

DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE TRES POBLACIONES INDÍGENAS DEL SUR OCCIDENTE COLOMBIANO

DIVERSITY AND GENETIC STRUCTURE OF THREE AMERINDIAN POPULATIONS FROM SOUTHWEST COLOMBIAN

Diana Rojas-Gallardo¹, Guillermo Barreto²

¹. Investigadora Grupo “Genética Molecular Humana”, Sección de Genética, Depto. Biología, U. del Valle

². Profesor Titular, Sección de Genética, Departamento de Biología, U. del Valle Cali, Colombia

Recibido: Octubre 31 de 2014

Aceptado: Noviembre 05 de 2014

*Correspondencia del autor. Profesor Titular, Sección de Genética, Departamento de Biología, U. del Valle Cali, Colombia, email: guillermo.barreto@correounivalle.edu.co

RESUMEN

Con el objetivo de determinar el grado de estructura genética se evaluó la diversidad genética de tres muestras poblacionales de comunidades amerindias: Nasa, Paez y Pastos del suroccidente colombiano a partir de la caracterización de haplotipos de mtADN propios de amerindios y de 17 sistemas de marcadores STRs-MSY. En las tres muestras se encontraron solo haplotipos característicos de amerindios. En Nasa el haplotipo mitocondrial más frecuente fue A (42%), en Paez fue C (43%) y en Pastos el B (52%). También se encontró altas diversidades genéticas para las tres muestras siendo 0.65 para Nasa, 0.68 para Paez y 0.66 para Pastos. De acuerdo a las frecuencias de haplotipos mitocondriales se obtuvo un nivel alto de estructuración genética cuando se comparó con otras poblaciones (F_{ST} : 0.238). Basados en los STRs-MSY se encontró un moderado nivel de diversidad genética promedio para las tres muestras (0.68 para Pastos y 0.53 para Nasa y Paez), una diversidad haplotípica alta siendo 0.97 para las tres muestras y un nivel de estructuración moderado (F_{ST} : 0.15). En concordancia con los dos tipos de marcadores la muestra Nasa se relacionó más genéticamente con la muestra Paez, la muestra Pastos se relacionó más con los Awa-Kwaikier y las tres poblaciones estudiadas estuvieron alejadas genéticamente de la muestra afrodescendiente.

Palabras clave: Diversidad genética, estructura genética, poblaciones indígenas, genética de poblaciones, mtDNA, Y-STR's, Haplotipos.

ABSTRACT

In order to determine the degree of genetic structure we evaluated the genetic diversity of the Amerindian communities Nasa, Paez and Pastos in Colombian southwestern. The characterization was realized utilizing mitochondrial haplotypes and 17 STRs-MSY markers systems. With respect to mitochondrial markers, only characteristic Amerindian haplotypes were found in the three samples. In Nasa the most common mitochondrial haplotype was A (42%), in Paez was C (43%) and in Pastos was B (52%). It was also found high genetic diversity for the three samples being 0.65 for Nasa, 0.68 for Paez and 0.66 for Pastos. According to frequencies of mitochondrial haplotypes was observed a high level of genetic structure when compared with other populations (F_{ST} :0.238). Based on STRs-MSY was found a moderate level of genetic diversity for the three samples (0.68 for Pastos y 0.53 for Nasa and Paez), a high haplotypic diversity being 0.97 for the three samples and moderate structure (F_{ST} : 0.15). In accordance with the two types of markers, Nasa is more genetically related to the Paez sample, the Pastos sample is more related to the Awa-Kwaikier and the three populations studied are genetically distant of the Afrodescendant sample.

Keywords: Genetic Diversity, Genetic Structure, Amerindian Populations, Human, Populations Genetics, mtDNA, Y-STR's, Haplotypes

INTRODUCCIÓN

Colombia posee una diversidad étnica humana de importancia en el contexto americano, representada en la existencia de 85 grupos étnicos, quienes hablan 64 lenguas indígenas; no obstante, muchos de estos grupos se encuentran seriamente amenazados tanto física como culturalmente, además es poca y fragmentada la información sobre el origen de tanta diversidad y sobre las relaciones biológicas entre grupos, es en este sentido como las herramientas de la genética molecular pueden contribuir a generar nuevo conocimiento sobre la diversidad genética de los pueblos indígenas de nuestro país.

Según Rondón¹, en Colombia dos de las regiones geográficas donde se observa una aparente variación de la estructura genética de los componentes poblacionales son el Suroccidente y el centro del país. Estas regiones en épocas prehispánicas estuvieron ocupadas por diversas comunidades amerindias que fueron sometidas sistemáticamente hasta la desaparición casi total de las mismas por los europeos durante la colonia en los siglos XV y XVI.

En el Suroccidente Colombiano, de acuerdo con los datos del Departamento Nacional de Planeación, habita el 30.5% de la población indígena con respecto a la población del país, representando 14 de las 85 etnias o pueblos indígenas existentes en Colombia. Sin embargo actualmente algunas de estas comunidades se encuentran en grave riesgo de desaparecer debido a la intensa

interacción y mestizaje con poblaciones urbanas. Este hecho demanda el estudio urgente de estas comunidades en términos de su estructura genética.

Para el suroccidente Colombiano, se han realizado estudios de diversidad genética encaminados a establecer las frecuencias alélicas y haplotípicas de RFLP's de ADN-mt (en comunidades indígenas y afrodescendientes), de STR's autosómicos y del cromosoma Y y estudios para evaluar el poder de discriminación, heterocigosidad y desequilibrio de ligamiento (LD) de diversos STR's autosómicos procedentes de aislados poblacionales de diferentes grupos étnicos^{2,3,4,5,6}, pese a estos trabajos el conocimiento sobre de la estructura genética de las poblaciones sigue siendo escaso.

Con base en lo anterior, en este trabajo se realizó el análisis de la diversidad y la estructura genética de tres poblaciones del Suroccidente Colombiano utilizando haplotipos mitocondriales y microsatélites del cromosoma Y, con el objetivo de realizar inferencias sobre el grado de diversidad actual y cómo está su diversidad comparada con otras poblaciones de la región.

MATERIALES Y METODOS

Poblaciones estudiadas

Se tomaron muestras de sangre periférica de 54 individuos de la comunidad indígena Nasa municipio de Jambaló, departamento del Cauca; 51 individuos de la comunidad indígena Paez del municipio de Caldono del

departamento del Cauca y 29 individuos de la comunidad indígena Pastos del municipio de Córdoba del departamento del Cauca. Previo a la toma de las muestras cada participante en el estudio firmó un consentimiento informado. Esta investigación tuvo el aval del Comité de Ética Humana de la Universidad del Valle (Acta No. 021-010). No fueron muestreados individuos con relación filial. A todas las muestras se extrajo el ADN total por el método de Salting out⁷.

Polimorfismos de mtDNA

Se buscaron los cuatro linajes de haplotipos fundadores en poblaciones Amerindias (A-D). Los cebadores, las condiciones de amplificación, las enzimas restricción usadas y las condiciones de digestión enzimáticas se realizaron de acuerdo a Baillet⁸ y Rondón⁹.

Microsatélites de cromosoma Y

Para las muestras masculinas de cada población se amplificaron 17 microsatélites del cromosoma Y mediante el Kit AmpFLSTR® Yfiler. Luego se realizó el montaje de las muestras en el analizador genético ABI® 3130 del Laboratorio de Genética Molecular Humana de la Universidad del Valle para separar electroforéticamente los fragmentos obtenidos. Posteriormente, los resultados se analizaron mediante el programa GeneMapper®.

unas ya reportadas por nuestro grupo de investigación en tres grupos étnicos a saber: Amerindios, Mestizos y Afrodescendientes.

En el caso de los Y-STRs se estimaron las frecuencias alélicas y haplotípicas usando también el software ARLEQUÍN versión 3.5¹⁰. Se estimó la diversidad genética basada en los haplotipos, las distancias genéticas a partir de parejas de F_{ST} y se evaluó los valores estadísticos para parejas de poblaciones R_{ST} . También se analizó la estructura genética por medio de Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) haciendo comparaciones con otras poblaciones de la región (como si se hizo con los datos mitocondriales). En esta instancia las comparaciones con las otras poblaciones se realizaron basándose en todos los micos amplificados excepto los sistemas DYS385a Y 385b.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Haplogrupos de mtADN

En la tabla 1 se muestran las frecuencias de los haplotipos mitocondriales identificados en las poblaciones bajo estudio, de tres comunidades indígenas, de una muestra de afrodescendientes y de una muestra de individuos mezclados las cuales ya habían sido reportadas

Tabla 1. Frecuencia (%) de haplogrupos y diversidad genética mitocondrial (h) en las poblaciones estudiadas y reportadas.

	n	HA	HB	HC	HD	HE	HL	Otro	h
Nasa*	54	42	4	41	13	0	0	0	0.65±0.03
Paez*	51	31	4	43	22	0	0	0	0.68±0.03
Pastos*	29	24	52	17	7	0	0	0	0.66±0.07
Coyaima [‡]	50	26	24	0	44	6	0	0	0.69±0.03
Awa-K [‡]	35	9	69	0	14	8	0	0	0.51±0.09
Embera-D [‡]	18	11	45	11	0	0	0	33	0.71±0.07
PK [‡]	135	34	27	13	2	2	0	22	0.75±0.02
PN [‡]	151	6	6	3	0	0	29	56	0.59±0.03

*= Presente estudio. ‡= Rondón et al 2007 (1). PK: población mezclada del Valle del Cauca. PN: población afrodescendiente del Valle del Cauca.

Análisis de datos

Con las frecuencias de los haplotipos mitocondriales de cada población se estimó la diversidad genética y se comparó con las diversidades estimadas para otras poblaciones reportadas. Usando el software ARLEQUÍN versión 3.5¹⁰ se calculó las distancias genéticas a partir de parejas de F_{ST} y también se estimó el grado de estructuración con un Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) agrupando las comunidades estudiadas con

por nuestro grupo. El 42% de la muestra Nasa presentó el haplotipo A, de esta misma el 41% presento el haplotipo C. La muestra Paez presentó una distribución parecida para estos dos haplotipos donde el 31% de la muestra mostró el haplotipo A y el 43% mostró el haplotipo C. Para la muestra de la población Pastos el haplotipo con mayor prevalencia fue el B (52%), seguido por el A (24%).

Diversidad y distancias genéticas de haplotipos

La diversidad genética de haplotipos mitocondriales (tabla 1) característicos de amerindios fue alta en las tres poblaciones estudiadas. La muestra Paez con 0.68 (± 0.03) difirió de la reportada por Keyeux⁴, siendo más alta. Este mismo comportamiento presentó por su parte la muestra Pastos con 0.66 (± 0.07) cuando se compara con la reportada también por Keyeux⁴, los niveles más altos de diversidad encontrados en este trabajo pueden explicarse por una mayor representatividad alcanzada al poseer un tamaño de muestra mayor. La población Nasa presentó una diversidad genética de 0.65 (± 0.03). En general estas diversidades genéticas altas concordan con las encontradas en otras poblaciones de origen amerindio del país como Coyaima, Embera-Duma,

plotipos no amerindios (llamados otros) que portaba la población PN y por la baja frecuencia de haplotipos A. La muestra Pastos que mostró una distribución más o menos uniforme de los haplotípicos típicos de amerindios se diferenció en mayor medida con la muestra afrodescendiente (PN) ya que esta presenta un bajo componente de haplotipos propios de amerindios. Resulta muy llamativa la alta frecuencia del haplotipo B en la etnia Pastos (52%) y su baja frecuencia en Nasa y Paez (4%) en cada una de estas poblaciones. Este haplotipo B puede estar indicando un origen evolutivo diferente de los Pastos con relación a los Nasa y Paez sobre todo si se considera que este haplotipo también presentó altas frecuencias en reportes de otras poblaciones del sur del país como los Awa - Kuaikier (69%) tabla 1.

Tabla 2. Parejas de distancias de F_{ST} entre diferentes comunidades basados en las frecuencias de haplotipos de mtADN.

	Nasa	Paez	Coyaima	Awa-K	Embera-D	PK	PN
Nasa*							
Paez*	-0.004						
Coyaima [£]	0.188	0.157					
Awa-K [£]	0.365	0.343	0.189				
Embera-D [£]	0.246	0.231	0.193	0.123			
PK [£]	0.112	0.127	0.134	0.175	0.033		
PN [£]	0.360	0.349	0.347	0.410	0.176	0.195	
Pastos*	0.181	0.175	0.134	0.048	0.056	0.061	0.348

*= Presente estudio. £= Rondón et al 2007(1). PK: población mezclada del Valle del Cauca. PN: población afrodescendiente del Valle del Cauca.

Ingano, Ticuna y Wayuu reportadas anteriormente por Rondón¹ y soportan la marcada simetría dada por eventos relacionados con mezcla entre los grupos étnicos que confluyen al momento de configurarse la estructura genética de las poblaciones actuales de Colombia.

En cuanto a las distancias genéticas establecidas por parejas de F_{ST} , se realizó un test de confiabilidad con $P > 0.05$ (tabla 2) observándose que las muestras Nasa y Paez están más relacionadas (-.004) y que la muestra Pastos se relacionó mucho más con la muestra Awa-Kuakier (0.048). También se observó una baja relación entre las muestras Nasa y Paez y las poblaciones Awa-Kuakier, afrodescendiente (PN) y Embera-D. Estas dos se diferenciaron de la población Awa-Kuakier principalmente por el alto contenido de haplotipos B y la baja frecuencia de haplotipos A y C. Con respecto a la población afrodescendiente, estas dos comunidades se diferenciaron principalmente por el componente de ha-

Estructura genética

El análisis molecular de varianza realizado a partir de las frecuencias de los haplotipos mitocondriales de las poblaciones bajo estudio mostró, cuando se dividieron las poblaciones bajo estudio en tres grupos basados en su filiación étnica, que la variación entre grupos fue de 4.7% mientras que la variación dentro de las poblaciones fue del 76.13% (tabla 3). Este análisis arrojó también un valor de F_{ST} de 0.238 el cual indica una alta estructuración subpoblacional.

Este nivel de estructura está dado por el hecho de que el grupo de poblaciones amerindias analizadas, en forma general, tienen en su componente genético mitocondrial altas frecuencias de haplotipos típicos de origen amerindio mientras que la población afrodescendiente tiene un alto contenido de haplotipo L y otros. Además la muestra de población mezclada tiene una representación más o menos uniforme de los haplotipos típicos amerindios,

Tabla 3. AMOVA de las frecuencias de haplotipos de mtADN en tres grupos étnicos de ocho poblaciones humanas de Colombia.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Componentes de Varianza	Porcentaje de Variación	
Entre Grupos	2	26.321	0.02038	4.70	$F_{CT}:0.0470^*$
Entre Poblaciones dentro de Grupos	4	14.778	0.08307	19.16	$F_{SC}:0.2011^*$
Dentro de poblaciones	487	160.715	0.33001	76.13	$F_{ST}:0.2386^*$
Total	493	201.814	0.43346		

* $p < 0.0500$

del haplotipo L y de otros. De acuerdo con los porcentajes de variación el mayor aporte a la estructura lo aporta la variación dentro de las poblaciones, esto evidencia que hay una alta variación en la configuración que presentan las poblaciones dentro de los grupos, lo que se puede observar en la distribución de las frecuencias de los diferentes haplotipos en las poblaciones amerindias.

STRs Cromosoma Y

Diversidad

De forma general se obtuvo una diversidad genética moderada en los 17 *loci* evaluados, siendo 0.53 (± 0.28) para la muestra Nasa, 0.53 (± 0.27) para la muestra Paez y 0,68 (± 0.37) para la muestra Pastos. Cuando se observan las frecuencias alélicas de los 17 *loci* amplificados en las tres muestras poblacionales, aquí tenemos que el rango de alelos entre los loci varió desde 4 alelos en los menos polimórficos (DYS19, DYS437 y GATA-H4) hasta 7 alelos en los más polimórficos (DYS385a, DYS385b y DYS458). Esta diversidad genética también se vio reflejada en las diversidades haplotípicas de cada muestra poblacional, las cuales fueron altas. Como se observa en la tabla 4, la diversidad haplotípica de las muestras poblacionales fue 0.97 correspondiendo con lo que se ha encontrado para otras comunidades estudiadas como Coyaima, Embera-Duma y Awa-kuakier. La muestra que mayor número de haplotipos presentó fue la muestra Nasa con 27, seguido de la muestra Paez con 23 y por último la muestra Pastos con 11 haplotipos diferentes.

Distancias genéticas y diferenciación poblacional

El análisis de parejas genéticas basado en el uso del parámetro R_{ST} permitió observar que las muestras poblacionales Nasa y Paez presentaron mayor cercanía genética con la muestra poblacional Pastos y se alejaron mucho más de las muestras afrodescendientes (Pacífico y Mulaló) y las muestras mestizo-caucasiodes (Versalles y Nm). La muestra Pastos se relacionó mucho más con la muestra Awa-kuakier, lo que coincide con lo encontrado también con los marcadores mitocondriales para estas dos muestras. La comunidad de los Pastos también se alejó más de las muestras afrodescendientes y mestizas.

Tabla 4. Índices de diversidades haplotípicas estándar obtenidos del análisis de 15 microsatélites del cromosoma Y en tres de las muestras poblaciones estudiadas

Muestra	N	No de haplotipos	Diversidad
Nasa*	36	27	0.97±0.02
Paez*	30	23	0.97±0.02
Pastos*	13	11	0.97±0.04
Awa-k [£]	13	10	0.95±0.05
Coyaima [£]	19	15	0.97±0.03
Embera-d [£]	6	6	1.00±0.10
Mulaló [£]	20	14	0.94±0.04
Pacifico [£]	18	17	0.99±0.02
Versalles [£]	9	9	1.00±0.05

*= Presente estudio. £= Rondón *et al* (9)

Tabla 5. Distancias genéticas (R_{ST}) estimadas a partir del análisis de 15 STRs-MSY en 10 aislados poblacionales del centro y suroccidente colombiano.

	Nas	Pae	Pas	Awa-K	Coy	Emb-D	Mul	Pac	Vers
Nas*									
Pae*	0.05								
Pas*	0.01	0.02							
Awa-K[£]	0.04	0.10	0.01						
Coy[£]	0.08	0.09	0.05	0.07					
Emb-D[£]	0.10	0.12	0.08	-0.01	0.03				
Mul[£]	0.17	0.22	0.07	0.07	0.16	0.21			
Pac[£]	0.30	0.31	0.17	0.15	0.21	0.32	0.00		
Vers[£]	0.18	0.22	0.11	0.05	0.07	0.20	0.10	0.16	
Nm[£]	0.18	0.24	0.13	0.11	0.03	0.20	0.17	0.25	-0.02

p < 0.001. **Nas:** Nasa; **Pae:** Paez; **Pas :** Pastos; **Coy:** Coyaima; **Emb-D:** Emebera- Duma; **Mul:** Mulaló; **Pac:** Pacífico; **Vers:** Versalles; **Nm:** Población mestiza pasto. *= Presente estudio. £= Rondón *et al* (9)

Para la realización del análisis molecular de varianza se agruparon de nuevo las muestras poblacionales de acuerdo a su filiación étnica en tres grupos denominados como; amerindios, afrodescendientes y población mezclada. De acuerdo con los resultados (tabla 6) la variación entre los tres grupos fue 15.7% mientras que la variación dentro de las poblaciones fue del 80.6%. También este análisis mostró un valor de F_{ST} de 0.15 lo que indica un grado de estructuración moderada.

quienes compartieron un haplotipo, Awa-kuakier compartió un haplotipo con Embera-D y otro con la muestra de población mezclada generando más evidencia de la conectividad entre los diferentes grupos étnicos del suroccidente Colombiano.

CONCLUSIONES

- El aporte a la composición genética mitocondrial de las poblaciones de origen amerindio estudiadas está dado en

Tabla 6. AMOVA de las frecuencias de haplotipos de 15 STR-MSY en tres grupos étnicos de ocho poblaciones humanas de Colombia

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Componentes de Varianza	Porcentaje de Variación	
Entre Grupos	2	274.095	2.63881	15.77	F_{CT} : 0.16
Entre Poblaciones dentro de Grupos	7	167.832	0.60797	3.63	F_{SC} : 0.19
Dentro de poblaciones	165	2224.959	13.48460	80.59	F_{ST} : 0.15
Total	174	2666.886	16.73137		

* $p < 0.0500$

Este nivel moderado de estructuración puede explicarse porque aunque la variación en cuanto a la configuración de las frecuencias de los microsatélites en las poblaciones fue alta, estas poblaciones carecieron de alelos únicos o representativos y solo la población Awa-Kuakier presentó fijación de alelos en algunos de los sistemas. Además algunas de las poblaciones presentaron haplotipos compartidos como en el caso de Nasa y Paez

su totalidad por haplotipos de haplogrupos amerindios como lo son A,B,C y D.

- La diversidad genética de haplotipos mitocondriales en las tres poblaciones estudiadas es alta al igual que se ha encontrado en otras poblaciones amerindias del país.
- En cuanto a los STRs del cromosoma Y las tres poblaciones estudiadas tienen una diversidad genética

moderada pero una alta diversidad haplotípica correspondiendo también con lo mostrado en la literatura para comunidades amerindias.

- De acuerdo con los resultados del DNAmT (particularmente del haplotipo B) y del cromosoma Y las poblaciones Nasa y Paez son muy cercanas genéticamente, mientras que la muestra Pastos es más cercana a la población Awa-Kuaikier sugiriendo un posible origen evolutivo diferente de las primeras poblaciones con relación a las segundas.
- La estructura de las poblaciones estudiadas en general es moderada y está dada principalmente por la variación en las poblaciones dentro de los grupos

étnicos, esto es explicado por la amplia diversidad encontrada para los dos tipos de marcadores en las poblaciones dentro de los grupos étnicos.

AGRADECIMIENTOS

El grupo de investigación Genética Molecular Humana agradece a los participantes de las tres comunidades indígenas del departamento del Cauca que hicieron parte de este estudio, a la universidad del Valle por financiar esta investigación (proyecto CI 7747) y a Colciencias -Programa Jóvenes Investigadores e Innovadores “Virginia Gutiérrez de Pineda”.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rondon, F., Braga Y., Cárdenas, H. & G. Barreto. 2007. Análisis de la diversidad y el grado de estructura genética presente en poblaciones humanas colombianas a partir del uso de marcadores RFLP's de mtDNA. *Rev. Asoc. Col. Cienc. Biol.* 19: 94-103; 2007.
2. Rondón, F., G. Vallejo., E. Osorio & G. Barreto .1999. Frecuencias haplotípicas mitocondriales en la comunidad indígena Coyaima del departamento del Tolima, Colombia. *Rev. Asoc. Col. Cienc. Biol.* 11: 45-53.
3. Mesa, N.R., Mondragón, M.C., Soto,I.D., Parra, M. V., Duque, C., Ortiz-Barrientos, D, et al. 2000. Autosomal, mtDNA and Y Chromosome Diversity in Amerinds: Pre- and Post-Columbian Patterns of Gene Flow in South America. *Am.J.Hum Genet.* 67: 1277-1286.
4. Keyeux, G., Rodas, C., Gelvez, N. & Carter, D. 2002. Possible Migration Routes into South America Deduced from Mitochondrial DNA Studies in Colombian Amerindian Populations. *Hum Biol.* 74: 211-233.
5. Rodas, C., Gelvez, N., Keyeux, G. 2003. Mitochondrial DNA Studies Show Asymmetrical Amerindian Admixture in Afro-Colombian and Mestizo Populations. *Hum. Biol.* 75: 13-30.
6. Carvajal-Carmona, L.G., Soto, I.D., Pineda, N., Ortiz-Barrientos, D., Duque, C., Ospina-Duque, J., et al. 2000. Strong Amerind/White Sex Bias and a Possible Sephardic Contribution among the Founders of a Population in Norwest Colombia. *Am. J. Hum. Genet.* 67: 1287- 1295.
7. Miller, S. A., Dykes D.D., Polesky H.F. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16(3): 1215.
8. Bailliet, G.F.,F. Rothhammer.,F.R. Carnese., C. M. Bravi. & N. O. Bianchi. 1994. Founder mitochondrial haplotypes in American populations. *Am.J.Hum. Gen.* 54: 27 33.
9. Rondón, F., Orobio, R.F., Braga, Y.A., Cárdenas, H. & Barreto G. 2006. Estudio de la Diversidad Genética de Cuatro Poblaciones Aisladas del Centro y Suroccidente Colombiano. *Revista Salud UIS.* 38: 9-15.
10. Excoffier L and Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour* 10: 564-567