



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

Biología experimental

**ESTUDIO POBLACIONAL DE 10 STRS DEL CROMOSOMA X (X-STRS) DE
INTERÉS FORENSE PARA VALIDAR SU USO EN LA REPÚBLICA MEXICANA**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

CHRISTIAN MARISCAL RAMOS

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. HÉCTOR RANGEL VILLALOBOS

CENTRO UNIVERSITARIO DE LA CIÉNEGA, UDG

COTUTOR DE TESIS: DR. FRANCISCO ROBERTO VERGARA SILVA

INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. SANDRA ROMERO HIDALGO

Departamento de Genómica Computacional, INMEGEN

Ciudad Universitaria, CD. MX, Agosto 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

Biología experimental

**ESTUDIO POBLACIONAL DE 10 STRS DEL CROMOSOMA X (X-STRS) DE
INTERÉS FORENSE PARA VALIDAR SU USO EN LA REPÚBLICA MEXICANA**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

CHRISTIAN MARISCAL RAMOS

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. HÉCTOR RANGEL VILLALOBOS

CENTRO UNIVERSITARIO DE LA CIÉNEGA, UDG

COTUTOR DE TESIS: DR. FRANCISCO ROBERTO VERGARA SILVA

INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. SANDRA ROMERO HIDALGO

Departamento de Genómica Computacional, INMEGEN

Ciudad Universitaria, CD. MX, Agosto 2023

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

OFICIO CPCB/376/2023

ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
P r e s e n t e

Me permito informar a usted que, en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 7 de octubre de 2020 se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTOR EN CIENCIAS** del estudiante **MARISCAL RAMOS CHRISTIAN** con número de cuenta **98275966** con la tesis titulada “**Estudio poblacional de 10 STRS del Cromosoma X (X-STRS) de interés forense para validar su uso en la República Mexicana**”, realizada bajo la dirección del **DR. HÉCTOR RANGEL VILLALOBOS**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DR. JAIME BERUMEN CAMPOS
Vocal: DRA. MAVIL LÓPEZ CASAMICHANA
Vocal: DR. CARLOS SALVADOR PEDRAZA LARA
Vocal: DRA. AMERICA NITXIN CASTAÑEDA SORTIBRAN
Secretaria: DRA. SANDRA ROMERO HIDALGO

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 05 de mayo de 2023

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



Agradecimientos

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM

Al CONACyT por la Beca con número de apoyo 384785

Al Banco Santander México por su apoyo con la beca ECOES-SANTANDER

Al Dr. Héctor Rangel Villalobos

Al Dr. Francisco Roberto Vergara Silva

A la Dra. Sandra Romero Hidalgo

Agradecimientos a título personal.

A todos los donadores de muestras que hicieron posible este proyecto

A mi amada esposa Diana y mi hijo Leonardo

A mis padres

A todos mis colegas del CUCI (Centro Universitario de la Ciénega, Universidad de Guadalajara)

A todos los amigos de Ocotlán, Jalisco

Dedicatoria.

Esta obra está dedicada a todas las víctimas directas e indirectas de desaparición y desaparición forzada en México, con las cuales el Estado Mexicano tiene una gran deuda.

Índice

RESUMEN	1
ABSTRAC	2
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. DIVERSIDAD EN EL GENOMA HUMANO, POLIMORFISMO Y MARCADORES GENÉTICOS	3
1.2. PERFILES GENÉTICOS, STRS Y BASES DE DATOS	5
1.3. STRS EN LOS CROMOSOMAS SEXUALES	8
1.4. PARÁMETROS ESTADÍSTICOS EN GENÉTICA FORENSE	10
1.4.1 Genética de poblaciones	11
1.4.2. Frecuencias alélicas	11
1.4.3. Equilibrio Hardy-Weinberg	11
1.4.4. Desequilibrio de ligamiento	12
1.4.5. Frecuencias haplotípicas	13
1.4.6. Estadísticos para evaluar la diversidad genética	13
1.4.7. Estadísticos para evaluar el poder de individualización/discriminación	14
1.4.8. Estadísticos usados en casos de relaciones de parentesco	14
1.5. LOS MICROSATÉLITES DEL CROMOSOMA X: SU UTILIDAD EN CASOS FORENSES. 15	
1.5.1. Relaciones de parentesco complejas.....	15
1.5.2. Mezclas forenses	18
1.6. SISTEMAS DE X-STRS UTILIZADOS EN GENÉTICA FORENSE	20
1.7. ESTUDIOS DE GENÉTICA DE POBLACIONES EN MÉXICO CON SISTEMAS DE IDENTIFICACIÓN HUMANA	21
1.7.1. STRs autosómicos	21
1.7.2. Estudios genómicos	22
1.7.2. Marcadores uniparentales	23
1.7.3. Estudios con X-STRs en poblaciones mestizas y nativo-americanas.....	24
1.8 ANÁLISIS DEMOGRÁFICOS A PARTIR DE DATOS GENÉTICOS	25
1.8.1. Índice Garza-Williamson	26
1.8.2. Comparación entre la heterocigocidad observada y esperada.....	26
1.8.2. Comparación de la diversidad genética entre marcadores autosómicos y del cromosoma X.	27
2 ANTECEDENTES	28

2.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	29
3.OBETIVOS	30
4. METODOLOGÍA	31
4.1. MUESTRAS ESTUDIADAS.....	31
4.2. CUANTIFICACIÓN Y AMPLIFICACIÓN.....	32
4.3. ANÁLISIS DE FRAGMENTOS Y GENOTIPADO	33
4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	35
5. RESULTADOS.....	39
5.1. EQUILIBRIO HARDY-WEINBERG Y DESEQUILIBRIO DE LIGAMIENTO.....	39
5.2. FRECUENCIAS ALÉLICAS Y HAPLOTÍPICAS	39
5.3. PARÁMETROS ESTADÍSTICOS DE INTERÉS FORENSE.....	48
5.4. ANÁLISIS DE LAS RELACIONES GENÉTICAS DE LAS POBLACIONES ESTUDIADAS .	51
5.5. MODELOS DE MESTIZAJE.....	52
5.6. X-STRS Y PROCESOS DEMOGRÁFICOS.....	55
6. DISCUSIÓN	56
6.1. CONSIDERACIONES FORENSES DEL SISTEMA DECAPLEX.....	56
6.2. LA IMPORTANCIA DE INTEGRAR LOS X-STRS EN EL QUEHACER FORENSE EN MÉXICO.....	57
6.3. CONSIDERACIONES SOBRE EL ESTADO DEL ARTE DE LA GENÉTICA FORENSE EN MÉXICO.....	57
6.4. CONSIDERACIONES DEMOGRÁFICAS DE LAS POBLACIONES MEXICANAS E IBEROAMERICANAS.....	58
6.5. REFLEXIONES SOBRE EL MESTIZAJE Y SU INCORPORACIÓN COMO TEMA DE ESTUDIO EN EL PRESENTE PROYECTO DOCTORAL	60
6.6. PATRONES DE MESTIZAJE OBSERVADOS EL CROMOSOMA X (X-STRS) Y SU RELACIÓN CON OTROS TIPOS DE HERENCIA.....	61
7. CONCLUSIONES	66
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
9. ANEXO 1 (ARTÍCULO DE REQUISITO)	76

Índice de figuras

Figura 1: Se ilustran los polimorfismos más comunes en el genoma humano.....	4
Figura 2: Ejemplo de dos tipos de variaciones estructurales:	4
Figura 3: Casos en los que los X-STRs son más informativos que los STRs autosómicos. ..	9
Figura 4: Modelo de herencia del cromosoma X.....	10
Figura 5: Casos en los que los X-STRs son más informativos que los STRs autosómicos .	16
Figura 6: Relaciones de parentesco imposibles de diferenciar con STRs.....	16
Figura 7: X-STRs en relaciones incestuosas.	17
Figura 8: Relaciones de parentesco incestuosas imposibles de diferenciar con STRs autosómicos.	19
Figura 9: Patrón de mestizaje con STRs autosómicos.	22
Figura 10: Modelos de mestizaje con marcadores de linaje.....	24
Figura 11: Cambio de número alélico y rango alélico ante un evento de reducción poblacional	26
Figura 12: Modelos predictivos de la razón entre la diversidad del cromosoma X y los cromosomas autosómicos en tres escenarios.....	27
Figura 13: Dendograma NJ a partir de las distancias F_{st}	52
Figura 14: El modelo de mestizaje no supervisado con mejor ajuste (3k).....	53
Figura 15: Análisis supervisado con las poblaciones mestizas de México	53
Figura 16: Análisis supervisado con las poblaciones latinoamericanas, incluyendo mestizos de diferentes regiones de México.	54
Figura 17: Porcentaje de crecimiento de los países a los que pertenecen las poblaciones estudiadas	59
Figura 18: Patrones de migración modernos en la República Mexicana	59

Índice de tablas

Tabla 1: Nombre de los X-STRs tetranucleótidos que componen el sistema Decaplex utilizado en este estudio.	21
Tabla 2: Trabajos de genética poblacional con X-STRs en México.....	25
Tabla 3. Poblaciones de estudio y muestras genotipadas y amplificadas	32
Tabla 4: Total de poblaciones utilizadas en el análisis interpoblacional	36
Tabla 5: Poblaciones analizadas en este proyecto que se incluyen en el análisis demográfico, y relación de trabajos de los que se obtuvieron valores de diversidad genética con STRs autosómicos	38
Tabla 6: Frecuencias alélicas de las poblaciones mestizas estudiadas	40
Tabla 7: Frecuencias haplotípicas entre los loci DXS6809 y DXS6789 estimadas de las poblaciones mestizas estudiadas.....	46
Tabla 8: Parámetros estadísticos de interés forense de las poblaciones mestizas mexicanas	49
Tabla 9: Parámetros estadísticos combinados de las poblaciones mestizas mexicanas.....	51
Tabla 10: Resultado de la prueba Wilcoxon para deficiencia de heterocigocidad, los índices Garza-Williamson y la razón entre la diversidad genética entre X-STRs	55

RESUMEN

Debido a su peculiar modo de herencia, los *Short tandem repeats* del cromosoma X (X-STRs) son marcadores genéticos que pueden resolver casos complejos de parentesco donde participa al menos una mujer (e.g. abuela paterna-nieta, medias hermanas paternas, etc.), lo cual puede ser crucial para identificar personas desaparecidas. Por su utilidad en genética forense, es pertinente hacer estudios poblacionales para obtener diversos parámetros forenses útiles para interpretar la evidencia en casos de identificación humana. Aunque las poblaciones mestizas en México se han estudiado con diversos tipos de marcadores, poco se ha hecho con X-STRs. El sistema decaplex basado en análisis simultáneo de 10 X-STRs fue desarrollado por el Grupo de Habla Hispano-Portuguesa de la *International Society of Forensic Genetics* (GHEP-ISFG). El decaplex demostró ser una herramienta útil para describir patrones de variación genética en diferentes países iberoamericanos. Por tal motivo, se estudiaron 633 muestras de mujeres mexicanas, incluyendo un combinado de poblaciones nativo-americanas (n= 104) y diversas poblaciones mestizas: Noroeste (n= 92), Noreste (n= 102), Oeste (n= 116), Centro (n= 101) y Sureste (n= 118). Se obtuvieron perfiles de 10 X-STRs de las muestras mediante PCR multiplex y electroforesis capilar en un equipo ABI Prism 3130. Se estimaron parámetros para evaluar uso en el contexto forense en México. En el análisis interpoblacional se compararon entre sí y con poblaciones iberoamericanas, incluyendo análisis de estructura, mestizaje e inferencia de procesos demográficos. Las frecuencias alélicas y parámetros forenses estimados muestran que el decaplex es una herramienta útil para ser incorporada en el análisis rutinario de los laboratorios forenses en el país. Los 10 X-STRs estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg y no mostraron desequilibrio de ligamiento entre ellos. Además, se estimaron las frecuencias haplotípicas entre los loci DXS6809 y DXS6789, dado el antecedente de cercanía física. Las poblaciones mestizas no presentaron diferencias significativas, y se diferencian del resto de las poblaciones iberoamericanas y del combinado de poblaciones nativo-americanas. El patrón de mestizaje basado en X-STRs muestra una prevalencia del origen nativo-americano, europeo y africano -en menor medida-, respectivamente. En congruencia con otros sistemas genéticos, se observó una clina genética donde el sureste presenta la mayor herencia nativo-americanas (69.2%) seguida de la europea (25.1%). Aunque en el oeste también predomina la herencia nativo-americanas (52.3%), esta es la más baja entre los mestizos mexicanos, y presenta el mayor componente europeo (39%). Dicho patrón de mestizaje en México, es diferente al observado en las poblaciones estudiadas en Latinoamérica, en las que se ha reportado una mayor herencia europea y africana. Se pudo inferir un patrón de crecimiento demográfico en las poblaciones mestizas de México, donde procesos particulares de flujo génico estarían involucrados.

ABSTRAC

Due to its peculiar mode of inheritance, the X-chromosome short tandem repeats (X-STRs) can solve complex kinship cases with at least one female involved (example grandmother-granddaughter, female siblings, etc.), which is very important in missing person casework. Population studies of X-STRs to get forensic parameters are important to interpretate evidence in those cases. Mexican populations have been studied with diverse markers, however, little has been done with X-STRs. A decaplex system based on 10 X-STRs was developed by the Spanish and Portuguese-speaking Working Group of the International Society for Forensic Genetics (GHEP-ISFG), and it has been used to describe genetic variation patterns of Iberoamerican countries. In this work, 633 samples of Mexican females were genotyped by multiplex PCR followed by capillary electrophoresis. The population sample included a Mexican Native American pool (n=104) and Mestizo populations from different geographic regions: Northwest (n=92), Northeast (n=102), West (n=116), Center (n=101), and Southeast (n=118). Structure, admixture, and demographic inferences were carried out between the studied Mexican populations, plus available Iberoamerican populations. Allelic frequencies and forensic parameters of the Decaplex systems were estimated in each Mexican population sample. All 10 X-STRs are in Hardy-Weinberg equilibrium and linkage equilibrium were demonstrated by exact tests. Also, haplotypic frequencies were estimated for the loci DX6809 and DX6789 given their physical proximity. Mexican Mestizos were similar among each other but show differences regarding Iberoamerican and Native American populations. The Native American ancestry was prevalent in all the country, followed by the European, and African lesser amount. In agreement with other genetic systems, an ancestral cline was observed throughout the Mexican territory, where the southeast region shows the highest Native American ancestry (69.2%) followed by the European (25.1%), whereas the West region shows the largest European ancestry (39%). Conversely, in other Latin American populations the European ancestry, or even the African one, are prevalent. Demographic expansion was detected in Mexican Mestizo populations involving peculiar genetic flow patterns.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. DIVERSIDAD EN EL GENOMA HUMANO, POLIMORFISMO Y MARCADORES GENÉTICOS

El genoma humano cuenta con alrededor de 3 mil millones de pares de bases. A partir de estudios genómicos, se ha visto que las diferencias entre dos personas van de 4 a 5 millones de loci ($\approx 0.15\%$), los cuales se denominan polimorfismos cuando una de las variantes genéticas (alelos) de un locus tiene una frecuencia mayor al menos del 1%. Cuando estos polimorfismos son utilizados para estudios de ligamiento, diferenciación entre cromosomas, personas y poblaciones se les llama marcadores (Rangel-Villalobos *et al.* 2019). Los polimorfismos pueden deberse a cambios en la secuencia o en el número de nucleótidos que componen una región del material genético (Feuk *et al.*, 2006; Auton *et al.*, 2015). Los polimorfismos de secuencia más abundantes son aquellos en los que sólo varía un nucleótido y son conocidos como SNPs por sus siglas en inglés (*single nucleotide polymorphisms*). Los polimorfismos de tamaño más abundantes son aquellos que involucran pequeños incrementos o decrementos en el número de bases que conforman la secuencia estudiada. A los incrementos se les conoce como inserciones, mientras que a los decrementos se les llama deleciones y, en conjunto, se les conoce como INDELS (inserciones-deleciones). Los SNPs y los INDELS pequeños constituyen el 99.9% de la variación genética humana (Auton *et al.*, 2015). Por otra parte, los microsatélites también conocidos como repeticiones cortas en tándem o STRs por sus siglas en inglés (*short tandem repeats*) son las regiones más polimórficas del genoma. Los STRs son secuencias de ADN nuclear que tienen unidades de repetición con longitudes de 2 a 7 pares de bases (e.g., GATA). El número de veces que se encuentra la repetición representa un alelo, que se nombra con ese número (e.g., alelo 6: GATA,GATA,GATA,GATA,GATA,GATA) (Butler, 2009; Rangel-Villalobos, 2010). En un individuo promedio, se estima encontrar cerca de 35 mil de estos polimorfismos. En la Figura 1 se ilustran los polimorfismos más frecuentes. Al resto de las diferencias genéticas de mayor tamaño (mayores a 50 pb), se les conoce como

variaciones estructurales. Dentro del genoma de un humano promedio, se estima que existen entre 2,100 a 2,500 variaciones estructurales. Dentro de éstas se consideran cerca de mil deleciones de mayor tamaño, 1,100 inserciones de elementos móviles (Alu, L1 y SVA) (Figura 2), 4 inserciones nucleares mitocondriales (NUMTs) y 160 variables de copias múltiples polimórficas (mCNVs) (Auton *et al*, 2015; Willemas *et al*, 2014; Butler, 2006).



Figura 1: Se ilustran los polimorfismos más comunes en el genoma humano.

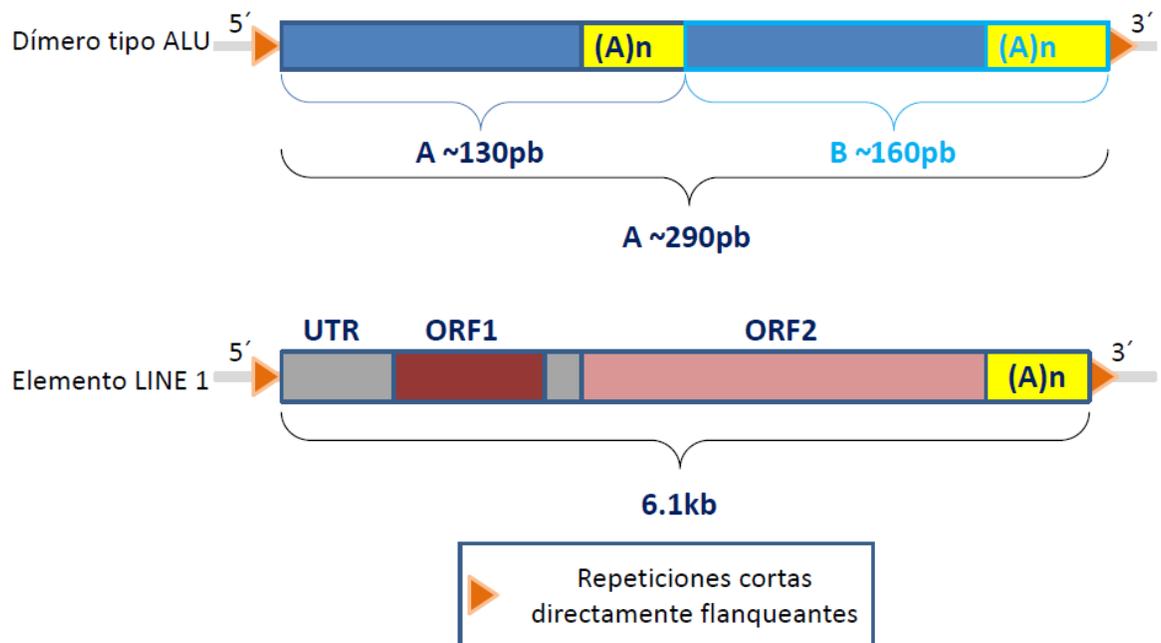


Figura 2: Ejemplo de dos tipos de variaciones estructurales: Las variaciones ALU son secuencias repetidas cortas con un gran número de copias dispersas a lo largo del genoma, el nombre de ALU proviene de que la mayoría de estos polimorfismos pueden ser atacados por la enzima AluI. Las variaciones LINE 1 son miembros de las secuencias repetidas largas dispersas; el número de copias de esta variación es cercana a medio millón, pero muchas de ellas son truncadas. (A)n: cola poli(A), UTR: Región no traducida, OFR: Región de lectura abierta.

1.2. PERFILES GENÉTICOS, STRS Y BASES DE DATOS

La primera vez que se obtuvieron perfiles genéticos con fines forenses fue en 1985 y se les denominó *DNA fingerprinting* o huella digital del ADN. Para ello, se analizaron por la técnica de southern-blot también descrita como RFLPs (siglas en inglés, *restriction fragment of length polymorphisms*) varios marcadores minisatélites o VNTRs (siglas en inglés, *variable number of tandem repeats*). Dichas huellas genéticas se usaron tanto en casos criminales como para poner a prueba relaciones de parentesco. Sin embargo, para obtener un *DNA fingerprinting* se necesita gran cantidad de material genético en buen estado, cosa poco común en las escenas criminales, además que requerían bastante tiempo de elaboración, y era limitada su reproducibilidad y su capacidad de interpretación estadística (Butler, 2010).

En 1980, se descubrió la reacción en cadena de la polimerasa o PCR por sus siglas en inglés (*polymerase chain reaction*), técnica que facilitó el análisis de los STRs para identificación humana. Otro avance importante fue la inclusión de varios primers para marcadores STRS en una sola reacción y que se describió como PCR multiplex (Jeffreys, 2005). El análisis de STRs se ha convertido en la principal herramienta para las pruebas de identificación humana por los últimos 22 años (Butler, 2006; Butler & Hill, 2012; Gettings *et al.*, 2015). La mayor parte de la información genética en bases de datos forenses corresponde a este tipo de marcadores. Además, se utilizan ampliamente en pruebas de paternidad, en casos de personas desaparecidas y de desastres en masa (Butler, 2006; 2006; Butler & Hill, 2012; Gettings *et al.*, 2015; Zietkiewicz *et al.*, 2012). Entre las razones de su elección destacan las siguientes:

- Necesitan poca cantidad de ADN molde.
- Funcionan con muestras de ADN degradado.
- Pueden analizarse en sistemas automatizados con detección fluorescente.
- Se analizan simultáneamente varios STRs de diferentes cromosomas.
- Son altamente discriminativos entre individuos no relacionados e incluso cercanamente relacionados.

- Presentan alelos discretos por lo que crean resultados fáciles de interpretar y comparar a través del uso de base de datos de ADN.
- Presentan un bajo nivel de stutters cuando las secuencias repetidas tienen cuatro o más nucleótidos.

La primera vez que se utilizaron los STRs con fines de identificación humana fue en 1990 para identificar los restos óseos de Josef Mengele, un médico del campo de concentración de Auschwitz. A partir de este evento, se hizo patente que los STRs son una excelente herramienta para la identificación humana (Jeffreys, 2005). En consecuencia, muchos laboratorios en el mundo se pusieron a buscar los microsatélites más adecuados para fines de identificación humana (Butler, 2006). El primer kit con fines forenses incluía los marcadores TH01, VWA, FES/FPS y F13A1 (Kimpton *et al.*, 1994). A esto le siguió un kit de segunda generación con los marcadores TH01, VWA, FGA, D8S1179, D18S51 y D21S11 (Kimpton *et al.*, 1996). Con los loci del kit anterior más el marcador de sexo Amelogenina, el Reino Unido lanzó su base de datos genéticos nacional (Werrett, 1997). Para 1998, Holanda, Austria y Alemania ya habían establecido sus propias bases de datos. Holanda y Austria utilizaron los mismos marcadores que el Reino Unido; en el caso de Alemania, se utilizaron los marcadores TH01, vWA, FGA, SE33 y D21S11 (Martin *et al.*, 2001). En 1999, se eligió el Set Estándar Europeo de STRs (ESS, por sus siglas en inglés) (Schneider, 2007). Los loci elegidos fueron FGA, TH01, vWA, D3S1358, D8S1179, D18S51 y D21S11. En 2005, la Red Europea de Institutos de Ciencias Forenses (ENFSI, por sus siglas en inglés) recomendó varios loci extra para su incorporación en el EES, finalmente, en 2009, la ENFSI eligió los marcadores D2S441, D10S1248, D22S1045, D1S1656 y D12S391 para incluirlos en EES (Gill *et al.*, 2006).

El éxito que obtuvo la base de datos del Reino Unido sirvió para que el FBI (del inglés *Federal Bureau of Investigation*) de Estados Unidos de Norteamérica lanzara un fuerte proyecto para establecer cuáles serían los STRs que se usarían en el CODIS (del inglés *Combined DNA Index System*), el sistema para manejar su base nacional de datos genéticos (Butler, 2006). Durante 18 meses, 22 laboratorios probaron 17 loci de kits comerciales y

preliminares de las empresas Promega Corp. y Applied Biosystems. Los estudios incluyeron pruebas de desempeño, protocolos de evaluación, obtención de bases de datos poblacionales y validación forense (Butler, 2006). Entre el 13 y 14 de noviembre de 1997, se anunciaron los 13 STRs que servirían como núcleo del CODIS y de la base nacional de datos de Estados Unidos (Budowle *et al.*, 1998). Los loci elegidos fueron CSF1PO, FGA, TH01, TPOX, vWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11; tanto Promega como Applied Biosystems sacaron al mercado kits para cubrir estos marcadores. En el caso de Promega, éste lanzó a la venta Power Plex 1.1 y Power Plex 2.1, mientras que Applied Biosystems compitió con los kits Profiler® Plus y COfiler (Holt *et al.*, 2002; Lins *et al.*, 1998; Levedakou *et al.*, 2002). El desarrollo de estas tecnologías hizo que estos marcadores estuvieran desde un principio en la evolución de la genética forense en México.

El conjunto de los marcadores del EES y del CODIS han sido aumentados. El set original del EES era de siete marcadores, sin embargo, la ampliación a doce marcadores fue para lograr un mayor poder de discriminación, incrementar la sensibilidad y robustecer la calidad de la prueba genética (Gill *et al.*, 2006). Por otro lado, la expansión de los marcadores del CODIS busca reducir la proporción de coincidencias accidentales, incrementar la compatibilidad con otras bases de datos del mundo e incrementar el poder de discriminación en casos de personas desaparecidas. En el caso de la base nacional de Estados Unidos, los loci obligatorios son D18S51, FGA, D21S11, D8S1179, vWA, D13S317, D16S539, D7S820, TH01, D3S1358, D5S818, CSF1PO, D2S1338, D19S433, D1S1656, D12S391, D2S441, D10S1248, el STR del cromosoma Y, DYS391 y la Amelogenina. Como loci opcionales, se proponen al TPOX, D22S1045 y SE33 (Hares *et al.*, 2015).

Estudios recientes muestran la necesidad de incluir kits forenses en México con los STRs extendidos del CODIS. Se ha mostrado la necesidad de usar kits con más de 20 marcadores en casos de paternidades dúo (García-Aceves *et al.*, 2018). Si en los estudios de paternidad en los que se tiene una población control reducida y por lo tanto son poco probables los falsos positivos —normalmente son pocos los posibles padres— se necesitan kits de última generación, se requieren aún más en casos de desastres masivos y personas

desaparecidas donde la persona desaparecida debe individualizarse entre decenas o cientos de restos humanos no identificados; ya que en este último escenario es más fácil obtener falsos positivos. Actualmente el tren de trabajo más utilizado para analizar STRs es la electroforesis capilar, ya que permite analizarlos definiendo con precisión su tamaño. Sin embargo, hay algunos STRs complejos que presentan alelos con diferentes secuencias que pueden ser analizados con otro tipo de plataforma como son la secuenciación masiva en paralelo (Gettings *et al*, 2015).

1.3. STRS EN LOS CROMOSOMAS SEXUALES

Los STRs autosómicos son la piedra angular para resolver la gran mayoría de casos de rutina en genética forense. Sin embargo, los microsatélites de los cromosomas sexuales brindan información complementaria que puede ser fundamental en casos de desastres masivos, personas desaparecidas y mezclas forenses (Diegoli *et al.*, 2015). Actualmente, existen más de 40 STRs caracterizados del cromosoma X y más de 400 microsatélites del cromosoma Y. Los STRs de cromosomas sexuales se utilizan ampliamente en el ámbito forense y presentan beneficios y desventajas que no presentan los STRs autosómicos (Butler, 2012). Los STRs caracterizados en el cromosoma Y pueden utilizarse en casos de mezclas asociados a delitos sexuales, como marcadores de linaje y para determinar el sexo genético junto con la Amelogenina (Diegoli *et al.*, 2015; Thangaraj *et al.*, 2002). Este tipo de marcadores permite examinar el perfil genético del perpetrador masculino aun cuando se encuentre mezclado con una gran cantidad de ADN femenino, en especial, en casos en que no sea posible llevar a cabo una extracción diferencial. El cromosoma Y se hereda de un padre a todos sus hijos varones, lo que permite trazar linajes familiares (Diegoli *et al.*, 2015). Los marcadores de linaje paterno son muy útiles en casos de personas desaparecidas (Ge *et al.*, 2011). Sin embargo, los microsatélites del cromosoma Y presentan desventajas. Los haplotipos obtenidos con Y-STRs no servían para distinguir entre hermanos u otros parientes paternos, sin embargo, la implementación de Y-STRs con alta tasa de mutación ha servido para afrontar esta desventaja (Diegoli *et al.*, 2015). Por otra parte, como carecen de recombinación, la regla del producto no se puede usar en este tipo de marcadores y el

poder de discriminación depende del tamaño de la muestra utilizada para obtener las frecuencias haplotípicas; En la Figura 3 se muestra el patrón de herencia del cromosoma Y (Diegoli *et al.*, 2015).

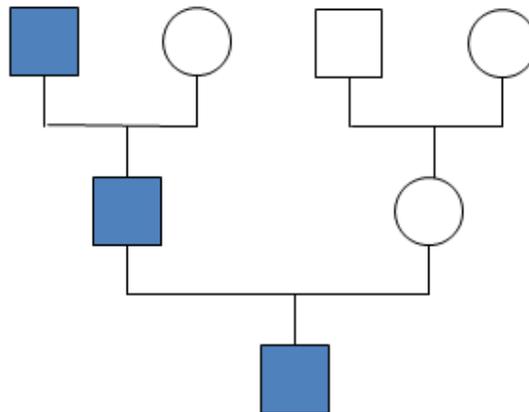


Figura 3: Modelo de herencia de los Y-STRs: exclusiva de padre a hijos varones (Butler, 2006) .

Los STRs del cromosoma X son de utilidad en ciertos casos complejos. En particular, han demostrado su valor para resolver casos de relaciones de parentesco, búsqueda de personas desaparecidas, búsquedas familiares e identificación en desastres masivos (Diegoli *et al.*, 2015; Szibor, 2007; Pinto *et al.*, 2011). Esto debido a que los X-STRs brindan información en relaciones de parentesco donde se tenga por lo menos una mujer involucrada (Diegoli *et al.*, 2015; Szibor, 2007; Pinto *et al.*, 2011; Tillmar *et al.*, 2011; Cainé *et al.*, 2011). Los X-STRs son altamente informativos en casos relacionados con delitos sexuales, principalmente en mezclas forenses en los que domina la fracción masculina (Diegoli *et al.*, 2015; Szibor, 2007; Lancia *et al.*, 2011). Además, son de particular importancia en los casos de relaciones incestuosas donde, a diferencia de los marcadores autosómicos, pueden ofrecer resultados cualitativos y descartar de manera definitiva el incesto, en la Figura 4 se ilustra el patrón de herencia del cromosoma X (Bobillo *et al.*, 2008).

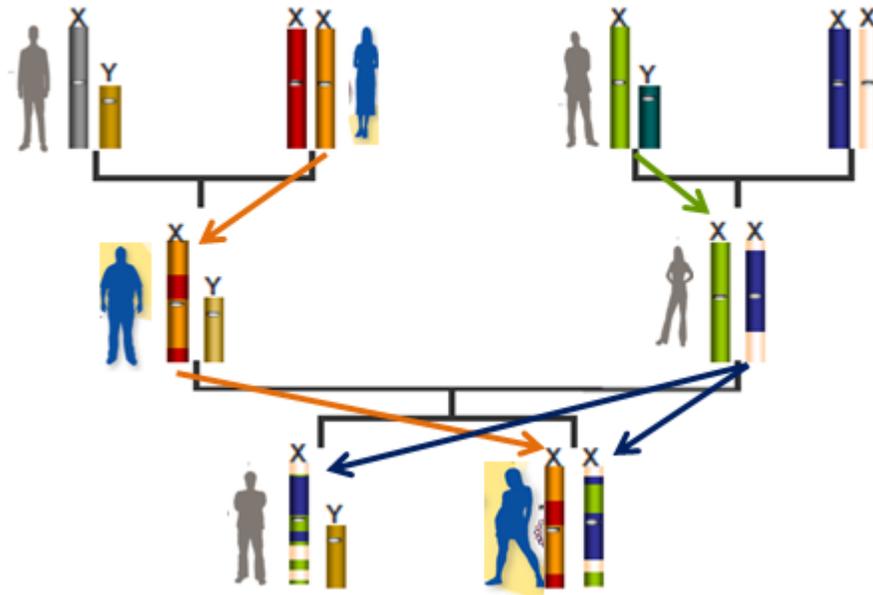


Figura 4: Modelo de herencia del cromosoma X: de padres directo (sin recombinación) y exclusivamente a sus hijas, y de madres a hij@s análogo a los autosómicos (Rangel-Villalobos, 2019).

1.4. PARÁMETROS ESTADÍSTICOS EN GENÉTICA FORENSE

Las diferencias genómicas entre dos personas rondan alrededor del 0.15% (Feuk *et al*, 2006; Auton *et al*, 2015). Esto hace que el genetista forense se enfoque en unas cuantas características genéticas —alelos en marcadores polimórficos— para realizar sus estudios. En el ámbito forense, las características que estudia el perito para realizar una individualización tienen un factor de reducción. El factor de reducción se refiere a la rareza de la característica en la población. Una característica muy común en la población tiene un factor de reducción muy bajo, ya que una gran cantidad de individuos pueden tenerla; mientras que una característica poco común es muy informativa, ya que aparece poco en la población (Champod, 2000). En genética forense, al factor de reducción se le conoce como poder de discriminación y existen varios parámetros para evaluar el factor de reducción de un marcador multiplex, kit y perfil genético. Gracias a que se conoce la forma en que se heredan las características genéticas, éstas se pueden usar para poner a prueba

las relaciones de parentesco. Existen varios parámetros para evaluar el poder de discriminación en casos de relaciones biológicas. Para poder evaluar el poder de discriminación de los marcadores, multiplex, kits y perfiles genéticos son necesarios los estudios de genética de poblaciones.

1.4.1 Genética de poblaciones

La genética de poblaciones se encarga de analizar la variación de las características genéticas en un grupo de individuos que residen en un área y un tiempo determinado. A partir de esto, se pueden comparar los patrones de herencia y diversidad genética entre poblaciones en tiempo y espacio diferentes. La forma en que se cuantifica la variación genética es en términos de frecuencias alélicas y haplotípicas; y son por esto de los parámetros más importantes en genética forense (Butler, 2014; Goldin, 1982).

1.4.2. Frecuencias alélicas

Las frecuencias alélicas se refieren al número de copias de un alelo en un grupo de individuos muestreados dividido entre el número de alelos muestreados. Dado que somos diploides, si analizamos N individuos, estaremos estudiando 2N alelos. El primer paso en un estudio de genética poblacional consiste en decidir el número de individuos que se estudiará. Con marcadores diploides, se recomienda que para cada población se estudien más de 100 individuos (Chakraborty, 1992; Evett & Gill, 1991). El siguiente paso es obtener los genotipos de las personas estudiadas y, a partir de éstos, encontrar los alelos más comunes en la población y estimar su frecuencia. Para los alelos raros, se calcula el parámetro de frecuencia alélica mínima que es de $5/2N$ siendo N el número de individuos analizados. Con las frecuencias alélicas, se obtienen los demás parámetros estadísticos. Cabe destacar que también se usan las frecuencias alélicas para comparar las diferencias genéticas entre diversas poblaciones.

1.4.3. Equilibrio Hardy-Weinberg

Las frecuencias alélicas se pueden utilizar para estimar las frecuencias genotípicas. Si las frecuencias genotípicas observadas y esperadas son similares, se puede inferir que los alelos estudiados son estables durante varias generaciones. A esta condición se le conoce

como equilibrio Hardy-Weinberg (EHW) y es necesaria para que los expertos forenses puedan realizar la interpretación estadística de los resultados (Butler, 2014; Fung & Hu, 2008). El EHW asume que las poblaciones presentan apareamiento azarosas, el tamaño de la población es infinito y que no se incluyen nuevos alelos por mutación o migración. Aunque esto supuestos no se da en las poblaciones humanas, hay pocas condiciones que pueden alterar el EHW de forma práctica en poblaciones humanas, algunas de estas son:

- 1) Poblaciones con una fuerte endogamia
- 2) Poblaciones con una fuerte subestructura
- 3) Poblaciones bajo una fuerte presión de selección

Cabe resaltar que el EHW no es sensible a pequeños cambios en las condiciones antes nombradas. Por ejemplo, para que el EHW detecte presiones de selección, ésta debe ocasionar una fuerte mortalidad diferencial, como en el caso del Kuru en la década de los sesenta en Papúa Nueva Guinea (Butler, 2014; Fung & Hu, 2008; Jobling *et al.*, 2014). Cuando se cumplen estos supuestos en la población suceden dos cosas importantes: 1) las frecuencias de alelos y genotipos se mantienen constantes de generación en generación; 2) hay una relación constante entre alelos (p y q) y genotipos definida por la fórmula del binomio ($p^2+2pq+q^2$); donde p y q representan la frecuencia de los alelos del sistema genético ($p+q=1$). En identificación humana, la fórmula de binomio que deriva del EHW hace muy sencillo estimar la frecuencia de los genotipos que constituyen un perfil genético: homocigotos (p^2) y heterocigotos ($2pq$). Además, el EHW da estabilidad a los resultados ya que no se espera que las frecuencias no cambien durante el tiempo (Rangel-Villalobos 2018).

1.4.4. Desequilibrio de ligamiento

El desequilibrio de ligamiento se presenta cuando dos alelos de loci adyacentes aparecen juntos a nivel poblacional más seguido de lo que se espera si estos alelos segregaran de forma azarosa. Esto hace que el desequilibrio de ligamiento sea una medida de la recombinación de dos loci a nivel poblacional (Fung & Hu, 2008; Butler, 2014). Los expertos forenses necesitan saber si no hay desequilibrio de ligamiento entre los pares de

loci adyacentes que analizan. Cuando a nivel poblacional se observa que dos loci segregan de forma aleatoria, cada evento se puede considerar un evento independiente desde un punto de vista probabilístico. Por otra parte, en el caso del ADN mitocondrial o de gran parte del cromosoma Y, los polimorfismos analizados son automáticamente manejados como haplotipos. En el caso del cromosoma X en los varones se obtiene directamente un haplotipo de los polimorfismos, pero en el caso de las mujeres hay recombinación entre estos marcadores con distintos grados de ligamiento. Tanto la distancia entre los loci como el desequilibrio de ligamiento entre los X-STRs son necesarios para hacer los cálculos estadísticos (Fung & Hu, 2008; Jobling *et al.*, 2014; Kling *et al.*, 2014, Kling *et al.*, 2015; Butler, 2014).

1.4.5. Frecuencias haplotípicas

Cuando los marcadores no segregan de forma independiente, estos se tienen que manejar como haplotipos y dárseles un tratamiento estadístico distinto al que se les da a los marcadores en equilibrio de ligamiento. Un haplotipo se conoce como una serie de alelos de varios marcadores que no segregan de forma independiente y la frecuencia haplotípica es el número de veces que se cuenta el haplotipo entre el número de cromosomas muestreados (Butler, 2014).

1.4.6. Estadísticos para evaluar la diversidad genética

Heterocigosidad observada (Ho): Es la proporción de heterocigotos en los individuos de una población. Se calcula dividiendo el número de muestras heterocigotas entre el número total de la muestra analizada. Mientras mayor sea la heterocigosis de un marcador, mayor será su diversidad genética y, por lo tanto, más informativo para cuestiones forenses (Butler, 2014; Fung & Hu, 2008).

Heterocigosidad esperada (He): Es la proporción de heterocigotos esperada si la población estuviera en EHW. A ésta también se le conoce como diversidad alélica y su fórmula es la siguiente: $He = 1 - \sum p_i^2$, donde p_i representa la frecuencia del alelo i en un locus de n alelos. Nótese en la fórmula que la sumatoria de la frecuencia al cuadrado de los alelos ($\sum p_i^2$) representa la homocigosidad esperada según el EHW (Rangel-Villalobos 2018).

Contenido de información polimórfica (PIC, por sus siglas en inglés): Se refiere a la probabilidad de deducir el genotipo en un loci de una persona a partir de los alelos que presenta uno de sus descendientes. Este estadístico fue creado para evaluar el poder de un marcador para fines de mapeo genético. Para el caso de las ciencias forenses, mientras más polimórfico sea un STR, mayor cantidad de alelos presentará y, por lo tanto, más informativo (Botstein *et al.*, 1980; Butler, 2015).

1.4.7. Estadísticos para evaluar el poder de individualización/discriminación

Probabilidad de identidad (PI): Es la probabilidad de que dos personas tomadas al azar presenten el mismo perfil genético (Jones *et al.*, 1972). La PI puede expresarse de forma sencilla de la siguiente manera: $PI = \sum p_i^2$, donde p_i representa la frecuencia del genotipo i (Butler, 2015).

Probabilidad de discriminación (PD): Es la probabilidad de que dos personas tomadas al azar tengan diferente información genética en los loci estudiados (Fisher, 1951). El PD es la contraparte del PI, por lo que se puede expresar como $PD = 1 - PI$. En otras palabras, el poder de discriminación se puede expresar detalladamente como: $PD = 1 - \sum p_i^2$ (Butler, 2015). Como el número de cromosomas X varía entre hombres y mujeres se calcula un poder de discriminación para mujeres (PDf) y una para hombres (PDM).

1.4.8. Estadísticos usados en casos de relaciones de parentesco

Probabilidad media de exclusión I (Mean Exclusion Chance I, MECI): Se refiere a la capacidad de un marcador, multiplex o kit autosómico de excluir a un falso padre en un caso de paternidad que incluye al supuesto padre, madre e hijo (Krüger *et al.*, 1968; Ohno *et al.*, 1982). En la literatura también se hace referencia a este estadístico como poder de discriminación (PD). Este parámetro solo es aplicable con marcadores del cromosoma X cuando la abuela paterna es investigada en lugar del padre y el infante es mujer.

Probabilidad media de exclusión II (Mean Exclusion Chance II, MECII). Este estadístico hace referencia a tríos de Supuesto padre, madre e hija con X-STRs (Kishida *et al.*, 1997)

Probabilidad media de exclusión III (Mean Exclusion Chance III, MECIII). Este estadístico hace referencia a tríos de Supuesto padre, madre e hija con X-STRs. Este estadístico es comparable al MECII (Desmarais *et al.*, 1998).

Probabilidad media de exclusión IV (Mean Exclusion Chance VI, MECVI). Este estadístico es adecuado para dúos con X-STRs. Tanto para dúos padre-hija como madre-hijo. (Desmarais *et al.*, 1998)

1.5. LOS MICROSATÉLITES DEL CROMOSOMA X: SU UTILIDAD EN CASOS FORENSES

En la actualidad, los STRs son ampliamente usados como herramientas de apoyo en los laboratorios de genética forense. Pueden aportar información en ciertos casos de relaciones de parentesco y mezclas de fluidos biológicos en los cuales otros marcadores no pueden aportar resultados definitivos (Szibor, 2007; Pinto *et al.*, 2011; Tillmar *et al.*, 2011; Cainé *et al.*, 2011; Lancia *et al.*, 2011; Bobillo *et al.*, 2008).

1.5.1. Relaciones de parentesco complejas

Los marcadores del cromosoma X son útiles para analizar relaciones de parentesco donde sólo se tiene acceso a familiares lejanos. Este tipo de análisis son comunes en la identificación de personas en desastres masivos, desaparecidas y conflictos armados. Cabe destacar que, en algunos de estos casos, los marcadores del cromosoma X aportan más información que los autosómicos (Szibor, 2007, Pinto *et al.*, 2011). En los análisis madre-hijo, los X-STRs aportan más información que los STRs; aunque este tipo de relaciones se puede respaldar con análisis de ADNmt, bien vale la pena incluir el análisis de X-STRs. En especial en casos de personas desaparecidas donde sólo se tiene a la madre como familiar y las agencias estatales tienen acceso restringido al análisis del ADNmt (Szibor, 2007). Hay casos en los que se puede usar la herencia patrilineal para evaluar relaciones de parentesco lejanas con X-STRs donde los STRs autosómicos no brindan mucha información, como son el caso de medias hermanas paternas o abuela paterna-nieta (Fig. 5).

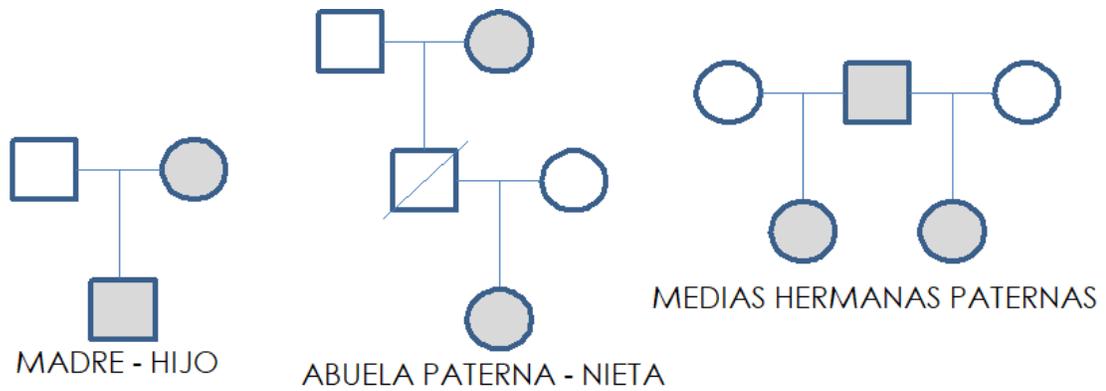


Figura 5: Casos en los que los X-STRs son más informativos que los STRs autosómicos

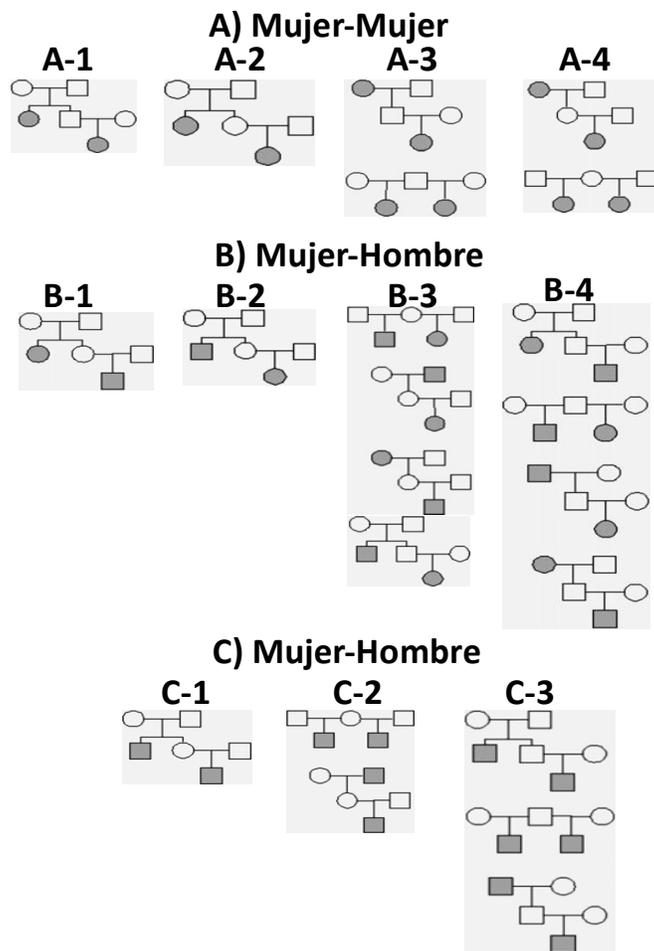


Figura 6: Relaciones de parentesco imposibles de diferenciar con STRs. A) Mujer-Mujer, B) Mujer-Hombre, C) Mujer-Hombre. Con X-STRs es posible diferenciar entre los subgrupos, pero no las relaciones dentro del mismo subgrupo. (Modificado de Pinto *et al.*, 2011).

Hay relaciones de parentesco que no pueden diferenciarse con STRs autosómicos, donde sí es posible con X-STRs gracias a su modo de herencia. Por ejemplo, si se tienen dos mujeres, a partir de los datos autosómicos, es imposible diferenciar si son tía materna-sobrina, tía paterna-sobrina, medias hermanas paternas, medias hermanas maternas, abuela materna-nieta o abuela paterna-nieta. Por otra parte, con X-STRs sí es posible diferenciar estas relaciones en cuatro subgrupos, sin embargo, sigue siendo imposible diferenciar las relaciones de un mismo subgrupo (Pinto *et al.*, 2011). Los subgrupos son: a) Tía paterna-sobrina, b) Tía materna-sobrina, c) Abuela paterna-nieta, medias hermanas paternas, y d) Abuela materna-nieta, medias hermanas maternas. Este tipo de información se vuelve relevante cuando se tiene a un familiar que ha perdido varios parientes en un desastre en masa o en casos de desapariciones de familias completas. Las distintas relaciones de parentesco que no pueden diferenciarse con STRs autosómicos se presentan en la Figura 6 (Pinto *et al.*, 2011).

	III	VI
DXS8378	10-11	10-12
DXS9898	12	12-14
DXS7133	9-11	9
GATA31E08	9-11	7-11
GATA172DO5	10-11	10-11
DXS7423	13-15	13-17
DXS6809	32-36	32
DXS7132	14	13-14
DXS9902	10-12	10-12
DXS6789	20-22	20-22

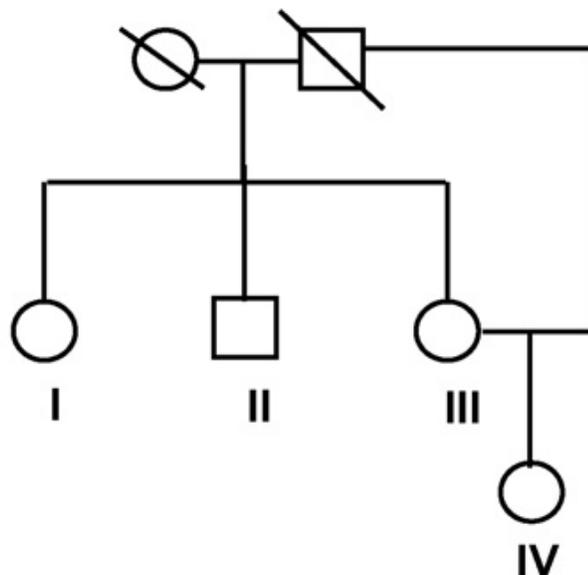


Figura 7: X-STRs en relaciones de incesto. El árbol genealógico muestra una hipótesis de relación de parentesco en la que el papá y el abuelo materno de IV es la misma persona. Si esta hipótesis se cumpliera IV no podría tener alelos distintos a los de III cosa que no ocurre. Los alelos que difieren de IV con respecto a III están marcados en amarillo. (Modificado de Bobillo *et al.*, 2008) (Bobillo *et al.*, 2008).

También en relaciones de parentesco incestuosas los marcadores del cromosoma X llegan a ser muy útiles. Hay casos en los que los X-STRs pueden dar resultados que descarten de forma cualitativa. Por ejemplo, Bobillo *et al.* (2008) muestran cómo se descarta una hipótesis de relación incestuosa padre/abuelo-hija/nieta con los resultados obtenidos a partir de los X-STRs, lo cual era imposible con STRs autosómicos (Fig. 7). Los X-STRs también pueden ayudar a diferenciar hipótesis de relaciones de parentesco incestuosas que los STRs no pueden. Por ejemplo, con STRs autosómicos sería imposible diferenciar las siguientes relaciones incestuosas: a) Hija/hermana-madre/hermana, b) Madre/abuela-hija/nieta, y c) Madre/hermana-hija/hermana. Sin embargo, con X-STRs se pueden diferenciar a) y b) de c). En la Figura 8, se muestran las relaciones de parentesco incestuosas que no se pueden diferenciar con STRs autosómicos, pero que sí se pueden identificar ciertos subgrupos con X-STRs.

1.5.2. Mezclas forenses

Para cuestiones de individualización son raras las ocasiones en que los X-STRs son más informativos que los STRs autosómicos. Sin embargo, hay ciertos casos de mezclas forenses en los que los X-STRs pueden ser más informativos que los STRs autosómicos y los Y-STRs. En casos de mezclas relacionadas con delitos sexuales donde hay varios sospechosos con relación de parentesco paterno, los X-STRs pueden dar información valiosa. Debido a su parentesco, los sospechosos tendrían información similar en marcadores autosómicos, lo cual dificultaría interpretar la mezcla, con el caso del cromosoma Y los sospechosos presentarían el mismo haplotipo, finalmente, el haplotipo del cromosoma X sería diferente entre los sospechosos (Szibor, 2007). Otros casos donde los X-STRs pueden aportar una información valiosa es cuando hay muestras forenses donde domina la fracción masculina y es difícil observar la fracción femenina. Debido a que las mujeres tienen dos copias del cromosoma X y los hombres una, es más fácil ver la fracción femenina en este tipo de mezclas usando marcadores del cromosoma X (Szibor, 2007).

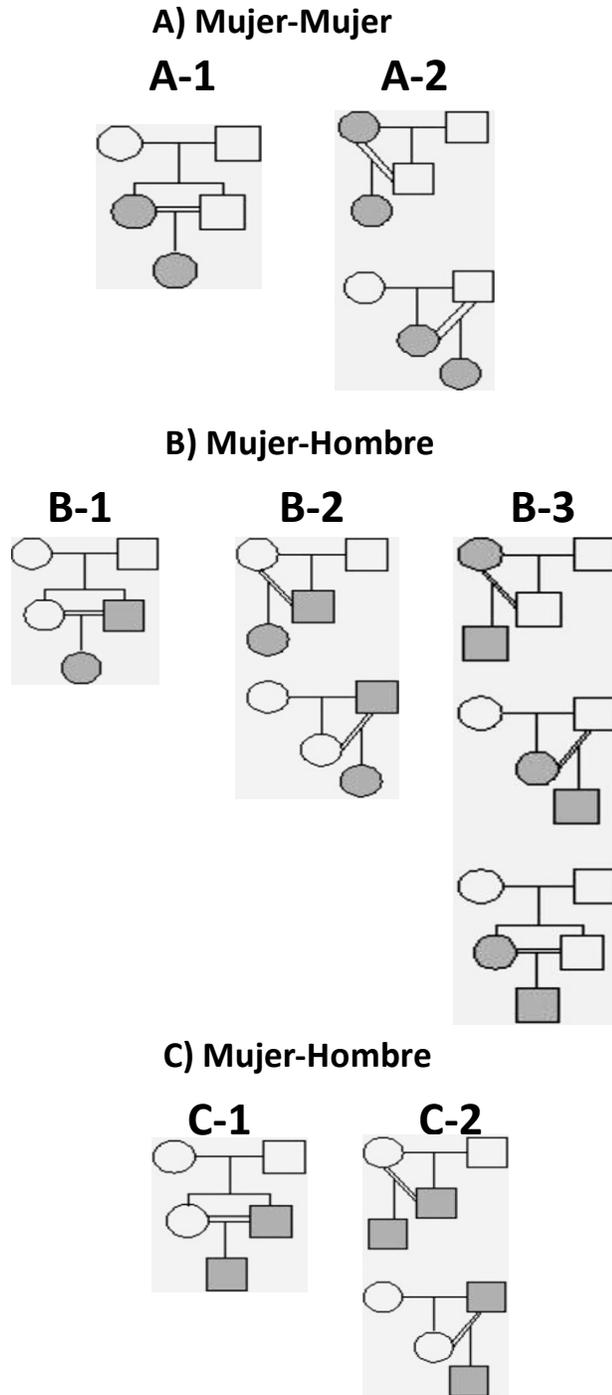


Figura 8: Relaciones de parentesco incestuosas imposibles de diferenciar con STRs autosómicos. A) Mujer-Mujer, B) Mujer-Hombre, C) Mujer-Hombre. Con X-STRs es posible diferenciar entre los subgrupos pero no relaciones dentro del mismo subgrupo. (Modificado de Pinto *et al.*, 2011).

1.6. SISTEMAS DE X-STRS UTILIZADOS EN GENÉTICA FORENSE

Para la aplicación forense de los X-STRs, se han desarrollado tres kits comerciales: Mentype® Argus X-UL, el Mentype® Argus X-8 y el Investigator Argus X-12 PCR Amplification Kit (<http://www.chrx-str.org/>). Existe también una gran cantidad de sistemas multiplex “caseros” para el análisis de X-STRs, los cuales varían en los loci utilizados y en el número de estos, lo cual dificulta compartir información entre distintas entidades y países, así como la incorporación de los X-STRs a las bases de datos forenses. La base de datos del cromosoma X llamada chrX-str.org 2.0 (<http://www.chrx-str.org/>), incluye información de la gran mayoría de X-STRs disponibles que se han analizado en diversas poblaciones del mundo. Lo cual facilita la interpretación de datos de identificación humana abordados con estos sistemas genéticos.

Uno de los sistemas no comerciales más relevante para el análisis de X-STRs es el decaplex desarrollado y evaluado por miembros del Grupo Español-Portugués de la *International Society of Forensic Genetics (GEP-ISFG)*. El decaplex incluye los siguientes marcadores: DXS8378, DXS9902, DXS7132, DXS9898, DXS6809, DXS6789, DXS7133, GATA172D05, GATA31E08 y DXS7423 (Gusmão *et al.* 2008; Gusmão *et al.* 2009). El éxito e impacto de éste sistema deriva del trabajo de optimización interlaboratorios con poblaciones de la Península Ibérica y Latinoamérica donde se generaron datos sobre sus tasas de mutación, frecuencias poblacionales y se verificó la robustez del análisis multiplex para su uso de rutina en genética forense (Gusmão *et al.* 2009). Además de dicha iniciativa, diferentes estudios individuales se han hecho en países europeos como España y Portugal (Illescas *et al.* 2011; Zarrabeitia *et al.* 2009), así como en Asia (Gomes *et al.* 2009a) y en Uganda, África (Gomes *et al.* 2009b), solo por mencionar algunos, sin embargo, aún no se han realizado alguna validación de este decaplex en México. En la Tabla 1 se detalla la información de los loci de este decaplex. Una de las ventajas de este sistema es el bajo ligamiento genético entre marcadores, cuyo análisis poblacional ha resultado en equilibrio de ligamiento en la mayoría de poblaciones, lo que facilita la interpretación como sistemas no-ligados para aplicar la regla del producto.

Tabla 1: Nombre de los X-STRs tetranucleótidos que componen el sistema Decaplex propuesto por Gusmão *et al.* 2009 y utilizado en este estudio.

X-STR	Ubicación física (Mb)	Unidades de repetición	Primers
DXS8378	9.330	CTAT	TTAGGCAACCCGGTGGTCC ACAAGAACGAACTCCAACCTC
DXS9902	15.234	GATA	CTGGGTGAAGAGAAGCAGGA GGCAATACACATTTCATATCAGGA
DXS7132	64.572	TCTA	TCCCCTCTCATCTATCTGACTG CACTCCTGGTGCCAAACTCT
DXS9898	87.682	TATC	CGAGCACACCTACAAAAGCTG TAGGCTCACCTCACTGAGCA
DXS6809	94.825	CTAT/ATCT	TCCATCTTTTCTGAACTTCC TGCTTTAGGCTGATGTGAGG
DXS6789	95.336	TATC7TATG	CTTCATTATGTGCTGGGGTAAA ACCTCGTGATCATGTAAGTTGG
DXS7133	108.928	ATAG	CACTTCCAAAAGGGGAAAAA ACTTGTACTTGGTGGGAGGAA
GATA172D05	113.061	TAGA	TAGTGGTGATGGTTGCACAG ATAATTGAAAGCCCGGATTC
GATA31E08	140.062	AGAT	GCAAGGGGAGAAGGCTAGAA TCAGCTGACAGACACAGAGA
DXS7423	149.460	TCCA	GTCTTCTGTCTATCTCCCAAC TAGCTTAGCGCCTGGCACATA

1.7. ESTUDIOS DE GENÉTICA DE POBLACIONES EN MÉXICO CON SISTEMAS DE IDENTIFICACIÓN HUMANA

1.7.1. STRs autosómicos

La mayor parte de la población mexicana es mestiza (90%), término que se ha descrito como aquella persona resultado de la mezcla de los genes españoles, nativo-americanos y africanos (Gorodezky *et al.*, 2001). La población mestiza mexicana se caracteriza por ser una mezcla de componentes nativo-americanos, europeos y -en menor medida- africanos, la cual dista de ser homogénea. Se han realizado una gran cantidad de estudios poblacionales en México con STRs autosómicos (A-STRs), y al hacer análisis globales de dicha información en mestizos, se han reportado diferencias regionales significativas que se derivan del incremento de la ancestría europea hacia el norte-occidente, mientras la ancestría nativo-americana incrementa hacia el centro-sureste del país, con un componente africano relativamente constante, la cual se ha relacionado con la demografía prehispánica (Rubi-Castellanos *et al.*, 2009). Inclusive, este patrón se ha

comparado con poblaciones de Latinoamérica y el Caribe, evidenciando peculiaridades del proceso de mestizaje en el continente americano (Salazar-Flores *et al.*, 2015) (Figura 9).

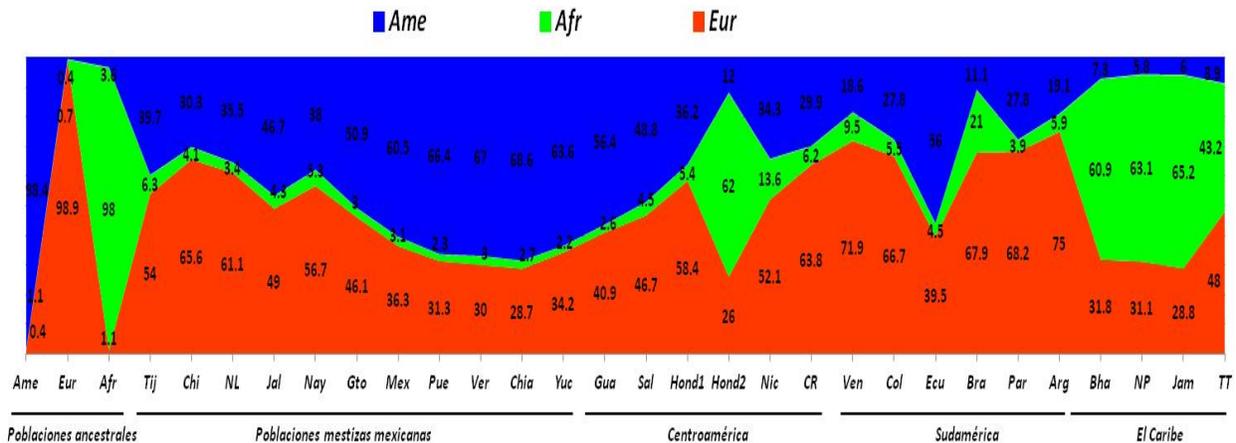


Figura 9: Patrón de mestizaje con STRs autosómicos. Proporciones de ancestría obtenidos con Structure basadas en los 13 CODIS-STRs en poblaciones mestizas de México, Latinoamérica y el Caribe (Salazar-Flores *et al.*, 2015).

También se han analizado poblaciones nativo-americanas con 15 STRs autosómicos utilizando como parámetros el número efectivo de población, tasa de migración, diversidad genética y tomando en cuenta las barreras geográficas. En este estudio se separaron las poblaciones nativo-americanas en tres grupos: 1) El grupo de las poblaciones centro y sureste, 2) el grupo de las poblaciones sur en Chiapas y Oaxaca, 3) El grupo de las poblaciones norte y noroeste. Cabe destacar que el aislamiento geográfico solo se reportó como significativo en largas distancias (>1,500 km) (Rangel-Villalobos *et al.* 2016).

1.7.2. Estudios genómicos

Los estudios genómicos muestran resultados similares a los registrados con STRs autosómicos. El estudio de Silva-Zolezzi *et al.* (2009) se muestra que la población mexicana presenta una herencia nativo-americana del 55.2%, una ancestría europea del 41.8%, un componente africano del 1.8%. Además, estos estudios demuestran una clina genética regional, por ejemplo, la población noroccidental de Sonora presenta una herencia europea del 61% y una herencia nativo-americana del 36.2%; por el contrario, la población sureña de Guerrero presenta una ancestría europea del 28.5% y una herencia nativo-americana del

66%. El trabajo de Moreno-Estrada *et al.* (2014) incluyendo grupos nativo-americanos de México mostró resultados similares. La mayor herencia nativo-americana fue reportada en la población sureña de Oaxaca y la mayor herencia europea en la población noroccidental de Sonora. De forma general, la población mexicana presentó un 58.9% de herencia nativo-americana, un 37% de ascendencia europea y un 4.1% de ancestría africana. En Oaxaca, la herencia nativo-americana es del 84.6% y la europea es del 13.4%. Por otra parte, en Sonora se presentó una herencia nativo-americana del 35.2% y europea del 61.2%. Cabe señalar que también se ha demostrado que las poblaciones mestizas han recibido la influencia de las poblaciones indígenas geográficamente cercanas (Moreno-Estrada *et al.* 2014).

1.7.2. Marcadores uniparentales

En genética forense, se utilizan de forma cotidiana A-STRs, STRs del cromosoma Y (Y-STRs) y el ADN mitocondrial (ADNmt), los cuales describen patrones no siempre iguales de relaciones genéticas, estructura y mestizaje. Con diferencias significativas a lo largo del territorio mexicano, a partir del estudio de diez poblaciones mestizas mexicanas, se ha descrito que —en general— en el lado paterno predomina el componente europeo (59.2%), seguido del nativo-americano (30.8%) y africano (9.5%); por el contrario, del lado materno predomina el nativo-americano (92.9%), europeo (4.44%), euroasiático (1.9%) y africano (0.81%). Estas publicaciones muestran cómo ha sido el flujo génico asimétrico en los mestizos mexicanos de diferentes regiones del país (Martínez-Cortés *et al.*, 2012; Martínez-Cortés *et al.*, 2013). Aunque los Y-STRs evidencian claramente cómo la ancestría europea del lado paterno incrementa gradualmente hacia el norte-oeste, y cómo lo hace de forma contraria la ancestría nativo-americano (Salazar-Flores *et al.*, 2010), esto apenas es notorio en los linajes de herencia materna o mitocondriales (Martínez-Cortés *et al.*, 2013; Guardado-Estrada *et al.*, 2009). Lo anterior genera una subestructura poblacional significativa —con pequeñas diferencias— para ambos sistemas uniparentales (Figura 10), y respecto con los sistemas autosómicos tanto STRs (Rubi-Castellanos *et al.*, 2009) como genómicos (Silva-Zolezzi *et al.*, 2009); estos últimos presentan una ancestría intermedia entre los linajes paternos y maternos (Martínez-Cortés *et al.*, 2012; Martínez-Cortés *et al.*, 2013).

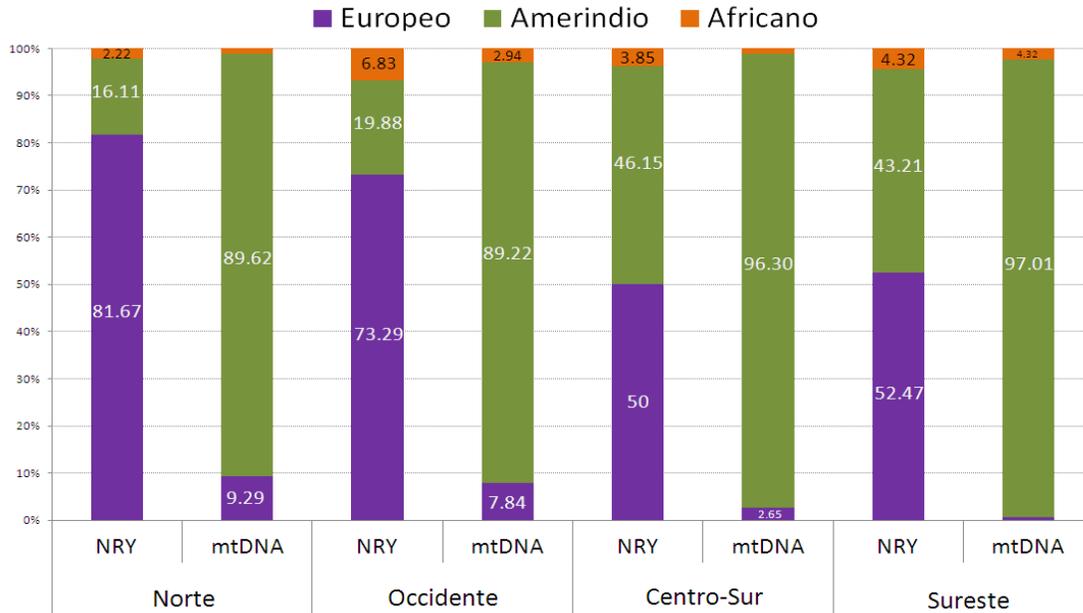


Figura 10: Modelos de mestizaje con marcadores de linaje. Proporciones de ancestría para la región no recombinante del cromosoma Y (NRY) y ADNmit en mestizos de diferentes regiones de México. (Martínez-Cortés *et al.*, 2013)

1.7.3. Estudios con X-STRs en poblaciones mestizas y nativo-americanas.

Se han presentado estudios en los que se han analizado las relaciones entre varias poblaciones nativo-americanas y mestizas mexicanas utilizando X-STRs (Cortés-Trujillo *et al.*, 2017a; Cortés-Trujillo *et al.*, 2017b). Los estudios muestran que las poblaciones nativo-americanas presentan menor diversidad, pero mayor subestructura, tal como se ha reportado con otro tipo de marcadores (Rangel-Villalobos *et al.* 2016). Las poblaciones mestizas del noroeste y del sureste que se han analizado no se diferencian con X-STRs. Por otra parte, las poblaciones nativo-americanas presentan una subestructura significativa (valor de FST) siete veces mayor a las mestizas (Cortés-Trujillo *et al.*, 2017a). Sin embargo, las poblaciones mestizas y las nativo-americanas no se pueden diferenciar genéticamente. Las distancias genéticas entre las poblaciones mexicanas no se correlacionan con las distancias geográficas que existen entre ellas, por lo cual se descarta el modelo de aislamiento por distancia (Cortés-Trujillo *et al.*, 2017a; Cortés-Trujillo *et al.*, 2017b).

Los análisis con X-STRs muestran que las poblaciones mestizas contienen un importante componente europeo y nativo-americano. Comparado con STRs autosómicos,

los X-STRs presentan un menor componente europeo en las poblaciones del noroeste y un mayor componente europeo en la población del suroeste (Cortés-Trujillo *et al.*, 2017a; Cortés-Trujillo *et al.*, 2017b). El análisis más detallado X-STRs en poblaciones mestizas en México generará información de interés antropológico dado el peculiar proceso de mestizaje de nuestra población, donde predominó el ingreso de varones europeos (XY) con mujeres nativo-americanas (XX). La diferencia en la proporción de este cromosoma sexual respecto a los autosomas, ADNmt y cromosoma Y, genera diferentes tamaños efectivos de población, lo cual aunado a los procesos particulares de colonización y mestizaje desde el contacto europeo en México permiten hipotetizar diferencias en los patrones de subestructura y diferenciación poblacional a lo largo del territorio mexicano para los marcadores del cromosoma X. En la Tabla 2, se presentan los trabajos poblaciones con X-STRs hechos para poblaciones mestizas en México anteriores a los reportados en el presente trabajo.

Tabla 2: Trabajos de genética poblacional con X-STRs en México.

Referencia	Kit o X-STRs analizados	poblaciones analizadas
Rangel-Villalobos <i>et al.</i>, 1999	HPRTB	Jalisco
Valle <i>et al.</i>, 2008	DXS337, DXS101, HPRTB, DXS8377, DXS7423	Jalisco
Cortés-Trujillo <i>et al.</i>, 2017	Investigator® Argus X-12	Dos mestizas y siete poblaciones nativo-mexicanas
Cortés-Trujillo <i>et al.</i>, 2017	Investigator® Argus X-12 Mujeres	Dos mestizas y siete poblaciones nativo-americanas
Cortés-Trujillo <i>et al.</i>, 2019	Investigator® Argus X-12	Mestizos de siete regiones de México

1.8 ANÁLISIS DEMOGRÁFICOS A PARTIR DE DATOS GENÉTICOS

A partir de la información genética se pueden hacer algunas inferencias del comportamiento demográfico de las poblaciones. Estadísticos como el índice Garza-Williamson (Garcia & Williamson, 2001) o el test de Wilcoxon para comparar la

heterocigocidad observada y esperada (Cornuet & Luikart, 1996) permiten obtener pistas de posibles cambios en el tamaño de las poblaciones. Aunado a esto se ha documentado que la comparación de información genética obtenida con STRs a autosómicos y del cromosoma X pueden dar información sobre cambios poblacionales (Pool & Nielsen, 2007).

1.8.1. Índice Garza-Williamson

El índice Garza-Williamson compara el número de alelos observados en un locus tipo STR contra el rango alélico que presenta. Cuando la población ha sufrido una reducción, desaparecen algunos de sus alelos al azar, pero los alelos perdidos no corresponden a puros alelos de menor y/o mayor tamaño lo que ocasiona que el número de alelos disminuya más rápido que el rango alélico (Figura 11). Valores menores a 0.7 puede indicar una reducción poblacional reciente (García & Williamson, 2001).

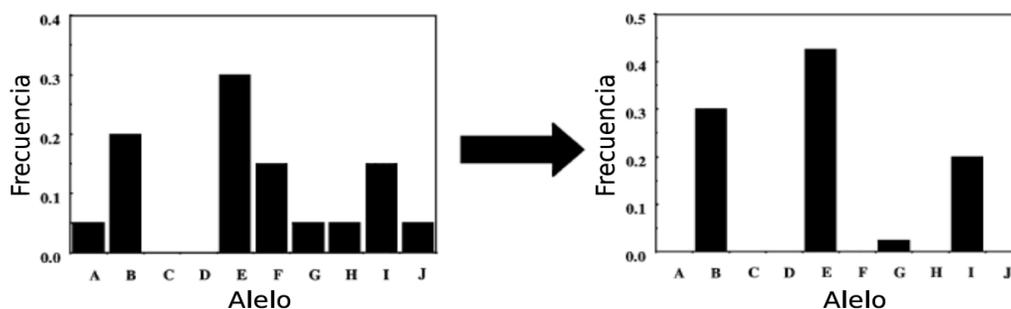


Figura 11: Cambio de número alélico y rango alélico ante un evento de reducción poblacional (Modificado García & Williamson, 2001)

1.8.2. Comparación entre la heterocigocidad observada y esperada

Se pueden inferir cambios poblacionales al comparar la heterocigocidad observada y la heterocigocidad esperada a partir del número de alelos presentes. El exceso y la reducción de heterocigotos observados con respecto a los esperados se relacionan a cambios en el tamaño efectivo de la población. El exceso de heterocigotos se puede observar en poblaciones que han sufrido reducción poblacional reciente. Por otra parte, una deficiencia de heterocigotos puede ser ocasionada por una expansión poblacional (Cornuet & Luikart, 1996).

1.8.2. Comparación de la diversidad genética entre marcadores autosómicos y del cromosoma X.

Se ha documentado que cambios en los tamaños poblacionales pueden originar modificaciones en la relación que guardan los marcadores del cromosoma X con respecto a aquellos provenientes de cromosomas autosómicos. Como punto de partida se espera que los marcadores del cromosoma X presenten tres cuartos ($3/4$) de la diversidad genética que presentan los loci autosómicos. Sin embargo, cambios en el tamaño poblacional puede hacer que se modifique la relación entre la diversidad genética del cromosoma X con respecto a los autosómicos. En el caso de eventos de reducción poblacional la diversidad del cromosoma X puede disminuir hasta por debajo de 0.4 con respecto a la diversidad en marcadores autosómicos. Por el contrario, en eventos de crecimiento o recuperación poblacional la diversidad genética del cromosoma X puede alcanzar valores similares a los observados en cromosomas autosómicos (Cornuet & Luikart, 1996, Yang *et al.*, 2010) (Figura 12).

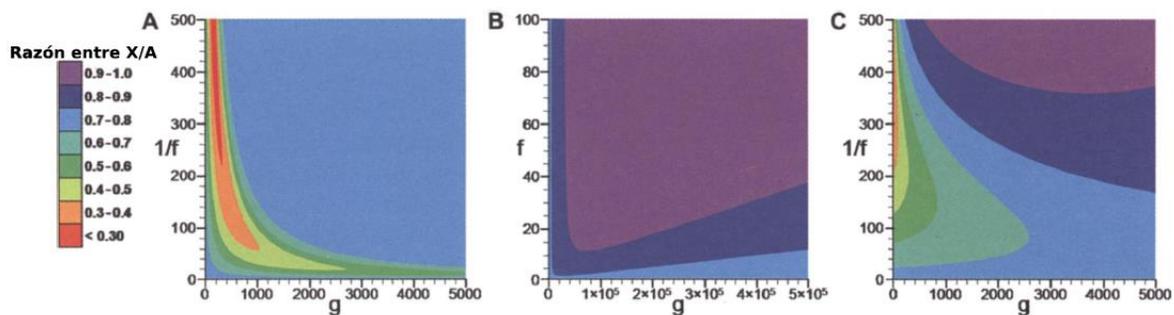


Figura 12: Modelos predictivos de la razón entre la diversidad del cromosoma X y los cromosomas autosómicos en tres escenarios. A) Reducción en la población. B) Crecimiento de la población. C) Recuperación después de un cuello de botella. En el eje de las X se presenta el número de generaciones y en Y la intensidad de los cambios en tamaño en la población; en la escala de color se muestra la relación entre la diversidad genética (Het.) del cromosoma X con respecto a los autosómicos (Modificado de Pool & Nielsen, 2007).

2 ANTECEDENTES

A nivel nacional se registran más de 26 mil personas desaparecidas cuyos casos no se han resuelto hasta la fecha (Open-Society, 2016). Con una gran cantidad de familiares de desaparecidos y restos humanos no identificados, se incrementan los falsos positivos y negativos en las pruebas genéticas. Para solventar esta situación, es necesario incrementar el poder de discriminación de las pruebas de parentesco al máximo con las siguientes estrategias de forma individual o combinada: 1) Elegir los parientes más óptimos; 2) Incrementar la cantidad de marcadores autosómicos; 3) Utilizar marcadores con diferente tipo de herencia. En este contexto, los X-STRs permiten reforzar las relaciones de parentesco en las que hay por lo menos una mujer involucrada, cuando no se cuenta con los familiares idóneos, así como en casos de mezcla donde domina la fracción masculina y casos de relaciones incestuosas (Szibor, 2007; Pinto *et al.*, 2011; Lancia *et al.*, 2011). La gran cantidad de casos de desaparecidos hace imperativo integrar a los laboratorios de genética forense todas las herramientas que aumenten el poder de las pruebas de ADN. Para implementar de sistemas genéticos de X-STRs con fines forenses en el país, es indispensable realizar estudios genéticos poblacionales. Este tipo de estudios generarán los parámetros de interés forense donde, por una parte, se estimen las frecuencias alélicas y haplotípicas que emplearán los genetistas forenses para la interpretación estadística de perfiles genéticos. Por otro lado, se reporten los parámetros que *a priori* indiquen qué tan útiles serán de forma individual y combinada los X-STRs para resolver cuestiones forenses. Estudios poblacionales con X-STRs arrojarán información sobre el patrón de mestizaje desde la perspectiva de este cromosoma. Estos datos podrán compararse con los observados en otros marcadores de interés forense y con los estudios que abordan el mestizaje en México. Esto debido a que por su modelo de herencia el cromosoma X podría generar información antropológica importante, dado el peculiar proceso de mestizaje de la población mexicana donde predominó el ingreso de varones europeos (XY) con mujeres nativo-americanas (XX).

2.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México, no existen estudios poblacionales que respalden el uso del sistema decaplex de X-STRs desarrollado por el GHEP-ISFG en mestizos. Por tal motivo, este proyecto pretende contestar la siguiente pregunta:

¿Cuáles son los parámetros estadísticos de interés forense de 10 X-STRs en las principales poblaciones mestizas de México?

Aunado a esta pregunta, el particular modo de herencia del cromosoma X, el mestizaje asimétrico y la estructura poblacional descrita en los mestizos mexicanos a partir de diversos sistemas genéticos, pero ninguno del cromosoma X, dan pie a una segunda pregunta de investigación:

¿Cómo se modelan las relaciones genéticas y el mestizaje de las poblaciones regiones del país a partir del sistema decaplex para X-STRs respecto con lo inferido con otros sistemas genéticos?

3.OBETIVOS

Objetivo general

Describir y comparar los patrones de variación genética de 10 X-STRs para validar su uso en un contexto forense y analizar los hallazgos desde un enfoque de la genética de poblaciones.

Objetivos específicos:

En muestras de poblaciones mestizas de diversas regiones de México y utilizando el sistema decaplex de X-STRs:

1. Determinar si la distribución de genotipos está en equilibrio Hardy-Weinberg y evaluar el desequilibrio de ligamiento entre pares de loci.
2. Estimar los parámetros estadísticos de interés forense (frecuencias alélicas, H_e , PDI , PDI_m , PIC , y $MECs$).
3. Evaluar si hay subestructura presente en las poblaciones regionales.
4. Comparar las relaciones genéticas entre las poblaciones de estudio y otras disponibles en la literatura.
5. Evaluar la estructura y el mestizaje de las poblaciones mexicanas entre sí y respecto con otras disponibles en la literatura.
6. Comparar la estructura poblacional y el mestizaje inferido con el sistema decaplex en poblaciones mexicanas, respecto con lo reportado a partir del análisis de otros sistemas genéticos.
7. Relacionar los patrones de variación genética observados con procesos biológicos y sociales.

4. METODOLOGÍA

4.1. MUESTRAS ESTUDIADAS

Se eligieron mujeres mestizas no emparentadas de cinco regiones geográficas del país. Las muestras fueron seleccionadas bajo un esquema de mestizaje “laxo” útil en identificación humana, donde básicamente se incluyen residentes de las regiones geográficas establecidas y sólo se excluyen individuos de grupos altamente diferenciados, ya sea de origen extranjero (e.g., menonitas, judías, etc.) o grupos nativo-americanos (e.g., huichol, tzotzil, purépecha, etc.). Lo anterior se debe a que se quiere reflejar a las poblaciones urbanas más que a los mestizos *sensu stricto*. Las mujeres hablan español y son residentes de alguna de las siguientes regiones geográficas: Noroeste (Baja California, Chihuahua, Durango, Nayarit, Sinaloa y Sonora); Noreste (Coahuila, Nuevo León, San Luis Potosí y Tamaulipas); Oeste (Jalisco); Centro (Área Metropolitana, Guanajuato, Hidalgo, Morelos, Puebla y Querétaro); y Sureste (Chiapas, Quintana Roo y Yucatán).

Las mujeres participantes dieron su consentimiento informado para participar en estudios de genética poblacional con fines académicos. El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación del Centro Universitario de la Ciénega en el contexto del proyecto CONACyT Ciencia Básica 2009 (N° 129693) aprobado al Dr. Héctor Rangel. Además, como grupo de referencia nativo-americano para el análisis estadístico interpoblacional, se genotiparon muestras de mujeres de origen huichol, mazateco, maya, purépecha y tarahumara. El número de muestras analizadas de cada región se muestra en la Tabla 3. Las muestras utilizadas son parte de la genoteca del Instituto de Investigación en Genética Molecular del Centro Universitario de la Ciénega de la Universidad de Guadalajara en Ocotlán, Jalisco. El tamaño de muestra para cada una de las regiones oscila entre 100 a 125 muestras, según lo recomendado para estimar las frecuencias alélicas con fines forenses (Chakraborty, 1992; Evett & Gill, 1991).

Tabla 3. Poblaciones de estudio y muestras genotipadas y amplificadas

Región	Estado	N
NOROESTE (NO)	Chihuahua	11
	Durango	12
	Sinaloa	38
	Sonora	22
	Total	92
NORESTE (NE)	Coahuila	1
	Nuevo León	65
	San Luis Potosí	23
	Tamaulipas	13
	Total	102
OESTE (O)	Jalisco	116
	Total	116
CENTRO (C)	CDMX	50
	Edo. de México	9
	Guanajuato	19
	Hidalgo	2
	Morelos	6
	Puebla	8
	Querétaro	7
	Total	101
SURESTE (SE)	Chiapas	25
	Quintana Roo	27
	Yucatán	66
	Total	118
Indígenas (Pool)	Huicholes	21
	Mazatecos	22
	Mayas	20
	Purépechas	20
	Tarahumaras	21
	Total	104
Total		633

4.2. CUANTIFICACIÓN Y AMPLIFICACIÓN

En la genoteca se trabajó con muestras en papel FTA Whatman y procesadas con una solución purificadora para eliminar inhibidores. En los fragmentos de 1 mm de diámetro de papel FTA (punchs), la cantidad de ADN puede variar de acuerdo con las condiciones en que la muestra fue tomada y almacenada. Se utilizaron dos punchs de 1 mm de diámetro para la PCR, que ofrecieron resultados consistentes de amplificación. También se trabajó con ADN extraído con la técnica estándar de extracción salina (Miller *et al.*, 1988) y el kit de extracción ADN IQ (Promega Corp.).

Los extractos fueron cuantificados con el equipo nanodrop 2000 y diluidos a concentraciones de ~10 ng/μl. Se hicieron disoluciones de trabajo adicionales a 2 y 4 ng/μl con volúmenes finales de 10, 25 ó 50 μl. Las muestras se amplificaron en una sola PCR multiplex usando los primers descritos por Gusmão *et al.* (2009) (Tabla 1). Las soluciones Stock de los primers tenían una concentración de 100 μM. Para realizar el primer mix de cada solución madre de los cebadores se pusieron 10μl y 300μl de buffer TE, para llegar a un volumen final de 500μl. Se usó el protocolo de amplificación de Gusmao *et al.* (2009), pero se modificó la extensión final a 90 min.

- 1) Desnaturalización inicial por 15 min a 95°C.
- 2) 10 ciclos de 30 s a 94°C, 90 s a 60°C, y 60 s a 72°C.
- 3) 20 ciclos de 30 s a 94°C, 90 s a 58°C, y 60 s a 72°C.
- 4) Extensión final de 90 min a 72°C.

Se utilizaron 5 μl de QIAGEN Multiplex PCR Master Mix, 1μl de primer mix, 4ng de ADN o dos punch de 1mm de diámetro para llevar a cabo la PCR en un volumen final de 10μl. Hubo ciertas ocasiones en que el ADN incluido en la PCR no fue suficiente ya que todos los picos de los electroferogramas no superaban el umbral de los 150 RFUs, en estos casos se incrementaba la cantidad de ADN. No se observó inhibición de los X-STRs de mayor tamaño por exceso de ADN. La amplificación de las muestras se llevó a cabo en un termociclador de gradiente Multigene (Labnet) de 96 bloques. En todas las reacciones se utilizaron controles positivos (9947A) y negativos como controles de calidad en el proceso.

4.3. ANÁLISIS DE FRAGMENTOS Y GENOTIPADO

Los productos de PCR fueron analizados por electroforesis capilar (EC) en analizadores genéticos ABI-3130 y ABI-310. Los genotipos se determinaron con el software Genemapper 3.2 (Applied Biosystems), en el cual se incluyeron manualmente los paneles con los bins para nombrar de forma automática los alelos de cada X-STR de acuerdo con su tamaño en pares de bases. Se incluyó en cada corrimiento el LIZ-500 size standard (Applied Biosystems) para cuantificar el tamaño de los fragmentos analizados. Durante el segundo

semestre, se tuvieron problemas para controlar la temperatura en el área de electroforesis capilar. Por este motivo, se utilizó el método Global Southern para estimar el tamaño de los fragmentos (Klein *et al.*, 2003; Hartzell *et al.* 2003). Durante el tercer semestre, una vez regulada la temperatura de área de secuenciación, se regresó al método Local Southern —recomendado por el proveedor—, pero sacando del análisis los fragmentos de 340 y 500 bases a la hora de estimar el tamaño de los fragmentos. Antes de analizar cualquier muestra o control, se verificó que el etiquetado del estándar de tamaño fuera correcto y, antes de analizar cualquier electroferograma, se revisó que los controles negativo y positivo de cada corrida fueran correctos. Se observó que los stutters presentaban alturas $> 15\%$, por lo cual se tomó como límite para los stutters que fueran $\leq 20\%$. Aunado a esto, en los controles positivos se verificó un notorio desequilibrio en el tamaño de los alelos en heterocigotos. Se utilizó el parámetro de 50 RFUs como umbral analítico y 150 RFUs como umbral estocástico, como se recomienda en la bibliografía (Buttler, 2009). El umbral analítico es aquél que permite diferenciar alelos del ruido de fondo en los electroferogramas. El umbral estocástico permite asegurar que no se perdió algún alelo de forma estocástica, es decir, que en un locus heterocigoto de forma aleatoria sólo se amplificó un alelo.

Se presentaron adenilaciones incompletas a la hora de analizar las primeras muestras. Por tal motivo, se extendió el tiempo de extensión final en la PCR. Sin embargo, las muestras en papel FTA siguieron presentando artefactos. Al principio se utilizaba 1 mm punch en la PCR que resultaba en perfiles parciales, por lo cual se estandarizó la PCR con dos punches. Las muestras con exceso de ADN dieron como resultado artefactos conocidos como pull up, pero no inhibición de la PCR por exceso de ADN. Cuando se presentaron estos artefactos se realizó una segunda electroforesis capilar bajando los tiempos de inyección y en muestras muy saturadas preparando el cóctel de electroforesis con menos amplificado. Los genotipos obtenidos se exportaron directamente del GeneMapper para evitar errores al transcribir los perfiles. Sin embargo, se revisaron los electroferogramas al momento de vaciar la información a los formatos correspondientes.

4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

4.4.1 Análisis intrapoblacional

Se calcularon las frecuencias alélicas para cada población estudiada mediante el programa Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier *et al.*, 2005) y se estimaron las frecuencias haplotípicas de los marcadores DXS6809 y DXS6789 con el programa PHASE, bajo los siguientes parámetros: 100,000 interacciones, 1,000 de reducción de intervalo y 100,000 de “burn-in”. La heterocigocidad esperada (Het), el contenido de información polimórfica (PIC), el poder de discriminación con femeninas (PDf), el poder de discriminación con masculinos (PDm), la probabilidad media de exclusión con el vástago, madre y la abuela paterna en duda (MECI), la probabilidad media de exclusión de tríos con hija (MECII y MCIII) y la probabilidad media de exclusión de dúos con hija (MECIV) se estimaron en la página ChrX-STR.org 2.0 (<http://www.chrx-str.org/>). Se utilizó el software Arlequin 3.5.2.2(Excoffier *et al.*, 2005) para poner a prueba el equilibrio Hardy-Weinberg mediante la prueba exacta de Fisher con una cadena de Markov con 1,000,000 repeticiones y 100,000 pasos de desmemorización (calentamiento), tomando en cuenta la corrección de Bonferroni. También, se puso a prueba el desequilibrio de ligamiento entre los 10 X-STRs mediante pruebas exactas con 90,000 permutaciones usando el software Arlequin 3.5.2.2(Excoffier *et al.*, 2005).

4.4.2 Relaciones genéticas entre poblaciones

Para el análisis interpoblacional se incorporaron genotipos femeninos de poblaciones latinoamericanas, de Galicia (Gusmão *et al.*, 2009) y de Uganda (Gomes *et al.*, 2009), así como la información genética nativo-americano obtenida como parte de este proyecto (Tabla 4). Con el programa Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier *et al.*, 2005) se calcularon las distancias genéticas obteniendo valores F_{st} y se utilizaron 9,000 permutaciones para probar su significancia tomando en cuenta la corrección de Bonferroni en caso de comparaciones múltiples.

Tabla 4: Total de poblaciones utilizadas en el análisis interpoblacional

Poblaciones	Abreviatura	N	Fuente
Poblaciones de Latinoamérica			
Mestizas de México			
Noroeste	NO	92	Este estudio
Noreste	NE	102	Este estudio
Oeste	O	116	Este estudio
Centro	C	101	Este estudio
Sureste	SE	118	Este estudio
Costa Rica			
Costa Rica	CR	209	(Gusmão <i>et al.</i> , 2009)
Colombia			
Antioquia	ANT	114	(Gusmão <i>et al.</i> , 2009)
Mato Grosso	MGR	100	(Gusmão <i>et al.</i> , 2009)
Paraná	PAR	103	(Gusmão <i>et al.</i> , 2009)
São Paulo,	SP	102	(Gusmão <i>et al.</i> , 2009)
Río de Janeiro	RdJ	55	(Gusmão <i>et al.</i> , 2009)
Argentina			
Buenos Aires	BA	191	(Gusmão <i>et al.</i> , 2009)
Córdoba	COR	66	(Gusmão <i>et al.</i> , 2009)
Entre Ríos	ER	14	(Gusmão <i>et al.</i> , 2009)
Misiones	MIS	22	(Gusmão <i>et al.</i> , 2009)
Río Negro	RN	23	(Gusmão <i>et al.</i> , 2009)
Nativo-americanos			
México			
Huicholes	HUI	21	Este estudio
Mazatecos	MAZ	22	Este estudio
Mayas	MAY	20	Este estudio
Purépechas	PUR	20	Este estudio
Tarahumaras	TAR	21	Este estudio
Poblaciones Europeas			
España			
Galicia	GAL	93	(Gusmão <i>et al.</i> , 2009)
African Population			
Uganda			
Karimojong	UGA	138	(Gomes <i>et al.</i> , 2009)
Total		1863	

A partir de los valores F_{st} , se obtuvieron dendogramas por el método de agrupamiento *neighbor joining* (NJ) en R. Además, se realizó un Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) con el programa Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier *et al.*, 2005) con 10,000 permutaciones para poner a prueba varias hipótesis de agrupamiento de las poblaciones a partir de los resultados observados en el NJ, en especial se analizó si existen diferencias pareadas entre poblaciones.

4.4.3 Estructura y ancestría entre poblaciones

Se utilizó el programa Structure 3.5.2.2 (Falush *et al.*, 2003; Falush *et al.*, 2007, Pritchard *et al.*, 2000) para realizar análisis de clusters que permitan ver la estructura de las poblaciones y los componentes ancestrales (mestizaje de las poblaciones urbanas mexicanas). Se realizaron 90 análisis sin supervisar, es decir, sin ingresar grupos preestablecidos de referencia, con un “calentamiento” de 6,000,000 y 6,000,000 repeticiones utilizando el modelo LOCPRIOR para utilizar la información geográfica de las poblaciones ya que solo se está trabando con 10 loci. De los 90 análisis, 30 se hicieron con 2k, 30 con 3k y 30 con 4k. Además, se realizaron 30 análisis supervisados utilizando como referencia la población europea, africana y nativo-americanas referidas en la tabla 4 con los parámetros antes descritos. De forma similar, se realizaron 30 análisis supervisados en Structure 3.5.2. (Falush *et al.*, 2003; Falush *et al.*, 2007, Pritchard *et al.*, 2000) en los que se incluyeron las poblaciones de Latinoamérica con las mismas poblaciones de referencia utilizadas en el párrafo anterior. Para cada tipo de análisis, se utilizó el programa Structure Harvester para elegir el mejor modelo (Earl, 2012).

4.4.4 Análisis de patrones demográficos

Se analizaron los patrones demográficos de las poblaciones latinoamericanas cuya muestra fuera igual o mayor a 100 (Tabla 2.3). Se calculó el índice Garza-Williamson con el programa Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier *et al.*, 2005). Además, se comparó el número de alelos observados en cada población contra el número heterocigotos para evaluar si las poblaciones presentaban exceso o déficit de heterocigotos relacionado con algún cambio demográfico. Las comparaciones antes mencionadas se realizaron mediante pruebas de

Wilcoxon en el programa Bottleneck (Cornuet & Luikart, 1996) utilizando el modelo de mutación paso a paso y un valor de 50,000 repeticiones.

Para comparar la diversidad genética de X-STRs con la de los marcadores autosómicos se confrontaron los valores de heterocigocidad obtenidos de las poblaciones mexicanas e hispanoamericanas aquí analizadas con los valores de heterocigocidad reportados con STRs autosómicos en otras publicaciones. En la Tabla 5 se presentan los trabajos consultados para obtener los valores de heterocigocidad de los STRs autosómicos.

Tabla 5: Poblaciones analizadas en este proyecto que se incluyen en el análisis demográfico, y relación de trabajos de los que se obtuvieron valores de diversidad genética con STRs autosómicos

Región de México	Estado/ciudad estudios con STRs autosómicos y la bibliografía relacionada
Noroeste (NO)	Tijuana (Salazar-Flores <i>et al</i> 2015) Chihuahua (Martínez-González <i>et al</i> , 2005)
Noreste (NE)	Nuevo León (Cerde-Flores <i>et al</i> 2002)
Oeste (O)	Jalisco (Rubi-Castellanos <i>et al</i> 2009)
Centro (C)	CDMX (Luna-Vázquez <i>et al</i> 2005)
Sureste (SE)	Yucatán (González-Herrera <i>et al</i> 2010)
Latinoamérica	
Antioquia	Caldas Colombia (Porras <i>et al.</i> 2008)
Buenos Aires	Buenos Aires (Marino <i>et al</i> , 2006)
Costa Rica	Costa Rica (Rodríguez <i>et al.</i> , 2007)
Mato Grosso	San Paolo (Fridman <i>et al.</i> , 2008)
Parana	San Paolo (Fridman <i>et al.</i> , 2008)
San Paolo	San Paolo (Fridman <i>et al.</i> , 2008)
Galicia	Galicia (Gusmão <i>et al.</i> , 2009)
Uganda	Uganda (Gomes <i>et al.</i> , 2009 ^b)

5. RESULTADOS

5.1. EQUILIBRIO HARDY-WEINBERG Y DESEQUILIBRIO DE LIGAMIENTO

Todas las poblaciones estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg; ninguna prueba presentó valor significativo en las pruebas exactas de Fisher después de la corrección de Bonferroni ($p < 0.005$). Este resultado permite sustentar la obtención de las frecuencias genotípicas a partir de las frecuencias alélicas mediante el binomio al cuadrado (Rangel-Villalobos *et al.* 2018). Tampoco se detectó ningún desequilibrio de ligamiento o asociación alélica entre los pares de loci del sistema decaplex; ninguna de las comparaciones pareadas dio un valor significativo después de la corrección de Bonferroni ($p < 0.0011$). Por lo anterior, teóricamente se podría aplicar la regla del producto para evaluar de manera muy sencilla un perfil genético obtenido con el decaplex (Rangel-Villalobos *et al.* 2018), como se describe que es posible en el reporte original de este sistema de X-STRs (Gusmão *et al.* 2009). Sin embargo, debido a la proximidad física que presentan los loci DXS6809 y DXS6789 se estimaron las frecuencias haplotípicas de estos dos marcadores. Además, hay reportes que muestran que X-STRs sin aparente desequilibrio de ligamiento presentan tasas de recombinación menores al 50% (Tillmar *et al.*, 2008).

5.2. FRECUENCIAS ALÉLICAS Y HAPLOTÍPICAS

Las frecuencias alélicas y haplotípicas de las poblaciones estudiadas se presentan en las Tablas 6 y 7. Con éstas es posible determinar la rareza de un perfil genético o un haplotipo en las distintas poblaciones mexicanas. Para los alelos de baja frecuencia reportados y para aquellos que no se reportaron, se recomienda utilizar el parámetro de "frecuencia alélica mínima (MAF por sus siglas en inglés)" que es de $5/2N$ (NRC-II).

Tabla 6: Frecuencias alélicas de las poblaciones mestizas estudiadas

Alelos	DXS8378	DXS9898	DXS7133	GATA31E08	GATA172D05	DXS7423	DXS6809	DXS7132	DXS9902	DXS6789
NOROESTE										
6					0.1413					
7				0.005435	0.016304					
8	0.005435					0.097826				
9			0.59783	0.081522	0.070652				0.005435	
10	0.50543	0.005435	0.1413	0.054348	0.32065				0.048913	
11	0.28261	0.10326	0.23913	0.17391	0.26087				0.32065	
12	0.20109	0.29891	0.005435	0.41304	0.092391			0.043478	0.38587	
12.1									0.027174	
13		0.33152	0.005435	0.20652		0.021739		0.24457	0.20652	
13.1									0.005435	
14	0.005435	0.097826	0.01087	0.054348		0.29348		0.3587		
15		0.016304		0.01087		0.49457		0.26087		0.027174
16						0.11413		0.054348		0.032609
16.3								0.01087		
17						0.076087		0.021739		0.01087
17.3								0.005435		
18										0.01087
19										0.027174
20										0.34239
21										0.36957
22										0.15217
23										0.027174
29							0.016304			
30							0.016304			
31							0.10326			
32							0.16304			
33							0.32065			
34							0.21739			
35							0.086957			
36							0.065217			
37							0.01087			
MAF	0.027174	0.027174	0.027174	0.027174	0.027174	0.027174	0.027174	0.027174	0.027174	0.027174

NORESTE										
Alelos	DXS8378	DXS9898	DXS7133	GATA31E08	GATA172D05	DXS7423	DXS6809	DXS7132	DXS9902	DXS6789
6					0.10294					
7				0.004902	0.004902					
8				0.004902	0.17157					
8.3		0.10294								
9	0.009804		0.64706	0.11275	0.034314					
9.1		0.004902								
10	0.45588	0.004902	0.18627	0.073529	0.28431			0.004902	0.029412	
10.2						0.004902				
11	0.31863	0.098039	0.13235	0.17647	0.2598			0.014706	0.029412	
12	0.18137	0.28922	0.034314	0.42157	0.14216			0.088235	0.36275	
12.1									0.009804	
13	0.034314	0.33824		0.15196		0.039216		0.28922	0.21569	
13.1									0.009804	
13.3		0.009804								
14		0.11275		0.053922		0.32353		0.30392	0.004902	
15		0.039216				0.45098		0.19608		0.019608
16						0.078431		0.083333		0.068627
17						0.10294		0.019608		0.014706
18										0.004902
19										0.039216
20										0.38235
21										0.30882
22										0.12745
23										0.029412
24										0.004902
28							0.004902			
29							0.009804			
30							0.02451			
31							0.093137			
32							0.15686			
33							0.34314			
33.1							0.004902			
34							0.20588			
35							0.093137			
36							0.053922			
37							0.009804			
MAF	0.02451	0.02451	0.02451	0.02451	0.02451	0.02451	0.02451	0.02451	0.02451	0.02451

OESTE										
Alelos	DXS8378	DXS9898	DXS7133	GATA31E08	GATA172D05	DXS7423	DXS6809	DXS7132	DXS9902	DXS6789
6					0.12931					
7		0.008621			0.00431					
8				0.00431	0.11638					
8.3		0.077586								
9			0.625	0.10776	0.051724				0.00431	
9.1										
10	0.43966	0.008621	0.1681	0.051724	0.31466	0.00431		0.00431	0.051724	
11	0.2931	0.081897	0.18103	0.15086	0.27586			0.008621	0.35345	
12	0.23707	0.33621	0.012931	0.39655	0.10776			0.068966	0.37931	
12.1									0.017241	
13	0.025862	0.30603	0.00431	0.21552		0.012931		0.31466	0.16379	
13.1									0.008621	
13.3		0.008621								
14	0.00431	0.14655	0.008621	0.060345		0.31466		0.31034	0.021552	
15		0.025862		0.012931		0.45259		0.19828		0.051724
16						0.11207		0.056034		0.025862
17						0.10345		0.030172		0.008621
17.3								0.00431		
18								0.00431		
19										0.034483
20										0.46983
21										0.22414
22										0.15086
23										0.025862
24										0.00431
25										0.00431
26							0.008621			
28							0.00431			
29							0.012931			
30							0.021552			
31							0.18103			
32							0.12069			
33							0.24569			
34							0.22414			
35							0.11207			
36							0.056034			
37							0.008621			
38							0.00431			
MAF	0.021552	0.021552	0.021552	0.021552	0.021552	0.021552	0.021552	0.021552	0.021552	0.021552

CENTRO										
Alelos	DXS8378	DXS9898	DXS7133	GATA31E08	GATA172D05	DXS7423	DXS6809	DXS7132	DXS9902	DXS6789
6					0.13861					
7					0.004951					
8	0.019802		0.004951		0.09901					
8.3		0.09901								
9	0.024752	0.004951	0.64356	0.09901	0.039604					
10	0.4505	0.004951	0.17822	0.059406	0.32673			0.009901	0.034653	
11	0.29208	0.059406	0.15347	0.21782	0.24752	0.004951		0.034653	0.31683	
12	0.17822	0.25248	0.009901	0.37129	0.14356	0.004951		0.11881	0.37624	
12.1									0.009901	
13	0.034653	0.41089		0.20792		0.029703		0.21782	0.23762	
13.1									0.004951	
13.3		0.009901								
14		0.10396	0.009901	0.039604		0.26733		0.29703	0.019802	0.019802
14.2								0.004951		
15		0.054455		0.004951		0.46535		0.21287		0.029703
16						0.12376		0.089109		0.079208
17						0.10396		0.014851		0.014851
18										0.009901
19										0.029703
20										0.33168
21										0.34158
22										0.13366
23										0.004951
24										0.004951
30							0.009901			
30.1							0.004951			
31							0.094059			
32							0.16832			
33							0.34158			
34							0.25248			
35							0.089109			
36							0.034653			
38							0.004951			
MAF	0.024752	0.024752	0.024752	0.024752	0.024752	0.024752	0.024752	0.024752	0.024752	0.024752

SURESTE										
Alelos	DXS8378	DXS9898	DXS7133	GATA31E08	GATA172D05	DXS7423	DXS6809	DXS7132	DXS9902	DXS6789
6					0.12712					
7			0.004237							
8			0.004237		0.10593					
8.3		0.042373								
9	0.004237		0.63983	0.14831	0.033898					
10	0.5	0.004237	0.20763	0.059322	0.29661				0.012712	
11	0.27119	0.050847	0.12288	0.27542	0.28814			0.008475	0.22881	
11.1									0.004237	
12	0.19492	0.24153	0.016949	0.36441	0.14407			0.033898	0.44915	
12.1									0.008475	
13	0.029661	0.4661		0.12288	0.004237	0.008475		0.27542	0.27966	
13.1									0.004237	
14		0.1822	0.004237	0.029661		0.29661		0.33051	0.012712	
15		0.012712				0.4661		0.22458		0.008475
16						0.10593		0.084746		0.063559
16.3								0.025424		
17						0.12288		0.016949		
18										0.004237
19										0.04661
20										0.44492
21										0.29237
22										0.11441
23										0.016949
24										0.008475
28							0.008475			
30							0.016949			
31							0.10169			
32							0.19068			
33							0.33051			
34							0.20339			
35							0.12288			
36							0.012712			
37							0.012712			
MAF	0.021186	0.021186	0.021186	0.021186	0.021186	0.021186	0.021186	0.021186	0.021186	0.021186

GLOBAL DE LAS 5 POBLACIONES MESTIZAS MEXICANAS

Alelos	DXS8378	DXS9898	DXS7133	GATA31E08	GATA172D05	DXS7423	DXS6809	DXS7132	DXS9902	DXS6789
6					0.1276					
7			0.000945	0.00189	0.005671					
8	0.004726		0.00189	0.00189	0.11815					
8.3		0.089792								
9	0.007561	0.000945	0.63138	0.11153	0.045369				0.00189	
9.1		0.000945								
10	0.46975	0.005671	0.17769	0.059546	0.30813	0.000945		0.003781	0.034972	
10.2						0.000945				
11	0.29112	0.077505	0.16352	0.20038	0.26749	0.000945		0.013233	0.31569	
11.1									0.000945	
12	0.19943	0.28355	0.016068	0.39225	0.12665	0.000945		0.069943	0.39225	
12.1									0.014178	
13	0.02552	0.3724	0.00189	0.17958	0.000945	0.021739		0.27032	0.22117	
13.1									0.006616	
13.3		0.006616								
14	0.00189	0.13138	0.006616	0.047259		0.29962		0.31947	0.012287	0.003781
14.2								0.000945		
15		0.029301		0.005671		0.46503		0.21739		0.02741
16						0.10681		0.073724		0.053875
16.3								0.007561		
17						0.10302		0.020794		0.009452
17.3								0.00189		
18								0.000945		0.005671
19										0.035917
20										0.39887
21										0.3034
22										0.13516
23										0.020794
24										0.004726
25										0.000945
26							0.00189			
28							0.003781			
29							0.007561			
30							0.017958			
30.1							0.000945			
31							0.11626			
32							0.15974			
33							0.31474			
33.1							0.000945			
34							0.22023			

35	0.10208									
36	0.043478									
37	0.008507									
38	0.00189									
MAF	0.004726	0.004726	0.004726	0.004726	0.004726	0.004726	0.004726	0.004726	0.004726	0.004726

Tabla 7: Frecuencias haplotípicas entre los loci DXS6809 y DXS6789 estimadas de las poblaciones mestizas estudiadas

Noroeste			Noreste			Oeste			Centro			Sureste			Mestizos Mexicanos					
D	X	S	D	X	S	D	X	S	D	X	S	D	X	S	D	X	S			
6	8	0	6	8	0	6	8	0	6	8	0	6	8	0	6	8	0	6	8	0
9	9	Freq	9	9	Freq	9	9	Freq	9	9	Freq	9	9	Freq	9	9	Freq	9	9	Freq
29	16	0.00118	29	15	0.00005	26	20	0.00042	29	15	0.00011	28	20	0.00066	28	20	0.000024			
29	20	0.00983	30	14	0.00013	26	21	0.00046	29	20	0.0003	28	21	0.00077	28	21	0.000015			
29	21	0.00426	30	15	0.00054	26	22	0.00775	29	21	0.00061	28	22	0.00705	29	14	0.000025			
29	22	0.00104	30	16	0.00083	28	20	0.00431	29	22	0.00017	30	20	0.01131	29	15	0.000233			
30	20	0.00544	30	17	0.0002	29	15	0.00067	30	14	0.00026	30	21	0.00467	29	16	0.000038			
30	21	0.01087	30	18	0.00017	29	17	0.00055	30	15	0.00184	30	22	0.00097	29	20	0.000466			
31	17	0.00096	30	19	0.00022	29	20	0.00795	30	16	0.0003	31	16	0.00635	29	21	0.000713			
31	18	0.00088	30	20	0.00095	29	21	0.00376	30	18	0.00006	31	19	0.00252	29	22	0.000102			
31	20	0.02259	30	21	0.0003	30	15	0.00255	30	19	0.0007	31	20	0.05554	30	14	0.000107			
31	21	0.07086	30	22	0.00014	30	20	0.00739	30	20	0.00605	31	21	0.02079	30	15	0.00218			
31	22	0.00579	30	23	0.00007	30	21	0.00431	30	21	0.01003	31	22	0.00622	30	16	0.000823			
31	23	0.00218	31	13	0.0002	30	22	0.003	30	22	0.00239	31	23	0.00242	30	17	0.000016			
32	15	0.00372	31	14	0.00183	30	23	0.00431	30	23	0.00044	31	24	0.00786	30	18	0.000044			
32	16	0.01312	31	15	0.0161	31	15	0.0023	31	14	0.00023	32	15	0.00142	30	19	0.000365			
32	19	0.00307	31	16	0.01932	31	16	0.00037	31	15	0.00966	32	16	0.01835	30	20	0.005416			
32	20	0.0739	31	17	0.00276	31	19	0.00082	31	16	0.00054	32	19	0.00168	30	21	0.009773			
32	21	0.04503	31	18	0.00098	31	20	0.10152	31	17	0.00008	32	20	0.0778	30	22	0.001708			
32	22	0.02581	31	19	0.00293	31	21	0.01891	31	19	0.00085	32	21	0.07037	30	23	0.000197			
32	23	0.00383	31	20	0.02305	31	22	0.0419	31	20	0.02403	32	22	0.01928	31	14	0.000268			
33	15	0.00649	31	21	0.00341	31	23	0.01128	31	21	0.03916	32	23	0.00116	31	15	0.010327			
33	16	0.01081	31	22	0.00135	31	25	0.00395	31	22	0.0073	32	24	0.00061	31	16	0.001034			
33	17	0.00869	31	23	0.00087	32	15	0.0125	31	23	0.00059	33	15	0.00566	31	17	0.000091			
33	19	0.0163	31	24	0.00024	32	16	0.00065	32	14	0.00007	33	16	0.01177	31	18	0.000014			
33	20	0.11475	32	13	0.00014	32	19	0.00536	32	15	0.00109	33	18	0.00081	31	19	0.000611			
33	21	0.10435	32	14	0.00112	32	20	0.05283	32	16	0.00426	33	19	0.00607	31	20	0.019957			
33	22	0.05254	32	15	0.0059	32	21	0.03938	32	17	0.00021	33	20	0.15955	31	21	0.039998			
33	23	0.00131	32	16	0.0459	32	22	0.00725	32	18	0.00006	33	21	0.11696	31	22	0.005919			
34	15	0.00368	32	17	0.01428	32	24	0.00273	32	19	0.00129	33	22	0.02237	31	23	0.000541			
34	16	0.00146	32	18	0.00432	33	15	0.01553	32	20	0.01464	33	23	0.00732	32	14	0.000229			
34	17	0.00123	32	19	0.00742	33	16	0.02347	32	21	0.16121	34	16	0.01467	32	15	0.002324			

34	18	0.00999	32	20	0.0544	33	17	0.00762	32	22	0.03172	34	18	0.00343	32	16	0.006382
34	19	0.00236	32	21	0.01794	33	19	0.0097	32	23	0.00708	34	19	0.03443	32	17	0.000209
34	20	0.06863	32	22	0.01389	33	20	0.1135	32	24	0.00023	34	20	0.09031	32	18	0.000041
34	21	0.07375	32	23	0.02083	33	21	0.0455	33	14	0.00006	34	21	0.02854	32	19	0.002028
34	22	0.04412	32	24	0.00228	33	22	0.01974	33	15	0.00122	34	22	0.03202	32	20	0.019928
34	23	0.01216	32	25	0.00025	33	23	0.01027	33	16	0.02482	35	15	0.0014	32	21	0.154294
35	15	0.01229	33	13	0.00032	33	25	0.00037	33	17	0.00071	35	16	0.01058	32	22	0.032345
35	16	0.00176	33	14	0.00228	34	16	0.00093	33	18	0.00013	35	19	0.00192	32	23	0.005739
35	19	0.00432	33	15	0.01534	34	19	0.01132	33	19	0.00274	35	20	0.04383	32	24	0.000159
35	20	0.04171	33	16	0.00775	34	20	0.10642	33	20	0.07469	35	21	0.03921	33	14	0.000123
35	21	0.01835	33	17	0.00773	34	21	0.06212	33	21	0.11127	35	22	0.0217	33	15	0.002072
35	22	0.00692	33	18	0.03271	34	22	0.04335	33	22	0.03019	35	23	0.00424	33	16	0.023294
35	23	0.00161	33	19	0.01725	35	15	0.01155	33	23	0.0021	36	20	0.00157	33	17	0.00042
36	15	0.001	33	20	0.10065	35	16	0.00045	33	24	0.00021	36	21	0.00635	33	18	0.000138
36	16	0.00972	33	21	0.05983	35	17	0.00045	34	14	0.00008	36	22	0.00479	33	19	0.003369
36	19	0.00112	33	22	0.12056	35	19	0.00607	34	15	0.00116	37	16	0.00184	33	20	0.075959
36	20	0.00555	33	23	0.01579	35	20	0.05018	34	16	0.02396	37	20	0.00434	33	21	0.119449
36	21	0.03666	33	24	0.00262	35	21	0.02679	34	17	0.00055	37	21	0.00471	33	22	0.030478
36	22	0.00791	33	25	0.00047	35	22	0.01659	34	18	0.0002	37	23	0.00182	33	23	0.002374
36	23	0.00326	33	26	0.0001	36	15	0.00664	34	19	0.00515				33	24	0.000204
37	20	0.00544	34	12	0.00008	36	19	0.00121	34	20	0.07305				34	14	0.00007
37	22	0.0026	34	13	0.00041	36	20	0.01347	34	21	0.11875				34	15	0.001849
37	23	0.00283	34	14	0.0036	36	21	0.02183	34	22	0.05602				34	16	0.025179
			34	15	0.03217	36	22	0.0113	34	23	0.01313				34	17	0.000584
			34	16	0.02515	36	24	0.00159	34	24	0.00046				34	18	0.000194
			34	17	0.02055	37	20	0.00754	35	15	0.00045				34	19	0.004622
			34	18	0.00566	37	21	0.00108	35	16	0.00143				34	20	0.07552
			34	19	0.01368	38	20	0.00431	35	17	0.00009				34	21	0.115387
			34	20	0.10862				35	18	0.00007				34	22	0.05593
			34	21	0.06407				35	19	0.00165				34	23	0.010691
			34	22	0.01402				35	20	0.02827				34	24	0.000318
			34	23	0.01099				35	21	0.01844				35	14	0.000019
			34	24	0.00129				35	22	0.00336				35	15	0.000541
			34	25	0.00019				35	23	0.00087				35	16	0.001963
			34	26	0.0001				35	24	0.00007				35	17	0.00008
			35	14	0.00042				36	14	0.00016				35	18	0.000097
			35	15	0.00165				36	15	0.00615				35	19	0.001801
			35	16	0.00155				36	16	0.00271				35	20	0.027374
			35	17	0.00103				36	17	0.00012				35	21	0.019617
			35	18	0.00061				36	18	0.00039				35	22	0.005042
			35	19	0.00163				36	19	0.0147				35	23	0.000921
			35	20	0.00696				36	20	0.04486				35	24	0.000041
			35	21	0.02826				36	21	0.00257				36	14	0.000139

35	22	0.0039	36	22	0.0005	36	15	0.003923
35	23	0.00114	36	23	0.00016	36	16	0.001487
35	24	0.00016	37	15	0.00031	36	17	0.000041
35	25	0.00006	37	16	0.00014	36	18	0.00022
36	14	0.00011	37	19	0.0008	36	19	0.013227
36	15	0.00005	37	20	0.00236	36	20	0.041756
36	16	0.00011	37	21	0.00022	36	21	0.002407
36	17	0.0001	38	19	0.00011	36	22	0.000653
36	18	0.00006	38	20	0.00014	36	23	0.000129
36	19	0.00009				37	14	0.000014
36	20	0.00051				37	15	0.000305
36	21	0.00119				37	16	0.00008
36	22	0.00039				37	18	0.000057
36	23	0.00009				37	19	0.001098
						37	20	0.003308
						37	21	0.000284
						37	22	0.000061
						38	15	0.00004
						38	18	0.000022
						38	19	0.000074
						38	20	0.000155
						38	21	0.000033
						39	20	0.000023

5.3. PARÁMETROS ESTADÍSTICOS DE INTERÉS FORENSE

Los parámetros estadísticos de interés forense se muestran en la Tabla 8 y los valores combinados en la Tabla 9. Los parámetros forenses muestran la eficiencia del sistema decaplex de X-STRs al aplicarse en casos forenses en México. En todas las poblaciones analizadas, el PD combinado para hombres y mujeres fue mayor al 0.99999 y los MEC fueron mayores al 0.998. Estos valores comprueban que el decaplex es informativo tanto en pruebas en las que se comparen indicios con muestras de referencia, así como cuando se pongan a prueba relaciones de parentesco.

Tabla 8: Parámetros estadísticos de interés forense de las poblaciones mestizas mexicanas

	DXS8378	DXS9898	DXS7133	GATA31E08	GATA172D05	DXS7423	DXS6809	DXS7132	DXS9902	DXS6789
NOROESTE										
PIC	0.556206	0.723397	0.50769	0.710065	0.75571	0.594998	0.774002	0.694175	0.648477	0.673783
Ho	0.375824	0.239776	0.434727	0.256198	0.214199	0.349953	0.199785	0.261962	0.297552	0.280483
He	0.624176	0.760224	0.565273	0.743802	0.785801	0.650047	0.800215	0.738038	0.702448	0.719517
PE	0.320901	0.52742	0.251263	0.499221	0.572958	0.355281	0.59944	0.489524	0.432057	0.459096
PI	0.187912	0.119888	0.217363	0.128099	0.1071	0.174977	0.099892	0.130981	0.148776	0.140241
PD_f	0.790786	0.905681	0.753429	0.900625	0.924028	0.822484	0.933872	0.887513	0.857492	0.875595
MEC_I	0.347067	0.544293	0.314096	0.53347	0.588763	0.398243	0.61533	0.504966	0.44804	0.486042
MEC_{II}	0.556194	0.723374	0.507678	0.710053	0.755699	0.594878	0.77399	0.694175	0.648453	0.673771
MEC_{III}	0.556206	0.723397	0.50769	0.710065	0.75571	0.594998	0.774002	0.694175	0.648477	0.673783
MEC_{IV}	0.408172	0.588453	0.360708	0.573001	0.627226	0.448233	0.650052	0.554837	0.504264	0.53327
Duo:										
EHW	0.6226	0.94047	0.82396	0.91468	0.84083	0.90956	0.14969	0.1021	0.18264	0.18264
NORESTE										
PIC	0.593057	0.7338	0.481877	0.716234	0.758702	0.619595	0.768222	0.734597	0.624573	0.694664
Ho	0.34352	0.232555	0.472077	0.253029	0.209772	0.326365	0.205835	0.229729	0.314357	0.265567
He	0.65648	0.767445	0.527923	0.746971	0.790228	0.673635	0.794165	0.770271	0.685643	0.734433
PE	0.364193	0.540081	0.213123	0.504597	0.581031	0.388665	0.588256	0.54508	0.406401	0.483515
PI	0.17176	0.116278	0.236038	0.126515	0.104886	0.163182	0.102918	0.114864	0.157179	0.132784
PD_f	0.818571	0.912273	0.731097	0.905239	0.92447	0.839445	0.931689	0.91155	0.840109	0.889705
MEC_I	0.386858	0.560606	0.298572	0.542834	0.588382	0.424327	0.609328	0.557351	0.417609	0.5141
MEC_{II}	0.593045	0.733567	0.481865	0.716234	0.758691	0.619595	0.768211	0.734363	0.624573	0.694664
MEC_{III}	0.593057	0.7338	0.481877	0.716234	0.758702	0.619595	0.768222	0.734597	0.624573	0.694664
MEC_{IV}	0.446061	0.601263	0.335583	0.579856	0.630028	0.47449	0.643109	0.601585	0.478775	0.556705
Duo:										
EHW	0.93837	0.78643	0.29473	0.5064	0.80915	0.53495	0.93406	0.19272	0.71807	0.29615
OESTE										
PIC	0.598845	0.721842	0.498319	0.723169	0.748259	0.617687	0.80273	0.717757	0.648378	0.663296
Ho	0.336098	0.241788	0.451915	0.244573	0.219681	0.327235	0.174457	0.243573	0.29916	0.29905
He	0.663902	0.758212	0.548085	0.755427	0.780319	0.672765	0.825543	0.756427	0.70084	0.70095
PE	0.374655	0.523921	0.233148	0.519096	0.563038	0.387399	0.647275	0.520826	0.429561	0.42973
PI	0.168049	0.120894	0.225957	0.122287	0.10984	0.163618	0.087228	0.121787	0.14958	0.149525
PD_f	0.821981	0.905169	0.746007	0.907927	0.91968	0.83784	0.946751	0.902002	0.858041	0.872915
MEC_I	0.387709	0.544761	0.309844	0.549447	0.577277	0.41936	0.654246	0.53676	0.452253	0.481007
MEC_{II}	0.598845	0.721842	0.498307	0.723158	0.748259	0.617567	0.802719	0.717757	0.648366	0.663284
MEC_{III}	0.598845	0.721842	0.498319	0.723169	0.748259	0.617687	0.80273	0.717757	0.648378	0.663296
MEC_{IV}	0.451311	0.587273	0.350997	0.588267	0.617914	0.471865	0.686466	0.582225	0.504958	0.520518
Duo:										
EHW	0.65449	0.70847	0.9892	0.66354	0.25605	0.54888	0.20718	0.2627	0.959	0.20086
CENTRO										
PIC	0.623418	0.705615	0.482771	0.720506	0.748741	0.638012	0.740253	0.740253	0.643118	0.708538
Ho	0.322229	0.259694	0.469705	0.243458	0.219236	0.315071	0.22689	0.22689	0.300116	0.253351

He	0.677771	0.740306	0.530295	0.756542	0.780764	0.684929	0.77311	0.77311	0.699884	0.746649
PE	0.394718	0.493327	0.215411	0.521026	0.563839	0.405333	0.550123	0.550123	0.42808	0.504049
PI	0.161114	0.129847	0.234853	0.121729	0.109618	0.157536	0.113445	0.113445	0.150058	0.126676
PD_f	0.841815	0.897868	0.731854	0.904692	0.919913	0.853814	0.915664	0.915664	0.853165	0.897702
MEC_I	0.424329	0.529303	0.298049	0.54133	0.577126	0.445449	0.56774	0.56774	0.438999	0.530482
MEC_{II}	0.623418	0.705615	0.482771	0.720506	0.748718	0.638012	0.740253	0.740253	0.643106	0.708514
MEC_{III}	0.623418	0.705615	0.482771	0.720506	0.748741	0.638012	0.740253	0.740253	0.643118	0.708538
MEC_{IV}	0.477615	0.568452	0.33641	0.584835	0.618225	0.49278	0.60852	0.60852	0.498298	0.57259
Duo:										
EHW	0.32885	0.80551	0.16074	0.10511	0.19253	0.65759	0.5975	0.02978	0.51898	0.00622
SURESTE										
PIC	0.575623	0.640185	0.482984	0.711396	0.746728	0.613701	0.75681	0.75681	0.606115	0.651579
Ho	0.362396	0.313343	0.46776	0.250145	0.220215	0.331619	0.213086	0.213086	0.33273	0.303185
He	0.637604	0.686657	0.53224	0.749855	0.779785	0.668381	0.786914	0.786914	0.66727	0.696815
PE	0.338454	0.407922	0.217301	0.509518	0.562077	0.381061	0.574983	0.574983	0.379465	0.42335
PI	0.181198	0.156672	0.23388	0.125072	0.110107	0.16581	0.106543	0.106543	0.166365	0.151592
PD_f	0.806688	0.855344	0.731944	0.898969	0.918448	0.835349	0.92449	0.92449	0.828136	0.862843
MEC_I	0.370155	0.447228	0.298236	0.529105	0.573489	0.414512	0.588981	0.588981	0.399075	0.463843
MEC_{II}	0.575502	0.640185	0.482745	0.711396	0.746495	0.613689	0.756798	0.756798	0.606103	0.651579
MEC_{III}	0.575623	0.640185	0.482984	0.711396	0.746728	0.613701	0.75681	0.75681	0.606115	0.651579
MEC_{IV}	0.427573	0.494922	0.337064	0.574347	0.615821	0.467161	0.628196	0.628196	0.459005	0.508558
Duo:										
EHW	0.04696	0.06907	0.76008	0.76928	0.53619	0.34123	0.20935	0.44309	0.8786	0.7863
LAS 5 POBLACIONES MESTIZAS MEXICANAS										
PIC	0.591873	0.711568	0.49439	0.773757	0.753908	0.618796	0.774136	0.730164	0.639607	0.683615
Ho	0.345923	0.251351	0.45716	0.207913	0.214795	0.328382	0.199253	0.233403	0.303964	0.274927
He	0.654077	0.748649	0.54284	0.792087	0.785205	0.671618	0.800747	0.766597	0.696036	0.725073
PE	0.360848	0.507456	0.227813	0.584437	0.571875	0.385734	0.600426	0.538587	0.422154	0.468106
PI	0.172961	0.125676	0.22858	0.103957	0.107398	0.164191	0.099627	0.116701	0.151982	0.137463
PD_f	0.818133	0.899742	0.742555	0.938442	0.922567	0.839343	0.933687	0.90909	0.851177	0.882957
MEC_I	0.385611	0.532692	0.307425	0.475101	0.584268	0.422582	0.614725	0.552305	0.436608	0.500767
MEC_{II}	0.591873	0.711568	0.49439	0.613231	0.753908	0.618796	0.774136	0.730152	0.639607	0.683615
MEC_{III}	0.591873	0.711568	0.49439	0.773757	0.753908	0.618796	0.774136	0.730164	0.639607	0.683615
MEC_{IV}	0.444434	0.575223	0.347264	0.652232	0.62462	0.472928	0.650099	0.596581	0.494689	0.544225
Duo:										

Tabla 9: Parámetros estadísticos combinados de las poblaciones mestizas mexicanas

	Poblaciones mestizas mexicanas	Noroeste	Noreste	Oeste	Centro	Sureste
PDf	0.9999999996	0.9999999991	0.9999999995	0.9999999995	0.9999999995	0.9999999986
PDm:	0.9999977345	0.9999967139	0.9999974210	0.9999975454	0.9999974127	0.9999955556
MEC_I	0.9987844859	0.9987271737	0.9989982122	0.9990313473	0.9989931115	0.9984362073
MEC_{II}	0.9999849921	0.9999862510	0.9999896714	0.9999901634	0.9999897684	0.9999818738
MEC_{III}	0.9999912214	0.9999862603	0.9999896910	0.9999901683	0.9999897705	0.9999819069
MEC_{IV}	0.9996554314	0.9995070746	0.9996061539	0.9996203363	0.9996047664	0.9993861968

5.4. ANÁLISIS DE LAS RELACIONES GENÉTICAS DE LAS POBLACIONES ESTUDIADAS

En el análisis interpoblacional, se evaluaron las relaciones genéticas entre las poblaciones mestizas mexicanas incluyendo algunas poblaciones de referencia (latinoamericanas, una europea y una africana). El dendograma tipo neighbour joining (NJ) a partir de los valores F_{st} se presentan en la Figura 13 Las poblaciones mestizas de México se diferencian del resto de las poblaciones latinoamericanas. En consecuencia, las poblaciones urbanas mexicanas forman un grupo en el dendograma. De forma similar, las poblaciones argentinas son genéticamente parecidas. Las poblaciones europeas forman un grupo junto con la población brasileña de Paraná, cabe mencionar que se tienen registros de una fuerte influencia europea en Paraná. Por otra parte, las demás poblaciones brasileñas no se agrupan. Las poblaciones nativo-americanas no se agrupan con ninguna población. Finalmente, la población africana se diferencia del resto de las poblaciones Iberoamericanas.

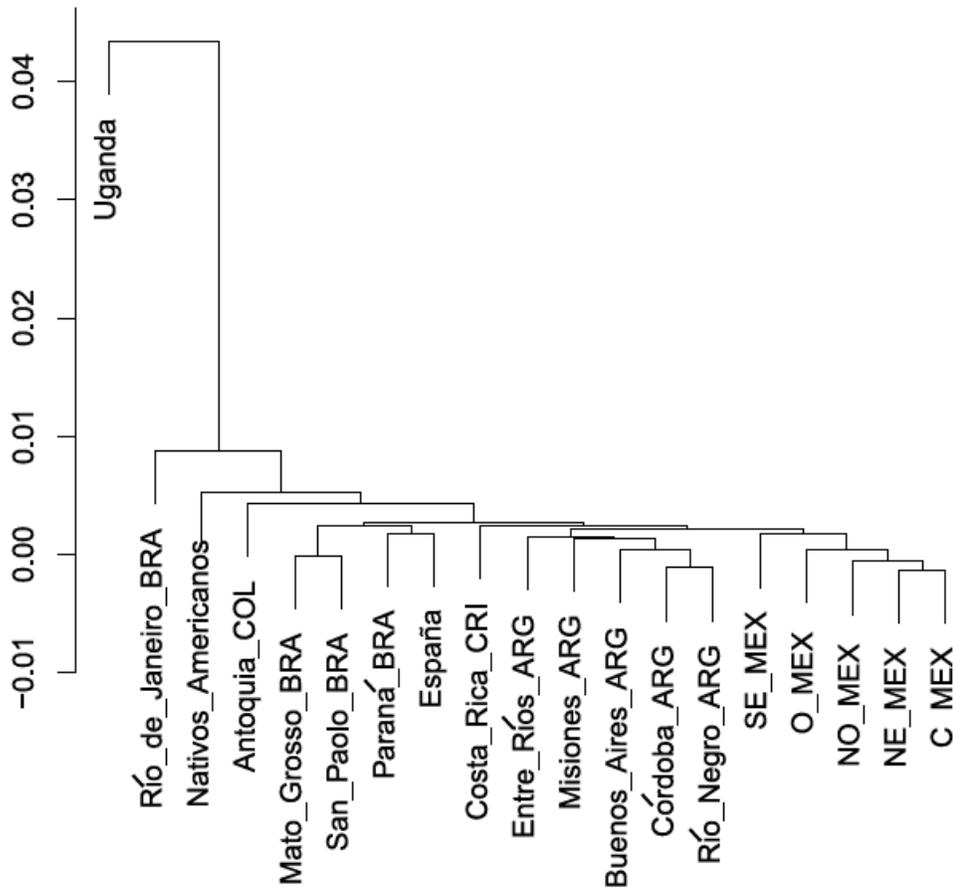


Figura 13: Dendrograma NJ a partir de las distancias F_{st}

Los AMOVAs no mostraron diferencias significativas entre las poblaciones mestizas mexicanas ($F_{st} = 0.0021$; $p = .74389$), pero sí se detectaron diferencias significativas entre las poblaciones nativo-americanas de México ($F_{st} = 0.0402$, $p = 0.0000$). Sin embargo, este último resultado debe tomarse como preliminar debido al tamaño de muestras nativo-americanas.

5.5. MODELOS DE MESTIZAJE

Los análisis no supervisados con poblaciones mestizas mexicanas mostraron que los mejores modelos son aquellos con 3k. Cada una de las poblaciones de referencia se agrupa en uno de los conjuntos. En la Figura 14 se muestra el mejor modelo no supervisado de las poblaciones mestizas mexicanas. El análisis supervisado de las poblaciones mestizas

muestra una clina genética (Figura 15). La herencia nativo-americana domina en las poblaciones mestizas de México. Sin embargo, es mayor en las poblaciones del centro y del sureste que en las poblaciones del noroeste, noreste y oeste. La población sureste en particular es la que cuenta con una mayor componente nativo-americano (69.2%) y menor el europeo (25.1%). Por otra parte, la población oeste es la que tiene menor componente nativo-americano (52.3%) y la mayor influencia europea (39%). La herencia africana es la que tiene menor presencia en las poblaciones mestizas mexicanas. La influencia africana va del 5.7% en el sureste al 8.7% en el noroeste.

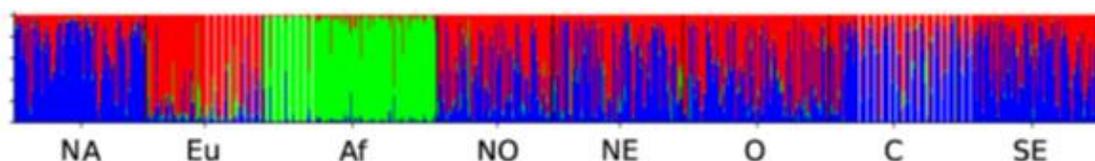


Figura 14: El modelo de mestizaje no supervisado con mejor ajuste (3k)

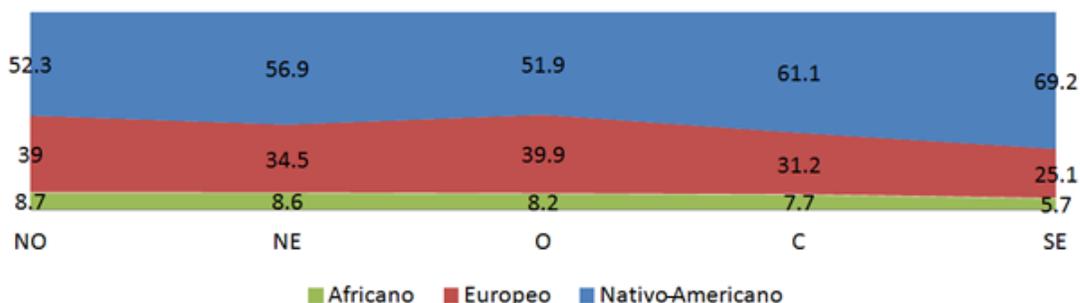


Figura 15: Análisis supervisado con las poblaciones mestizas de México

El análisis supervisado de las poblaciones latinoamericanas reveló diferencias regionales en los patrones de mestizaje en la región (Figura 16). Las poblaciones de Argentina, Colombia y Costa Rica presentan una mayor herencia europea que las poblaciones mexicanas. Por otra parte, las poblaciones brasileñas poseen una importante variación en el componente africano, esta variación explica las diferencias genéticas observadas en este país.

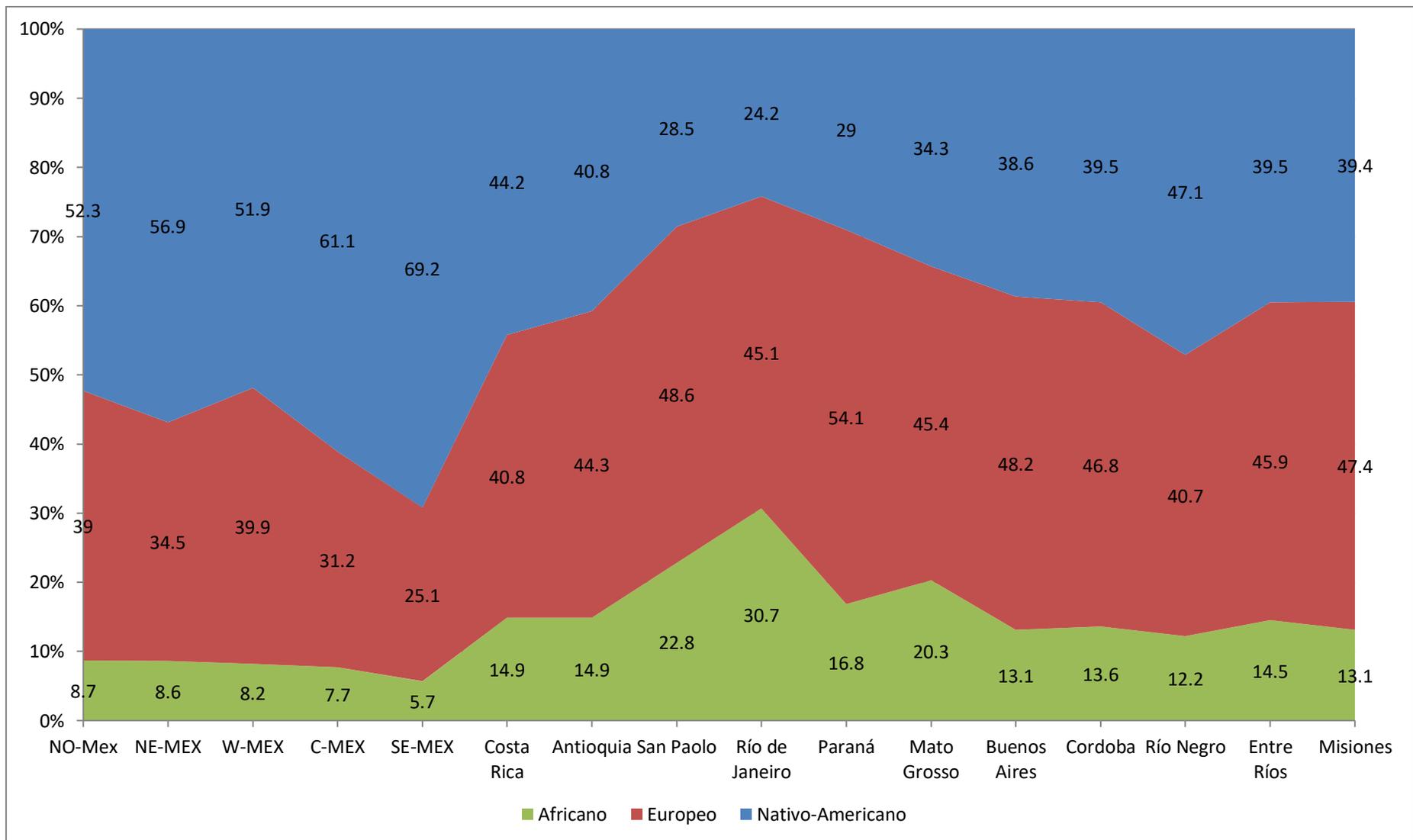


Figura 16: Análisis supervisado con las poblaciones latinoamericanas, incluyendo mestizos de diferentes regiones de México.

5.6. X-STRS Y PROCESOS DEMOGRÁFICOS

Los patrones de diversidad genética pueden dar pistas sobre algunos procesos demográficos. En este caso, se presentan los resultados de tres análisis con las poblaciones mexicanas y algunas poblaciones latinoamericanas cuyos resultados pueden relacionarse con procesos demográficos. Los valores del índice Garza-Williamson, los resultados del test de Wilcoxon y la razón entre la diversidad de los X-STRs con STRs autosómicos se muestran en la Tabla 10. Los resultados del test de Wilcoxon muestran evidencia de crecimiento de las poblaciones noroeste, noreste, oeste, centro y en la población de Buenos Aires. Mientras que la comparación entre X-STRs y STRs autosómicos muestran un crecimiento de todas las poblaciones analizadas

Tabla 10: Resultado de la prueba Wilcoxon para deficiencia de heterocigocidad, índices Garza-Williamson y razón entre la diversidad genética (H_e) entre X-STRs y A-STRs.

Población	N	Prueba de Wilcoxon Valor de P*	Índice Garza Williamson	Het X-STRs	Het A-STRs	Het** X-STRs/A-STRs
NO	92	0.00488	1.034	0.7131	0.7844	0.9090
NE	102	0.00684	1.037	0.6991	0.7737	0.9106
O	116	0.00342	1.003	0.7163	0.7773	0.9214
C	101	0.00488	1.051	0.7368	0.7545	0.9766
SE	118	0.05273	1.017	0.6961	0.7613	0.9144
Antioquia	114	0.11621	1.00317	0.7268	0.7877	0.9227
Buenos Aires	191	0.00684	1.04306	0.7328	0.8020	0.9137
Costa Rica	209	0.05273	0.98119	0.7318	0.8079	0.9058
Mato Grosso	100	0.11621	0.95182	0.7618	0.8051	0.9463
Paraná	103	0.09668	0.95455	0.7559	0.8051	0.9390
São Paulo	102	0.27832	1.04175	0.7626	0.8051	0.9472
Galicia	93	0.57715	0.98155	0.7428	0.8100	0.9170
Uganda	138	0.24609	0.96424	0.74282	0.7923	0.9376

*En negritas valores significativos (Valores de P <0.05 en prueba de una cola)

** En negritas valores superiores a 0.75

6. DISCUSIÓN

6.1. CONSIDERACIONES FORENSES DEL SISTEMA DECAPLEX

El análisis poblacional del sistema decaplex X-STR estudiado presenta varias características que los hacen una excelente herramienta para fines de identificación. Los parámetros analizados indican que son altamente informativos en casos en que haya que comparar los indicios con muestras de referencia directa o con muestras de familiares. Además, no se encontró una subestructura entre las poblaciones mestizas estudiadas, contrario a lo reportado con STRs autosómicos y Y-STRs en los que la subestructura es baja pero significativa (Salazar-Flores *et al.*, 2015; Aguilar-Velázquez *et al.*, 2018; Rangel-Villalobos *et al.*, 2008). Una baja subestructura es una cualidad que se busca en marcadores utilizados para identificación humana (Kidd *et al.*, 2006). Que esta característica esté presente en el decaplex permite asegurar que la diversidad genética observada revelará diferencias entre individuos y no entre subpoblaciones estudiadas, lo cual es esencial para casos de identificación humana. Además, esta particularidad permitió crear una base poblacional única para todas las poblaciones mestizas estudiadas.

Finalmente, cabe señalar que el presente decaplex presenta algunas desventajas a nivel forense. Al tratarse de un múltiplex casero, no se cuenta con una escalera alélica que apoye a los laboratorios de genética forense a realizar la genotipificación de las muestras. Además, hay recomendaciones de la Sociedad Internacional de Genética Forense que sugieren que el análisis de X-STRs se realice con al menos 12 marcadores (Tillmar *et al.*, 2017). Tomando en cuenta lo anterior, la mejor opción para realizar un estudio de X-STRs es el kit comercial Investigator Argus X-12 de QIAGEN, considerando que se han realizado estudios en población mexicana (Cortés-Trujillo *et al.*, 2017; 2019). Por esta razón, ya una gran cantidad de laboratorios forenses han incluido el análisis de X-STRs a la batería de tecnologías disponibles para resolver casos complejos.

6.2. LA IMPORTANCIA DE INTEGRAR LOS X-STRS EN EL QUEHACER FORENSE EN MÉXICO

Los X-STRs pueden ser una importante herramienta para incrementar el poder estadístico de las pruebas genéticas en casos de personas desaparecidas. Tristemente, hasta el 1 de enero de 2018 se registra un total de 34.656 personas desaparecidas en el país (Guevara-Bermúdez *et al.*, 2018). Habrá muchos casos en que los árboles familiares no estén integrados por los parientes más óptimos o en los que solo se tenga un solo familiar para hacer la confronta con restos humanos (Ge *et al.*, 2011). Por ejemplo, casos en los que solo se tenga la muestra de la madre o de una hija, se podría incrementar el poder estadístico de la prueba al combinar los resultados de los X-STRs con los de los STRs autosómicos y los del ADN mitocondrial. Otro de los problemas a los que se enfrentan los familiares de personas desaparecidas es que no hay laboratorios de genética forense acreditados cuyo alcance cubra el ADN mitocondrial (ANAB ANSI, 2018; EMA, 2018). En lo que se cubre esta deficiencia los laboratorios de genética forense pueden usar los X-STRs para subsanar esta carencia, como en el caso de una mujer desaparecida cuyo único familiar sea una hermana. Los sistemas basados en X-STRs también podrán ayudar en casos en que haya que identificar varios miembros de la misma familia, a solucionar casos de relaciones incestuosas y a resolver delitos sexuales (Pinto *et al.*, 2011; Lancia *et al.*, 2011). Aunque los X-STRs son herramientas que se utilizan en casos específicos de identificación humana, la información que aportan suele ser determinante para tomar una decisión definitiva sobre el parentesco o identificación, en casos de desastres masivos o de personas desaparecidas. Por lo tanto, se tiene que hacer un esfuerzo por incorporarlos a la batería de sistemas genéticos con que cuentan los laboratorios de genética forense en el país.

6.3. CONSIDERACIONES SOBRE EL ESTADO DEL ARTE DE LA GENÉTICA FORENSE EN MÉXICO

En el país se necesita un fuerte impulso a las ciencias forenses en general, incluyendo la genética forense. México cruza por una crisis humanitaria en cuestiones de personas desaparecidas (Guevara-Bermúdez *et al.*, 2018). Sin embargo, se en el sexenio pasado se

evidenció una falta de interés político por parte del estado mexicano por abordar esta problemática (Schwartz-Marin *et al.*, 2018). La cantidad de infraestructura y expertos forenses institucionales se encuentran completamente rebasados y muchas veces se le ha delegado la tarea que deberían hacer expertos forenses a familiares de desaparecidos. Entre este esfuerzo se incluyen proyectos relacionados con la genética forense (Schwartz-Marin *et al.*, 2018). Aunada a esta problemática, también tenemos una desconfianza de las instituciones forenses del país.

Hay esfuerzos importantes por parte del estado mexicano para enfrentar la crisis forense. Cabe resaltar el esfuerzo de la Comisión Nacional de Búsqueda, el Mecanismo Extraordinario de Identificación Forense y el Centro Nacional de Identificación. Sin embargo, la cantidad de presupuesto dedicada a estos programas evidenciaran si se tiene la voluntad política para enfrentar esta crisis actual o son solo simulaciones sobre la intención de encarar este problema.

6.4. CONSIDERACIONES DEMOGRÁFICAS DE LAS POBLACIONES MEXICANAS E IBEROAMERICANAS.

Los resultados observados en la comparación de la diversidad genética entre X-STRs y STRs autosómicos es congruente con un crecimiento poblacional (Cornuet & Luikart, 1996, Yang *et al.*, 2010). Como se puede ver en la figura 17, todos los países analizados con fines demográficos presentan un crecimiento poblacional entre 1960 y el 2010 (BANCO MUNDIAL, 2018). Sin embargo, la prueba de Wilcoxon solo se registró una deficiencia de heterocigotos en las poblaciones NE, NO, O y C de México y en la población de Buenos Aires. Además, los datos del Banco Mundial no reflejan un mayor crecimiento en México y Argentina que expliquen los resultados de la prueba de Wilcoxon.

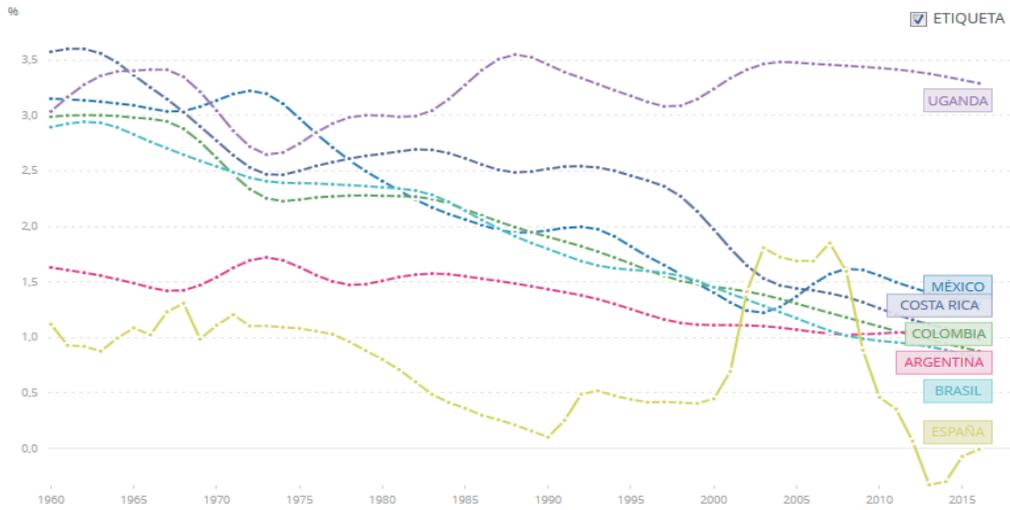


Figura 17: Porcentaje de crecimiento de los países a los que pertenecen las poblaciones estudiadas (Banco Mundial, 2018)

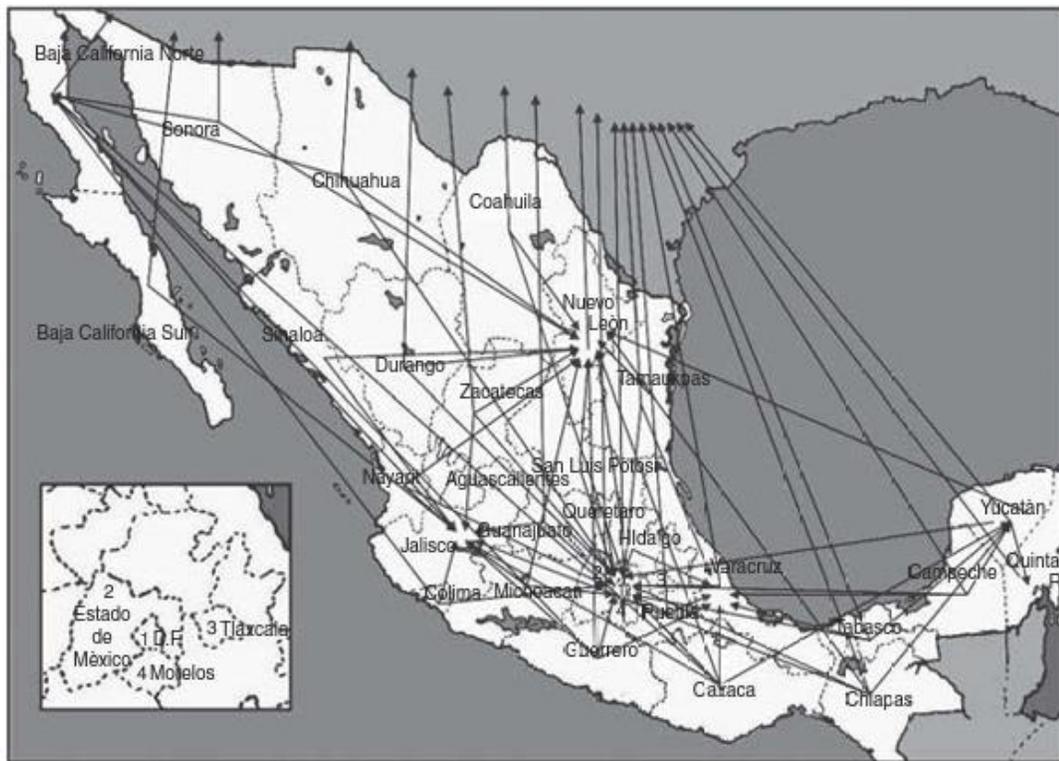


Figura 18: Patrones de migración modernos en la República Mexicana (Muñoz *et al.*, 2012).

Los fenómenos de migración podrían explicar los resultados observados en la prueba de Wilcoxon. Las migraciones pueden incorporar nuevos alelos a las poblaciones, este incremento en la diversidad genética se traducirá como un déficit de heterocigotos observados con respecto a los esperados. En este sentido, algunas de las ciudades mexicanas de las que se obtuvieron las muestras son puntos importantes de llegada y paso de migrantes (Muñoz *et al.*, 2012) (Figura 18). De forma similar se ha reportado una fuerte migración hacia Argentina en Sudamérica. (Nicolao *et al.*, 2011).

6.5. REFLEXIONES SOBRE EL MESTIZAJE Y SU INCORPORACIÓN COMO TEMA DE ESTUDIO EN EL PRESENTE PROYECTO DOCTORAL

Originalmente no tenía intención de tocar temas de mestizaje en mi proyecto doctoral. Mi propósito era generar un conocimiento en el área de genética forense que pudiera ser aplicable en los laboratorios de todo el país. Sin embargo, el tema de mestizaje se incorporó como por la recomendación de mi tutor principal y de mi comité tutorial. En consecuencia, los marcadores y gran parte del diseño del proyecto fueron elegidos para dar respuesta a los objetivos forenses. Sin embargo, también se abordaron temas de mestizaje en este trabajo.

El mestizaje es un fenómeno biológico-social por lo cual puede tomar varias connotaciones en diversas partes del mundo (Beltrán *et al.*, 2017, Marks *et al.*, 2013). En México el mestizaje tiene un valor amalgamante y nacionalista que unifica al mexicano en la raza de bronce acuñada en el poema de Amado Nervo. Pero tal como este término poético lo refiere sería importante ver qué tanto del viejo concepto se raza se amalgama en este tipo de estudios.

En general los estudios de mestizaje, es decir de poblaciones surgidas a partir de la mezcla de otras poblaciones preexistentes, normalmente toman como punto de partida muestras de ciertas zonas geográficas como puntos de referencia de poblaciones originales

para determinar la ancestaría de las poblaciones de estudio. Estas muestras de origen biogeográfico algunas veces evocan a ciertos aspectos del racismo. Por ejemplo, las muestras de origen africano evocan la “raza negra”, las muestras de origen europeo recuerdan la raza blanca y las muestras nativo-americanas la raza “India” (Beltrán *et al.*, 2017). Cabe mencionar que ninguno de estos trabajos defiende la existencia de razas, sin embargo, los conceptos de poblaciones biogeográficas ancestrales pueden traer una remembranza de los conceptos de raza de la época colonial en el imaginario de la sociedad mexicana. Además, el concepto unificante del mestizo mexicano puede provocar cierta discriminación hacia las personas que no entran en este conjunto, en especial hacia los nativos-americanos.

Este enfoque de tomar poblaciones actuales para inferir ancestría tiene dos grandes problemas. Las muestras de poblaciones actuales no representan genéticamente a las poblaciones que vivieron en esa zona geográfica en la antigüedad, esto se demuestra en estudios de ADN antiguo (Marcus *et al.*, 2019, Russo *et al.*, 2018). Además, las poblaciones actuales no están libres de mezclas. En el caso de México utilizamos poblaciones nativo-americanas, europeas y africanas como marcos de referencia. Sin embargo, poblaciones europeas como la española han tenido un proceso de mezcla a lo largo de su historia, por ejemplo, la conquista de la península Ibérica por el Califato de Omeyas. Además, las poblaciones denominadas nativo americanas actualmente no están libres de mezcla.

6.6. PATRONES DE MESTIZAJE OBSERVADOS EL CROMOSOMA X (X-STRS) Y SU RELACIÓN CON OTROS TIPOS DE HERENCIA

Cabe mencionar las limitaciones de nuestras comparaciones, ya que no se analizaron las mismas muestras con marcadores genéticos con diferentes patrones de herencia, como se ha hecho en trabajos similares publicados (Yang *et al.*, 2010). Sin embargo, los resultados que encontramos son perfectamente congruentes con los registros históricos de nuestra población, como se describe a continuación. De hecho, en estudios previos hemos visto ejercicios de integración similares (Salazar-Flores *et al.* 2011; Martínez-Cortés *et al.* 2013) cuyos

resultados han sido compatibles estudios basados en SNPs genómicos o de ancestría (Silva-Zolezzi *et al.* 2009; Moreno-Estrada *et al.* 2014; Huerta-Chagoya *et al.*, 2019).

En México los resultados encontrados con X-STRs presentan una mayor herencia nativo-americana en comparación con los resultados publicados con STRs autosómicos y SNPs genómicos, pero menor comparada con SNPs de ADNmt (Rubi-Castellanos *et al.*, 2009; Salazar-Flores *et al.*, 2015; Silva-Zolezzi *et al.*, 2009; Martínez-Cortés *et al.*, 2013). Reportes genéticos previamente publicados muestran que la herencia materna está dominada por el componente nativo-americano mientras que la paterna por el europeo (Martínez-Cortés *et al.*, 2012, Martínez-Cortés *et al.*, 2013).

En el caso de los X-STRs, esto se debe a que hay una mayor representación femenina para el componente nativo-americano que para el europeo. En otras palabras, la población nativo-americana del territorio que llamamos México, fue conquistada principalmente por varones españoles que integraron sólo un cromosoma X europeo a la población mestiza, mientras la cantidad de mujeres españolas fue mucho menor y se integró tardíamente a la población mestiza mexicana (Rangel-Villalobos *et al.* 2008, Rubi-Castellanos *et al.*, 2009, Silva-Zolezzi *et al.*, 2009, Martínez-Cortés *et al.* 2013, Cortés-Trujillo *et al.*, 2017). Sin embargo, respecto a la herencia materna definida por el ADNmt (Martínez-Cortés *et al.* 2013), se integró una mayor cantidad de cromosomas X europeos, uno por cada varón español mientras que fue casi nulo para el ADNmt. Adicionalmente, a nivel Latinoamérica también los X-STRs presenta una mayor herencia nativa-americana comparado con los STRs autosómicos (Salazar-Flores *et al.*, 2015).

Tanto con X-STRs como con otras tecnologías se observa una importante variación genética a lo largo de México. Aunque la proporción entre los componentes nativo-americano, europeo y africano varía cuando se utilizan marcadores con diferente tipo de herencia, con todas se ha registrado una variación regional similar. El componente nativo-americano tiene un incremento hacia el sur-sureste mientras que el componente europeo presenta una mayor representación hacia el norte-noroeste (Rubi-Castellanos *et al.*, 2009; Salazar-Flores *et al.*, 2015; Silva-Zolezzi *et al.*, 2009; Martínez-Cortés *et al.*, 2012, Martínez-

Cortés *et al.*, 2013, Moreno-Estrada *et al.*, 2014). Si comparamos los patrones obtenidos con X-STRs vs. STRs autosómicos (Salazar-Flores *et al.*, 2015), en ambos se ve una clina genética, pero los últimos muestran una mayor representación europea en las poblaciones del noroeste, noreste y oeste del país. En contraste, en las poblaciones del centro y sureste domina la herencia nativo-americana. Para los X-STRs, el componente nativo-americano va disminuyendo hacia las mismas poblaciones del noroeste, noreste y oeste del país, con la diferencia de que no deja de ser componente ancestral preponderante (>50%).

Por su parte, los patrones de mestizaje observados con marcadores de linajes también muestran la clina genética que se observa con X-STRs (Martínez-Cortés *et al.*, 2012; Martínez-Cortés *et al.*, 2013). Aunque la herencia nativo-americana predomina contundentemente para el linaje materno (>90%), las poblaciones del oeste y norte presentan un ligero incremento de linajes europeos llegando a valores de 7.8% o superiores, mientras que las poblaciones del centro, sur y sureste no superan el 2.7%. Por otra parte, aunque con marcadores del cromosoma Y domina la herencia europea, es evidente un incremento de la herencia nativo-americana hacia el sureste con un máximo del 50%.

Esta clina genética se observa también en marcadores genómicos (Silva-Zolezzi *et al.*, 2009; Moreno-Estrada *et al.*, 2014), donde predomina el componente europeo en el norte del país y del componente nativo-americano hacia el sureste. Los marcadores de linaje muestran como la contribución europea se relaciona con los hombres españoles que llevaron a cabo la conquista mientras que la herencia nativo-americana se relaciona con las mujeres nativo-americanas conquistadas. Sin embargo, la variación regional refleja una serie de distintos procesos históricos en las diferentes zonas geográficas del país. En los siguientes párrafos analizaremos algunos de los más importantes, sin embargo, es imposible relacionar los eventos específicos al patrón analizado.

En el caso de la zona centro, el mestizaje se cimentó bajo el régimen del latifundio. Después de la conquista se estableció un sistema tributario en la que los pueblos nativo-americanos brindaban gravamen a los conquistadores. Solo en las grandes ciudades y en los puertos se suscitaba el mestizaje. Sin embargo, durante el siglo XVI las poblaciones nativo-

americanas sufrieron un fuerte declive por epidemias. Aunado a esto, muchas de las tierras de las poblaciones nativo-americanas se deterioraron drásticamente. Como consecuencia de esto, el sistema de tributo fue sustituido por el latifundio. En este sistema los hombres nativo-americanos eran forzados a trabajar las tierras y las mujeres a realizar las labores domésticas. El latifundio propició el surgimiento de las castas y su crecimiento poblacional durante el siglo XVII (Borah & Cook, 1962; Vollmer, 1973; Rodríguez, 2018). Las poblaciones del sureste presentan una menor representación del linaje europeo porque esta zona tuvo poca afluencia de colonos. La colonización de esta zona fue independiente y comenzó 20 años después de la caída de Tenochtitlán. Además, esta zona presentó pocas actividades económicas atractivas para los europeos. Esta región no presentaba yacimientos mineros. La creación de encomiendas se dificultó por lo agreste del terreno, la constante actividad de piratería y los ataques de nativos. En consecuencia, la parte norte de la península de Yucatán quedó prácticamente sin colonizar. Además, esta región tuvo un incremento de la representación nativo-americana al volverse una zona para refugiados de la Guerra de Castas (Rodríguez, 2018).

La población del oeste presenta un incremento de la herencia europea con respecto a las poblaciones del centro y sureste. La conquista de la Nueva Galicia por parte de Nuño de Guzmán fue bastante violenta afectando fuertemente la población nativa. Después de la conquista de la zona hubo una importante migración de europeos relacionados con actividades mineras y militares. En esta región se establecieron enclaves militares de los cuales se preparaban expediciones militares hacia territorios Chichimecas. Finalmente, se dieron migraciones importantes de familias europeas y norteamericanas a estas zonas durante el siglo XIX. Estas últimas podrían explicar el incremento del linaje europeo que en los marcadores de linaje materno y cromosoma X (Rodríguez, 2018; Negrín, 2010).

La zona noroeste también presenta una importante herencia europea con respecto a las zonas centro y sureste del país. Esta zona tuvo una colonización muy lenta a través de una guerra contra los Chichimecas a lo largo de la segunda mitad del siglo XVI. En esta guerra hubo una gran participación de criollos y tlaxcaltecas. Además, hubo importantes centros mineros en Durango que atrajeron la migración y establecimiento de personas con herencia

europea. Por otra parte, no toda la colonización fue belicosa. En el caso de Sonora la colonización se dio de forma pacífica a mano de los jesuitas. Finalmente, cabe destacar que durante el siglo XIX hubo importantes migraciones de norteamericanos hacia estos territorios (Rodríguez, 2018).

La región noreste de México presenta una importante herencia europea. Al igual que la región noroeste, esta región estaba ocupada por hostiles pueblos Chichimecas. Los primeros colonos fueron expulsados por los pueblos autóctonos. Durante el siglo XVII se llevó la reconquista de esta región. En esta campaña participaron una gran cantidad de militares de descendencia europea. Después de la reconquista se establecieron encomiendas. Las poblaciones nativo-americanas eran secuestradas, puestas en cautiverio en condiciones infrahumanas (con altas tasas de mortalidad), obligándolas a trabajar y liberadas al final de la época de trabajos; manteniendo a mujeres y niños como rehenes. Finalmente, durante el siglo XIX se registraron importantes migraciones de norteamericanos a esta región que permanecía muy despoblada.

7. CONCLUSIONES

A partir del análisis del sistema decaplex de X-STRs en muestras de poblaciones mestizas mexicanas y su comparación con estudios previos en México:

- Se obtuvieron parámetros estadísticos de importancia forense del sistema decaplex en poblaciones mexicanas.
- Los marcadores están en equilibrio Hardy-Weinberg y de ligamiento
- Aunque no presentan DL, por su cercanía física se estimaron frecuencias haplotípicas entre DXS6809 y DXS6789
- El PDm es > 0.99999 y el Pdf > 0.99999999 , lo que demuestra su gran capacidad de discriminación en poblaciones mexicanas.
- El MECI fue 0.99, mientras MECII y MECIII fueron > 0.9999 , y MECIV fue > 0.999 , lo cual describe su eficiencia para probar hipótesis de parentesco en México
- Se observó una baja y no significativa subestructura poblacional, menor a la observada con otros patrones de herencia (A-STRs, Y-STRs), lo que posibilita unificar bases de datos regionales.
- Sin embargo, fue evidente una moderada clina genética en poblaciones mestizas donde predomina la herencia nativo-americana hacia el sureste del país
- La ancestría nativo-americana con X-STRs es mayor a la descrita con A-STRs, pero menor que con ADNmt.
- La razón X-STRs/A-STRs permitió inferir procesos de expansión/crecimiento poblacional, probablemente por flujo génico importante.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguilar-Velázquez J.A., Martínez-Cortés G., Inclán-Sánchez A., Favela-Mendoza A.F., Velarde-Félix J.S., Rangel-Villalobos H., *Forensic parameters and admixture in Mestizos from five geographic regions of Mexico based on 20 autosomal STRs (Powerplex 21 system)*, International Journal of Legal Medicine. (2018) 1–4.

Amador S.D., Matus-Giraldo A.N., Tulena-Salom J.C., Triana-González P.D., *Justicia transicional: su contenido y significado. Una breve aproximación al caso colombiano*, Cuaderno de Derecho Penal. 2 (2009) 37–78.

ANAB ANSI-ASQ National Accreditation Board, (2018). <https://www.anab.org/>.

Auton A, Abecasis G.R., Altshuler D.M., Durbin R.M., Bentley D.R., Chakravarti A., Schloss J.A, *A global reference for human genetic variation*, Nature. 526 (2015) 68–74.

BANCO MUNDIAL / CRECIMIENTO POBLACIONAL, (2018). <https://datos.bancomundial.org/indicador/SP.POP.GROW?locations=MX&view=chart>

Beltrán C. L., Wade P., Restrepo E., & Santos R. V., *Genómica mestiza: Raza, nación y ciencia en Latinoamérica*. Fondo de Cultura Económica. (2017) 432

Bobillo C., Marino M., Sala A., Gusmão L., Corach D., *X-STRs: Relevance in complex kinship cases*, Forensic Science International: Genetics Supplement Series. 1 (2008) 496–498.

Borah W., Cook S.F., *La despoblación del México central en el siglo XVI*, Historia mexicana. 12 (1962) 1–12.

Botstein D., White R.L., Skolnick M., Davis R.W., *Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms*, American journal of human genetics. 32 (1980) 314–31.

Budowle B., Budowle B., Moretti T.R., Niezgoda S.J, Brown B.L., *CODIS and PCR-Based Short Tandem Repeat Loci: Law Enforcement Tools*, In Second European symposium on human identification. (1998) 73–88.

Butler J.M., *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Interpretation*, Academic Press. (2014) 585

Butler J.M., *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology*, Academic Press. (2012) 680

Butler J.M., *Fundamentals of Forensic DNA Typing*, Academic Press. (2010) 500

Butler J.M., *Genetics and genomics of core short tandem repeat loci used in human identity testing*, Journal of forensic sciences. 51 (2006) 253–265.

Butler J.M., Hill C.R., *Biology and Genetics of New Autosomal STR Loci Useful for Forensic DNA*, Forensic Science Review. 4049 (2012) 15–26.

Butler J.M., *The future of forensic DNA analysis.*, Philosophical transactions of the royal society B: biological sciences. 370 (2015) 1–10.

Cainé L., Carvalho R., Costa S., Pereira M.F., Pinheiro M.F., *Interest of X chromosome (Argus X-12 kit) in complex kinship analysis*, Forensic Science International: Genetics Supplement Series. 3 (2011) 206–207.

Cerda-Flores R. M., Budowle B., Jin L., Barton S. A., Deka R., Chakraborty, R., *Maximum likelihood estimates of admixture in Northeastern Mexico using 13 short tandem repeat loci*. American Journal of Human Biology: The Official Journal of the Human Biology Association 14.4 (2002): 429-439.

Chakraborty R., *Sample size requirements for addressing the population genetic issues of forensic use of DNA typing*, Human biology. 64 (1992) 141–159.

Champod C., *Overview and meaning of identification/individualization*, in Encyclopedia of Forensic Sciences, 2nd ed., Elsevier. (2000) 303-309

Cornuet J. M., Luikart G., *Description and Power Analysis of Two Tests for Detecting Recent Population Bottlenecks from Allele Frequency Data*, Genetics. 144 (1996) 2001–2014.

Cortés-Trujillo I., Martínez-Cortés G., Rangel-Villalobos H., *Demographic processes of the Mexican population from X-STRs included in the Investigator Argus X-12 Kit* Forensic Science International: Genetics Supplement Series. 6 (2017a) e494–e496.

Cortés-Trujillo I., Ramos-González B., Salas-Salas O., Zuñiga-Chiquette F., Zetina Hernández A., Martínez-Cortés G., Ruiz-Hernández M., González-Martín A., Ferragut J.F., Rangel-Villalobos H., *Forensic efficiency parameters of the Investigator Argus X-12 kit in women from two Mestizo and seven Amerindian populations from Mexico*, Legal Medicine. 26 (2017b) 62–64.

Desmarais D., Zhong Y., Chakraborty R., Perreault C., Busque L., *Development of a highly polymorphic STR marker for identity testing purposes at the human androgen receptor gene (HUMARA)*. Journal of Forensic Science. 43 (1998)1046–1049

Diegoli T.M., *Forensic typing of short tandem repeat markers on the X and Y chromosomes*, Forensic Science International: Genetics. 18 (2015) 140–151.

Earl D.A., von Holdt B.M., *STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method*, Conservation genetics resources. 4 (2012) 359–361.

EMA, (2018). http://www.ema.org.mx/portal_v3/.

Evett I.W., Gill P., *A discussion of the robustness of methods for assessing the evidential value of DNA single locus profiles in crime investigations*, *Electrophoresis*. 12 (1991) 226–230.

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

Falush D, Matthew S, Pritchard J K., *Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data: Linked Loci and Correlated Allele Frequencies*. *Genetics* 164, 4 (2003) 1567-1587

Falush D, Matthew S, Pritchard J K., *Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles*, *Molecular ecology notes*. 7,4 (2007) 574-578

Feuk L., Carson A.R., Scherer S.W., *Structural variation in the human genome*, *Nature Reviews Genetics*. 7 (2006) 85–97.

Fisher R.A., *Standard calculations for evaluating a blood-group system*, *Heredity*. 5 (1951) 95–102.

Fridman C., dos Santos P C C., Kohler P., Garcia C F., López L F., Massad E., Gattás G J F. *Brazilian population profile of 15 STR markers*, *Forensic Science International, Genetics* 2 (2008) e1–e4

Fung W.K., Hu Y.Q., *Statistical DNA Forensics: Theory, Methods and Computation*, John Wiley & Sons Ltd. (2008) 239

Garcia J., Williamson E., *Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci*, *Molecular ecology*. 10 (2001) 305–318.

García-Aceves M.E., Romero Rentería O., Díaz-Navarro X.X., Rangel-Villalobos H., *Paternity tests in Mexico: Results obtained in 3005 cases*, *Journal of Forensic and Legal Medicine*. 55 (2018) 1–7.

Ge J., Budowle B., Chakraborty R., *Choosing Relatives for DNA Identification of Missing Persons*, *Journal of forensic sciences*. 56 (2011) S23–S28.

Gettings K.B., Aponte R.A., Vallone P.M., Butler J.M., *STR allele sequence variation: Current knowledge and future issues*, *Forensic Science International: Genetics*. 18 (2015) 118–130.

Gill P., Fereday L., Morling N., Schneider P.M., *The evolution of DNA databases - Recommendations for new European STR loci*, *Forensic Science International*. 156 (2006) 242–244.

Goldin L.R., *Principles of population genetics*, American Journal of Human Genetics. 34 (1982) 148.

Gomes I., Amorim A., Pereira V., Carracedo A., Gusmão, L., *Genetic patterns of 10 X chromosome short tandem repeats in an Asian population from Macau*, Forensic Science International: Genetics Supplement Series. 2 (2009^a) 402–404.

Gomes I., Pereira V., Gomes V., Prata M.J., Pinto N., Carracedo A., Amorim A., Gusmão L., *The Karimojong from Uganda: Genetic characterization using an X-STR decaplex system*, Forensic Science International: Genetics. 3 (2009^b) e127–e128.

Gonzalez-Herrera L., Vega-Navarrete L., Roche-Canto C., Canto-Herrera J., Virgen-Ponce D., Moscoso-Caloca G., Delgado-Nájar E., Quintanilla-Vega B., Cerda-Flores R. M., *Forensic parameters and genetic variation of 15 autosomal STR Loci in Mexican Mestizo populations from the States of Yucatan and Nayarit. The Open Forensic Science Journal* 3.1 (2010).57-63

Gorodezky C., Alaez C., De Rosa G., Infante E., Balladares S., Toribio R., Mun L., *The Genetic Structure of Mexican Mestizos of Different Locations: Tracking Back Their Origins Through MHC Genes, Blood Group Systems, and Microsatellites*, Human immunology. 62 (2001) 979-991.

Guardado-Estrada M., Juarez-Torres E., Medina-Martinez I., Wegier A., Macías A., Gomez G., Cruz-Talonia F., Roman-Bassaure E., Piñero D., Kofman-Alfaro S., Berumen J., *A great diversity of Amerindian mitochondrial DNA ancestry is present in the Mexican mestizo population.*, Journal of human genetics. 54 (2009) 695–705.

Guevara-Bermúdez J.A., Chávez-Vargas L.G., *La impunidad en el caso de la desaparición forzada en México*, EUNOMÍA. Revista en Cultura de la Legalidad. 14 (2018) 162–174.

Gusmão L., Sánchez-Diz P., Alves C., Gomes I., Zarrabeitia M.T., Abovich M., Atmetlla I., Bobillo C., Bravo L., Builes J., Cainé L., Calvo R., Carvalho E., Carvalho M., Cicarelli R., Catelli L., Corach D., Espinoza M., García O., Malaghini M., Martins J., Pinheiro F., Porto M. J., Raimondi E., Riancho J. A., Rodríguez A., Rodríguez A., Rodríguez-Cardozo B., Schneider V., Silva S., Tavares C., Toscanini U., Vullo C., Whittle M., Yurrebaso I., Carracedo A., Amorim A., *A GEP-ISFG collaborative study on the optimization of an X-STR decaplex: Data on 15 Iberian and Latin American populations*, International journal of legal medicine. 123 (2009) 227–234.

Hares D.R., *Selection and implementation of expanded CODIS core loci in the United States*, Forensic Science International: Genetics. 17 (2015) 33–34.

Holt C.L., Buoncristiani M., Wallin J.M., Nguyen T., Lazaruk K. D., Walsh P.S., *TWGDAM Validation of AmpFI STR™ PCR Amplification Kits for Forensic DNA Casework*, Journal of Forensic Science. 47 (2002) 66–96.

Huerta-Chagoya A., Moreno-Macias H., Fernandez-Lopez J. C., Ordoñez-Sanchez M. L., Rodriguez-Guillen R., Contreras A., Hidalgo-Miranda A., Alfaro-Ruiz L. A., Salazar-Fernandez E. P., Moreno-Estrada A., Aguilar-Salinas C. A., Tusié-Luna T., *A panel of 32 AIMs suitable for population stratification correction and global ancestry estimation in Mexican mestizos*. BMC genetics. 20-5 (2019)1-11

J. Salazar-Flores, R. Dondiego-Aldape, R. Rubi-Castellanos, M. Anaya-Palafox, I. Nuño-Arana, Canseco-Ávila L.M., Flores-Flores G., Morales-Vallejo M.E., Barojas-Pérez N., Muñoz-Valle J.F., Campos-Gutiérrez R., Rangel-Villalobos H., *Population structure and paternal admixture landscape on present-day Mexican-Mestizos revealed by Y-STR haplotypes*, American Journal of Human Biology. 22 (2010) 401–409.

Jeffreys A.J., *Genetic fingerprinting*, Nature Medicine. 11 (2005) 1035–1039.

Jobling M., Hollox E., Hurles M., Kivisild T., Tyler-Smith C., *Human Evolutionary Genetics*, second edition, Garland Science. (2014) 670

Jones D.A., *Blood Samples: Probability of Discrimination*, Journal of the Forensic science Society. 12 (1972) 355–359.

Kidd K.K., Pakstis A.J., Speed W.C., Grigorenko E.L., Kajuna S.L.B., Karoma N.J., Kungulilo S., Kim J.J., Lu R.B., Odunsi A., Okonofua F., Parnas J., Schulz L.O., Zhukova O. V., Kidd J.R., *Developing a SNP panel for forensic identification of individuals*, Forensic science international. 164 (2006) 20–32.

Kimpton C., Fisher D., S. Watson S., Adams M., Urquhart A., Lygo J., Gill P., *Evaluation of an automated DNA profiling system employing multiplex amplification of 4 tetrameric STR loci*, International journal of legal medicine. 106 (1994) 302–311.

Kimpton C.P., Oldroyd N.J, Watson S.K., Frazier R.R.E., Johnson P.E., Millican E.S., Urquhart A., Sparkes B.L., Gill P., *Validation of highly discriminating multiplex short tandem repeat amplification systems for individual identification*, Electrophoresis. 17 (1996) 1283–1293.

Kishida T, Wang W, Fukuda M, Tamaki Y. *Duplex PCR of the Y-27H39 and HPRT loci with reference to Japanese population data on the HPRT locus*. Nippon Hoigaku Zasshi 51 (1997) 67–69

Kling D., Dell'Amico B., Tillmar A.O., FamLinkX - *Implementation of a general model for likelihood computations for X-chromosomal marker data*, Forensic Science International: Genetics. 17 (2015) 1–7.

Kling D., Tillmar A., Egeland T., Mostad P., *A general model for likelihood computations of genetic marker data accounting for linkage, linkage disequilibrium, and mutations*, International journal of legal medicine. 129 (2014) 943–954.

Krüger J, Fuhrmann W, Lichte KH, Steffens C., *Zur Verwendung der sauren Erythrocytenphosphatase bei der Vaterschaftsbegutachtung*, Deutsche Zeitschrift für die gesamte gerichtliche Medizin 64 (1968) 127–146

Lancia M., Severini S., Coletti A., Margiotta G., Dobosz M., Carnevali E., *Using X-chromosomal markers in rape investigation*, Forensic Science International: Genetics Supplement Series. Ser. 3 (2011) e55–e56.

Lins A.M., Micka K.A., Sprecher C.J., Taylor J.A., Bacher J.W., D., Rabbach D.R., Bever R.A., Creacy S.D., Schumm J.W., *Development and Population Study of an Eight-Locus Short Tandem Repeat (STR) Multiplex System*, Journal of Forensic Science 43, 6(1998) 1168-1180.

Luna-Vazquez A., Vilchis-Dorantes G., Aguilar-Ruiz M. O., Bautista-Rivas A., Rojo-Nava A. L., Rios-Barrios E., & Rangel-Villalobos, H.. *Population data for 15 loci (Identifiler®Kit) in a sample from the Valley of Mexico*. Legal Medicine, 7(5), (2005) 331-333.

Marcus J. H., Posth C., Ringbauer H., Lai L., Skeates R., Sidore C., Beckett J., Furtwängler A., Olivieri A., Chiang C., Al-Asad H., Dey K., Joseph T. A., Sarkissian C. D., Radzeviciut' R., Gradoli M. G., Haak W., Reich D., Schlessinger D., Cucca F., Krause J., Novembre, J.. *Population history from the Neolithic to present on the Mediterranean island of Sardinia: An ancient DNA perspective*. BioRxiv, (2019) 1-26.

Marino M., Sala A., Corach D.. *Population genetic analysis of 15 autosomal STRs loci in the central region of Argentina*. Forensic Science International, 161(1), (2006) 72-77.

Martin P.D., Schmitter H., Schneider P.M., *A brief history of the formation of DNA databases in forensic science within Europe*, Forensic science international. 119 (2001) 225–231.

Martínez-Cortés G., Salazar-Flores J., Fernández-Rodríguez L. G., Rubi-Castellanos R., Rodríguez-Loya C., Velarde-Félix J.S., Muñoz-Valle J.F., Parra-Rojas I., Rangel-Villalobos H., *Admixture and population structure in Mexican-Mestizos based on paternal lineages*, Journal of Human Genetics. 57 (2012) 568–574. doi:10.1038/jhg.2012.67.

Martínez-Cortés G., Salazar-Flores J., Haro-Guerrero J., Rubi-Castellanos R., Velarde-Félix J.S., Muñoz-Valle J.F., López-Casamichana M., Carrillo-Tapia E., Canseco-Avila L.M., Bravi C.M., López-Armenta M., Rangel-Villalobos H., *Maternal admixture and population structure in Mexican-Mestizos based on mtDNA haplogroups*, American Journal of Physical Anthropology. 151 (2013) 526–537.

Martínez-González L. J., Martinez-Espin E., Fernandez-Rosado F., Moguel M. A., Entrala C., Alvarez, J. C., Lorente.J. A., Budowle B., *Mexican population data on fifteen STR loci (Identifiler® kit) in a Chihuahua (North Central Mexico) sample*. ASTM International. 50(2005) 1-3

Miller S.A., Gallie D.R., Sleat D.E., Watts J.W., Turner P.C., Wilson T.M., *A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells*, *Nucleic Acids Res.* 16 (1988) 883–893.

Moreno-Estrada A., Gignoux C.R., Fernández-López J.C., Zakharia F., Sikora M., ... Bustamante C.D., *The genetics of Mexico recapitulates Native American substructure and affects biomedical traits.*, *Science.* 344 (2014) 1280–5.

Muñoz M.D.L., Ramos E., Díaz-Badillo A., Morález-Gómez M.C., Gómez R., Pérez-Ramírez G., *Migration of pre-Hispanic and contemporary human Mexican populations.*, in *Causes and Consequences of Human Migration: An Evolutionary Perspective*, 1st ed., Cambridge University Press (2012) 417-435.

Negrín-da-Silva D., *Guadalajara de las Indias: Quinientos años de construcción étnica en la Perla Tapatá*, Lucero. 21 (2010).

Nicolao J., *Migraciones intrarregionales en Sudamérica*, *Boletín Elcan* 134 (2011) 1–10.

National Research Council NRC-II, *The Evaluation of Forensic DNA Evidence (NRC-II)*, : National Academy Press. (1996) 254

Ohno Y., Sebetan I.M., Akaishi S., *A simple method for calculating the probability of excluding paternity with any number of codominant alleles*, *Forensic Science International.* 19 (1982) 93–98.

Open-Society, *Atrocidades Innegables. Confrontando crímenes de lesa humanidad en México*, Open Society Foundation (2016)

Pinto N., Gusmao L., Amorim A., *X-chromosome markers in kinship testing: A generalisation of the IBD approach identifying situations where their contribution is crucial*, *Forensic Science International: Genetics.* 5 (2011) 27–32.

Pool J.E., Nielsen R., *Population size changes reshape genomic patterns of diversity*, *Evolution.* 61 (2007) 3001–3006.

Porrás L., *et al.*, *Genetic polymorphism of 15 STR loci in central western Colombia*. *Forensic Science International: Genetics* 2.1 (2008) e7-e8.

Prinz M., Carracedo A., Mayr W.R., Morling N., Parsons T.J., Sajantila A., Scheithauer R., Schmitter H., Schneider P.M., *DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG): Recommendations regarding the role of forensic genetics for disaster victim identification (DVI)*, *Forensic Science International: Genetics.* 1 (2007) 3–12.

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

Rangel-Villalobos H., *Identificación Humana*. In *Genética clínica*, 2nd ed., *El Manual Moderno*. (2019) 1-14

Rangel-Villalobos H., *La prueba de paternidad con ADN*, Noticonaquic. 18 (49) (2010) 40-51

Rangel-Villalobos H., Martínez-Sevilla V. M., Martínez-Cortéz G., Aguilar-Velazquez J. A., Sosa-Macías M., Rubí-Castellanos R., González-Martín A. *Importance of the Geographic Barriers to Promote Gene Drift and Avoid Pre- and Post-Columbian GeneFlow in Mexican Native Groups: Evidence from Forensic STR Loci*, American journal of physical anthropology. 160-2(2016) 298-316

Rangel-Villalobos H., Muñoz-Valle J.F., González-Martín A., Gorostiza A., Magaña M.T., Páez-Riberos L.A., *Genetic admixture, relatedness, and structure patterns among Mexican populations revealed by the Y-chromosome*, American journal of physical anthropology. 135 (2008) 448–461.

Rodríguez A., Arrieta G., Sanóu I., Vargas M C., García O., Yurrebasco I., Pérez J A., Villalta M., Espinoza M. *Population genetic data for 18 STR loci in Costa Rica*. Forensic Science International. 168 (2007) 85–88.

Rodríguez Z.L., *Población, migración y mestizaje en México: época prehispánica-época actual*, Instituto Nacional de Antropología e Historia, (2018) 333

Rubi-Castellanos R., Martínez-Cortés G., Muñoz-Valle J.F., González-Martín A., Cerda-Flores R.M., Anaya-Palafox M., Rangel-Villalobos H., *Pre-hispanic Mesoamerican demography approximates the present-day ancestry of Mestizos throughout the territory of Mexico*, American journal of physical anthropology. 139 (2009) 284–294.

Russo, M. G., Mendisco, F., Avena, S. A., Crespo, C. M., Arencibia, V., Dejean, C. B., & Seldes, V. (2018). Ancient DNA reveals temporal population structure within the South-Central Andes area. *American journal of physical anthropology*, 166(4), 851-860.

Salazar-Flores J., Zuñiga-Chiquette F., Rubi-Castellanos R., Álvarez-Miranda J.L., Zetina-Hernández A., Martínez-Sevilla V.M., González-Andrade F., Corach D., Vullo C., Álvarez J.C., Lorente J.A., Sánchez-Diz P., Herrera R.J., Cerda-Flores R.M., Muñoz-Valle J.F., Rangel-Villalobos H., *Admixture and genetic relationships of Mexican Mestizos regarding Latin American and Caribbean populations based on 13 CODIS-STRs*, Homo - Journal of Comparative Human Biology. 66 (2015) 44–59.

Schneider P.M., *Scientific standards for studies in forensic genetics*, Forensic science international. 165 (2007) 238–243.

Schwartz-Marín E., *Antígona y su biobanco de ADN: desaparecidos, búsqueda y tecnologías forenses en México*, Athenea Digital. 18 (2018) 129–153.

Silva-Zolezzi I., Hidalgo-Miranda A., Estrada-Gil J., Fernández-Lopez J.C., Uribe-Figueroa L., Contreras A., Balam-Ortiz E., del Bosque-Plata L., Velázquez-Fernández D., Lara C., Goya R., Hernandez-Lemus E., Davila C., Barrientos E., March S., Jimenez-Sanchez G.,

Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in Mexico., Proceedings of the National Academy of Sciences. 106 (2009) 8611–8616.

Szibor R., *X-chromosomal markers: Past, present and future*, Forensic Sci. Int. Genet. 1 (2007) 93–99.

Thangaraj K., Reddy A.G., Singh L., *Is the Amelogenin gene reliable for gender identification in forensic casework and prenatal diagnosis?*, International journal of legal medicine. 116 (2002) 121–123.

The Committee on Identifying the Needs of Forensic Sciences Community, National Council Research (NRC), *Strengthening Forensic Science in the United States: A Path Forward*, The National Academies Press. (2009) 348

Tillmar A.O., Egeland T., Lindblom B., Holmlund G., Mostad P., *Using X-chromosomal markers in relationship testing: Calculation of likelihood ratios taking both linkage and linkage disequilibrium into account*, Forensic Science International: Genetics. 5 (2011) 506–511.

Tillmar A.O., Kling D., Butler J.M., Parson W., Prinz M., Schneider P.M., Egeland T., Gusmão L., DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG): *Guidelines on the use of X-STRs in kinship analysis*, Forensic Science International: Genetics. 29 (2017) 269–275.

Tillmar A.O., Mostad P., Egeland T., Lindblom B., Holmlund G., Montelius K., *Analysis of linkage and linkage disequilibrium for eight X-STR markers*, Forensic Science International: Genetics. 3 (2008) 37–41.

Vollmer G., *La evolución cuantitativa de la población nativo-americano en la región de Puebla*, Historia mexicana. 23 (1973) 43–51.

Werrett D.J., *The National DNA Database*, Forensic Science International. 88 (1997) 33–42.

Willems T.F., Gymrek M., Highnam G., Mittelman D., Erlich Y., *The landscape of human STR variation*, Genome research. (2014) 1894–1904.

Yang NN, Mazleres S, Bravi Claudio, Ray N, Wanj S, Burley MW, Bedoya G, Rojas W, Parra M. V., Molina J. A., 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., M. Salzano F. M., Bortolini M. C., Excoffier L., Dugoujon J. M., Ruiz-Linares A. *Contrasting Patterns of Nuclear and mtDNA Diversity in Native American Populations*. Annals of human genetics 74 (2010) 525-538

Zietkiewicz E., Witt M., Daca P., Zebracka-Gala J., Goniewicz M., Jarzab B., Wit M.t, *Current genetic methodologies in the identification of disaster victims and in forensic analysis*, Journal of applied genetics. 53 (2012) 41–60.

9. ANEXO 1 (ARTÍCULO DE REQUISITO)



Contents lists available at ScienceDirect

Legal Medicine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/legalmed

Forensic parameters of the X-STR Decaplex system in Mexican populations

C. Mariscal Ramos^a, G Martínez-Cortes^b, B Ramos-González^c, H Rangel-Villalobos^{b,*}^a Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, (UNAM), Ciudad Universitaria, México DF, Mexico^b Instituto de Investigación en Genética Molecular, Centro Universitario de la Ciénega, Universidad de Guadalajara (CUCIénega-UdeG), Ocotlán, Jalisco, Mexico^c Laboratorio de Genética Forense, Instituto de Criminalística y Servicios Periciales, Procuraduría General de Justicia, Nuevo León, Mexico

ARTICLE INFO

Keywords:
X-STRs
Human identification
Decaplex
Mexican population

ABSTRACT

We studied the X-STR decaplex system in 529 DNA female samples of Mexican populations from five geographic regions. Allele frequencies and forensic parameters were estimated in each region and in the pooled Mexican population. Genotype distribution by locus was in agreement with Hardy-Weinberg expectations in each Mexican population sample. Similarly, linkage equilibrium was demonstrated between pair of loci. Pairwise comparisons and genetic distances between Mexican, Iberoamerican and one African populations were estimated and graphically represented. Interestingly, a non-significant interpopulation differentiation was detected ($F_{st} = 0.0021$; $p = .74389$), which allows using a global Mexican database for forensic interpretation of X-STR genotypes.

1. Introduction

Short Tandem Repeats of the X-chromosome (X-STRs) have demonstrated to be informative in forensic casework [1,2]. However, few X-STR systems have been studied in the Mexican population [3], which is characterized by different levels of admixture originated after the European contact.

2. Population

We studied DNA of 529 female volunteers who signed an informed consent endorsed by the Research Ethical Committee of the local University (COMMITTED FOR REVISION PURPOSES). Samples were taken from the following five geographic regions, taking into account the population structure previously described [4–6]: northwest (NW), including the states of Chihuahua, Durango, Sinaloa, and Sonora; northeast (NE), comprising the states of Coahuila, Nuevo Leon, San Luis Potosí, and Tamaulipas; west (W), represented by the Jalisco state; center (C), including Mexico City and the states of Mexico, Guanajuato, Hidalgo, Morelos, Puebla, and Queretaro; and southeast (SE), comprising the states of Chiapas, Quintana Roo, and Yucatan (Fig. 1).

3. Extraction

DNA was extracted from blood stains collected on FTA paper using Whatman® FTA® Purification Reagent (Sigma-Aldrich), as well as from

swab samples by means of the DNA IQ System (Promega Corp., Madison WI).

4. DNA typing

Amplification was carried out according to the protocol described by Gusmão et al. [7] for the following loci: DXS8378, DXS9902, DXS7132, DXS9898, DXS6809, DXS6789, DXS7133, GATA172D05, GATA31E08, and DXS7423. Amplified products were analyzed with the ABI Prism 3130 genetic analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA). Genotypes were obtained with the Genemapper® 3.2 software. The 9947A sample was used as reference for bin adjustment, positive control, and allele calling, as previously described [7].

5. Quality control

Proficiency testing of the Spanish and Portuguese-Speaking Working Group of the International Society for Forensic Genetics (<https://ghep-isfg.org/>).

6. Analysis of data

Allele frequencies and forensic parameters were calculated with the Arlequin 3.5.2.2 software [8] and using the web tool available in the X-STR database (<http://www.chrx-str.org/>). The combined power of discrimination in females (PDF) and median exclusion chance (MEC) for

* Corresponding author at: Instituto de Investigación en Genética Molecular, Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de la Ciénega (CUCIénega-UdeG), Av. Universidad #1115, Col. Paso Blanco, CP 47810, Ocotlán, Jalisco, México.

E-mail addresses: hrangel13@hotmail.com, hrangel@cuciuudg.mx (H. Rangel-Villalobos).

<https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2017.12.013>

Received 25 August 2017; Received in revised form 10 November 2017; Accepted 28 December 2017

Available online 29 December 2017

1344-6223/© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

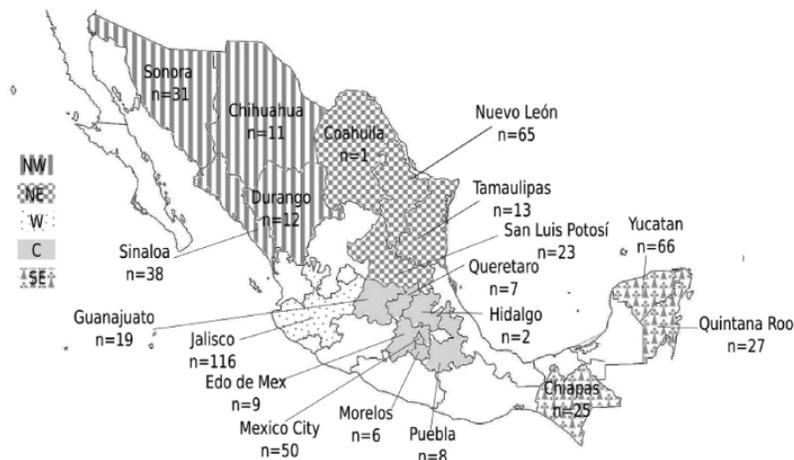


Fig. 1. Geographic location and sample size of the Mexican population samples studied herein.

the X-STR Decaplex system were estimated in the pooled Mexican population sample and each geographic region. Because DXS6809 and DXS6789 are physically close [6], their haplotype frequencies were estimated with the PHASE 2.1.1. software [9]. In addition, pairwise F_{st} p-values and F_{st} distances were computed with the Arlequin software between Mexican populations including Iberoamerican [7] and Uganda [10] populations. Genetic relationships were estimated by F_{st} distances that were graphically presented in a neighbor-joining (NJ) tree.

7. Results

Table 1, Supplementary Tables S1–S7, and Supplementary Fig. S1.

8. Access of data

Available upon request.

9. Other remarks

Allele frequencies and forensic parameters were estimated in each geographic region (Supplementary Tables S1–S5) and in the pooled Mexican population (Table 1). The combined PDF and MEC values for the X-STR Decaplex system in Mexican population samples were > 99.8% (Table S6). Genotype distribution of each X-STR locus and population sample were in agreement with Hardy-Weinberg expectations. Similarly, linkage disequilibrium (LD) tests demonstrated no association between pairs of loci in the Mexican population samples, excepting between DXS6809 and DXS6789 in the central region ($p < .0011$; Bonferroni correction). Although DXS6809-DXS6789 haplotype frequencies are reported (Table S7), our results enforce the conclusion of the main previous study regarding the use of single-locus allele

frequencies to predict the haplotype frequencies [7]. NJ tree of genetic distances clustered Mexican populations in the same root (Fig. S1); conversely, they were different to most of the Iberoamerican and African populations, excepting to three Argentinean populations: Córdoba, Misiones and Río Negro (Table S8). Genetic relationships between Iberoamerican populations are not described because this was done previously [7]. Among the Mexican population regions, only the Southeast (SE) region displayed differences with the Northwest (NE) and West (W) regions. In agreement with the few significant F_{st} p-values observed in the pairwise comparisons between Mexican populations (Table S3), AMOVA test showed a non-significant population structure ($F_{st} = 0.0021$; $p = .74389$). This was unexpected because significant differentiation has been previously described with another genetic systems between Mexican populations [3–5]. The lesser quantity of European X-chromosomes brought by Spaniard males during and after the Conquest, in addition to the particular inheritance of the X-chromosome, probably has originated lesser differences in ancestral components among geographic regions respect to the observed in Mexico with autosomal markers [4,6]. However, currently it is not possible to confirm this hypothesis by the lack of X-STR databases from Native American populations for admixture analysis. From a practical perspective, this relative genetic homogeneity is favorable in forensic casework because allow using a unique and larger population database; thus, the same likelihood ratios (LRs) would be expected for the same X-STR genotypes, no matter the geographic origin of the forensic samples in Mexico.

In brief, this is the first study of the X-STR Decaplex system reporting forensic parameters in Mexican populations, which allow a confident employment of this X-linked system in forensic casework. A relative genetic homogeneity was observed, suggesting that a unique population database could be used in this country.

Table 1
Allele frequency distribution and forensic parameters in the pooled Mexican-Mestizo population sample (n = 529).

	DXS8378	DXS9898	DXS7133	GATA31E08	GATA172D05	DXS7423	DXS6809	DXS7132	DXS9902	DXS6789
6					0.1276					
7		0.0019	0.0009	0.0019	0.0057					
8	0.0047		0.0019	0.0019	0.1182					
8.3		0.0898								
9	0.0076	0.0009	0.6314	0.1115	0.0454				0.0019	
9.1		0.0009								
10	0.4698	0.0057	0.1777	0.0595	0.3081	0.0009		0.0038	0.0350	
10.2						0.0009				
11	0.2911	0.0775	0.1635	0.2004	0.2675	0.0009		0.0132	0.3157	
11.1									0.0009	
12	0.1994	0.2836	0.0161	0.3923	0.1267	0.0009		0.0699	0.3923	
12.1									0.0142	
13	0.0255	0.3724	0.0019	0.1796	0.0009	0.0217		0.2703	0.2212	
13.1									0.0066	
13.3		0.0066								
14	0.0019	0.1314	0.0066	0.0473		0.2996		0.3195	0.0123	0.0038
14.2								0.0009		
15		0.0293		0.0057		0.4650		0.2174		0.0274
16						0.1068		0.0737		0.0539
16.3								0.0076		
17						0.1030		0.0208		0.0095
17.3								0.0019		
18								0.0009		0.0057
19										0.0359
20										0.3989
21										0.3034
22										0.1352
23										0.0208
24										0.0047
25										0.0009
26							0.0019			
28							0.0038			
29							0.0076			
30							0.0180			
30.1							0.0009			
31							0.1163			
32							0.1597			
33							0.3147			
33.1							0.0009			
34							0.2202			
35							0.1021			
36							0.0435			
37							0.0085			
38							0.0019			
MAF	0.0047	0.0047	0.0047	0.0047	0.0047	0.0047	0.0047	0.0047	0.0047	0.0047
Forensic Parameters										
PIC	0.5919	0.7116	0.4944	0.7738	0.7539	0.6188	0.7741	0.7302	0.6396	0.6836
Ho	0.3459	0.2514	0.4572	0.2079	0.2148	0.3284	0.1993	0.2334	0.3040	0.2749
He	0.6541	0.7486	0.5428	0.7921	0.7852	0.6716	0.8007	0.7666	0.6960	0.7251
PE	0.3608	0.5075	0.2278	0.5844	0.5719	0.3857	0.6004	0.5386	0.4222	0.4681
PI	0.1730	0.1257	0.2286	0.1040	0.1074	0.1642	0.0996	0.1167	0.1520	0.1375
PD _f	0.8181	0.8997	0.7426	0.9384	0.9226	0.8393	0.9337	0.9091	0.8512	0.8830
MEC _f	0.3856	0.5327	0.3074	0.4751	0.5843	0.4226	0.6147	0.5523	0.4366	0.5008
MEC _{II}	0.5919	0.7116	0.4944	0.6132	0.7539	0.6188	0.7741	0.7302	0.6396	0.6836
MEC _{III}	0.5919	0.7116	0.4944	0.7738	0.7539	0.6188	0.7741	0.7302	0.6396	0.6836
MEC _{IV}	0.4444	0.5752	0.3473	0.6522	0.6246	0.4729	0.6501	0.5966	0.4947	0.5442
HWE	0.2841	0.4098	0.5430	0.6277	0.9182	0.7785	0.8004	0.2254	0.6674	0.0314

Acknowledgements

We authors thank to all the volunteers included in this study, and to Juan Páez for technical support. We thank to CONACyT for financial support to H.R-V (grant 129693), and the doctoral fellowship to CM-R.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.legalmed.2017.12.013>.

References

- [1] R. Szibor, X-chromosomal markers: past, present and future, *Forensic Sci. Int. Genet.* 1 (2007) 93–99.
- [2] N. Pinto, L. Gusmão, A. Amorim, X-chromosome markers in kinship testing: a generalisation of the BD approach identifying situations where their contribution is crucial, *Forensic Sci. Int. Genet.* 5 (2011) 27–32.
- [3] I. Cortés-Trujillo, B. Ramos-González, O. Salas-Salas, F. Zuñiga-Chiquette, A. Zetina Hernández, G. Martínez-Cortés, M. Ruiz-Hernández, A. González-Martín, J.F. Ferragut, H. Rangel-Villalobos, Forensic Efficiency parameters of the Investigator Argus X-12 kit in women from two Mestizo and seven Amerindian populations from Mexico, *Legal Med.* 26 (2017) 62–64.
- [4] R. Rubi-Castellanos, G. Martínez-Cortés, J.F. Muñoz-Valle, A. González-Martín, R.M. Cerda-Flores, M. Anaya-Palafox, H. Rangel-Villalobos, Pre-hispanic Mesoamerican demography approximates the present-day ancestry of Mestizos throughout the territory of Mexico, *Am. J. Phys. Anthropol.* 139 (2009) 284–294.
- [5] G. Martínez-Cortés, J. Salazar-Flores, J. Haro-Guerrero, R. Rubi-Castellanos, J.S. Velarde-Félix, J.F. Muñoz-Valle, M. López-Gasimichana, E. Carrillo-Tapia, L.M. Canseco-Avila, C.M. Bravi, M. López-Armenta, H. Rangel-Villalobos, Maternal admixture and population structure in Mexican-Mestizos based on mtDNA haplogroups, *Am. J. Phys. Anthropol.* 151 (2013) 526–537.
- [6] A. Moreno-Estrada, C.R. Gignoux, J.C. Fernández-López, F. Zakharia, M. Sikora, A.V. Contreras, V. Acuña-Alonzo, K. Sandoval, C. Eng, S. Romero-Hidalgo, P. Ortiz-Tello, V. Robles, E.E. Kenny, I. Nuño-Arana, R. Barquera-Lozano, G. Macín-Pérez, J. Granados-Arriola, S. Huntsman, J.M. Galanter, M. Via, J.G. Ford, R. Chapela, W. Rodríguez-Cintrón, J.R. Rodríguez-Santana, I. Romieu, J.J. Sienna-Monge, B. del Río Navarro, S.J. London, A. Ruiz-Linares, R. García-Herrera, K. Estrada, A. Hidalgo-Miranda, G. Jimenez-Sanchez, A. Carnevale, X. Soberón, S. Canizales-Quintero, H. Rangel-Villalobos, I. Silva-Zolezzi, E.G. Burchard, C.D. Bustamante, The genetics of Mexico recapitulates Native American substructure and affects biomedical traits, *Science* (80-) 344 (2014) 1280–1285.
- [7] L. Gusmão, P. Sánchez-Diz, C. Alves, I. Gomes, M.T. Zarrabeitia, M. Abovich, I. Atmetlla, C. Bobillo, L. Bravo, J. Builes, L. Caimé, R. Calvo, F. Carvalho, M. Carvalho, R. Cicarelli, L. Catelli, D. Cornach, M. Espinoza, Ó. García, M. Malaghini, J. Martins, F. Pinheiro, M. João Porto, E. Raimondi, J.A. Riancho, A. Rodríguez, A. Rodríguez, B. Rodríguez Cardozo, V. Schneider, S. Silva, C. Tavares, U. Toscanini, C. Vullo, M. Whittle, I. Yurrebaso, Á. Carracedo, A. Amorim, A GEP-ISFG collaborative study on the optimization of an X-STR decaplex: data on 15 Iberian and Latin American populations, *Int. J. Legal Med.* 123 (2009) 227–234.
- [8] L. Excoffier, G. Laval, S. Schneider, Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis, *Bioinf. Online* 1 (2005) 47–50.
- [9] M. Stephens, N.J. Smith, P. Donnelly, A new statistical method for haplotype reconstruction from population data, *Am. J. Hum. Genet.* 68 (2001) 978–989.
- [10] I. Gomes, V. Pereira, V. Gomes, M.J. Prata, N. Pinto, A. Carracedo, A. Amorim, L. Gusmão, The Karimojong from Uganda: genetic characterization using an X-STR decaplex system, *Forensic Sci. Int. Genet.* 3 (2009) e127–e128.