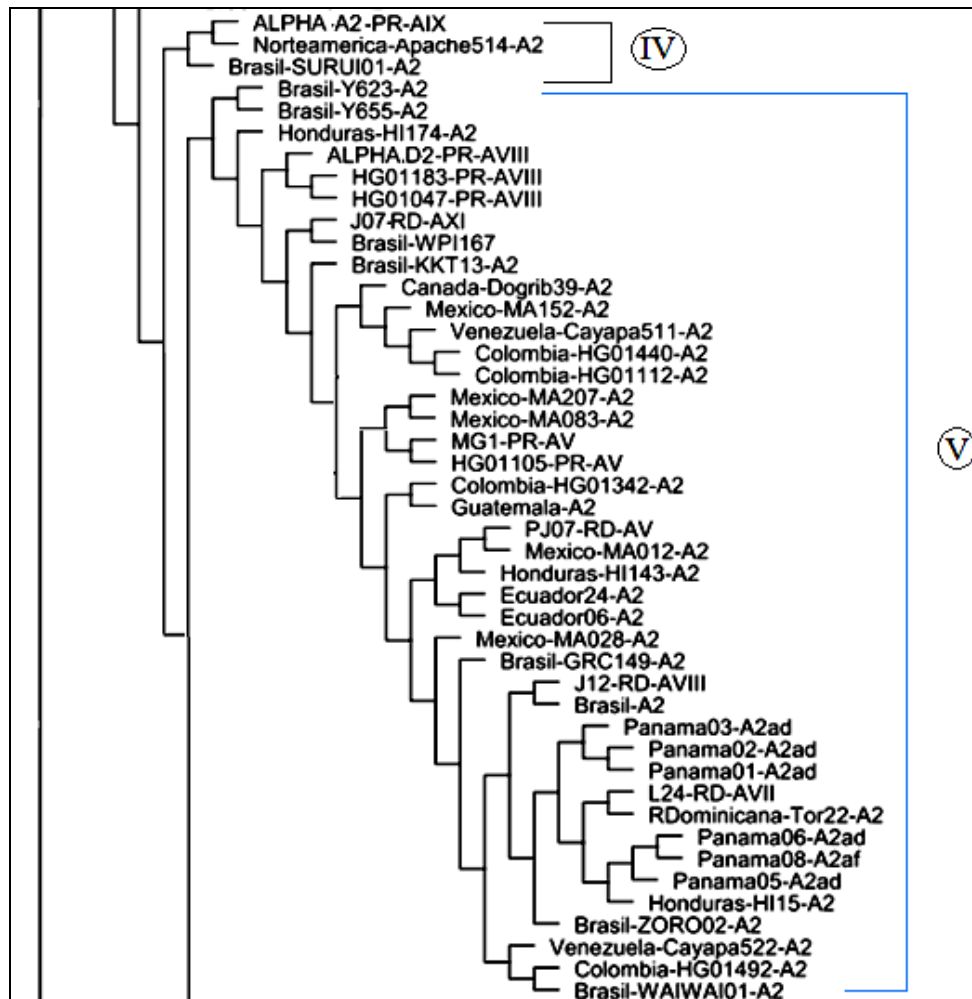


Figura 17b. Árbol filogenético del haplogrupo A2 de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MrBayes® (Grupo IV y V). Grupo externo es el CRS.

Más arriba en el árbol encontramos la muestra J7 que se encuentra con una muestra de Brasil, dándole un origen suramericano a dicha muestra. Después está la muestra Alpha D2 con dos muestras puertorriqueñas del Proyecto 1000 Genomas pero no se puede decir el origen

continental de Alpha D2. La última muestra de este grupo, es Alpha A2 a la cual no se pudo predecir con exactitud su origen continental, ya que estaba relacionada con la única muestra Apache usada para la realización de este árbol filogenético y otra muestra de Brasil.

Después está la Figura 17c (grupo III) en donde está el resto de las muestras de esta investigación: SA8b, KE5a, QA4, G11 y L29. Ese grupo fue muy informativo ya que se pudo determinar el origen continental centroamericano de las muestras SA8b, KE5a, QA4 y G11. En lo relacionado a la muestra L29 no se puede determinar su origen continental.

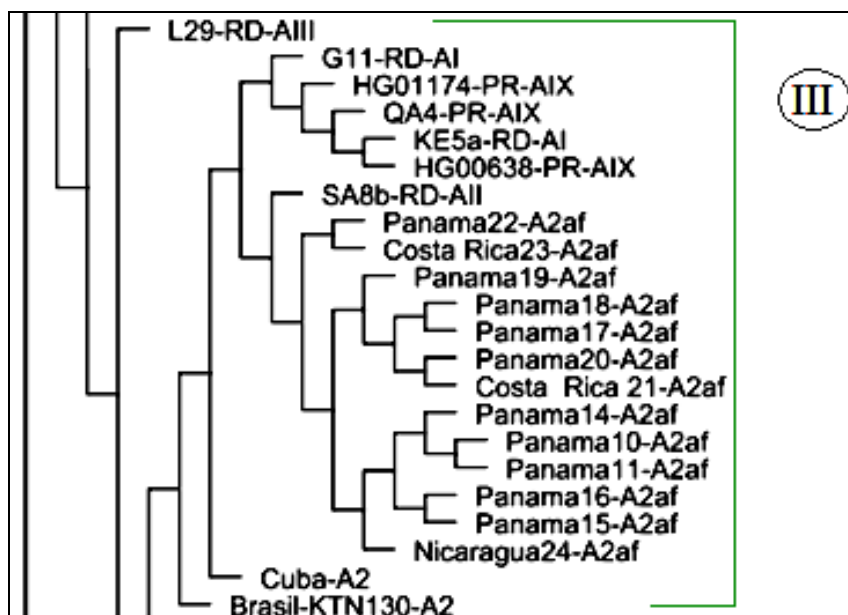


Figura 17c. Árbol filogenético del haplogrupo A2 de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MrBayes® (Grupo III). Grupo externo es el CRS.

Al realizar las redes medianas para observar las diferencias entre las muestras analizadas de la investigación y las muestras de la literatura se obtuvieron tres redes para las muestras PJ07, J12, L24, G11, QA4, SA8b, L29 y KB5a. La red mediana para la muestra PJ07 de República Dominicana, dos muestras de Ecuador, una muestra de Honduras y una muestra de México

mostró que las muestras más distantes fueron las de Ecuador. Las muestra de Honduras, México y PJ07 se diferencian de las de Ecuador por las mutaciones 10310, 16136 y 16311, pero a su vez la muestra de Honduras no presenta la mutación 16093 que si la presenta la muestra de México y PJ07 (Figura 18).

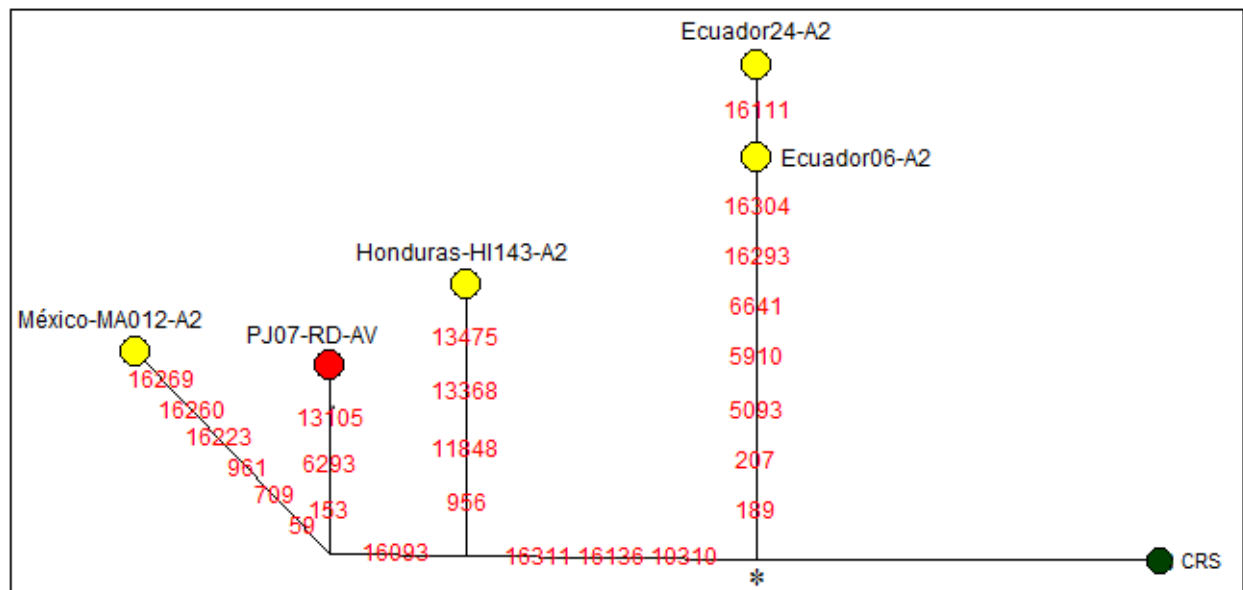


Figura 18. Red de uniones medianas de la muestra PJ07 del haplogrupo A2. Esta muestra está representada en rojo. El CRS es la raíz de la red mediana (verde). (*) contiene las siguientes mutaciones: 64, 73, 146, 153, 235, 263, 663, 750, 1438, 1736, 2706, 4248, 4769, 4924, 7028, 8027, 8794, 8860, 11719, 12007, 12705, 14766, 15326, 16111, 16223, 16290, 16319 y 16362.

En la siguiente red mediana se analizaron las muestras J12 y L24 de República Dominicana con muestras de Honduras, Brasil y Panamá. La muestra J12 fue la primera en dividirse de las demás y se diferencia por no presentar la mutación 153 y se encuentra más relacionada con las muestras de Brasil. Además se observa la formación de un grupo de muestras de centroamérica relacionadas con la muestra de L24, esta muestra posee el mismo número de mutaciones que la muestra de República Dominicana Torr22 (Figura 19).

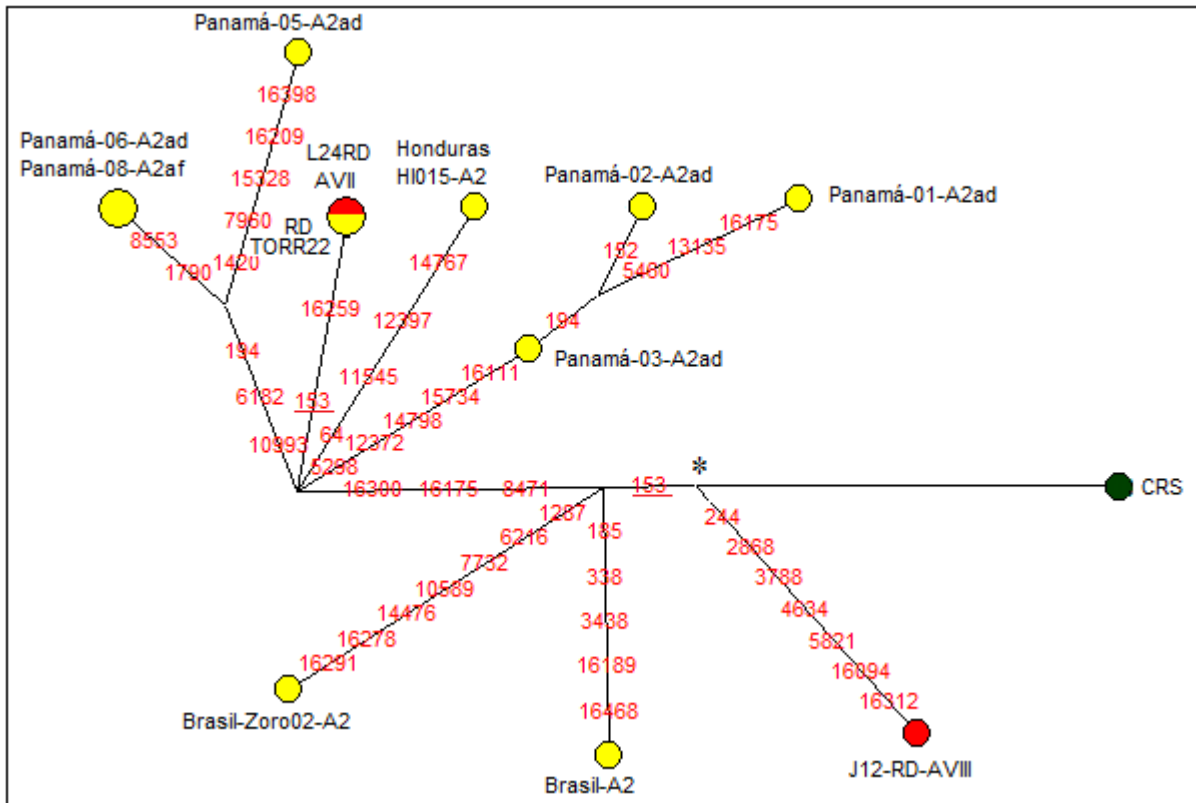
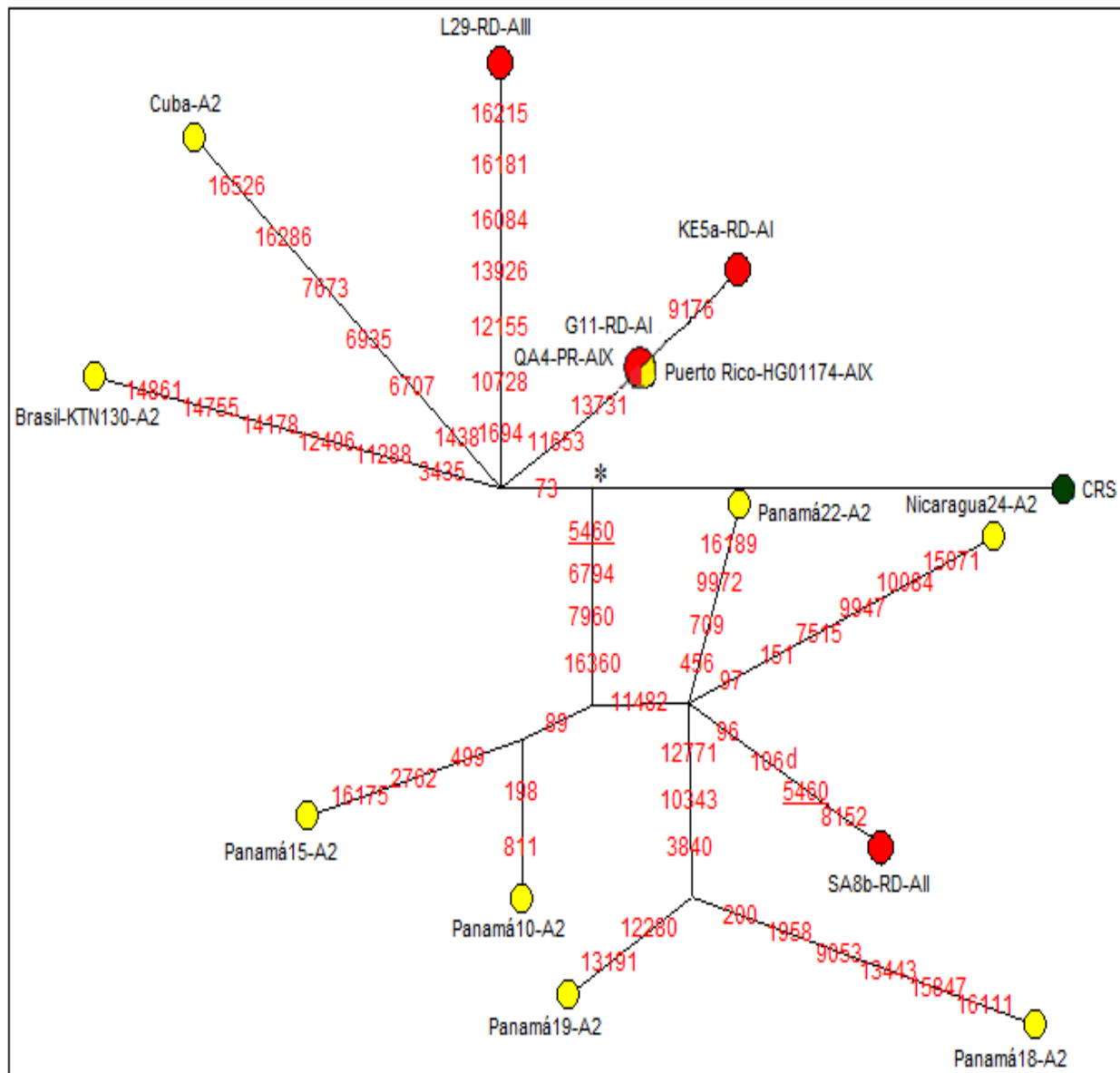


Figura 19. Red de uniones medianas de las muestras J12 y L24 del haplogrupo A2. Estas muestras están representadas en rojo. El CRS es la raíz de la red mediana (verde). (*) contiene las siguientes mutaciones: 64, 73, 146, 235, 263, 663, 750, 1438, 1736, 2706, 4248, 4769, 4824, 7028, 8027, 8794, 8860, 11719, 12007, 12705, 14766, 15326, 16111, 16223, 16290, 16319 y 16362. La línea debajo de una mutación significa que esa mutación se repite en la red

La siguiente red mediana analizada fue con las muestras L29, G11, KE5a, QA4, Sa8b, cinco muestras de Panamá, una de Nicaragua, una de Cuba y otra de Brasil. Al analizar con detalle la red mediana obtenida se observó la formación de dos grupos. Uno de los grupos en donde estaba la muestra SA8b que se encuentra relacionada con las muestras de Panamá y Nicaragua, no presentaron la mutación en la posición 73. El otro grupo formado presentaba la mutación en la posición 73 y las muestras G11, QA4, KE5a, L29 y una muestra del Proyecto 1000 Genomas, las cuales se encuentran relacionadas con la muestra de Cuba (Figura 20). Como ya era de esperar las muestras G11 y QA4 son iguales pero además la muestra del Proyecto 1000 Genomas también es igual a estas dos muestras.



Para las muestras AE y ZC4 se realizó una red mediana con dos muestras de México y cinco muestras de Puerto Rico del Proyecto 1000 Genomas, en donde cuatro de ellas se relacionó

mucho con la muestra ZC4 de nuestra investigación y las dos restantes muestras se relacionaron con la muestra AE. Todas las muestras están relacionadas con México (Figura 21).

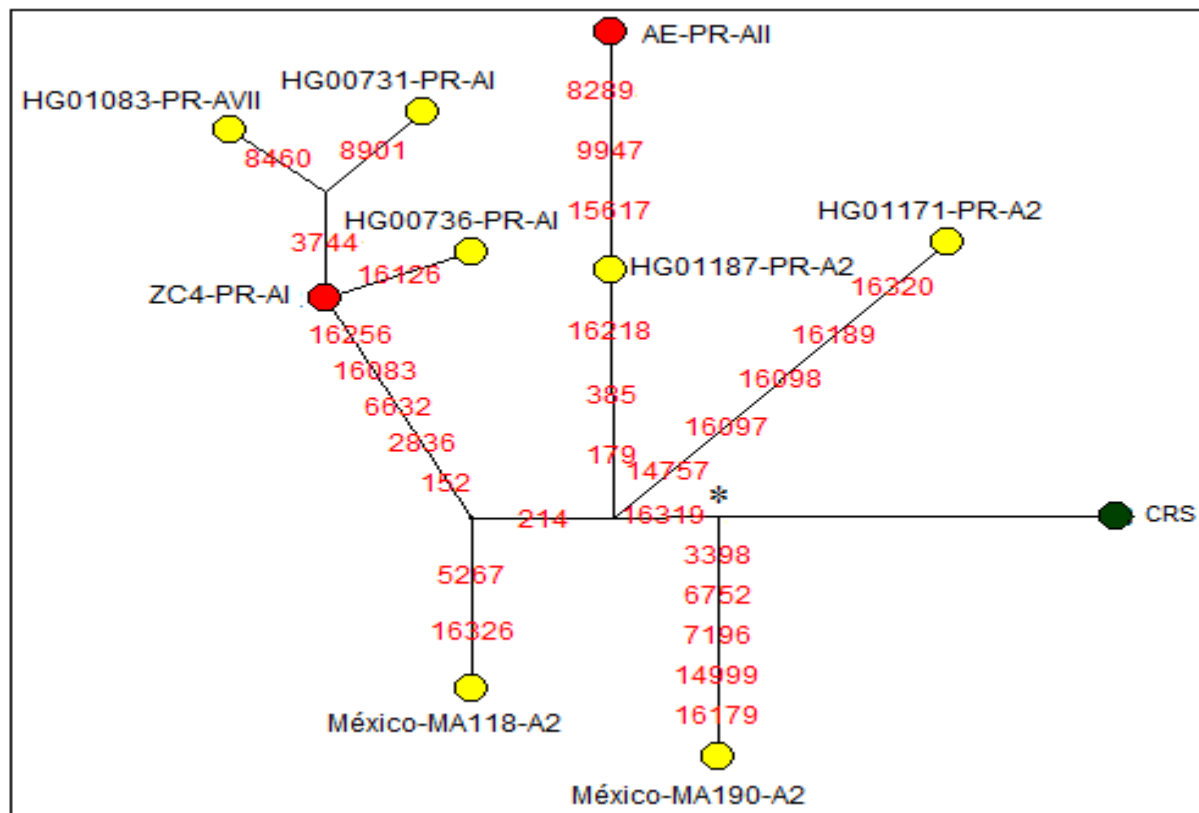


Figura 21. Red de uniones medianas de las muestras ZC4 y AE del haplogrupo A2. Estas muestras están representadas en rojo. El CRS es la raíz de la red mediana (verde). (*) contiene las siguientes mutaciones: 73, 146, 153, 235, 263, 663, 750, 1438, 1736, 2706, 4248, 4769, 4824, 7028, 8027, 8794, 8860, 11719, 12007, 12705, 14766, 15326, 16111, 16223, 16290 y 16362.

Al analizar la muestra KB6b se encontró que está relacionada con muestras de Brasil y Colombia, las cuales tiene la mutación en la posición 153 pero la muestra KB6b no presenta esta mutación (Figura 22).

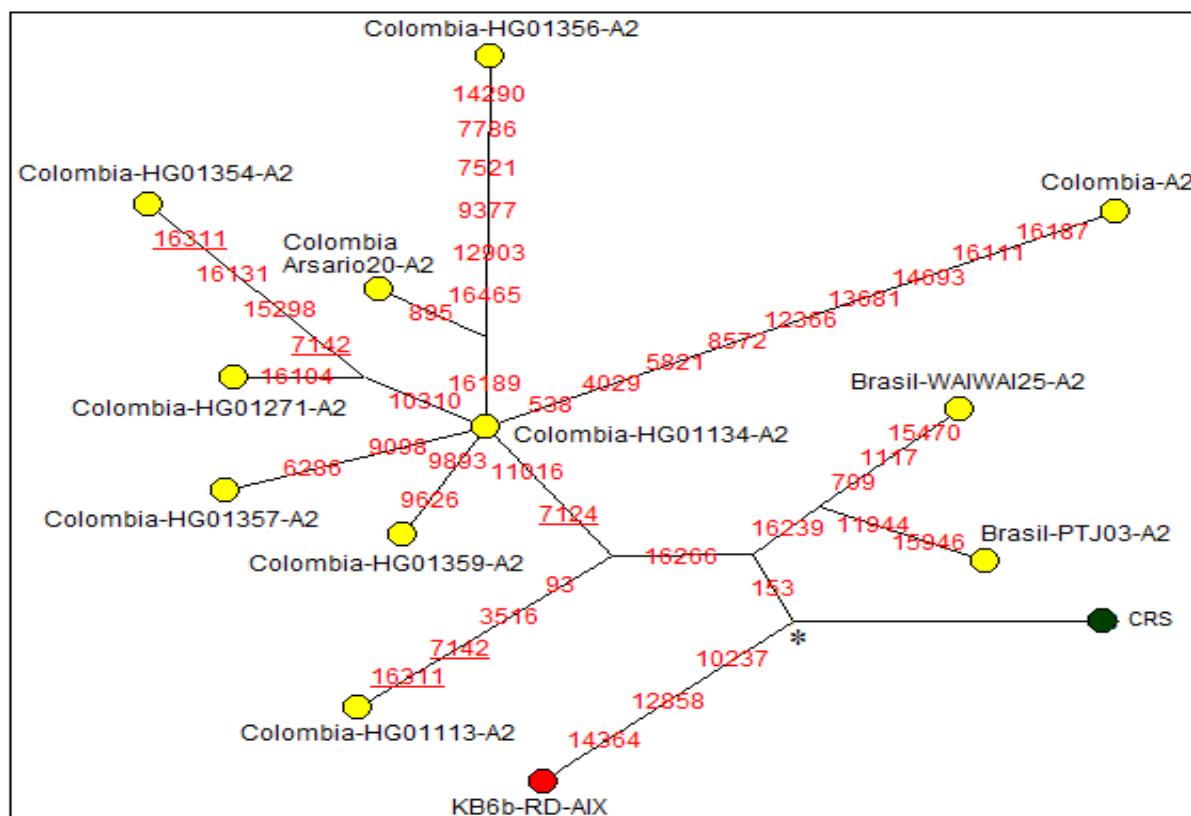


Figura 22. Red de uniones medianas de las muestras KB6b del haplogrupo A2. Esta muestra está representada en rojo. El CRS es la raíz de la red mediana (verde). (*) contiene las siguientes mutaciones: 64, 73, 146, 235, 263, 663, 750, 1438, 1736, 2706, 4248, 4769, 4824, 7028, 8027, 8794, 8860, 11719, 12007, 12705, 14766, 15326, 16111, 16223, 16266, 16290, 16319 y 16362. La línea debajo de una mutación significa que esa mutación se repite en la red.

Al cotejar los árboles filogenéticos (Figura 12 y 17) se observó una topología muy similar. Las muestras SA8b y L24 confirman en ambos árboles de MEGA6 y MrBayes® que su origen continental es centroamericano. En lo relacionado a las muestras J7, 241 y KB6b se confirmó su origen suramericano, y las muestras ZC4, PJ07 y MG1 mostraron un origen mesoamericano (Tabla 5).

No hubo contradicciones entre las conclusiones a las cuales llegamos con ambos algoritmos y estas conclusiones, cuando pudieron lograrse por ambos algoritmos, fueron consistentemente confirmatorias.

El árbol filogenético analizado en MEGA6 otorgó la información del origen de la muestra L29 siendo mesoamericano lo cual no se logró con MrBayes®. La muestra 241 se pudo determinar su origen suramericano con MEGA6 pero no fue posible con MrBayes®.

En lo relacionado a la muestra Alpha D2 siendo de origen mesoamericano o quizás suramericano, no se pudo confirmar con MrBayes® cuál era su origen correcto. Para la muestra Alpha A2 con MEGA6 no se pudo determinar su origen continental, pero con MrBayes® tampoco fue posible sugerir cuál es su origen, aunque en ambos árboles nos da indicio de que sea de origen norteamericano. En lo relacionado a las muestras G11, KE5a, QA4, AE y J12 se pudo determinar su origen mesoamericano con MrBayes®, lo cual no fue posible con MEGA6 (Tabla 5).

Tabla 5. Comparación del Haplogrupo A2 para los algoritmos de MEGA y MrBayes®

Muestra	MEGA	MrBayes®
SA8b	Centroamérica	Centroamérica
L24	Centroamérica	Centroamérica
J7	Suramérica	Suramérica
KB6b	Suramérica	Suramérica
ZC4	Mesoamérica	Mesoamérica
PJ07	Mesoamérica	Mesoamérica
MG1	Mesoamérica	Mesoamérica
241	Suramérica	Suramérica
L29	Mesoamérica	-
Alpha D2	Meso o Suramérica	-
Alpha A2	-	-
G11	-	Centroamérica
KE5a	-	Centroamérica
QA4	-	Centroamérica
AE	-	Mesoamérica
J12	-	Suramérica

6.5.2 Árboles Filogenéticos para el haplogrupo C1b

Se realizó un alineamiento con secuencias completas de ADNmt encontradas en la literatura (Apéndice 4) correspondiente a Brasil, Colombia, Venezuela, México y Puerto Rico (Proyecto 1000 Genomas). Luego se construyó un árbol filogenético con los programas de MEGA6 con algoritmo de verosimilitud máxima, y MrBayes®.

El árbol filogenético de verosimilitud máxima se realizó con 32 muestras, de las cuales 27 fueron tomadas de la literatura, incluyendo el CRS que fue el grupo externo, el cual es de origen europeo, y cuatro muestras puertorriqueñas del Proyecto 1000 Genomas (Figura 23).

El CRS fue la primera muestra en separarse de los subhaplogrupos indígenas y después se pudo destacar claramente la formación de dos clados (I y II). En el clado más grande (grupo I), se observó una separación temprana de una muestra de Brasil y tres muestras de México. Posteriormente se separó la muestra IAI de Puerto Rico del resto de los C1b de las Américas, lo que sugiere una divergencia temprana con el resto de las muestras analizadas en esta investigación. A su vez, esta muestra estaba unida a dos del mismo país obtenidas del Proyecto de 1000 Genomas con un "bootstrap" confiable. Pero no se pudo definir con claridad el origen continental de estas muestras. Después se encontraron las muestras JC07 de República Dominicana y MI2 de Puerto Rico, de las cuales no se puede decir con exactitud su origen ancestral.

En lo relacionado al clado de menor tamaño (grupo II), se presentaron varias particularidades interesantes, en donde se encuentran las muestras NA6a y RC3, la cuales están relacionadas con dos muestras del Proyecto 1000 Genomas, pero no se observaron diferencias

entre estas cuatro muestras. En la parte inferior de este clado, se observó la muestra de VE6 de Venezuela, dando lugar a decir que las muestras RC3 y NA6a son del mismo origen, es decir, son suramericanas.

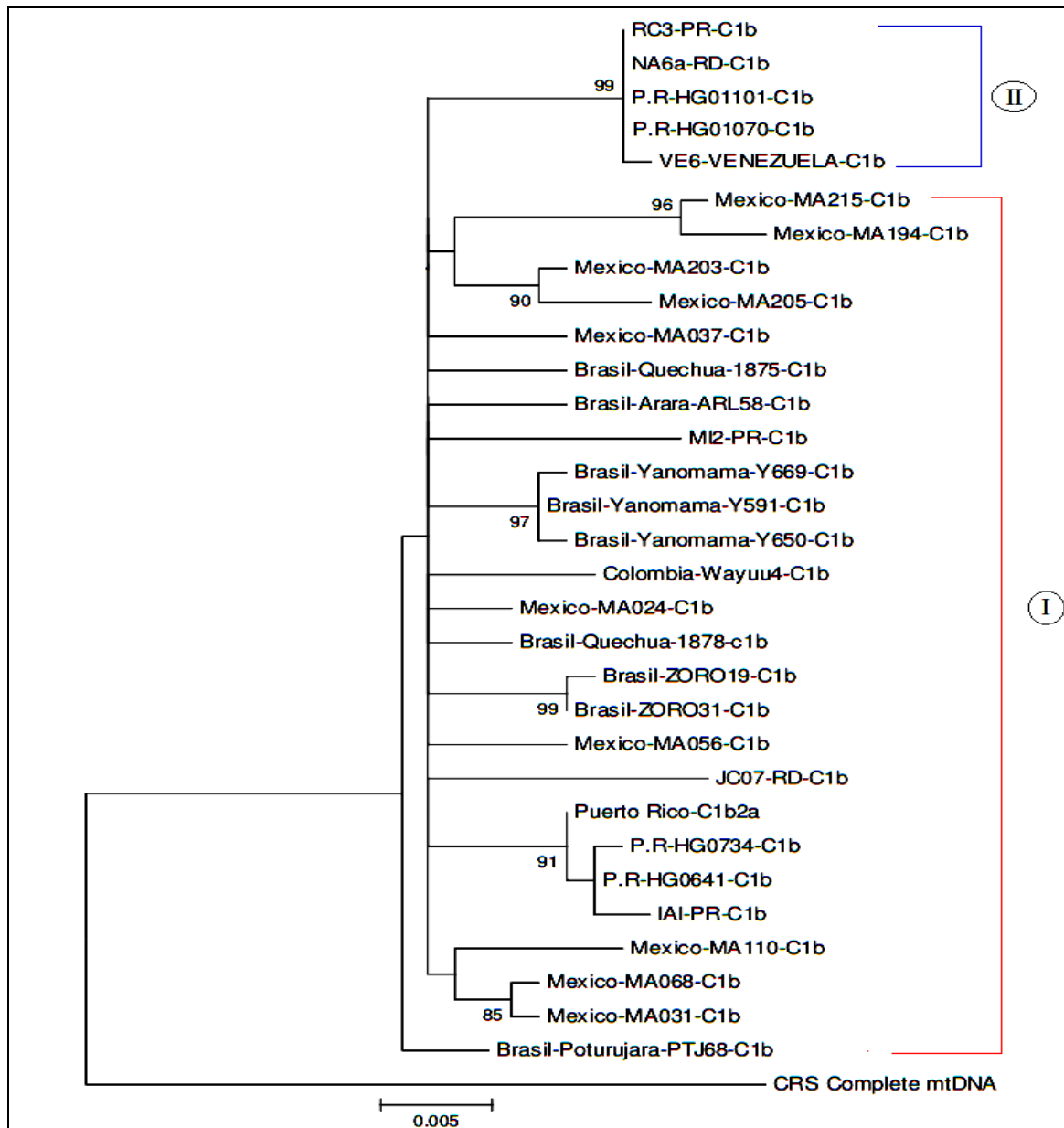


Figura 23. Árbol filogenético del haplogrupo C1b de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MEGA6 con máxima verosimilitud. Grupo externo es el CRS y los valores del bootstrap mostrados son los mayores al 70%. El valor de 0,005 representa las sustituciones por posición de base.

Al analizar el árbol realizado en MrBayes® (Figura 24) la muestra CRS fue la primera en separarse de las demás. Al profundizar con más detalle en el árbol filogenético, se pudo observar la formación de tres grupos monofiléticos bien definidos, en donde estaban incluidas las muestras estudiadas en esta investigación. En la parte inferior (grupo I) está la muestra MI2 de Puerto Rico unido a tres muestras de México, pero precedidas de una muestra de Brasil, por lo cual no se define con exactitud el origen continental de MI2, ya que puede ser mesoamericano o suramericano.

El siguiente clado (grupo II), en donde están tres de nuestras muestras, JC07, RC3 y NA6, las cuales están relacionadas con Brasil y Venezuela, dándoles un origen continental suramericano. En este caso no se pudo observar que las dos muestras del Proyecto 100 Genomas, RC3 y NA6a son iguales como se observó el árbol filogenético realizado en MEGA (Figura 23).

Subsiguientemente está el clado superior más pequeño (grupo III), en donde se encuentra la muestra IAI de Puerto Rico, la cual está unida a tres muestras del mismo país y a una muestra de Brasil, otorgándoles un origen continental suramericano.

Al comparar los dos árboles filogenéticos (Figura 23 y 24) se observa una topología muy parecida, en donde no se puede decir con exactitud el origen de la muestra MI2, pero sí se puede decir que las muestras NA6a y RC3 son de origen suramericano. Además, si bien el árbol de verosimilitud máxima no pudo sugerir un origen para JC07, la unión de esta muestra con muestras de Yanomama de Brasil en el árbol de MrBayes® sugiere un origen suramericano.

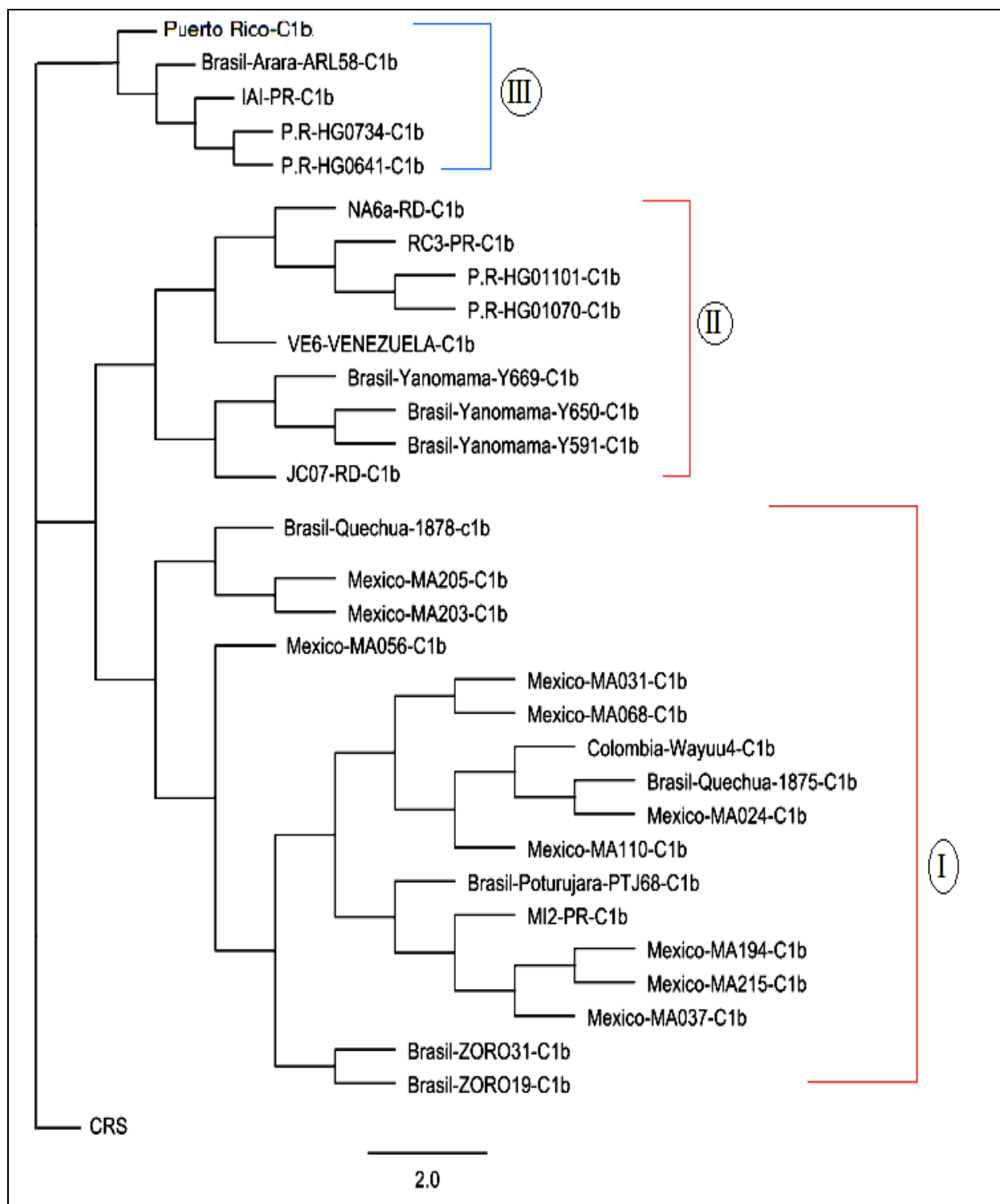


Figura 24. Árbol filogenético del haplogrupo C1b de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MrBayes®. Grupo externo es el CRS. El valor de 2,0 representa las sustituciones por posición de base.

Se procedió a realizar redes medianas para las muestras del haplogrupo C1b de esta investigación para observar las diferencias al compararlas con las muestras de la literatura. En lo relacionado a la muestra MI2 se observa que está relacionada con dos muestras de Brasil (Zoro19 y 31) y una muestra de México (MA037). Estas tres muestras se diferencian de las demás porque no poseen la mutación 195 (Figura 25).

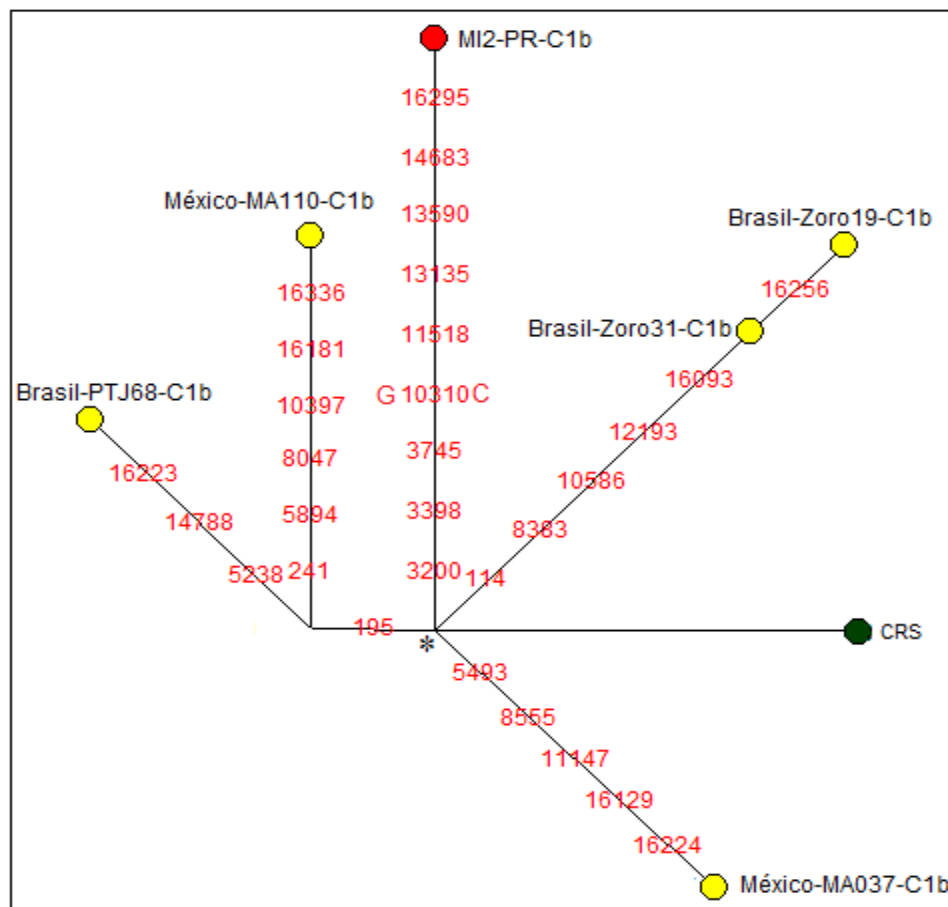


Figura 25. Red de uniones medianas de MI2 del subhaplogrupo C1b. Esta muestra está representada en rojo. El CRS (verde) es la raíz de la red mediana. (*) contiene las siguientes mutaciones: 73, d249, 263, d290-291, 489, 493, 750, 1438, 2706, 3552A, 4715, 4769, 7028, 7196A, 8584, 8701, 8860, 9540, 9545, 10398, 10400, 10873, 11719, 11914, 12705, 13263, 14318, 14766, 14783, 15043, 15301, 15326, 15487T, 16223, 16298, 16325 y 16327.

La siguiente red mediana analizadas fueron para NA6a, RC3 y JC07 en donde se observan que todas están relacionadas con la muestras de Suramérica, pero la muestra JC07 está

más relacionadas con las muestras de Brasil. Las muestras RC3 y Na6a son iguales que las muestras de Puerto Rico del Proyecto del 1000 Genomas, las cuales están relacionadas con una muestra de Venezuela que solo se diferencia por presentar la mutación 12130 (Figura 26).

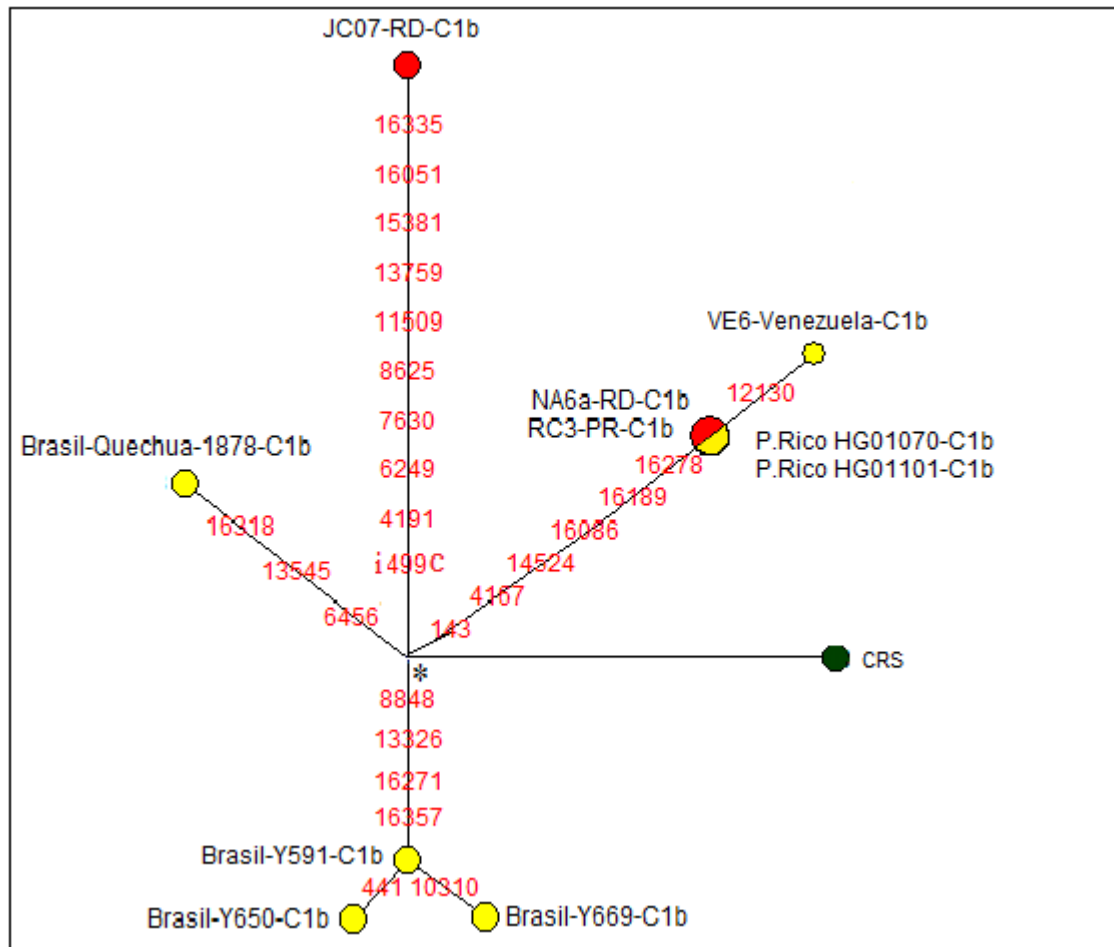


Figura 26. Red de uniones medianas de NA6a, RC3 y JC07 del subhaplogrupo C1b. Estas muestras están representadas en rojo. El CRS (verde) es la raíz de la red mediana. (*) contiene las siguientes mutaciones: 73, d249, 263, d290-291, 489, 493, 750, 1438, 2706, 3552A, 4715, 4769, 7028, 7196A, 8584, 8701, 8860, 9540, 9545, 10398, 10400, 10873, 11719, 11914, 12705, 13263, 14318, 14766, 14783, 15043, 15301, 15326, 15487T, 16223, 16298, 16325 y 16327. (i) es una inserción.

La otra red mediana analizada fue para la muestra IAI, dos muestras del Proyecto 1000 Genomas, una muestra de Puerto Rico encontrada en la literatura y una muestra de Brasil de la tribu Arara. Al observar la red mediana se presentó una relación entre todas las muestras. La

muestra IAI presenta la mutación 14194, la cual la hace diferente de las demás muestras de Puerto Rico (Figura 27).

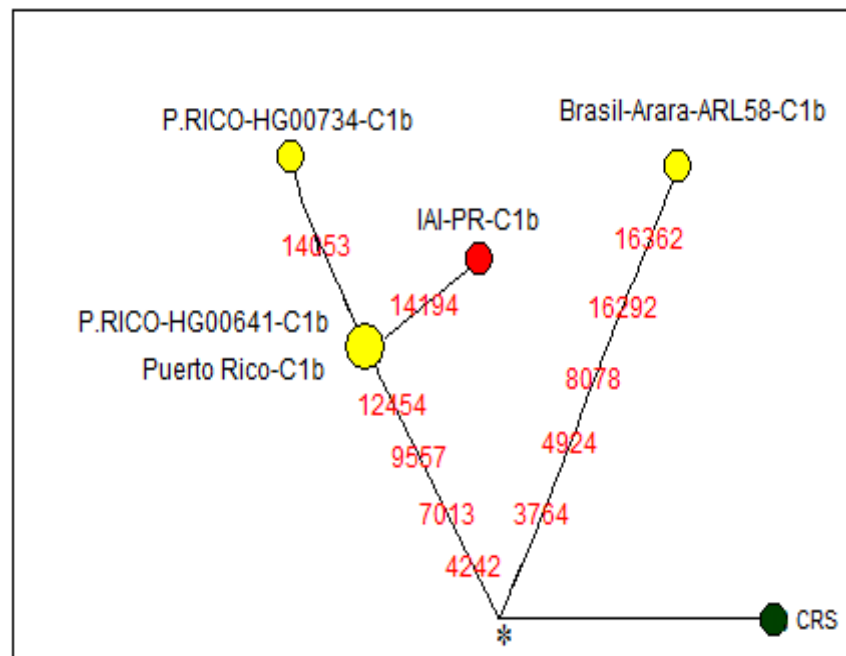


Figura 27. Red de uniones medianas de IAI del subhaplogrupo C1b. Esta muestra está representada en rojo. El CRS (verde) es la raíz de la red mediana. (*) contiene las siguientes mutaciones: 73, d249, 263, d290-291, 489, 493, 750, 1438, 2706, 3552A, 4715, 4769, 7028, 7196A, 8584, 8701, 8860, 9540, 9545, 10398, 10400, 10873, 11719, 11914, 12705, 13263, 14318, 14766, 14783, 15043, 15301, 15326, 15487T, 16223, 16298, 16325 y 16327.

6.5.3 Árboles Filogenéticos para el haplogrupo C1c

Se obtuvieron secuencias completas de la literatura pertenecientes al subhaplogrupo C1c de ADNmt (Apéndice 5) de los países de México, Brasil, Perú, Colombia, Puerto Rico (Proyecto 1000 Genomas) y República Dominicana. Después se realizó un árbol filogenético con los programas de MEGA6 con algoritmo de verosimilitud máxima y MrBayes®.

El total de muestras usadas para realizar el árbol de verosimilitud máxima en MEGA6 fueron 23, en donde se usó al CRS como grupo control, sabiendo que es de origen europeo

(Figura 28). Las 23 muestras incluyeron dos de República Dominicana y una de Puerto Rico que fueron objeto de nuestro estudio. Como era de esperar, la muestra del CRS fue la primera en separarse de los haplogrupos C1c indígenas.

Después se observó la separación de México MA183 y subsiguientemente la formación de varios grupos monofiléticos, en donde estaban nuestras muestras. Existe una muestra de la República Dominicana tomada de la literatura cuyo origen es ambiguo, ya que forma un clado junto a una muestra de México, pero muy cercanamente surgen dos linajes suramericanos, uno de Perú y otro de Colombia.

Posteriormente se pudo observar que las muestras GB1a, PJ14, ambas de República Dominicana, TEAixa de Puerto Rico y una muestra del Proyecto 1000 genomas, las cuales pertenecen al mismo clado, pero no se puede decir cuál es su origen continental, sin embargo, se sugiere que todos deben tener un mismo origen.

.

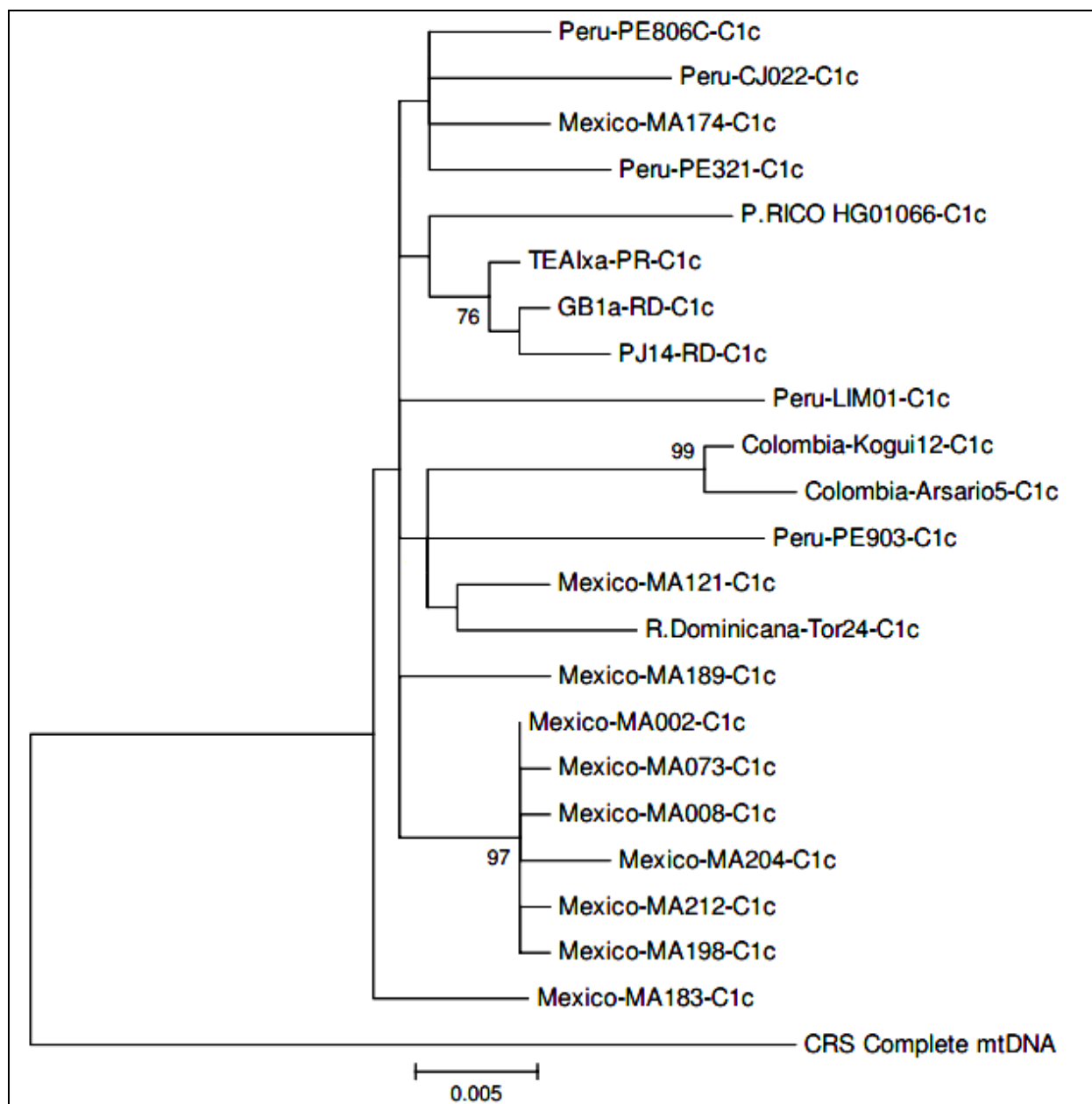


Figura 28. Árbol filogenético del haplogrupo C1c de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MEGA6 con máxima verosimilitud. El grupo externo es el CRS y los valores del bootstrap mostrados son los mayores al 70%. El valor de 0,005 representa las sustituciones por posición de base.

Cuando se analizó el árbol filogenético realizado en MrBayes® (Figura 29) se observó que la muestra CRS es la raíz de este árbol. Además se pudo observar la formación de tres grupos monofiléticos, siendo en el grupo de la parte inferior donde se encuentran una muestra de

Puerto Rico del Proyecto 1000 Genomas, una muestra de República Dominicana encontrada en la literatura y las muestras que fueron de interés en esta investigación, GB1a, TEAixa y PJ14. Al estar estas muestras relacionadas con dos muestras de Colombia, se pudo determinar que su origen ancestral es suramericano.

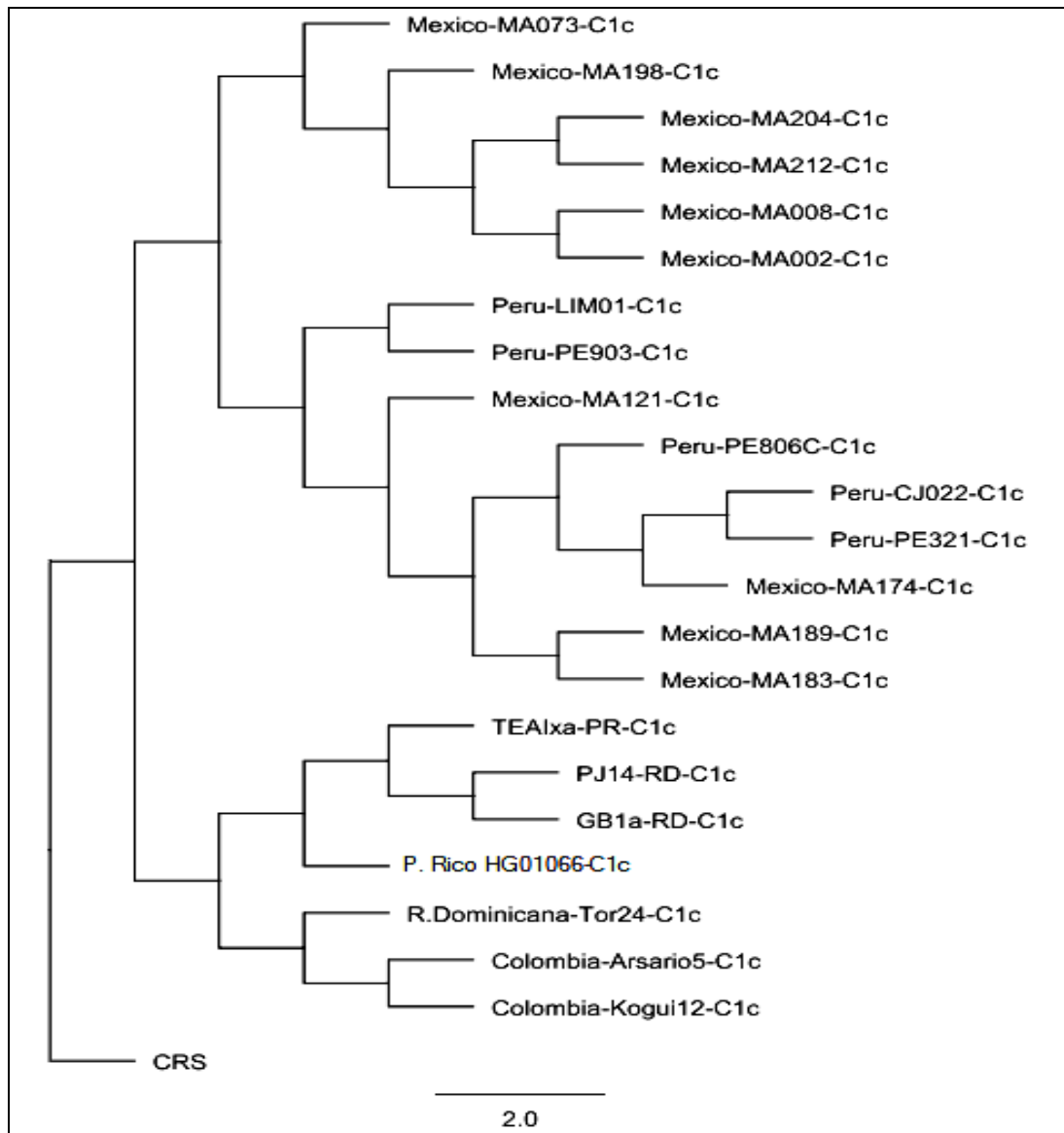


Figura 29. Árbol filogenético del haplogrupo C1c de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MrBayes®. El Grupo externo es el CRS. El valor de 0,002 representa las sustituciones por posición de base.

Se realizó una red mediana con PJ14, GB1a, TEAixa, cuatro muestras de México, tres muestras del Perú, una muestra del grupo indígena Kogui de Colombia, una muestra del Proyecto 1000 Genomas y una muestra de República Dominicana. Se observó que la mutación 8584 no la presenta la muestra de México MA183, pero las demás muestras si la presentan. Las muestras PJ14, GB1a y TEAixa se encuentran más relacionadas con la muestra de Colombia (Figura 30).

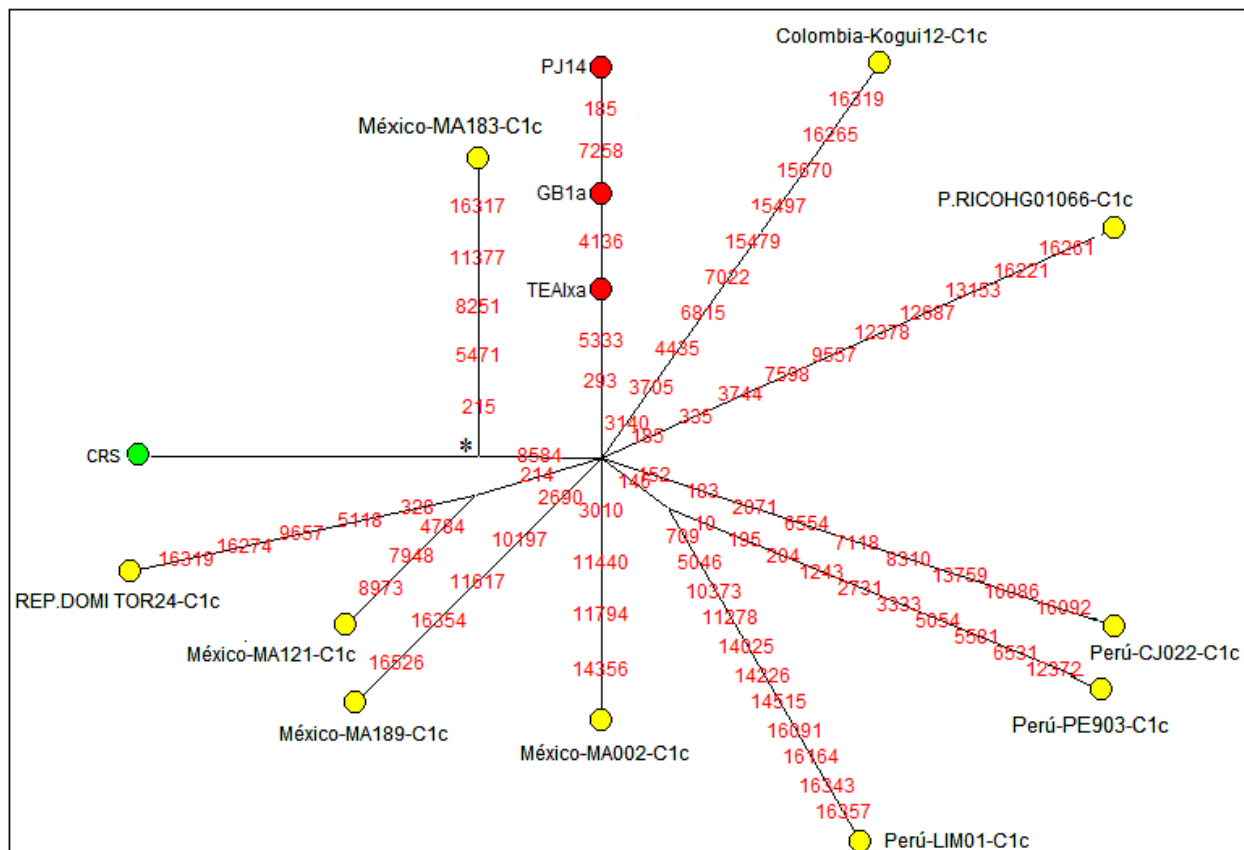


Figura 30. Red de uniones medianas de las muestras PJ14, GB1a y TEAixa del subhaplogrupo C1c. Estas muestras están representadas en rojo. El CRS (verde) es la raíz de la red mediana. (*) contiene las siguientes mutaciones: 73, d249, 263, d290-291, 489, 750, 1438, 1888, 2706, 3552A, 4715, 4769, 7028, 7196A, 8701, 8860, 9540, 9545, 10398, 10400, 10873, 11719, 11914, 12705, 13263, 14318, 14766, 14783, 15043, 15301, 15326, 15487T, 15930, 16223, 16298, 16325 y 16327.

Si comparamos los árboles filogenéticos (Figura 28 y 29) realizados con MEGA6 y MrBayes®, este último fue el más informativo, ya que se pudo determinar con certeza el origen

ancestral suramericano. El análisis realizado con MEGA6 no presentó ningún resultado del origen continental de nuestras muestras.

6.5.4 Árboles Filogenéticos para el haplogrupo C1d

Se usaron los programas de MEGA6 con algoritmo de verosimilitud máxima y MrBayes®. Se buscó secuencias completas de ADNmt de la literatura (Apéndice 6) de los países de Argentina, Uruguay, Chile, Brasil, Perú, Ecuador, Colombia, Venezuela, Panamá, Nicaragua, México y USA, para construir árboles filogenéticos.

Los árboles filogenéticos obtenidos para MEGA6 y MrBayes®, otorgan la misma información para la única muestra JC03 de República Dominicana del haplogrupo C1d (Figura 31). La muestra JC03 se encuentra en un grupo con dos subdivisiones ambos compuestos únicamente con muestras de Suramérica. Esto puede sugerir que la muestra JC03 es de origen suramericano.

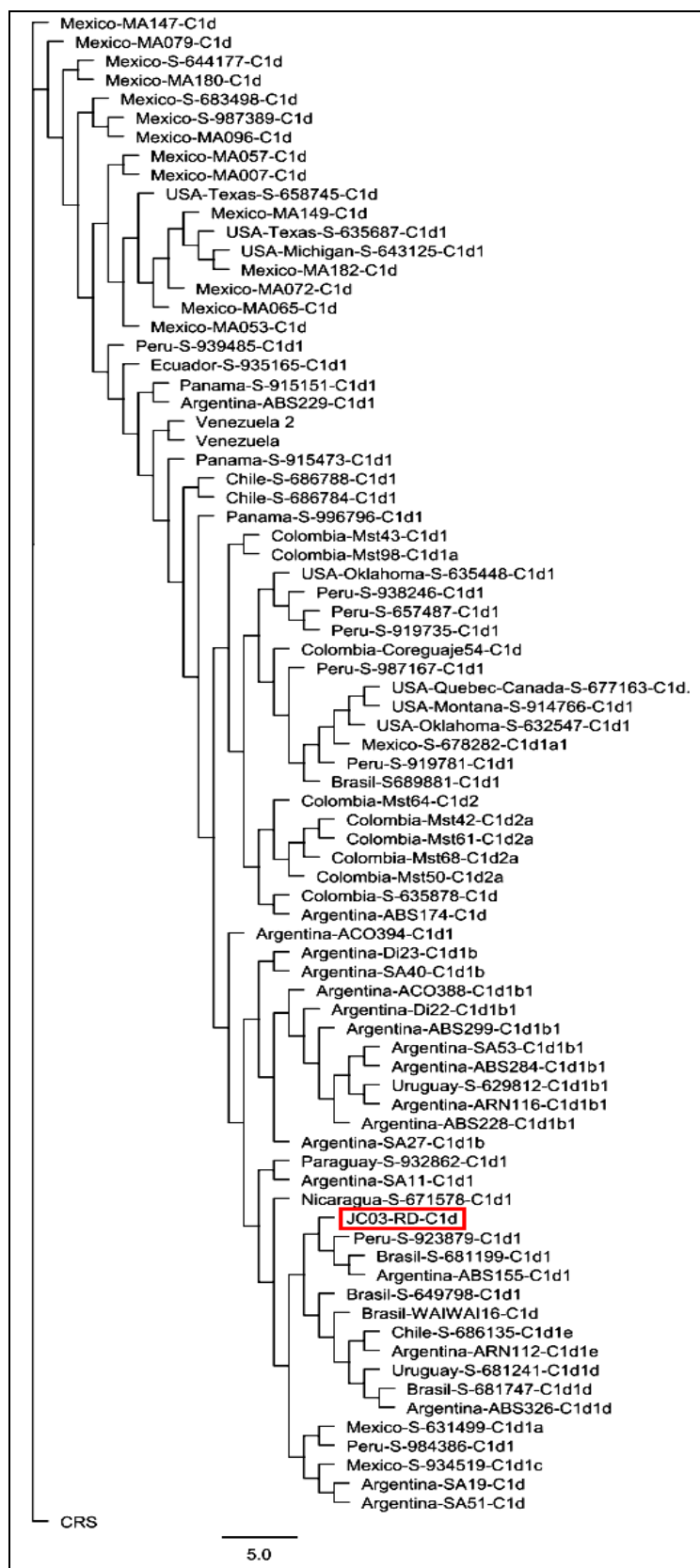


Figura 31. Árbol filogenético del haplogrupo C1d de secuencias completas (16,569pb) de ADNmt de Puerto Rico, República Dominicana y las Américas realizado con MrBayes®. El Grupo externo es el CRS. El valor de 5,0 representa las sustituciones por posición de base.

En resumen para las muestras del haplogrupo C1 se encontró que la mayoría de las muestras sugirieron un posible origen continental suramericano al comparar los dos algoritmos analizados (Tabla 6)

Tabla 6. Comparación del Haplogrupo C1 para los algoritmos de MEGA y MrBayes®

Muestra	MEGA	MrBayes®
RC3	Suramérica	Suramérica
NA6a	Suramérica	Suramérica
JC03	Suramérica	Suramérica
IAI	-	Suramérica
JC07	-	Suramérica
TEAixa	-	Suramérica
PJ14	-	Suramérica
GB1a	-	Suramérica
MI2	-	Suramérica o Mesoamérica

7. Discusión

7.1 Variabilidad comparada dentro de Puerto Rico y República Dominicana.

Sobre la base de la región control del ADNmt, se observó una mayor diversidad en la República Dominicana que en Puerto Rico para los haplogrupos A2 y C1. Específicamente, para el haplogrupo A2, con 51 secuencias de la región control de Puerto Rico y 78 de la República Dominicana, el parámetro de diversidad π fue de 0.00024 para Puerto Rico y para República Dominicana fue de 0.00028. En lo relacionado a 39 muestras de Puerto Rico y 32 de República Dominicana del haplogrupo C1 se encontró un valor de π de 0.00019 y 0.00032, respectivamente. Al hallar estos valores de π se puede concluir que República Dominicana presentó una mayor variabilidad en los linajes para los haplogrupos A2 y C1.

Esta diferencia en variabilidad puede deberse a la diferencia en tamaño de las islas. Entre otros factores, la tasa de migración y la deriva génica afectan la variabilidad dentro de una población. La mayor variabilidad hallada en la República Dominicana podría explicarse a base de una mayor migración hacia una isla más extensa, pero también podría adjudicarse a que el tamaño poblacional efectivo esperado para la República Dominicana sería mayor, produciendo una menor deriva génica a lo largo del tiempo y una menor eliminación de variantes neutrales en este país.

Los resultados con las redes medianas sugieren que las migraciones a las islas ocurrieron como parte de un mismo proceso. Esto es así porque se observó que las muestras del haplogrupo A2, G11 de República Dominicana y QA4 de Puerto Rico pertenecen a un mismo linaje que es compartido entre ambos países. Debido a que el linaje tiene una alta frecuencia en ambas islas, es probable que surgiera en ambas islas por medio de un mismo proceso migratorio, ocurrido a un mismo tiempo histórico y desde una misma región continental. Esto es apoyado por la

observación de que las islas también comparten un mismo linaje dentro del subhaplogrupo C1c con las muestras TEAixa, GB1a y PJ14. En este caso en particular, la muestra puertorriqueña TEAixa presentó un menor número de mutaciones que las otras dos muestras, ambas dominicanas. Esta observación podría explicarse de dos maneras. El linaje podría haber llegado primero a Puerto Rico y luego a La Española, ocurriendo las mutaciones de la República Dominicana durante ese último proceso. La explicación alterna es que las mutaciones que separan la muestra de Puerto Rico de las de la República Dominicana existían de antemano en el continente y se distribuyeron en ambas islas por medio de un mismo proceso migratorio. El bajo número de muestras que tenemos permite este escenario, en el cual las muestras de La Española obtienen el mayor número de mutaciones de forma fortuita.

7.2 Migraciones más recientes para Puerto Rico y República Dominicana

Al analizar la red mediana del haplogrupo C1 (Figura 11) se encontró que la muestra RC3 de Puerto Rico y NA6a de República Dominicana del subhaplogrupo C1b pertenecen al mismo linaje. Según los estudios realizados por Martínez Cruzado en el 2008, la muestra NA6a de República Dominicana era la única muestra perteneciente a este linaje en ese país. Sin embargo, el linaje tiene una diversidad sustancial en Puerto Rico. Por lo tanto se puede sugerir que hubo una posible migración muy reciente de Puerto Rico a República Dominicana. Este subhaplogrupo sugirió un posible origen suramericano, además las fechas estimadas de posibles migraciones son más recientes, dando lugar a decir que, contrario a los linajes compartidos entre ambas islas mencionados anteriormente, estos no fueron los primeros pobladores. Similarmente aunque no se trabajó con alguna muestra de República Dominicana perteneciente al linaje de la muestra IAI de Puerto Rico, esto demostraría lo mismo que ocurrió con RC3 y NA6a. Este linaje

es bien común en Puerto Rico y tiene diversidad, aunque poca, lo que sugiere una llegada relativamente reciente a Puerto Rico. La llegada debe haber sido desde Suramérica porque el linaje cuenta con la transición en la posición 7013, la cual ha sido descrita únicamente para tribus amazónicas (Torroni et al. 1993). Su baja frecuencia en República Dominicana sugiere que, al igual que el linaje de RC3 y NA6a, llega a República Dominicana desde Puerto Rico.

7.3 Diferenciación de Puerto Rico y República Dominicana en relación al continente

Los cálculos de F_{ST} miden la diferenciación entre poblaciones (Kent y Bruce 2009). Encontramos para el haplogrupo A2 una menor diferenciación con Mesoamérica y Centroamérica que con Sur América para Puerto Rico y República Dominicana. Con respecto al haplogrupo C1 los valores hallados nos indicaron que las muestras están más relacionadas con migraciones desde Sur América. Por lo tanto, se pudo deducir que aparentemente la mayor parte del haplogrupo A2 que está en las Antillas Mayores tienen origen meso y centroamericano, mientras la mayor parte del haplogrupo C1 tiene origen suramericano.

7.4 Posibles orígenes de los linajes en Puerto Rico y República Dominicana

Al obtener estos datos tan generales de F_{ST} se usaron muestras de la literatura para realizar árboles filogenéticos siendo una buena herramienta, ya que se pueden analizar muchas muestras a la vez, y esto nos otorgó un buen indicio del posible origen continental de nuestras muestras. Posteriormente se realizaron redes medianas sencillas con los grupos filogenéticos obtenidos de los árboles filogenéticos, lo cual nos ayudó a demostrar cuáles muestras estaban más relacionadas entre sí, ya que las redes nos proporcionaron un mayor detalle en cuanto a la relación existente entre las distintas mutaciones dentro del grupo filogenético.

Se realizaron los árboles filogenéticos con dos algoritmos diferentes, uno de verosimilitud máxima y el otro con MrBayes® para así poder corroborar si los resultados eran confiables. En 8 de 16 muestras del haplogrupo A2, ambos algoritmos otorgaron un mismo posible origen continental al agrupar nuestra muestra dentro de un mismo grupo filogenético con otras muestras halladas en la literatura proveniente de una misma región continental. En la mayor parte de los otros casos, un algoritmo sugirió cierto origen continental mientras que el otro no ofreció ningún posible indicio de dónde provenía la muestra, lo cual no resultó en una confianza de su posible origen continental. Nunca se obtuvieron resultados contradictorios. Además se tuvo en cuenta los valores del “bootstrap”, presentándose en el árbol solamente aquellos con un valor mínimo del 70%. En la mayoría de los casos los valores eran mucho más bajos, otorgándonos grupos filogenéticos que eran de poca confiabilidad.

Observando con más detalle los grupos filogenéticos formados se puede deducir que para el haplogrupo A2 el algoritmo de MrBayes® fue el más informativo, ya que no sugirió un posible origen continental para 3 de las 16 muestras, mientras que con el algoritmo de verosimilitud máxima no se pudo determinar el posible origen continental de seis muestras.

Se observó que ambos árboles coinciden en que hay 8 muestras del haplogrupo A2 (grupo I-IV) de divergencia más antigua que las otras 8 muestras (grupos V-VI) (Figuras 16 y 17). Posteriormente se realizaron redes medianas con estos grupos filogenéticos, en donde las 8 muestras de divergencia más antigua nunca demostraron afinidad con América del Sur, pero a veces sí demostraban alguna afinidad lejana con México o Centro América (Apéndice 7). En lo relacionado a las otras 8 muestras que eran de más reciente divergencia, la mayoría provenían de Suramérica (Apéndices 8 y 9). En general se pudo observar un patrón donde se tiene inicialmente migraciones de Meso o Centroamérica y posteriormente migraciones de Suramérica.

Al observar las Tabla 1 y 5 se puede observar que los linajes de mayor antigüedad en el haplogrupo A2 fueron de origen meso y centroamericano. El yacimiento arqueológico más antiguo de las Antillas Mayores se conoce como Levisa, que se encuentra en Cuba y ha sido fechado a una edad de aproximadamente 6200 años. Levisa es un yacimiento de tipo casimiroide, caracterizado por el uso del pedernal. Existen otros yacimientos casimiroides en el sur y el oeste de La Española, de edad casi tan antigua como Levisa (Veloz Maggiolo 1991). El uso extenso del pedernal ha sido documentado para América Central, especialmente en la región de Belice (Rouse 1992). En nuestra investigación se encontró que todos los linajes antiguos de las Antillas Mayores cuyo origen continental pudo ser sugerido, presentaron un origen meso y centroamericano. Por lo tanto, la evidencia genética que hemos encontrado coincide con la evidencia arqueológica y sugiere que entre los primeros pobladores de las Antillas había personas de origen centroamericano con una cultura basada en herramientas elaboradas a base del pedernal. Estas personas cargaban mayormente ADN mitocondrial perteneciente al haplogrupo A2. Después de las migraciones de los casimiroides se encontraron que las demás muestras presentaron posibles migraciones de Suramérica lo cual se relaciona con los arahuacos que llegaron más recientemente.

Para el haplogrupo C1 se presentó la misma situación que para el haplogrupo A2 en lo relacionado al programa de MrBayes® que fue el que otorgó mayor información del origen continental de las diferentes muestras. Con el algoritmo de verosimilitud máxima solo se pudo sugerir el origen de tres muestras de las nueve analizadas. Con MrBayes® se pudo encontrar que ocho de las nueve muestras mostraron un posible origen continental suramericano. Solo la muestra MI2 no sugirió ningún origen continental con ninguno de los dos algoritmos. Además se observó en las Tablas 1 y 6 que las muestras del linaje C1b son las que presentaron una fecha

más reciente durante su migración desde Suramérica, otorgándole una relación con los arahuacos que trajeron la lengua taína posteriormente. Otro dato que es interesante recalcar es que la mutación 7013 que presenta la muestra IAI solo ha sido encontrada en Suramérica (Torroni et al. 1993), aunque esta muestra salga de la raíz de la red y no nos permita visualizar que es de origen suramericano. Esto es importante ya que este linaje se encuentra comúnmente en Puerto Rico, lo cual se observó con las muestras del Proyecto de 1000 Genomas usados en la red (Apéndice 10). Martínez Cruzado (2010) encontró que el linaje estaba presente en aproximadamente el 20% de los taínos de Puerto Rico.

En conclusión, al escoger la estrategia de realizar las redes medianas para los haplogrupos A2 y C1 de Puerto Rico y República Dominicana, luego hallar la distancia genética, los valores de F_{ST} y por último los árboles filogenéticos, se obtuvieron varios resultados importantes como: se sugiere que la primeras migraciones del haplogrupo A2 podrían estar relacionadas con los casimiroides y para el haplogrupo C1 se sugiere que podrían estar relacionados con la llegada de los arahuacos a las islas.

8. Conclusiones

- Se observó que las muestras de Puerto Rico y República Dominicana presentaron orígenes meso, centro y suramericano, lo que sugiere que los taínos podrían haber sido un pueblo mestizo.
- Se sugiere que la primeras migraciones del haplogrupo A2 fueron desde meso y centroamérica hacia las Antillas y podrían estar relacionadas con los casimiroides.
- En lo concerniente al haplogrupo C1b se observó que las muestras de Puerto Rico y República Dominicana son de origen suramericano muy reciente, por lo que podrían estar relacionados con la llegada de los arahuacos a las islas, aunque es posible que las migraciones C1b hayan llegado posterior a los primeros arahuacos.
- El hecho de que ambas islas comparten dos linajes antiguos, uno para el haplogrupo A2 y otro para C1c sugiere que fueron pobladas inicialmente a través de un mismo proceso migratorio.
- Las pruebas de F_{st} demuestran una mayor relación, en conjunto, de las muestras del haplogrupo A2 con Centro y Mesoamérica que con Sur América.
- Los árboles filogenéticos coinciden en que hay ocho muestras del haplogrupo A2 que divergieron de las otras ocho con anterioridad. Las ocho muestras más antiguas nunca demuestran relación con Sur América, por lo que no hemos hallado evidencia de la llegada y supervivencia de los banwaroides a las Antillas Mayores.
- Existe una mayor deriva génica en Puerto Rico que en la República Dominicana.
- La mayor parte de los linajes en las redes medianas surgen directamente del haplotipo fundador, por lo que no es posible relacionarlas con ninguna región continental. Esto sugiere la necesidad de ampliar el muestreo en las distintas regiones continentales.

9. Recomendaciones

- Aunque se realizó un gran análisis para que las muestras fuesen representativas para cada linaje de los haplogrupos A2, se debería realizar la secuenciación completa de los seis linajes de República Dominicana y los tres linajes de Puerto Rico que fueron encontrados en los estudios realizados por Martínez Cruzado et al. 2008 y que no se tuvieron en cuenta en esta investigación.
- Se debería recolectar y analizar muestras modernas y antiguas pertenecientes a Florida para poder así determinar con mayor exactitud si nuestras muestras eran provenientes de México o Centroamérica o si eran provenientes de Florida.

10. Literatura Citada

- Achilli, A., Perego, U. A., Bravi, C. M., Coble, M. D., Kong, Q. P., Woodward, S. R., Salas, A., Torroni, A. y H. Bandelt J. 2008. Mitochondrial population genomics supports a single pre-clovis origin with a coastal route for the peopling of the Americas. *Am J Hum Genetic.* 82:583-92.
- Alves-Silva, J., Silva Santos, M., Guimarães, P. E, Ferreira, A. C, Bandelt, H. J., Pena, S. D y V. F. Prado. 2000. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. *Am. J. Hum. Genet.* 67(2):444-461.
- Anderson, S., Bankier, A. T., Barrell, B. G., de Bruijn, M. H. L., Coulson, A. R., Drouin, J., Eperon, I. C., Nierlich, D. P., Roe, B. A., Sanger, F., Schreier, P. H., Smith, A. J. H., Staden, R. y I. G. Young. 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290, 457-465.
- Andrews, RM., Kubacka, I., Chinnery, PF., Lightowlers, RN., Turnbull, DM., Howell, N. 1999. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nat Genet* 23:147.
- Ballinger, S. W, Schurr, T. G, Torroni, A., Gan, Y. Y, Hodge, J. A, Hassan, K., Chen, K. H. y D.C. Wallace. 1992. Southeast Asian mitochondrial DNA analysis reveals genetic continuity of ancient Mongoloid migrations. *Genetics* 130(1):139-152.
- Bandelt, H. J, Forster, P., Sykes, B. C. y M. B Richards. 1995. Mitochondrial portraits of human populations using median networks. *Genetics*, 141: 743-753.
- Bandelt, H. J., Macaulay, V. y M. Richards. 2006. Human Mitochondrial DNA and the Evolution of *Homo sapiens*. 271 p.
- Bandelt, H.J., Herrnstadt, C., Yao, Y.G., Kong, Q.P., Kivisild, T., Rengo, C., Scozzari, R., Richards, M., Villems, R., Macaulay, V., Howell, N., Torroni, A. y Y. P. Zhang. 2003. Identification of Native American founder mtDNAs through the analysis of complete mtDNA sequences: Some caveats. *Ann. Hum. Genet.* 67, 512–524.
- Battistuzzi, F. U., Filipski, A. J. y S. Kumar. 2001. Molecular Clock: Testing. *ELS.* 1-6.
- Bellwood, P. 2001. Early agriculturalist population diasporas. Farming, languages, and genes. *Annual Review of Anthropology.* 30: 181-207.
- Brown MD, Hossein SH, Torroni A, Bandelt HJ, Allen JC, Schurr TG, Scozzari R, Crucian F. and Wallace DC. mtDNA Haplogroup X: An Ancient Link between Europe/Western Asia and North America?. 1998. *Am. J. Hum. Genet.* 63(6):1852–1861.

- Bryc, K., Véléz, C., Karafet, T., Moreno-Estrada, A., Reynolds, A., Auton, A., Hammer, M., Bustamante, C. D. y H. Ostrer. 2010. Genome-wide patterns of population structure and admixture among Hispanic/Latino populations. *PNAS*. 107, 8954-8961.
- Cann, R.L., Stoneking, M. y A. C. Wilson. 1987. Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature*. 325:31-36.
- Chanlatte Baik, L. A. 1984. Nuevos descubrimientos arqueológicos en la Isla de Vieques. *Revista del Instituto de Cultura Puertorriqueña*. 23(86): 29-36.
- Chen, Y. S, Torroni, A., Excoffier, L., Santachiara-Benerecetti, A. S y D. C. Wallace. 1995. Analysis of mtDNA Variation in African Populations Reveals the Most Ancient of All Human Continent-Specific Haplogroups. *Am. J. Hum. Genet.* 57(1):133-149.
- De Francesco, L., Attardi, G. y C. M. Croce. 1980. Uniparental propagation of mitochondrial DNA in mouse-human cell hybrids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 77(7): 4079-4083.
- Denaro, M., Blanc, H., Johnson, M, J., Chen, K. H., Wilmsen, E., Cavalli-Sforza, L. L. y D. C. Wallace. 1981. Ethnic variation in HpaI endonuclease cleavage patterns of human mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci USA*. 78(9):5768-5772.
- Dillehay, T. D., Ramírez, C., Pino, M., Collins, M. B., Rossen, J. y J. D. Pino-Navarro. 2008. Monte Verde: Seaweed, food, medicine, and the peopling of South America. *Science*. 320: 784–786.
- Dixon, E. J. 2001. Human colonization of the Americas: Timing, technology and process. *Quaternary Science Reviews*. 20, 277–299.
- Fagan, B. M. 2004. *The great journey: the peopling of ancient America*. Gainesville: University Press of Florida.
- Fagundes, N. J., Kanitz, R., Eckert, R., Valls, AC., Bogo, M., Salzano, F., Glenn, S. D., Silva, W., Zago, M., Ribeiro-dos-Santos A., Santos S., Petzl-Erler, M. y S. Bonatto. 2008. Mitochondrial Population Genomics Supports a Single Pre-Clovis Origin with a Coastal Route for the Peopling of the Americas. *Am. J. Hum. Genet.* 82(3): 583-592.
- Feliciano, V. A. 2006. Genetic prints of Amerindian female migrations through the Caribbean revealed by control sequences from Dominican Haplogroup a Mitochondrial DNAs. Tesis M.S. Universidad de Puerto Rico, Mayagüez, P.R., 50 pp
- Fix, A. G. 2005. Rapid deployment of the five founding Amerind mtDNA haplogroups via coastal and riverine colonization. *AM J Phys Anthropol* 128(2), 430-436.
- Forster, P., Harding, R., Torroni, A. y Bandelt, H. J. 1996. Origin and evolution of Native American mtDNA variation: A reappraisal. *Am. J. Hum. Genet.* 59, 935–945.

- Forte, M. 2006. Indigenous resurgence in the Contemporary Caribbean: Amerindian Survival and Revival. Peter Lang Publishing Group. New York, New York Green LD.
- Fuselli, S., E. Tarazona-Santos, Dupanloup, I., Soto, A., Luiselli, D., D. Pettener. 2003. Mitochondrial DNA diversity in South America and the genetic history of Andean highlanders. *Mol. Biol. Evol.* 20(10): 1682-1691.
- García, O. 2010. Prehistory of Puerto Rico.
<http://www.enciclopediaipr.org/ing/article.cfm?ref=06102004>
- Giles, R., Blanc, H., Cann, HM. y D. C. Wallace. 1980. Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 77, 6715-6719.
- Gould, S. J. 1981. *The Mismeasure of Man.* W. W. Norton & Company, NY
- Graven, L., Passarino, G., Semino, O., Boursot, P., S~Ntachiara- Benerecetti, A. S. 1995. Evolutionary correlation between control region sequence and restriction polymorphisms in the mitochondrial genome of a large Senegalese Mandenka population. *Mol. Biol. Evol.* 12: 334-345.
- Greenberg, J. 1987. *Language in the Americas.* Stanford University Press, Stanford.
- Greenberg, J., Turner, C. G. II. y S. L. Zegura. 1986. The settlement of the Americas: a comparison of the linguistic, dental and genetic evidence. *Curr Anthropol* 4:477-497.
- Handley, L. J. L, Manica, A., Goudet, J. y F. Balloux. 2007. Going the distance: human population genetics in a clinal world. *Trends in Genetics.* 23: 432-439.
- Howell, N., McCullough, D.A., Kubacka, I., Halvorson, S. y D. Mackey. 1992. The sequence of human mtDNA: the question of errors versus polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 50: 1333-1337.
- Johnson, M. J., Wallace, D. C, Ferris, S. D, Rattazzi, M. C. y L. L Cavalli-Sforza. 1983. Radiation of human mitochondrial DNA types analyzed by restriction endonuclease cleavage patterns. *J Mol Evol.* 19:255-271.
- Kent, E. H. y S. W. Bruce. 2009. Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting F_{ST} . *Nature Reviews Genetics.* 10: 639-650.
- Lalueza-Fox, C., Gilbert, M. T. P., Martínez-Fuentes, A. J., Calafell, F. y J. Bertran-Petit. 2003. Mitochondrial DNA from precolumbian Ciboneys from Cuba and the prehistoric colonization of the Caribbean. *Am. J. Phys. Anthrop.* 121(2): 97-108.

- Lalueza-Fox, C., Perez-Perez, A., Prats, E., Cornudella, L. y D. Turbon. 1997. Lack of founding Amerindian mitochondrial DNA lineages in extinct Aborigines from Tierra del Fuego-Patagonia. *Hum Mol Genet* 6(1):41–46.
- Li, J. Z., Absher, D. M., Tang, H., Southwick, A. M., Castro, A. M., Ramachandran, S., Cann, H. M., Barsh, G. S., Feldman, M., Cavalli-Sforza, L. L. y R. M. Myers. 2008. Worldwide human relationship inferred from genome-wide patterns of variation. *Science* 319, 1100-1104.
- Librado, P., Rozas, J., 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25, 1451–1452.
- Lutz, S., Weisser, H. J., Heizmann, J. y S. Pollak. 1996. mtDNA as a tool for identification of human remains. Identification using mtDNA. Case Report. *International Journal of Legal Medicine*. 109(4):205-209.
- Martínez-Cruzado, J. C. 2008. Migraciones precolombinas al Caribe: El ADN mitocondrial de dos Antillas Mayores. Presentado en el X Congreso Latinoamericano de Antropología Biológica (ALAB), La Plata, Argentina.
- Martínez-Cruzado, J. C. 2010. The history of Amerindian mitochondrial DNA lineages in Puerto Rico, In: *Island shores, distant past: archaeological and biological approaches to the Pre-Columbian settlement of the Caribbean*, (Fitzpatrick SM, Ross A.H, eds), University Press of Florida, Gainesville, Florida, U.S.A.
- Martínez-Cruzado, J. C., Toro-Labrador, G., Viera-Viera, J., Rivera-Vega, M. Y., Startek, J., Latorre-Esteves, M., Román-Colón, A., Rivera-Torres, R., Navarro-Millán, I. Y., Gómez-Sánchez, E., Caro-González, H. Y. y P. Valencia-Rivera. 2005. Reconstructing the population history of Puerto Rico by means of mtDNA phylogeographics analysis. *Am J Phys Anthropology*. 128:131-55.
- Melton, P. E., Briceño, I., Gómez, A., Devor, E. J., Bernal, J. E. y M. H. Crawford. 2007. Biological relationship between Central and South American Chibchan speaking populations: evidence from mtDNA. *Am J Phys Anthropol*. 133(1):753-70.
- Mendizabal, I., Sandoval, K., Berniell-Lee, G., Calafell, F., Salas, A., Martínez-Fuentes, A. y D. Comas. 2008. Genetic origin, admixture, and asymmetry in maternal and paternal human lineages in Cuba. *BMC Evolutionary Biology*. 8:213.
- Merriwether, D.A., Rothhammer, F. y R. E. Ferrell. 1995. Distribution of the four-founding lineage haplotypes in Native Americans suggests a single wave of migration for the New World. *Am. J. Phys. Anthropol*. 98, 411–430.
- Ramachandran, S., Deshpande, O., Roseman, C. C., Rosenberg, N. A., Feldman, M. W. y L. L. Cavalli-Sforza. 2005. Support from the relationship of genetic and geographic distance in

- human population for a serial founder effect originating in Africa. *Proc Natl Acad Sci USA*. 102(44):15942-15947.
- Reidla, M., Kivisild, T., Metspalu, E., Kaldma, K., Tambets, K., Tolk, H. V., Parik, J., Loogvali, E. L., Derenko, M. y B. Malyarchuk. 2003. Origin and diffusion of mtDNA haplogroup X. *Am. J. Hum. Genet.* 73, 1178–1190.
- Rieder, M. J., Taylor, S.L., Tobe, V. O. y D. A. Nickerson. 1998. Automating the identification of DNA variations using quality-based fluorescence re-sequencing: analysis of the human mitochondrial genome. *Nucleic Acids Research*. 26, 967–973.
- Ronquist, F. y J. P. Huelsenbeck. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19:1572–1574.
- Rouse, I. 1992. *The Tainos: Rise and Decline of the People who Greeted Columbus*. Yale University Press, New Haven.
- Saillard, J., Forster, P., Lynnerup, N., Bandelt, H. J y S. Nørby. 2000. mtDNA Variation among Greenland Eskimos: The Edge of the Beringian Expansion. *Am J Hum Genet* 67:718-726.
- Schurr, T. G. 2004. The peopling of the New World: Perspectives from molecular anthropology. *Annu. Rev. Anthropol.* 33, 551–583.
- Schurr, T. G., Ballinger, S. W., Gan, Y. Y, Hodge, J. A., Merriwether, D. A., Lawrence, D. N. y W. C. Knowler. 1990. Amerindian mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies, suggesting they derived from four primary maternal lineages. *Am J Hum Genet.* 46:613-623.
- Scozzari, R., Torroni, A., Semino, O., Cruciani, F., Spedini, G. y A. S. Santachiara-Benerecetti . 1994. Genetic studies in Cameroon: mitochondrial DNA polymorphisms in Bamileke. *Hum Biol.* 66:1-12.
- Scozzari, R., Torroni, A., Semino, O., Sirugo, G., Brega, A., y A. S. Santachiara Benerecetti. 1988. Genetic studies on the Senegal population. I. Mitochondrial DNA polymorphisms. *Am J Hum Genet.* 43:534-544.
- Shields, G. F., Hecker, K., Voevoda, M. I. y J. K. Reed. 1992. Absence of the Asian-specific region V mitochondrial marker in native Beringians. *Am J Hum Genet* 50:758-765.
- Soares, P., Ermini, L., Thomson, N., Mormina, M., Rito, T., Röhl, A., Salas, A., Oppenhermer, S., Macaulay, V. y M. B. Richards. 2009. Correcting for Purifying Selection: An Improved Human Mitochondrial Molecular Clock. *Am J Hum Genetic.* 84, 740-759.

- Standler, T., Haubold, B., Merino, C., Stephan, W. y P. Pfaffelhuber. 2009. The impact of sampling schemes on the site frequency spectrum in non-equilibrium subdivided populations. *Genetics* 182, 205-216.
- Stone, A. C. y M. Stoneking. 1998. mtDNA analysis of a prehistoric Oneota population: implications for the peopling of the New World. *Am J Hum Genet* 62(2):1153–1170.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. S y Kumar 2013. MEGA6: Genética Evolutiva Molecular Analysis versión 6.0. *Biología Molecular y Evolución*: 30 2725-2729.
- Taylor, R. E., Payen, L. A., Prior, C. A., Slota, P. J., Gillespie, Jr. R, Gowlett, J. A. J., Hedges, R. E. M. A., Jull, J. T., Zabel, T. H., Donahue, D. J. y R. Berger. 1985. Major Revisions in the Pleistocene Age Assignments for North American Human Skeletons by C-14 Accelerator Mass Spectrometry: None Older Than 11,000 C-14 Years B.P. *American Antiquity*. 50: 136-140.
- Torroni, A., Schurr, T. G., Cabell, M. F., Brown, M. D., Neel, J. V., Larsen, M., Smith, D. G., Vullo, C. M. y D. C. Wallace. 1993a. Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNAs. *Am J Hum Genet*. 53: 563–590.
- Torroni, A., Schurr, T. G., Yang, C. C., Szathmary, E. J. E, Williams, R. C., Schanfield, M. S. y G. A. Troup. 1992. Native American mitochondrial DNA analysis indicates that the Amerind and the Na-Dene populations were founded by two independent migrations. *Genetics*. 130:153-162.
- Torroni, A., Sukernik, R. I., Schurr, T. G., Starikorskaya, Y. B., Cabell, M.F., Crawford, M. H., Comuzzie, A. G. y D. C Wallace. 1993b. mtDNA variation of aboriginal Siberians reveals distinct genetic affinities with Native Americans. *Am J Hum Genet* 53: 591–608.
- Van Oven, M., M. Kayser. 2009. Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. *Hum Mutat*. 30(2):E386-E394.
- Veloz Maggiolo, M. 1991. Panorama histórico del Caribe precolombino. Banco Central de la República Dominicana. 243-262
- Wallace, D.C. 1995. Mitochondrial DNA Variation in Human Evolution, Degenerative Disease, and Aging, *Am J of Hum Genet*. 57:201-223.
- Wang, S., Lewis, C. M., Jakobsson, M., Ramachandarn, S., Ray, N., Bedoya, G., Rojas, W., Parra, M. V., Molina, J. A., Gallo, C., Mazzotti, G., Poletti, G., Hill, K., Hurtado, A. M., Labuda, D., Klitz, W., Barrantes, R., Bortolini, M. C., Salzano, F. M., PetzlEsler, M. L., Tusuneto, L. T., Llop, E., Rothhammer, F., Excoffier, L., Feldeman, M. W., Rosenberg, N. A. y A. Ruiz-Linares. 2007. Genetic Variation and Population Structure in Native Americans. *PLoS Genet* 3(11), e185: 2049-2067.

- Waters, M.R., Forman, S. L., Jennings, T.A., Nordt. L. C., Driese, S. G., Feinberg, J, M., Keene, J.L., Halligan, J., Lindquist, A., Pierson J, Hallmark, C.T., Collins, M. V. y J. E. Wiederhold. 2011. The Buttermilk Creek complex and the origins of Clovis at the Debra L. Friedkin site, Texas. *Science*. 331: 1599–1603.
- Yang, N. N., Mazières, S., Bravi, C., Ray, N., Wang, S., Burley, M. W., Bedoya, G., Rojas, W., Parra, M. V., Molina, J., Gallo, C., Poletti, G., Hill, K., Hurtado, A. M., Petzl-Erler, M. L., Tsuneto, L. T., Klitz' W., Barrantes, R., Llop, E., Rothhammer, F., Labuda, D., Salzano, F. M., Bortolin, M. C., Excoffier, L., Dugoujon, J. M. y A. R. Linares. 2010. Contrasting Patterns of Nuclear and mtDNA Diversity in Native American Populations. *Annals of Human Genetics*. 74(6):525-38.

Apéndice 1. Secuencias completas del haplogrupo A2 de ZC4, AE, MG1, 241, ALPHA D2, QA4, ALPHA A2, KE5a, G11, SA8b, L29, J12, KB6a y J7.

Pos	Ref	Muestras															
		ZC4	AE	MG1	241	Alpha D2	QA4	Alpha A2	KE5a	G11	SA8b	L29	PJ07	L24	J12	KB6a	J7
64	C	.	.	T	T	T	.	.	.	.	.	.	T	T	T	T	T
73	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
96	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.
106-111	GGAGCA	.	.	.	.	.	.	.	.	.	*	.	.	.	.	.	.
146	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
152	T	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
153	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	.	.	.	G	G
179	T	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
214	A	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
235	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
244	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.
263	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
279	T	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.
385	A	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
522-524	CAC	C	C	C	.	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	.	C
663	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
750	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
1438	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
1694	T	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	C	.	.	.	.	.
1736	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
2706	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
2836	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
2868	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.
3202	T	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
3788	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.
3834	G	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.
4248	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
4550	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C

Pos: Posición, Ref: Referencia, * Delección

Continuación Apéndice 1.

Muestras																	
Pos	Ref	ZC4	AE	MG1	241	Alpha D2	QA4	Alpha A2	KE5a	G11	SA8b	L29	PJ07	L24	J12	KB6a	J7
4550	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C
4634	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.
4769	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
4824	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
5147	G	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
5821	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.
6253	T	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
6293	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.
6632	T	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
6794	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.
7028	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
7960	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.
7961	T	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
8027	G	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
8152	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	A	G	G	G	G	G	G
8289-90	-	.	CCCCCTCTA	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
8460	A	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
8471	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.
8794	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
8860	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
9176	T	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.
9947	G	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
10046	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C
10128	C	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
10237	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.
10310	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.
10398	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G
10728	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.
10750	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G

Pos: Posición, Ref: Referencia.

Continuación Apéndice 1.

Pos	Ref	Muestras															
		ZC4	AE	MG1	241	AlphaD2	QA4	AlphaA2	KE5a	G11	SA8b	L29	PJ07	L24	J12	KB6a	J7
10789	A	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
11482	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.
11653	A	.	.	.	.	.	G	.	G	G	.	.	.	.	.	.	.
11719	G	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
12007	G	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
12155	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
12705	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
12858	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.
13105	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.
13731	A	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	.	.	.	.	.
13926	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.
14364	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.
14551	A	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
14766	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
15229	T	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
15244	A	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.
15314	G	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
15326	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
15519	T	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
15617	G	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
15924	A	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
16083	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
16084	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.
16093	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.
16094	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.
16111	C	T	T	.	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
16129	A	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
16136	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.
16175	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.

Pos: Posición, Ref: Referencia.

Continuación Apéndice 1.

Pos	Ref	Muestras															
		ZC4	AE	MG1	241	AlphaD2	QA4	AlphaA2	KE5a	G11	SA8b	L29	PJ07	L24	J12	KB6a	J7
16181	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
16189	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C
16215	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.
16223	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
16256	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
16259	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.
16266	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.
16290	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
16300	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.
16311	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.
16312	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.
16319	G	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
16360	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.
16362	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
16391	G	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
16519	T	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Pos: Posición, Ref: Referencia

Apéndice 2. Secuencias completas de ADNmt del haplogrupo A2 obtenidas en la literatura

ID	GenBank	País
WAI01	EU095195	Brasil
WAI25	EU095196	
ZOR02	EU095197	
SURU01	EU095198	
WPI167	EU095199	
Y655	EU095200	
PTJ03	EU095201	
Y623	EU095202	
KKT13	EU095203	
KTN130	EU095204	
GRC149	EU095205	
Brasil-A2	JQ435789	
ACHE30	EU095194	Paraguay
Cuba-A2	HQ198250.1	Cuba
ECWA06	GQ398484	Ecuador
ECWA24	GQ398487	
Guatemala-A2	HM589049.1	Guatemala
HI15-A2	No publicado	Honduras
HI049-A2		
HI143-A2		
HI174-A2		
A2af24	JQ965988	Nicaragua
A2af21	JQ965985	Costa Rica
A2af23	JQ965987	
A2ad01	JQ965966	Panamá
A2ad02	JQ965967	
A2ad03	JQ965968	
A2ad05	JQ965969	
A2ad06	JQ965970	
A2af08	JQ965972	
A2af10	JQ965974	
A2af11	JQ965975	
A2af14	JQ965978	
A2af15	JQ965979	
A2af16	JQ965980	
A2af17	JQ965981	
A2af18	JQ965982	
A2af19	JQ965983	
A2af20	JQ965984	
A2af22	JQ965986	
HG01112	Proyecto 1000 Genomas	Colombia
HG01113		
HG01134		
HG01271		

Continuación Apéndice 2.

ID	GenBank	País
HG01342	Proyecto 1000 Genomas	Colombia
HG01354		
HG01356		
HG01357		
HG01359		
HG01440		
HG01492	EU095528	
Arsario20		
Kogui39		
Wayuu24		
Colombia-A2	JN100648.1	
HG00637	Proyecto 1000 Genomas	Puerto Rico
HG00638		
HG00731		
HG00736		
HG01047		
HG01082		
HG01083		
HG01104		
HG01105		
HG01171		
HG01174		
HG01183		
HG01187		
Apache514	EU095526	Norte América
Dogrib39	EU095538	Canadá
MA001	HQ012049	México
MA012	HQ012053	
MA028	HQ012059	
MA054	HQ012067	
MA067	HQ012071	
MA083	HQ012076	
MA118	HQ012091	
MA152	HQ012107	
MA190	HQ012122	
MA207	HQ012130	
México-A2k1	JN419250.1	
Cayapa511	EU095529	Venezuela
Cayapa522	EU095530	
Tor22	EF079873	R. Dominicana
CRS	NC_012920.1	Gran Bretaña

Apéndice 3. Secuencias completas del haplogrupo C1 de IAI, RC3, TEAixa, MI2, JC07, NA6a, JC03, GB1a y P14.

Posición	Referencia	Muestras								
		IAI	RC3	TEAixa	MI2	JC07	NA6a	JC03	GB1a	PJ14
73	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G
143	G	.	A	.	.	.	A	.	.	.
185	C	.	.	.	.	.	.	.	.	T
194	C	.	.	.	.	.	.	T	.	.
204	T	.	.	.	.	.	.	C	.	.
207	G	.	.	.	.	.	.	A	.	.
248-249	AA	A	A	A	A	A	A	A	A	A
263	A	.	G	G	G	G	G	G	G	G
289-291	AAA	A	A	A	A	A	A	A	A	A
293	T	.	.	C	.	.	.	.	C	C
456-460	CCCCT	.	.	.	.	.	.	CCCCCT	.	.
489	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C
493	A	G	G	.	G	G	G	.	.	.
494-499	CCCCCG	.	.	.	.	CCCCCCG	.	.	.	.
522	CAC	C	C	.	C	C	C	C	.	.
750	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G
1438	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G
1888	G	.	.	A	.	.	.	.	A	A
2706	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G
3200	T	.	.	.	C	.	.	.	.	.
3398	T	.	.	.	C	.	.	.	.	.
3552	T	A	A	A	A	A	A	A	A	A
3745	G	.	.	.	A	.	.	.	.	.

Continuación Apéndice 3.

Posición	Referencia	Muestras								
		IAI	RC3	TEAixa	MI2	JC07	NA6a	JC03	GB1a	PJ14
4136	A	.	.	.	.	.	.	.	G	G
4167	C	.	T	.	.	.	T	.	.	.
4191	A	.	.	.	.	G	.	.	.	.
4242	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.
4715	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G
4769	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G
5333	T	.	.	C	.	.	.	.	C	C
6249	G	.	.	.	.	A	.	.	.	.
7013	G	A	.	.	.	.	.	.	.	.
7028	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T
7196	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A
7258	T	.	.	.	.	.	.	.	.	C
7630	T	.	.	.	.	C	.	.	.	.
8584	G	A	A	A	A	A	A	A	A	A
8625	C	.	.	.	.	A	.	.	.	.
8701	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G
8860	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G
9540	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C
9545	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G
9557	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.
10310	G	.	.	.	C	.	.	.	.	.
10398	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G
10400	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T
10873	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C

Continuación Apéndice 3.

Posición	Referencia	Muestras								
		IAI	RC3	TEAixa	MI2	JC07	NA6a	JC03	GB1a	PJ14
11509	C	.	.	.	.	T	.	.	.	.
11518	G	.	.	.	A	.	.	.	.	.
11719	G	A	A	A	A	A	A	A	A	A
11914	G	A	A	A	A	A	A	A	A	A
12454	G	A	.	.	.	.	.	.	.	.
12705	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T
13135	G	.	.	.	A	.	.	.	.	.
13263	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G
13590	G	.	.	.	A	.	.	.	.	.
13759	G	.	.	.	.	A	.	.	.	.
14194	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.
14318	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C
14524	A	.	G	.	.	.	G	.	.	.
14683	A	.	.	.	G	.	.	.	.	.
14766	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T
14783	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C
15043	G	A	A	A	A	A	A	A	A	A
15301	G	A	A	A	A	A	A	A	A	A
15326	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G
15381	C	.	.	.	.	T	.	.	.	.
15487	A	T	T	T	T	T	T	T	T	T
15728	C	.	.	.	.	.	.	T	.	.
15930	G	.	.	A	.	.	.	.	A	A
16051	A	.	.	.	.	G	.	G	.	.
16086	T	.	C	.	.	.	C	C	.	.

Continuación Apéndice 3.

Posición	Referencia	Muestras								
		IAI	RC3	TEAixa	MI2	JC07	NA6a	JC03	GB1a	PJ14
16136	T	.	.	.	.	.	.	C	.	.
16183	A	.	C	.	.	.	C	.	.	.
16189	T	.	C	.	.	.	C	.	.	.
16223	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T
16242	C	.	.	.	.	.	.	T	.	.
16278	C	.	T	.	.	.	T	.	.	.
16295	C	.	.	.	T	.	.	.	.	.
16298	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C
16325	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C
16327	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T
16335	A	.	.	.	.	G	.	.	.	.
16391	G	.	.	.	.	.	.	A	.	.
16519	T	C	.	.	.	C	.	.	.	.

Apéndice 4. Secuencias completas de ADNmt del haplogrupo C1b obtenidas en la literatura

ID	GenBank	País
MA024	HQ012189	México
MA031	HQ012191	
MA037	HQ012194	
MA056	HQ012200	
MA068	HQ012204	
MA110	HQ012208	
MA194	HQ012214	
MA203	HQ012215	
MA205	HQ012216	
MA215	HQ012217	
ZOR19	HQ012218	Brasil
ZOR31	EU095224	
1875	EU095225	
1878	EU095226	
ARL58	EU095227	
PTJ68	EU095228	
Y591	EU095229	
Y650	EU095230	
Y669	EU095231	
P.Rico-C1b	GQ397486.1	
HG00641	Proyecto 1000 Genomas	
HG00734		
HG01070		
HG01101		
EU095549	Wayuu4	Colombia
VE6	No publicado	Venezuela
CRS	NC_012920.1	Gran Bretaña

Apéndice 5. Secuencias completas de ADNmt del haplogrupo C1c obtenidas en la literatura

ID	GenBank	País
MA037	HQ012194	México
MA002	HQ012218	
MA008	HQ012219	
MA073	HQ012221	
MA121	HQ012225	
MA174	HQ012227	
MA183	HQ012229	
MA189	HQ012230	
MA198	HQ012231	
MA204	HQ012232	
MA212	HQ012233	
Arsario5	EU095527	Colombia
Kogui12	EU095544	
CJ022	JX669157.1	Perú
LIM01	JX669207.1	
PE321	JX669311.1	
PE806C	JX669332.1	
PE903	JX669362.1	
HG01066	P100G	Puerto Rico
Tor24	EF079875	R. Dominicana
CRS	NC_012920.1	Gran Bretaña

Apéndice 6. Secuencias completas de ADNmt del haplogrupo C1d obtenidas en la literatura

ID	GenBank	País
S-987389	HM107306	México
S-644177	HM107307	
S-683498	HM107308	
S-678282	HM107321	
S-631499	HM107322	
S-934519	HM107334	
MA079	HQ012239	
MA096	HQ012240	
MA053	HQ012235	
MA065	HQ012237	
MA072	HQ012238	
MA007	HQ012234	
MA182	HQ012244	
MA147	HQ012241	
MA180	HQ012243	
MA057	HQ012236	
WAI16	EU095222	Brasil
S-689881	HM107338	
S-681747	HM107347	
S-649798	HM107349	
S-681199	HM107356	
SA19	HM107309	Argentina
SA51	HM107310	
ABS174	HM107316	
SA27	HM107323	
DI23	HM107324	

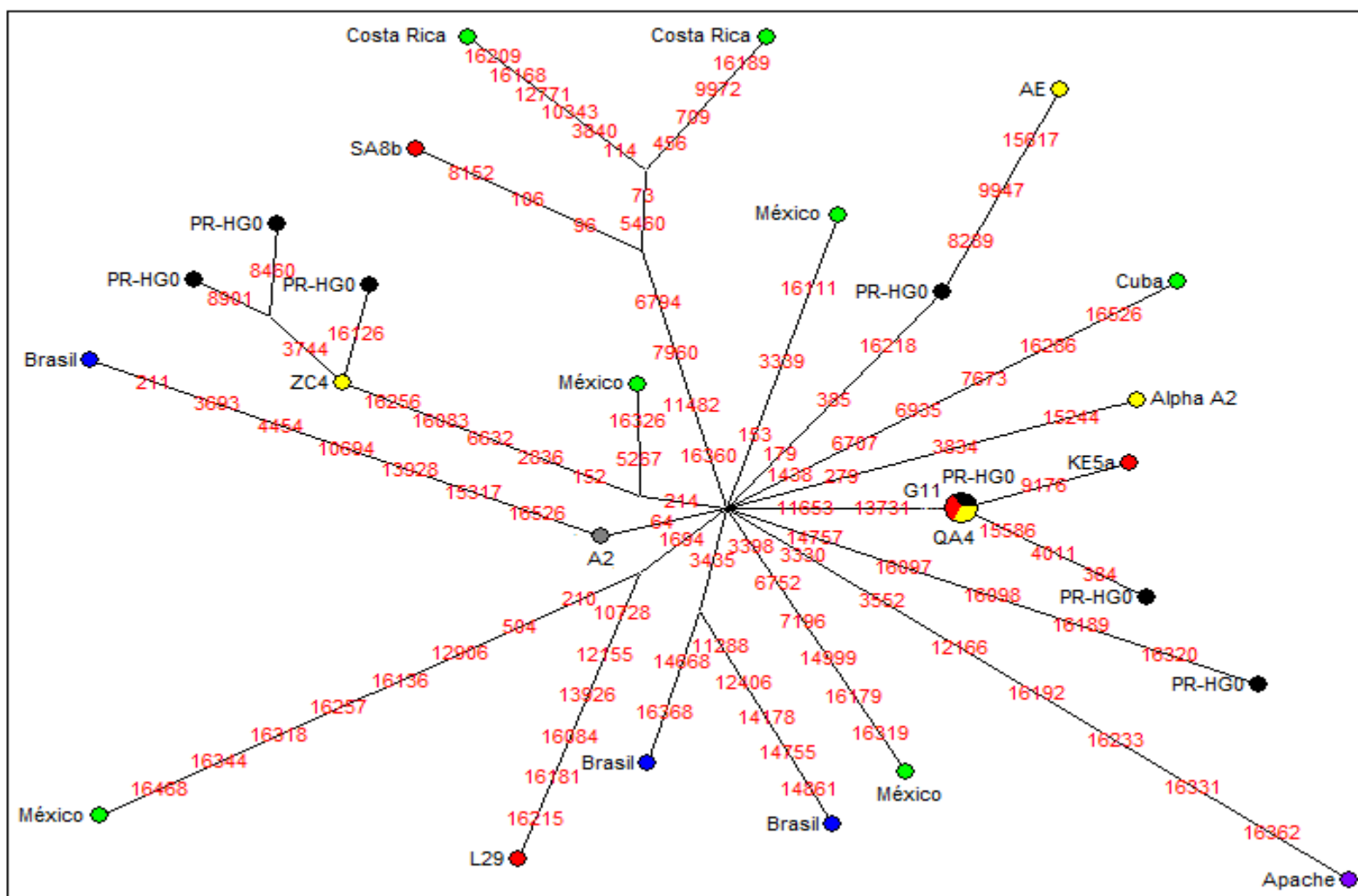
Continuación Apéndice 6.

ID	GenBank	País
SA40	HM107325	Argentina
DI22	HM107326	
ABS228	HM107327	
ARN116	HM107328	
ABS299	HM107329	
ACO388	HM107330	
ABS284	HM107332	
SA53	HM107333	
ABS229	HM107340	
ABS326	HM107346	
ARN112	HM107351	
ABS155	HM107355	
SA11	HM107358	
ACO394	HM107361	
Coreguaje-54	EU095537	Colombia
Mst42	HM107311	
Mst68	HM107312	
Mst61	HM107313	
Mst50	HM107314	
Mst64	HM107315	
S-635878	HM107317	
Mst98	HM107344	
Mst43	HM107345	
Warao(SPRACI)	AF347012	Venezuela
Warao(RML)	AF347013	
S-632547	HM107318	Oklahoma, USA

Continuación Apéndice 6.

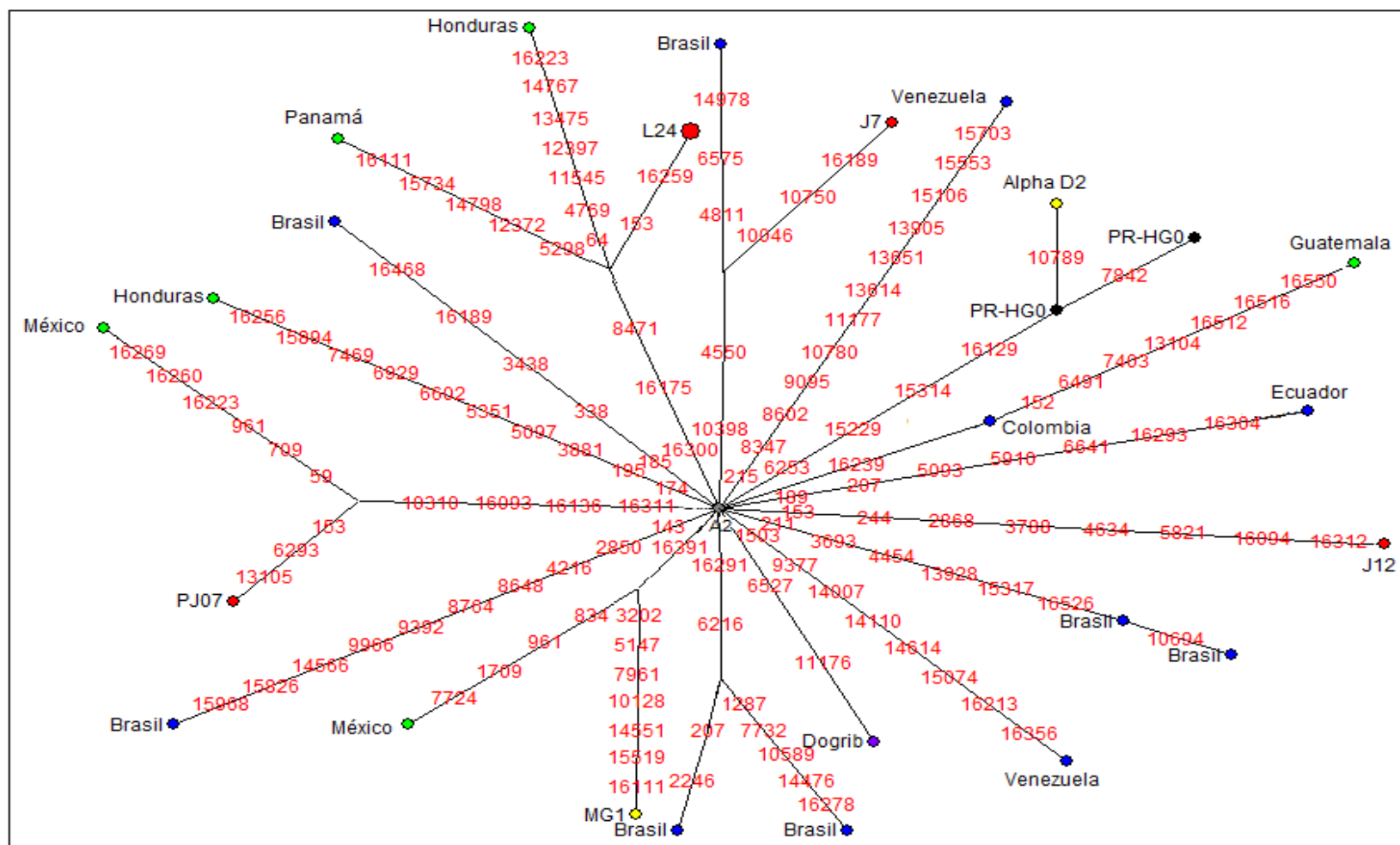
ID	GenBank	País
S-914766	HM107319	Montana, USA
S-677163	HM107320	Quebec, Canada
S-658745	HM107335	Texas, USA
S-635687	HM107336	
S-643125	HM107337	Michigan, USA
S-923879	HM107339	Perú
S-987167	HM107341	
S-919781	HM107342	
S-919735	HM107352	
S-984386	HM107353	
S-657487	HM107354	
S-938246	HM107359	
S-939485	HM107360	
S-629812	HM107331	Uruguay
S-681241	HM107348	
S-686135	HM107350	Chile
S-686784	HM107362	
S-686788	HM107363	
S-996796	HM107365	Panamá
S-915151	HM107366	
S-915473	HM107367	
S-935165	HM107343	Ecuador
S-932862	HM107357	Paraguay
S-671578	HM107368	Nicaragua
CRS	NC_012920.1	Gran Bretaña

Apéndice 7. Red mediana del haplogrupo A2 de Puerto Rico y República Dominicana de los grupos I-IV con muestras de la literatura



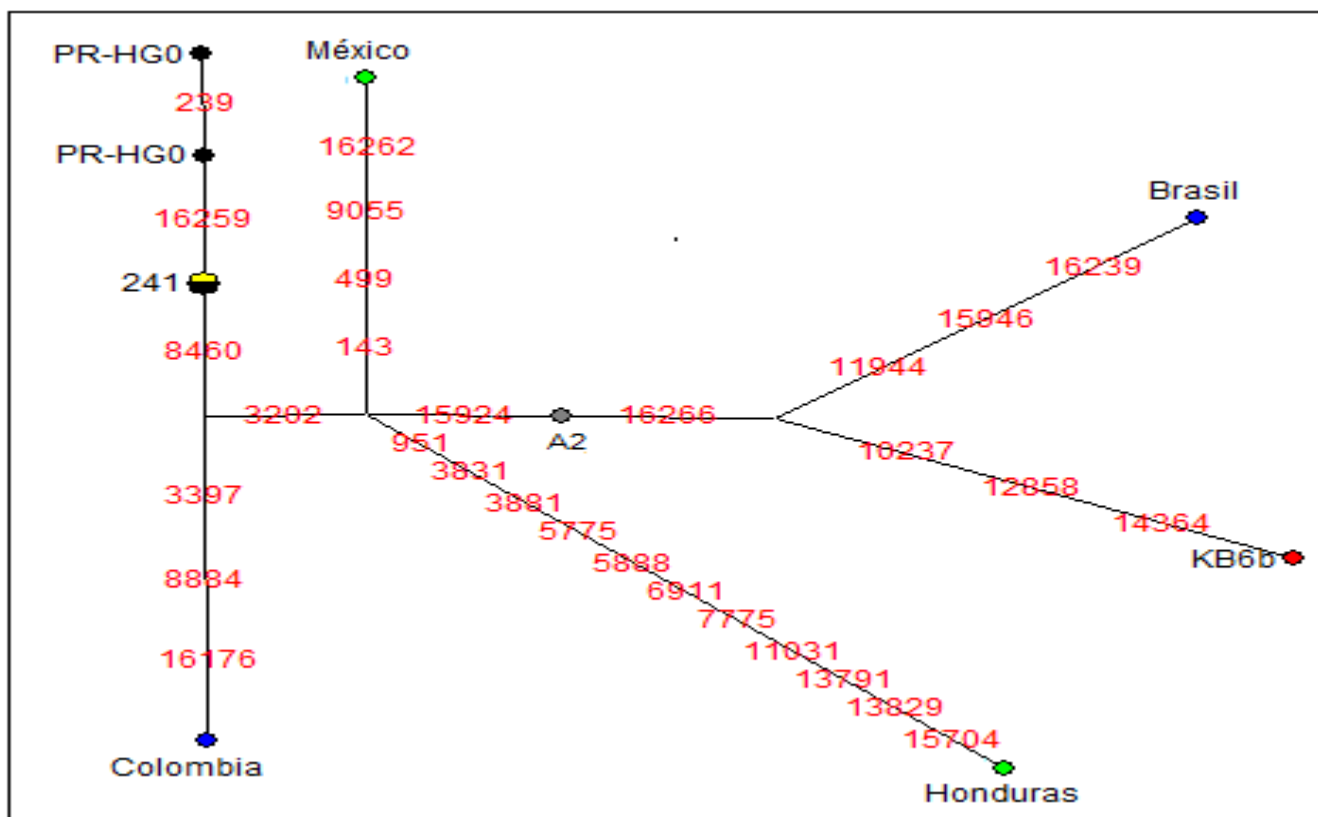
Rojo: República Dominicana. Amarillo: Puerto Rico. Negro: Proyecto 1000 Genomas. Verde: Meso y Centroamérica. Azul: Suramérica. Gris: Raíz de A2. Violeta: Apache de Norteamérica.

Apéndice 8. Red mediana del haplogrupo A2 de Puerto Rico y República Dominicana del grupo V con muestras de la literatura.



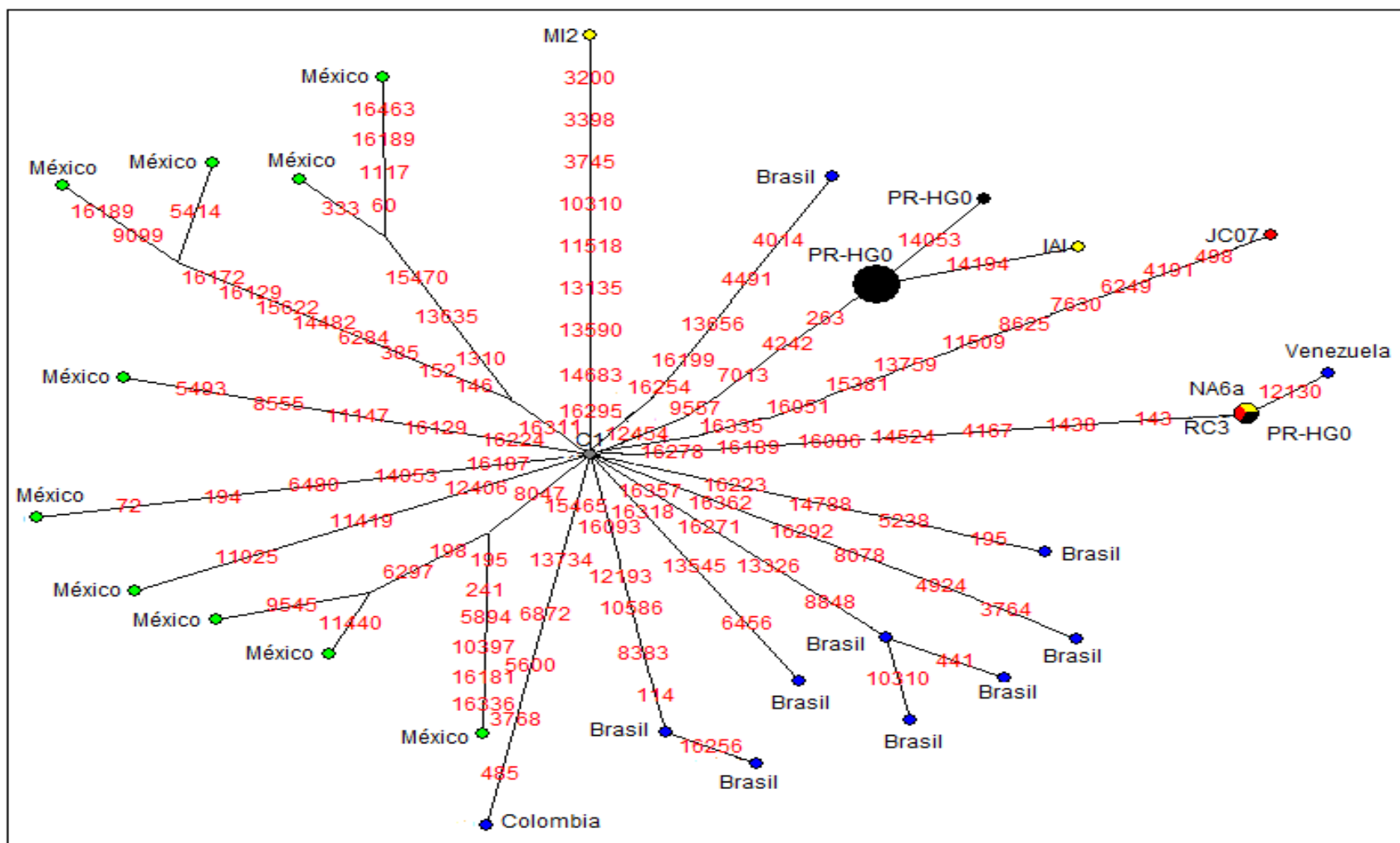
Rojo: República Dominicana. Amarillo: Puerto Rico. Negro: Proyecto 1000 Genomas. Verde: Meso y Centroamérica. Azul: Suramérica. Gris: Raíz de A2. Violeta: Dogrib de Canadá.

Apéndice 9. Red mediana del haplogrupo A2 de Puerto Rico y República Dominicana de los grupos VI con muestras de la literatura.



Rojo: República Dominicana. Amarillo: Puerto Rico. Negro: Proyecto 1000 Genomas. Verde: Meso y Centroamérica. Azul: Suramérica. Gris: Raíz de A2.

Apéndice 10. Red mediana del haplogrupo C1b de Puerto Rico y República Dominicana con muestras de la literatura.



Rojo: República Dominicana. Amarillo: Puerto Rico. Negro: Proyecto 1000 Genomas. Verde: Meso y Centroamérica. Azul: Suramérica. Gris: Raíz de C1.