



FACULTAD DE
**CIENCIAS
SOCIALES**
UNIVERSIDAD DE CHILE

DEPARTAMENTO DE
ANTROPOLOGÍA

Consumo de leche y persistencia de lactasa en pastores de las Comunidades Agrícolas del Norte Semiárido.

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE ANTROPÓLOGO FÍSICO

Autor:
Nicolás MONTALVA R.

Profesor Guía:
Prof. Sergio FLORES C.

Noviembre 2015

Agradecimientos

Indudablemente, un trabajo que se extendió por tantos años dejará inevitablemente una lista importante de agradecimientos. Además tengo la fortuna de haber contado con la ayuda de mucha gente a la cuál debo mi gratitud.

En primer lugar, deseo agradecer a mi profesor guía Sergio Flores, por confiar en esta idea desde el primerísimo día y, contra todo pronóstico, seguir confiando en ella tras años de aplazamiento. Sin duda este trabajo no existiría sin sus invaluables sugerencias y su apoyo intelectual, logístico y personal.

También estoy en deuda con mis compañeros y compañeras del círculo antropológico que me ayudaron en la recolección de muestras y trabajo de laboratorio: Aurea Argomedo, Camila Balcazar, Pamela Cañas, Paloma Contreras, Paulina Contreras, Catalina Fernández, Sandra Flores, Tomás González, Paulina Jara, Sebastián Krapivka, Evelyn Maldonado, Camila Maripangui, María José Moraga, Paulina Morales, Evelyn Munzenmayer, Constanza Silva, Paula Tralma y Gabriela Urrutia.

Agradecimientos muy especiales a los protagonistas de esta historia, los comuneros de la región de Coquimbo, por la ayuda, la hospitalidad y por todas las lecciones.

En un plano personal, deseo agradecer profundamente a mis padres por su apoyo incondicional y su enorme paciencia, a mis hermanos, y una enorme lista de amigos que sería imposible incluir en estas páginas.

Deseo agradecer profundamente a Leonor por quererme igual y a pesar de todo, por hacerme sentir que nunca me fui, por poder perdonar con los ojos, y por esa sonrisa de rayos de sol.

Finalmente quiere agradecer a Gabriela por su amor incondicional en ese duro camino que jamás habríamos seguido de haber conocido las dificultades que nos esperaban y la esterilidad de la meta. Ahora que todo esto terminó por fin podremos buscar un horizonte para los dos, y si no podemos encontrar una cima desde la cuál podamos ver que todo valió la pena, al menos podremos contar con tenernos, y con el tiempo para curar las heridas que el camino nos dejó.

A Gabriela y Leonor

Resumen

La persistencia de lactasa evolucionó junto al desarrollo del pastoralismo de ordeño en el Viejo Mundo como una adaptación al consumo de leche en adultos. La difusión de este rasgo constituye uno de los mejores ejemplos de selección natural positiva en humanos. Sin embargo, los mecanismos específicos que confieren ventajas selectivas a la persistencia de lactasa son desconocidos. El consumo de leche animal fue introducido en los últimos 500 años al continente americano, resultando necesario entender los efectos evolutivos de esta adopción alimentaria. Para ello, se recolectaron datos sobre hábitos alimenticios y reproductivos usando cuestionarios, muestras de DNA, y mediciones de peso y estatura para 450 individuos, durante 10 meses de trabajo de campo en comunidades de pastores de ascendencia mestiza del norte semiárido de Chile. La secuenciación de la región potenciadora del gen de la lactasa reveló únicamente la presencia de la variante Europea de persistencia de lactasa (-13910^*T), en alta asociación (99.64 %) con el fenotipo de 41 participantes evaluado usando pruebas de digestión de lactosa. La frecuencia de persistencia de lactasa en esta población (0.38) resultó similar a la encontrada en poblaciones mestizas de América sin patrones de subsistencia pastoralistas. Controlando por ascendencia, parentesco, y otras variables, se evaluó la asociación de la persistencia de lactasa con fertilidad, estatura y peso, no encontrándose efectos significativos de la persistencia de lactasa en la fertilidad, pero sí en el índice de masa corporal ($p = 0,001$), y de este último en la fertilidad. El estudio sugiere futuras investigaciones para estudiar la selección positiva de la persistencia de lactasa en relación a las ventajas nutricionales de la misma en posibles contextos de escasez de alimentos en el pasado.

Índice general

1. Introducción	8
1.1. Variabilidad y adaptación	8
1.1.1. Adaptación a ambientes extremos	9
1.1.2. Adaptación a cambios en la dieta	12
1.2. Pastoralismo como modelo de adaptación humana	14
2. Antecedentes	16
2.1. Persistencia de lactasa	16
2.1.1. Lactasa y digestión de lactosa	16
2.1.2. Genética de la persistencia de lactasa	18
2.1.3. Evolución y distribución de la persistencia de lactasa en el Viejo Mundo	19
2.1.4. Distribución de la persistencia de lactasa en América Latina y poblaciones parentales	23
2.2. Agropastoralismo de la región de Coquimbo	26
2.2.1. Presentación	26
2.2.2. Geografía	27
2.2.3. Historia	29
2.2.4. Economía y Subsistencia	31
3. Preguntas, objetivos e hipótesis	34
3.1. Preguntas de investigación	34
3.2. Objetivos	35
3.3. Hipótesis	36
4. Materiales y Métodos	39
4.1. Descripción general de las localidades estudiadas	39
4.1.1. Gulliguaica y Villa Puclaro	39
4.1.2. Barraza, El Espinal, y La Calera	41
4.1.3. Canelilla y Monte Patria	42
4.1.4. La Ligua de Cogotí	42
4.1.5. Canela y Huentelauquén	42
4.2. Recolección de datos	43

<i>ÍNDICE GENERAL</i>	5
4.3. Análisis de datos	44
5. Resultados	47
5.1. Caracterización de la muestra, asociación genotipo–fenotipo y frecuencias de persistencia de lactasa	47
5.2. Persistencia de Lactasa y Ancestría	50
5.3. Persistencia de lactasa y consanguinidad	54
5.4. Consumo de leche y posibles ventajas selectivas de la persistencia de lactasa	57
6. Discusión	66
6.1. Hallazgos y contrastación de hipótesis	66
6.2. Limitaciones	67
6.3. Conclusión	69
Anexo A. Autorizaciones de reproducción	94
Anexo B. Consentimiento informado y documentos asociados	98
Anexo C. Tablas suplementarias	108
Anexo D. Cuestionarios	112

Índice de figuras

2.1. Contexto cromosómico de variantes asociadas con persistencia de lactasa en Europa y África	19
2.2. Distribución geográfica de Persistencia de Lactasa en el Viejo Mundo	20
2.3. Mapa de las Comunidades Agrícolas, orografía e hidrografía de la Región de Coquimbo.	28
4.1. Lugares de recolección de datos.	40
5.1. Estimación de proporciones de ancestría para tres poblaciones parentales . . .	51
5.2. Agrupamiento de STRUCTURE usando 30 marcadores informativos de ancestría (AIM)	52
5.3. Análisis de Componentes Principales de marcadores informativos de ancestría según presunto fenotipo de persistencia de lactasa	53
5.4. Agrupamiento de STRUCTURE usando 30 AIM según persistencia de lactasa	54
5.5. Decaimiento de la homocigosis extendida de haplotipos (EHH) en pastores de cabras de Chile y poblaciones del Viejo Mundo para diferentes haplotipos	54
5.6. Heterocigosidad esperada vs observada de 15 marcadores microsatelitales autosómicos	55
5.7. Resultados de STRUCUTRE usando 15 STRs	56
5.8. Agrupamiento de STRUCTURE usando 15 STRs de acuerdo a persistencia de lactasa	57
5.9. Diferencias en estatura, peso e IMC entre individuos con y sin persistencia de lactasa según sexo.	60
5.10. Comparación del incremento en el IMC y la edad entre individuos con y sin persistencia de lactasa según sexo	62
5.11. Tasa de supervivencia de hijos y total de hijos según persistencia de lactasa	63
5.12. Diferencias en el número de hijos entre digestores de lactosa y no digestores de lactosa en personas sobre 45 años.	64

Índice de tablas

2.1. Prevalencia de maldigestión de lactosa en diferentes grupos étnicos agrupados según su patrón de subsistencia	21
2.2. Porcentajes de digestión de lactosa según pruebas fenotípicas en poblaciones mestizas de América Latina.	24
2.3. Porcentajes de digestión de lactosa en poblaciones Amerindias y Españolas.	25
2.4. Porcentajes de digestores de lactosa según genotipo en poblaciones de América y España.	27
5.1. Perfil sociodemográfico de la muestra	48
5.2. Estadísticas generales de fertilidad: Edad al nacimiento del primer hijo, nacimientos, y supervivencia de hijos.	49
5.3. Asociación de fenotipos evaluados según prueba de tolerancia de lactosa y genotipo de <i>LCT</i> – 13910	49
5.4. Frecuencias de genotipos de $-13910C > T$ en comunidades de pastores de cabras del Norte Chico.	50
5.5. Proporción de ancestría europea (modelo biparental)	52
5.6. Consumo de leche y otros lácteos	58
5.7. Resumen de estadísticas de estatura, peso e índice de masa corporal (IMC) según presunta persistencia de lactasa de acuerdo a genotipo.	59
5.8. Efectos significativos de la persistencia de lactasa en IMC de hombres	61
5.9. Modelo generalizado (Poisson) para número de hijos nacidos vivos (hijos)	65
C.1. Partidores utilizados para PCR.	108
C.2. Condiciones de termociclado.	108
C.3. SNPs genotipificados para estimación de ancestría	109
C.4. SNPs genotipificados para inferencia de haplotipos de <i>LCT</i>	110
C.5. STRs genotipificados para estimación de consanguinidad	111

Capítulo 1

Introducción

1.1. Variabilidad y adaptación

La antropología entendida como el estudio de la variabilidad humana constituye una de las pocas definiciones que puede encontrar algún grado de aceptación en una disciplina diversa y fragmentada. La misma está históricamente fundada sobre un interés acerca de los diferentes grupos humanos como un esfuerzo por descubrir las relaciones entre su comportamiento, historia, sociedad, cultura y biología. La variabilidad, entendida como el trasfondo general de la antropología constituye un marco de trabajo atractivo tanto para la antropología social como para la antropología biológica.

Además de su impacto científico, el estudio de la variabilidad humana siempre ha estado relacionado con temas de amplio interés social, jugando un rol fundamental en el expansionismo y colonialismo europeo desde el siglo XV hasta mediados del siglo XX (Harris, 2000), y ha sido utilizado como pretexto científico para justificar desigualdades sociales hasta tiempos recientes (Lewontin, 2001). Sin embargo, también ha contribuido a orientar necesidades específicas de las diferentes poblaciones humanas en áreas como, por ejemplo, las políticas públicas, la identificación forense, la ergonomía y la salud (Harris, 1997). Hoy en día el estudio de la variabilidad humana se enfrenta al desafío de comprender los efectos de la globalización y de la rápida dispersión de comportamientos occidentales en una amplia gama de poblaciones, cada una con sus particulares modos de vida y rasgos biológicos, un escenario en el cuál el estudio de la variabilidad humana puede contribuir al desarrollo de políticas públicas que mejoren el bienestar de diversas poblaciones y sus relaciones interculturales.

Parte de la variabilidad en la que estamos interesados es causada por rasgos adquiridos por grupos humanos como formas de ajustarse a condiciones específicas de su ambiente y su forma de vida. Muchos términos (como adaptación, aclimatación, acomodación, habituación, etc.) son utilizados en la literatura para clasificar diferentes modalidades de los

mencionados procesos de ajuste, distinguiéndose respuestas a nivel individual y poblacional en niveles de variabilidad genética, fisiológica, conductual y cultural (véase Mazess 1975 y Harrison & Morphy 1998 para comparar diferentes esquemas de clasificación). A pesar de que no existe una terminología estandarizada, la mayoría de los esquemas examinados distinguen entre modificaciones a nivel de poblaciones, adquiridas a largo plazo y hereditarias (adaptación), de respuestas a corto plazo de nivel individual y no hereditarias (aclimatación). Las dificultades para distinguir las diferentes formas en que los humanos se ajustan a sus condiciones de vida residen en las profundas relaciones entre ellas: el rango de respuestas que un individuo puede mostrar y como son gatilladas es a su vez resultado de un proceso de adaptación. Del mismo modo, la variación a nivel fisiológico, conductual y cultural también puede ser el resultado de modificaciones de largo plazo hereditarias, y por lo tanto adaptaciones, posibilidad reconocida por la denominada Teoría de la Heredabilidad Dual en el estudio de la coevolución de genes y cultura (Aoki, 2001; Durham, 1982).

Esta memoria es acerca de cómo una población pastoralista, viviendo en condiciones ambientales adversas, se adapta a un comportamiento alimenticio recientemente introducido. Estos tres elementos claves: pastoralismo, ambientes extremos, y cambios en la dieta, han formado parte de modelos útiles para el estudio de la adaptación humana.

1.1.1. Adaptación a ambientes extremos

A medida que las poblaciones humanas se dispersaron por el mundo se vieron enfrentadas a una variedad de ambientes, fundamentalmente diferentes del ecoclima original del este de África. Adaptaciones culturales en el vestuario, la calefacción, la arquitectura, el transporte, las tecnologías de caza, y la estructura social facilitaron el proceso de migración humana. A su vez, la adaptación biológica, por medio de la selección natural, jugó un rol fundamental en este proceso y es responsable de una importante parte de la variabilidad fenotípica que observamos en esta especie. La literatura documenta varios ejemplos de desafíos ambientales enfrentados por las poblaciones humanas, e indican los mecanismos mediante los cuales los humanos lograron adaptarse para lidiar con ellos.

Uno de estos desafíos radica en la diversidad de temperaturas en el mundo. Una hipótesis de gran relevancia histórica fue propuesta por Bergmann (1848), quien introdujo la idea que hoy se conoce como la "*Regla de Bergmann*". Según esta regla, los animales grandes tienen menores tasas de pérdida de calor debido a que la superficie de su cuerpo expuesta al frío es proporcionalmente pequeña respecto a su tamaño corporal. De acuerdo con esta hipótesis, la correlación entre el tamaño corporal y la latitud ha sido documentada para varios niveles taxonómicos, por ejemplo, entre órdenes dentro de los mamíferos (Ashton et al., 2000; Freckleton et al., 2003), y entre especies dentro de los primates (Harcourt & Schreier, 2009). Entre poblaciones humanas la variación en el tamaño corporal se muestra, generalmente, en acuerdo con la regla de Bergmann (Katzmarzyk & Leonard, 1998; Roberts, 1953; Ruff, 2002). Sin embargo, los conocimientos sobre las bases genéticas de esta adaptación

hipotética son limitados, y algunas evaluaciones de la regla de Bergmann pueden estar afectadas por variables externas como la prevalencia de malnutrición en áreas tropicales (Katzmarzyk & Leonard, 1998) u otros procesos evolutivos, tales como la adaptación para moverse en los bosques, selección sexual, o reproducción temprana (Jobling et al., 2013).

Además del tamaño corporal como mecanismo termorregulador, otros factores han sido explorados para explicar la adaptación a temperaturas extremas.

Los registros históricos entregan evidencia de tasas de mortalidad altas asociadas a olas de calor (Kovats & Hajat, 2008), y se ha demostrado epidemiológicamente la asociación de las altas temperaturas con el nacimiento de niños bajo peso (Wells, 2002). Hancock et al. (2011b) han encontrado una fuerte asociación entre las frecuencias de un alelo del gen *KRT77*, que codifica queratina, en lugares con altas temperaturas, sugiriendo adaptación al calor debido a la expresión de este gen en los ductos sudoríparos eccrinos.

Sin embargo, considerando que el origen de la especie es en el cálido oriente africano, la adaptación a las bajas temperaturas debe haber significado un paso más significativo en la colonización humana de la mayoría del planeta¹. Una tasa metabólica basal alta, que contribuye con la producción de calor, ha sido encontrada en poblaciones siberianas (Leonard et al., 2002). Este fenotipo ha sido explicado como una adaptación genética atribuida al incremento de la función de la tiroide, y no a mera aclimatación, debido a que las poblaciones nativas del norte de Norte América no presentan este incremento en el metabolismo basal, a pesar de compartir dietas, modos de vida, y temperaturas similares (Leonard et al., 2005). Una señal de selección fuerte ha sido encontrada para un alelo en *TRIP6* (proteína de interacción con receptor tiroideo 6) en poblaciones que viven en lugares con bajas temperaturas (Hancock et al., 2011b), la cuál puede ser interpretada como apoyo a esta hipótesis. De forma similar, la forma más importante de producción de calor en infantes, conocida como termogénesis no temblorosa, está mediada por la proteína desacoplante UCP1, la cuál disminuye el gradiente de protones en la membrana mitocondrial de las células del tejido adiposo marrón, generando calor. Un alelo en *UCP1*, así como alelos en genes relacionados con otras proteínas desacoplantes, son particularmente frecuentes en regiones con bajas temperaturas, y muestran fuertes señales de selección natural (Hancock et al., 2011a).

Las poblaciones humanas también se han adaptado a los diferentes niveles de luz solar presentes en diferentes latitudes. Por muchos años, la pigmentación humana fue erróneamente interpretada como una señal de las relaciones genealógicas de las poblaciones (Relethford, 2002). Sin embargo, hoy se sabe que la pigmentación es el resultado de un proceso de adaptación a las diferentes cantidades de radiación UV, como lo indica la alta asociación entre pigmentación y latitud (Jablonski & Chaplin, 2000). La variación en la pigmentación es causada por varios factores, siendo uno de ellos las diferencias en el tamaño y la distribución de las células productoras de pigmentos ubicadas en la capa inferior de la epidermis, las cuales se ven estimuladas por la exposición a la luz solar (García-Borrón et al., 2005).

¹Antártica, el continente más frío en la Tierra, es de hecho una notable excepción en el contexto de la expansión humana global

Muchos genes juegan un rol en la pigmentación, y se han encontrado importantes diferencias alélicas en su distribución mundial. En Europa se han detectado señales de selección para variantes asociadas a fenotipos de piel clara en *SLC24A* (Izagirre et al., 2006; Lamason et al., 2005; Norton et al., 2007; Sulem et al., 2007), *MATP* (Graf et al., 2005; Norton et al., 2007), *MC1R* (Beaumont, 2005; Flanagan et al., 2000; Harding et al., 2000; Sulem et al., 2007), *OCA2* (Norton et al., 2007; Sulem et al., 2007) y *TYR* (Izagirre et al., 2006; Lao et al., 2007; Norton et al., 2007; Sulem et al., 2007). De estos alelos, solo los de los genes *OCA2* y *TYR* están asociados con los fenotipos de piel clara en Asia, habiéndose encontrado variantes adicionales propias de esta región geográfica (*ASIP*, *OCA2*, *DCT*, *EGFR* y *DRD2*) sugiriendo evolución independiente del rasgo en ambos continentes (Lao et al., 2007; Norton et al., 2007). Además se han sugerido señales de selección en contra de alelos asociados a fenotipos de piel clara en África, basados en la distribución de alelos relacionados con fenotipos de piel oscura en los genes *TP53BP1* y *RAD50* (Izagirre et al., 2006).

Esta diversidad es explicada por presiones selectivas hipotéticas operando simultáneamente en regiones de alta y baja radiación UV. La adaptación parece ser el resultado de la selección de niveles adecuados de pigmentación para una latitud dada. Por lo tanto, en lugares donde la radiación UV es alta, la pigmentación debe ser capaz de proteger de las quemaduras solares, la deshidratación, y la degradación de micronutrientes, mientras en lugares con radiación UV baja, la pigmentación no debe impedir la síntesis de vitamina D (Jobling et al., 2013).

Otro ejemplo de adaptación es el que permite a algunas poblaciones humanas vivir en lugares con elevaciones superiores a los 3000 m.s.n.m., donde la presión parcial de oxígeno en el aire disminuye, disminuyendo también el contenido de oxígeno del aire inhalado. Bajo estas condiciones, la mayoría de los humanos sufre los síntomas del apunamiento agudo, en donde la fisiología respiratoria (adaptada al nivel del mar) responde induciendo la hiperventilación y el aumento de la tasa metabólica basal. Esta reacción puede resultar en aclimatación después de algunas semanas de exposición (Beall, 2007). Sin embargo, si estas condiciones son sostenidas en el largo plazo pueden resultar en edemas y en apunamiento crónico (Beall et al., 1997), afectando la mortalidad materna y fetal (Julian et al., 2009; Moore et al., 2011), y por lo tanto constituyendo un impedimento importante para la colonización de estos territorios.

Sin embargo, han existido asentamientos de altitud por miles de años en los Himalayas, los Andes, y la meseta de Etiopía, sugiriendo adaptación genética de las poblaciones que viven ahí. Los fenotipos de adaptación fisiológica a la hipoxia son muy diferentes en estas tres regiones, mostrándose hipoxemia arterial tanto en los Andes como en los Himalayas, disminución de la concentración de hemoglobina solamente en los Himalayas, y aumento del conteo de glóbulos rojos solo en los Andes. Por otra parte, los etíopes de las tierras altas muestran niveles de saturación de oxígeno, concentración de hemoglobina, y conteo de glóbulos rojos similares a los reportados en poblaciones a nivel del mar (Beall, 2006, 2007; Beall et al., 2002).

Se han encontrado señales de selección en alelos de *EPAS1*, *EGLN1*, y *PPARA*, en poblaciones sherpa y tibetanas. Todos estos genes están en la vía del factor de transcripción inducible por hipoxia HIF α 2, y están relacionados con la concentración de hemoglobina, la cuál está disminuida en las poblaciones de los Himalayas, pero no en otras poblaciones de altura (Beall et al., 2010; Simonson et al., 2010).

La fisiología andina de altura es similar a la de individuos no andinos nacidos a nivel del mar una vez aclimatizados a ambientes de altura, pero la alta heredabilidad de las tasas de hipoxemia y del conteo de glóbulos rojos en individuos con ancestría andina nacidos a nivel del mar sugieren que el rasgo tiene una base genética (Beall, 2006). Algunos estudios han propuesto señales de selección en poblaciones andinas para alelos de *ENDRA*, *PRKAA1*, y *NOS2A*, estando todos estos genes involucrados en la vía de factores de transcripción inducibles por hipoxia por medio de la regulación de la vasoconstricción, monitoreo de deprivación de ATP, y regulación de la presión sanguínea, respectivamente (Bigham et al., 2009).

1.1.2. Adaptación a cambios en la dieta

Debido a que los recursos disponibles dependen en parte del ambiente, los cambios en la dieta pueden ser considerados como parte del conjunto de adaptaciones a diferentes ambientes, tratados en la sección anterior. Estos cambios incluyen adaptaciones culturales como la evasión y preferencia cultural hacia ciertas comidas y ciertas formas de procesamiento de alimentos (Harris, 1998; Simoons, 1994). Sin embargo, los cambios en la dieta no solamente se ven afectados por las diferencias en los ambientes ocupados por los humanos, si no también por las innovaciones culturales en obtención de recursos y producción de alimentos.

Una porción importante de la variabilidad fenotípica humana ha sido interpretada en relación a la alimentación. Por ejemplo la alta variabilidad en los genes que codifican las enzimas involucradas en el metabolismo del alcohol: alcohol deshidrogenasa (*ADH*) y aldehído deshidrogenasa (*ALDH*). Solo unas pocas variantes dentro de estas familias de genes tienen efectos en la actividad enzimática en *ALDH2*, *ADH1B* y *ADH7*. Estas variantes alélicas se encuentran casi exclusivamente en población del este de Asia, donde es posible observar señales moleculares de selección (Evsyukov & Ivanov, 2013; Li et al., 2009; Oota et al., 2004; Osier et al., 2004, 2002; Peng et al., 2010). Estas variantes están asociadas a la abstinencia y al bajo consumo de alcohol en poblaciones asiáticas, lo que ha llevado a algunos autores a sugerir un efecto protector contra el alcoholismo (Chen et al., 1999; Tu & Israel, 1995).

Los mecanismos que actúan dando ventajas evolutivas a este rasgo son materia de debate. El alcoholismo está asociado a varias enfermedades que pueden ser letales, y la reacción de rubor sufrida en asociación al consumo de alcohol por los portadores de estas variantes puede haber desincentivado el consumo (Osier et al., 2002; Tu & Israel, 1995). Además,

una combinación particular de alelos no protectores en población Nativa Americana está altamente relacionada con episodios de alcoholismo e intoxicación etílica (Mulligan et al., 2003). Un Estudio en varias poblaciones Chinas Peng et al. (2010) han detectado una marcada distribución geográfica de *ADH1B*47His* en asociación con localidades con registro arqueológico de domesticación temprana del arroz, el cual puede haber sido usado en la producción de bebidas alcohólicas. El estudio mencionado data el origen del polimorfismo *ADH1BArg47His* entre 10000 y 7000 años atrás, en concordancia con las fechas estimadas para el origen y la expansión de la agricultura en China. Sin embargo, otros estudios han propuesto causas no relacionadas con el alcoholismo, destacando el rol de ADH y ALDH en la protección contra micotoxinas y parásitos anaerobios como una causa más probable para la aparición de presiones selectivas a favor de estas variantes (Han et al., 2007; Oota et al., 2004), mientras otros no han detectado asociación entre estas variantes alélicas y el consumo de alcohol en población mestiza latinoamericana, sugiriendo mayor relevancia de factores culturales en la conducta de consumo de alcohol (Silva & Flores, 2015).

Uno de los cambios alimenticios más relevantes de la historia humana es el paso de estrategias de subsistencia basadas en la caza y recolección a aquellas basadas en la agricultura, sugiriéndose la posibilidad de que dicho proceso conllevara procesos de adaptación en el pasado. Se ha documentado variación interpoblacional en el número de copias (CNV por sus siglas en inglés “*copy number variation*”) en el gen que codifica la amilasa salival (*AMY1*), lo que ha sido interpretado como una adaptación a una dieta rica en almidones como raíces, tubérculos, trigo y arroz (Luca et al., 2010; Perry et al., 2007). La amilasa salival está involucrada en la digestión del almidón, y el número de copias del gen *AMY1* está relacionado con los niveles de actividad enzimática (Fried et al., 1987; Groot et al., 1989; Lebenthal, 1987). Perry et al. (2007) muestran una importante asociación entre el número de copias de *AMY1* de acuerdo a la importancia de los almidones en la dieta de diferentes poblaciones, sugiriendo la selección natural como la responsable de la distribución de esta variabilidad.

Otro aspecto importante a tener en cuenta en la adaptación de las poblaciones humanas a diferentes tipos de dieta son las prácticas culturales, como queda ejemplificado con el rol del canibalismo ritual en la masificación de la resistencia al kuru entre los Fore de Papua Nueva Guinea (Lindenbaum, 2008). El kuru es una enfermedad neurodegenerativa contagiosa producida por la autoreplicación de proteínas resistentes a la proteasa anormalmente plegadas (PRNP). Individuos heterocigotos en el codón 129 de *PRNP* poseen resistencia contra el Kuru y contra la enfermedad de Creutzfeldt–Jakob (Mead et al., 2009). Entre los Fore, se ha demostrado selección estabilizadora por medio de desviaciones de equilibrio de Hardy–Weinberg entre diferentes grupos etarios y diferentes géneros (Mead et al., 2009). La exposición al consumo de tejido nervioso humano era común antes de la prohibición del endocanibalismo ritual en 1950, y debido a que los hombres participaban menos en los festines funerarios y consumían tejidos de menor riesgo, las mujeres y los niños eran los que se veían más expuestos a la enfermedad (Mead et al., 2008). Por lo tanto, fue necesario conocer en profundidad la historia y los rasgos culturales del endocanibalismo Fore para poder entender la relevancia de la comparación por grupos etarios y por género. El

efecto de esta práctica en la adaptación genética fue lo suficientemente grande como para detectar selección natural utilizando métodos tan directos como la prueba de equilibrio de Hardy–Weinberg entre generaciones (Jobling et al., 2013) y constituye uno de los ejemplos mejor documentados de cambio evolutivo reciente en humanos. A pesar de no presentar señales de selección tan fuertes como en Papua Nueva Guinea, las frecuencias alélicas de microsatélites ligados a variantes de *PRNP* muestran señales de selección en la mayoría de las poblaciones humanas a nivel mundial, con la excepción del este de Asia (Mead et al., 2003). Este dato puede ser interpretado como adaptación a episodios de contagio de priones por vectores animales o como evidencia de que la mayoría de las poblaciones humanas han recurrido al canibalismo en algún momento de su historia (Mead et al., 2003).

1.2. Pastoralismo como modelo de adaptación humana

Se define pastoralismo como un patrón de subsistencia basado en la crianza y manejo de animales domésticos. Es comúnmente practicado en áreas de baja productividad agrícola y usualmente requiere movimiento estacional del ganado según la disponibilidad de recursos vegetales. El pastoralismo es denominado exclusivo cuando la crianza de animales constituye la única actividad productiva y otros recursos son obtenidos mediante venta o trueque de productos animales, o como agropastoralismo cuando es complementado con agricultura de pequeña escala. De acuerdo al patrón de movilidad, es clasificado como trashumante cuando los movimientos siguen patrones estacionales regulares y rutas relativamente fijas, o como nómádico cuando la migración es oportunista. Estrategias completamente sedentarias de crianza de animales no son normalmente consideradas pastoralismo (Leonard & Crawford, 2008).

A pesar de los pronósticos sobre la inminente desaparición del pastoralismo como un modo de subsistencia ineficiente (comentados en Blench (2001); Leonard & Crawford (2008); Mace (1991)), aglomeraciones geográficas de sociedades pastoralistas siguen siendo comunes en la actualidad. Algunas de las regiones mejor estudiadas del Viejo Mundo se encuentran en África oriental y el Sahara, en el medio oriente, y en las estepas de Asia central. El pastoralismo también es común en áreas menos estudiadas del Himalaya, norte de Rusia, en el país Vasco, en poblaciones Saami de Escandinavia, y en los Alpes italianos y suizos. (Leonard & Crawford, 2008).

En Sudamérica, el pastoralismo ha sido poco explorado por la literatura etnográfica a pesar de ser practicado hace al menos 6.000 años y de haber jugado un rol central en la prehistoria andina. El pastoralismo es todavía común y económicamente relevante en los Andes centrales donde se mantiene estrechamente ligado a las especies y costumbres indígenas (Blench, 2001; Browman et al., 1997; Westreicher et al., 2007). Una tradición similar en términos de composición del ganado e influencia indígena, pero de menor impacto económico y demográfico, existe en la puna Atacameña de Chile y Argentina. Sin embargo, el pastoralismo contemporáneo presenta un rango geográfico y una composición del ganado más

amplia que el pastoralismo prehispánico, encontrándose en las tierras altas de los páramos ecuatorianos donde se pastorean especies americanas y del viejo mundo, y en la región patagónica de Chile y Argentina, así como en el sur de Brasil, donde el pastoralismo de vacunos y ovinos es practicado por grupos de ancestría mestiza en áreas donde no existía domesticación de animales antes de la colonización Europea. Sin embargo, sólo los pastores de cabras del Norte Chico chileno y del Noroeste Argentino presentan pastoralismo móvil orientado al ordeño y a la producción de lácteos. En estas comunidades el ganado caprino es predominante, y los camélidos sudamericanos prácticamente ausentes (Gallardo, 2002; Westreicher et al., 2006).

El pastoralismo en general presenta características que lo convierten en un buen modelo para el estudio de procesos de adaptación en poblaciones humanas. Involucra de forma simultánea cambios en la exposición a diferentes ambientes, diferentes patógenos, y diferentes fuentes de recursos para la alimentación. En particular, las comunidades de pastores de cabras del Norte Chico chileno presentan características que las perfilan como modelo para estudiar las posibles ventajas selectivas de la persistencia de lactasa. Al ser poblaciones mestizas, se predice la introducción de la variante Europea de persistencia de lactasa por flujo génico, presentando un escenario de variabilidad en el rasgo, alta dependencia del ordeño de animales, y posiblemente una reciente dinámica demográfica de alta fertilidad y alta mortalidad. Los objetivos de este estudio son comprender la adaptación reciente al consumo de lácteos en estas comunidades, sus frecuencias de persistencia de lactasa, la asociación de estas últimas con ancestría, peso, talla, y fertilidad, y el posible rol de estas asociaciones para entender los mecanismos que resultaron en la selección natural de la persistencia de lactasa en los albores del pastoralismo de ordeño.

Capítulo 2

Antecedentes

2.1. Persistencia de lactasa

2.1.1. Lactasa y digestión de lactosa

La absorción intestinal de la lactosa, principal fuente de energía en la leche, es posible solamente tras ser catalizada por la lactasa, una enzima localizada en el borde en cepillo de los enterocitos en el epitelio del intestino delgado, que divide la lactosa en sus monosacáridos constituyentes glucosa y galactosa. Cuando la actividad enzimática es baja, la lactosa pasa intacta al colon, donde actúa como sustrato de fermentación para la flora intestinal, liberando gases, disminuyendo el pH luminal, reduciendo la absorción de agua, y produciendo diarrea osmótica con otros síntomas gástricos en algunos casos.

La deficiencia de lactasa puede tener varias causas, como la deficiencia congénita (una enfermedad recesiva muy poco frecuente), o la deficiencia temporal tras episodios de diarrea. Sin embargo, la forma más común de deficiencia de lactasa es causada por su regulación hacia abajo tras el destete, parte normal del desarrollo de la mayoría de los mamíferos. Solo un 35% de las poblaciones humanas (de acuerdo con Itan et al. 2010) presenta actividad enzimática elevada durante toda su vida, pudiendo digerir leche en la adultez. Esta capacidad, denominada persistencia de lactasa, muestra una marcada distribución geográfica y étnica en asociación con la adopción de prácticas de ordeño y consumo de leche en sociedades pastoralistas entre 10.000 y 5.000 A.P, constituyendo uno de los principales ejemplos documentados del rol de la cultura en la formación de variabilidad biológica y de selección natural positiva reciente en la historia humana.

A pesar de ser comúnmente usados como sinónimos, términos como maldigestión de lactosa, intolerancia a la lactosa y no persistencia de lactasa tienen significados diferentes. La maldigestión de lactosa es la falta de capacidad para romper la molécula de lactosa, mientras que la intolerancia a la lactosa se refiere a los síntomas gástricos asociados a la

maldigestión, los cuáles no están necesariamente presentes en todos los maldigestores. Por su parte, la no persistencia de lactasa es una de las posibles causas de maldigestión de lactosa (Levitt et al., 2013), la cuál también puede ser causada por otros problemas digestivos con efectos dañinos en el epitelio intestinal, en cuyo caso se denomina intolerancia a la lactosa secundaria. Existe también confusión entre la persistencia de lactasa y las alergias a proteínas de la leche, una reacción adversa al consumo de leche, pero con causas y síntomas muy diferentes y completamente no relacionada (Crittenden & Bennett, 2005; Ingram et al., 2009b).

Los métodos directos para medir la actividad de la lactasa requieren una biopsia de tejido intestinal para determinar la no persistencia de lactasa. Sin embargo, se pueden utilizar métodos indirectos, conocidos como pruebas de tolerancia a la lactosa, los cuales son menos invasivos. Estos métodos están basados en la evaluación de la digestión de lactosa midiendo los niveles de glucosa en la sangre y la concentración de hidrógeno en el aliento. Ambas pruebas comienzan con la administración de una dosis de lactosa a un voluntario en ayuna. En el caso de la prueba basada en la glicemia, los niveles de glucosa en la sangre se incrementan en los digestores de lactosa, pero no en los no digestores (debido a su incapacidad para obtener glucosa a partir de la lactosa). En el caso de la prueba de hidrógeno espirado, la concentración de hidrógeno se incrementa solamente en quienes no pueden digerir lactosa (debido a que el hidrógeno es un producto de la fermentación de la lactosa no digerida por la flora bacteriana intestinal en el colon). De acuerdo a Mulcare et al. 2004, se estiman tasas de error de un 7% para falsos no persistentes y de un 9% para falsos persistentes usando la prueba basada en glucosa en la sangre, y de un 5% falsos no persistentes y un 7% de falsos persistentes usando la prueba de hidrógeno espirado, sugiriendo este último método como el más acertado. Tomando en cuenta el error de cada uno de estos métodos, es importante señalar que los individuos persistentes pueden, sin embargo, sentir síntomas gástricos al consumir leche debido a otros problemas digestivos o psicosomáticos (Briet et al., 1997; Peuhkuri & Vapaatalo, 2000), como también los individuos no persistentes pueden ser capaces de consumir leche sin síntomas adversos, ya sea por adaptación de la flora bacteriana, y especialmente si toman leche en pequeñas cantidades, espaciadas a lo largo del día, y en conjunto con otros alimentos, así como también consumiendo productos lácteos como queso o yogur, los cuales contienen menos lactosa (Levitt et al., 2013).

Curiosamente, y a pesar de todas las circunstancias mencionadas bajo las cuales individuos sin persistencia de lactasa pueden incluir la leche en sus dietas, la persistencia de lactasa tiene una distribución tan específicamente asociada a la subsistencia y la geografía que se ha convertido en uno de los principales modelos para investigar el rol de la cultura en la evolución humana por más de 50 años (Auricchio et al., 1963; Ingram et al., 2009a; Simoons, 1969, 1970; Swallow, 2003).

2.1.2. Genética de la persistencia de lactasa

Contrario a la creencia común, la persistencia de lactasa no es inducida por una dieta rica en leche ¹ (Leichter, 1973), si no que determinada genéticamente como un rasgo mendeliano de herencia dominante. La lactasa es codificada por el gen de la lactasa (*LCT*), una secuencia de ~50 kb ubicada en el brazo largo de cromosoma 2 (2q21) (Kruse et al., 1988). La enzima es sintetizada como un precursor que, tras ser procesado en el retículo endoplasmático y en el aparato de Golgi, se convierte en una proteína madura, que luego se ancla al epitelio intestinal (Swallow, 2003). Se ha demostrado por medio de estudios de familias que la persistencia de lactasa es un rasgo genético de herencia dominante (Sahi, 1974; Sahi & Launiala, 1977). Sin embargo, la proteína es idéntica en individuos persistentes y no persistentes (Boll et al., 1991) y ningún polimorfismo en *LCT* ni en la región promotora adyacente está asociado al rasgo de persistencia. En poblaciones europeas se ha descubierto un enorme haplotipo ininterrumpido de ~1Mb (denominado haplotipo A) en alta asociación con el fenotipo de persistencia (Poulter et al., 2003), dentro del cual se ha detectado la presencia de un SNP (transición C >T) localizado ~14 kb río arriba de *LCT*, en *MCM6* (Enattah et al., 2002; Harvey et al., 1998; Hollox et al., 2001), conocido como *-13,910*T*, que muestra un efecto potenciador en la actividad de la región promotora de la lactasa in vitro (Olds & Sibley, 2003).

Junto con su ocurrencia en haplotipos extendidos con baja diversidad de microsatélites (Coelho et al., 2005), estudios de DNA antiguo muestran ausencia de este alelo a comienzos del neolítico (Burger et al., 2007; Sverrisdóttir et al., 2014), en regiones geográficas donde las frecuencias del alelo son altas en la actualidad, sugiriendo que fueron alcanzadas en un periodo de tan solo 10.000–5.000 años. Todas estas líneas de evidencia sugieren selección natural positiva reciente del alelo *-13910*T* en Europa, en concordancia con los resultados de búsquedas de barridos selectivos en genomas publicados (Voight et al., 2006), que indican a este alelo como uno de los polimorfismos con señales de selección más fuertes en todo el genoma.

Sin embargo, esta variante no es tan común fuera de Europa. Otras poblaciones con historias vinculadas al pastoralismo y con altas frecuencias del fenotipo persistente muestran otros polimorfismos en esta misma región potenciadora (*-13907*G*, *-13915*G*, *-14010*C*, *-14009*G*, Figura 2.1), constituyendo un ejemplo de evolución paralela o convergente del fenotipo persistente en diferentes poblaciones, cuyo elemento en común es una prehistoria asociada al pastoralismo (Enattah et al., 2008; Imtiaz et al., 2007; Ingram et al., 2007; Jones et al., 2013; Tishkoff et al., 2007). Además, al menos tres de estas variantes están también localizadas en haplotipos extendidos ininterrumpidos (Bersaglieri et al., 2004; Ranciaro et al., 2014; Tishkoff et al., 2007). Estos estudios apoyan la idea de un proceso de selección

¹Esta idea probablemente proviene de el conocimiento sobre el metabolismo de lactosa en *Escherichia coli* y otras bacterias entéricas las cuáles (a diferencia de los humanos) dependen de la presencia de sustrato como regulador de la expresión génica mediante el célebre operon *lac*, de forma que la enzima no se produce cuando no hay lactosa disponible.

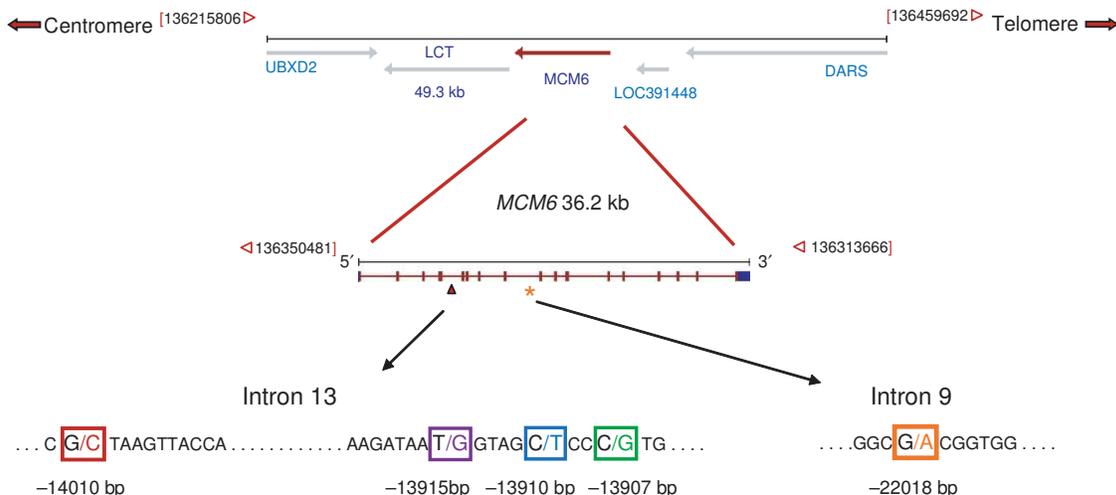


FIGURA 2.1. Contexto cromosómico de *LCT* y *MCM6*. Se muestra la región potenciadora de *LCT* en *MCM6* y las primeras variantes cuya asociación con la persistencia de lactosa fue descubierta para población Europea y algunas poblaciones Africanas (Adaptado de Tishkoff et al. 2007 con permiso escrito de Macmillan Publishers Ltd: Nature Genetics copyright ©2007 Nature Publishing Group).

natural positiva que favoreció la persistencia de lactasa en aquellos grupos que adquirieron prácticas de ordeño tempranamente tras la domesticación de animales.

2.1.3. Evolución y distribución de la persistencia de lactasa en el Viejo Mundo

El análisis de las frecuencias de persistencia de lactasa en el Viejo Mundo muestra un marcado patrón de distribución geográfica, fuertemente asociado con poblaciones que tienen o han tenido estrategias de subsistencia pastorales (ver Figura 2.2). Esta distribución muestra bajas frecuencias de persistencia de lactasa en la mayoría de las poblaciones, con importantes excepciones en el norte de Europa, con los niveles más altos en Escandinavia, los cuales disminuyen gradualmente hacia el sureste. Un segundo patrón de distribución se encuentra más asociado a grupos etnolingüísticos de la familia afroasiática en el noreste de África y Oriente Medio, zonas en las cuales hay grupos con altas frecuencias de persistencia de lactasa dispersos entre poblaciones con frecuencias bajas.

La asociación entre altas frecuencias de persistencia de lactasa y las prácticas culturales de consumo de leche procedente del ganado doméstico fue señalada desde los primeros estudios sobre persistencia de lactasa (Simoons, 1978, 1970). La costumbre de ingerir leche de otros mamíferos constituye una práctica desarrollada solo por algunas poblaciones pastorales durante el neolítico, ausente en otros grupos humanos hasta tiempos históricos recientes (Harris, 1998). La Tabla 2.1 muestra las frecuencias de maldigestión de lactosa (medida usando pruebas de hidrógeno espirado o pruebas de glucosa en la sangre) en di-

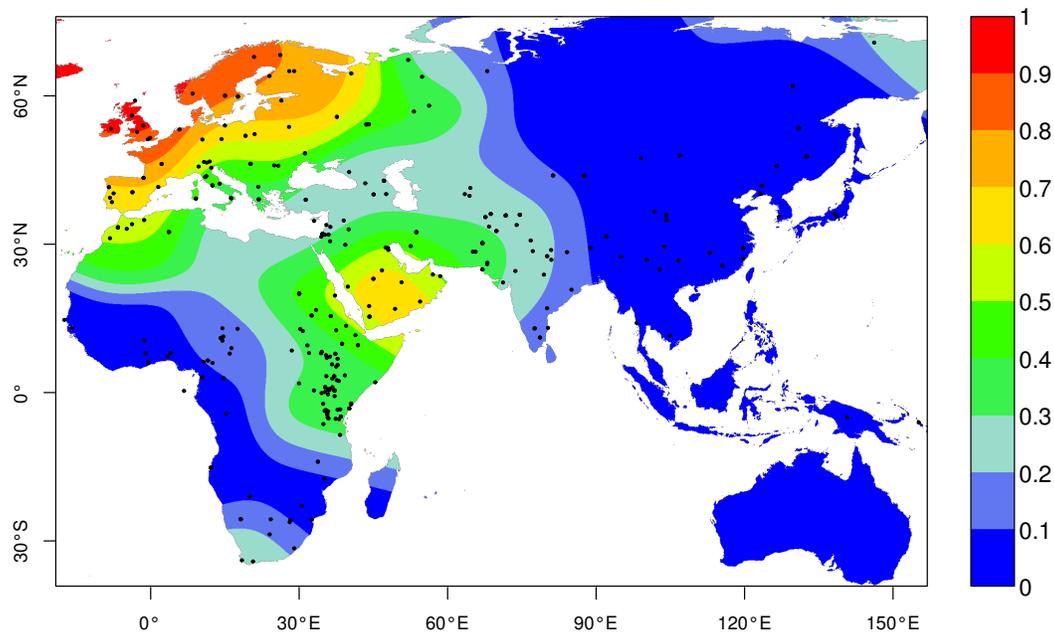


FIGURA 2.2. Distribución geográfica de Persistencia de Lactasa en el Viejo Mundo estimada usando interpolación de densidad de núcleo con el método descrito por Ingram et al. 2009a. Interpolación inferido a partir de los 5 alelos funcionales conocidos (-13907^*G , -13910^*T , -13915^*G , -14009^*G , -14010^*C) usando los datos de Global Lactase Association Database (GLAD) actualizados por Anke Liebert en el 2014, usando puntos recientemente recolectados (Gallego Romero et al., 2012; Ranciaro et al., 2014).

ferentes poblaciones agrupadas según su patrón de subsistencia (Simoons, 1978). Puede observarse que las frecuencias bajas de maldigestión están presentes solamente en poblaciones que históricamente han dependido económicamente de la leche y los productos lácteos. Sin embargo, esta relación es unidireccional, i.e. existen grupos con importantes tradiciones culturales de ordeño que exhiben niveles altos de maldigestión de lactosa, como los Mongoles (Strickland, 1993; Tserendolgor et al., 1998) y los Griegos (Kanaghinis et al., 1974). Lo anterior parece indicar que las dietas ricas en leche pueden desarrollarse por medio de mecanismos no genéticos, como por ejemplo, las prácticas culturales de consumo, procesamiento y fermentación de lácteos (Swallow, 2003).

Esta asociación entre persistencia de lactasa y modos de subsistencia a promovido la idea de que constituye una adaptación que se ha diseminado mediante selección natural, pero los mecanismos mediante los cuales operó este proceso son desconocidos. Los primeros estudios sobre persistencia de lactasa proponían tres hipótesis para explicar la selección de este rasgo, conocidas como la hipótesis histórico-cultural, la hipótesis de los ambientes secos y la hipótesis de la radiación solar.

La hipótesis histórico-cultural (Simoons, 1970) indica que la selección positiva de la persistencia de lactasa es el resultado de una ventaja nutricional genérica otorgada por la capacidad de beber y digerir leche, seleccionando el rasgo en cualquier sociedad humana que cumpliera con los requisitos de enfrentar dificultades para el acceso a nutrientes disponibles en la leche y con acceso a animales domésticos apropiados para el ordeño. La investiga-

ción de Simoons constituyó el primer análisis de la distribución de la persistencia de lactasa tomando en consideración no solo la geografía, si no también las prácticas culturales, los patrones de subsistencia y la dependencia económica de las poblaciones en relación a los lácteos.

La hipótesis de los ambientes secos (Cook & Al-Torki, 1975), se concentra en explicar las altas frecuencias de persistencia de lactasa en grupos que viven en bajas latitudes, como los Yöruk, Beja, Tuareg y Beduinos. De acuerdo a esta hipótesis, la tolerancia a la lactosa fue seleccionada en zonas con acceso limitado a agua. Individuos capaces de digerir la leche podían tomar ventaja de su contenido de agua, mientras quienes sufrían de mal-

Población	Maldigestión de Lactosa (%)
<i>Cazadores-Recolectores</i>	
Inuit (Groenlandia)	85
!Kung (Sur de África)	95
Otros	82
<i>Agricultores sin ordeño*</i>	
Nativos Americanos (Suroeste de EE.UU.)	97
Yoruba e Igbo (Oeste de África)	90
Thai	98
Chinos y Sudeste Asiático	98
Java e Indonesia	82
Otros	84
<i>Pastoralistas con adopción reciente del ordeño</i>	
Bantu (África central)	88
<i>Pastoralistas con uso tradicional del ordeño*</i>	
Nomades Fulani (Norte de África)	22
Beduinos y Saudíes (Arabia Saudita)	14
Fineses (Finlandia)	15
Estadounidenses blancos	19
Checos	8
Cinco grupos de India y Pakistán	18
Otros	6
<i>Grupos mestizos entre poblaciones parentales con y sin ordeño†</i>	
Hausa/Fulani	67
Yoruba/Europeo	44
Afroamericanos	66
Amerindio/Angloamericano	51
Mexicano/Estadounidense	53
Thai/Europeo	50
Otros	54

* Incluye su descendencia no mestiza

† A este grupo corresponden las poblaciones mestizas de América Latina.

TABLA 2.1. Prevalencia de maldigestión de lactosa en diferentes grupos étnicos agrupados según su patrón de subsistencia. (Adaptado de Simoons 1978 con permiso escrito de Springer Science and Business Media: The American Journal of Digestive Diseases copyright ©1978 Springer.)

digestión se verían afectados por la diarrea y la subsecuente deshidratación. A pesar de que existe documentación etnográfica extensa del uso de leche de camello como fuente de agua en el norte de África (Holden & Mace, 1997), no es probable que las altas frecuencias de persistencia presentes en Europa puedan ser explicadas por esta causa, a menos que tomemos en consideración la posibilidad de agua contaminada como fuente de infecciones y/o intoxicación.

La hipótesis de la radiación solar (Flatz & Rotthauwe, 1973) sugiere que la persistencia de lactasa fue seleccionada en conjunto con la disminución de la pigmentación de la piel en el norte de Europa como adaptaciones a las altas latitudes con poca radiación solar. La falta de luz solar dificulta la síntesis de vitamina D, incrementando el riesgo de raquitismo. Una disminución en la pigmentación de la piel permitiría sintetizar vitamina D en este tipo de ambientes, y la persistencia de lactasa permitiría aprovechar el alto contenido de calcio en la leche para prevenir las deformaciones óseas asociadas al raquitismo. Esta hipótesis se concentra en explicar la evolución del rasgo en Europa, pero no explica las causas de las altas frecuencias de persistencia de lactasa en otros continentes.

Aparentemente, tomando en cuenta todas las hipótesis en su conjunto, podría explicarse la evolución de la persistencia de lactasa de forma independiente en diferentes regiones geográficas. Sin embargo, los tres modelos de selección presentan problemas a la hora de ser contrastados con datos empíricos. La existencia de áreas geográficas con prácticas de ordeño intensivas pero con bajas frecuencias de persistencia de lactasa (e.g. Sur de Italia, Grecia, Asia Central.) pone en cuestión la hipótesis histórico-cultural atendiendo a los estudios que indican que los productos lácteos procesados no poseen el mismo valor nutricional que la leche fresca (Almon et al., 2010; Greenwald et al., 1963). Por su parte, la aridez no está estadísticamente relacionada con la distribución de la persistencia de lactasa en África una vez que se consideran las relaciones genealógicas de las poblaciones utilizando método comparado (Holden & Mace, 1997). Finalmente, simulaciones de computador basadas en bases de datos de frecuencia de lactasa en miles de individuos en Europa muestran que no se requiere tomar en cuenta la variable latitud para alcanzar las frecuencias actuales del rasgo (Itan et al., 2009). Una cuarta aproximación ha sido desarrollada en base a una revisión de la hipótesis histórico-cultural considerando la coevolución gen-cultura y aplicando el marco de la Teoría de la Herencia Dual² (Aoki, 1987, 2001). A pesar de que este enfoque entrega nuevas ideas para explorar la relación entre persistencia de lactasa y difusión del ordeño de animales, no responde al problema de las causas de la selección de la persistencia de lactasa exclusiva y específicamente en estas poblaciones, ni al problema de por qué la distribución es geográficamente continua en Europa, pero dispersa en África.

Independiente de sus causas y su origen, existe evidencia que indica la importancia evolutiva que ha tenido el consumo de leche en diferentes poblaciones humanas. Como ha sido

²Un marco teórico enfocado en el estudio de la co-heredabilidad de rasgos genéticos y culturales y en los resultados de sus interacciones, originalmente propuesto por Cavalli-Sforza (1981) y formalizado por Boyd (1988).

mostrado por Jones et al. (2013), las diferencias en el patrón de distribución de la persistencia de lactasa en Europa y África puede ser explicada como resultado de la acción de la selección sobre una población con un trasfondo genético de alta diversidad en África, causando un barrido selectivo suave (i.e. selección positiva actuando sobre variación previamente existente), mientras en Europa, la selección habría actuado sobre un trasfondo más homogéneo, resultando en un barrido selectivo fuerte (i.e. selección positiva actuando sobre una variante única de reciente aparición). La persistencia de lactasa no solamente está distribuida de forma desigual en el mundo, si no que también en alta asociación con el pastoralismo, y es causada por múltiples variantes genéticas en diferentes poblaciones, sugiriendo un proceso de evolución convergente que ha ocurrido en varias ocasiones independientes (Enattah et al., 2007; Ingram et al., 2009b; Jones et al., 2013; Tishkoff et al., 2007). Al menos tres de las diferentes variantes asociadas a persistencia de lactasa ocurren en trasfondos haplotípicos extendidos (Bersaglieri et al., 2004; Ranciaro et al., 2014; Tishkoff et al., 2007). Para el caso de la variante Europea, se ha demostrado su ausencia en poblaciones del neolítico temprano (Burger et al., 2007), por lo que debió alcanzar sus frecuencias actuales en el periodo de 5000 – 10000 años desde la domesticación de animales (Evershed et al., 2008; Itan et al., 2009).

La evidencia mencionada sugiere que el fenotipo de persistencia de lactasa y la capacidad para digerir leche en la adultez jugó un papel crucial en la historia de diferentes poblaciones. Para haber alcanzado las frecuencias actuales en un periodo de tiempo tan corto, el consumo de leche debe haber tenido un rol decisivo en términos de supervivencia y/o fertilidad (Aoki, 1986; Brines, 2004; Ingram et al., 2009a). En base a lo anterior, esta investigación tiene por objetivo buscar diferencias en fertilidad, supervivencia, peso y estatura en una población agro–pastoralista con heterogeneidad en su capacidad de digestión de lactosa debido a su ancestría mestiza, ante amenaza constante de situaciones de estrés ambiental, y con una alta dependencia económica en el ganado de ordeño.

2.1.4. Distribución de la persistencia de lactasa en América Latina y poblaciones parentales

Los estudios de persistencia de lactasa en poblaciones latinoamericanas son escasos y en la mayoría de los casos desarrollados en un enfoque más epidemiológico y clínico que evolutivo. Las muestras son en varios casos tomadas de pacientes de hospital referidos como posibles intolerantes a la lactosa (tanto no persistencia como intolerancia secundaria) (e.g. Bulhões et al., 2007; Escoboza et al., 2004; Morales et al., 2011; Teves et al., 2001), usualmente sin excluir a individuos en etapas tempranas del desarrollo (e.g. Escoboza et al., 2004; Lacassie et al., 1978; Lisker et al., 1974; Pretto et al., 2002), e incluso empleando pruebas de glucosa en la sangre (GS) e hidrógeno espirado (H^2) con dosis de lactosa muy bajas o con leche fresca (e.g. Pretto et al., 2002; Rosado et al., 1994a,b; Vettorazzi et al., 1992). Una compilación de datos publicados sobre frecuencias de digestión de lactosa en poblaciones mestizas de América Latina se muestran en la Tabla 2.2. Se utilizó como criterio

de inclusión el mismo presentado por Itan et al. (2010), de modo que se excluyeron los datos de estudios basados en pacientes de hospital referidos por intolerancia a la lactosa, individuos de menos de 12 años, y estudios hechos en familias.

Los datos presentados en la Tabla 2.2 muestran un escenario homogéneo en comparación con el Viejo Mundo, variando en frecuencias de persistencia de lactasa entre niveles medios–bajos y medios, consistentes con el modelo de mestizaje distintivo de esta región (principalmente entre poblaciones parentales Amerindias e Ibéricas véase Tabla 2.3). Diferencias específicas entre países pueden deberse a las diferentes historias de mestizaje, con especial contribución de poblaciones de África Occidental en el norte de Sudamérica, y de

País y población*	%	N	Prueba	Referencia
Brasil				
Blancos Puerto Alegre	50	20	H ²	Bulhões et al. 2007
Blancos São Paulo	33	9	Biopsia	Escoboza et al. 2004
Otros São Paulo	0	5	Biopsia	Escoboza et al. 2004
Blancos Campinas	55	40	GS	Sevá-Pereira et al. 1983
Negros Campinas	15	20	GS	Sevá-Pereira et al. 1983
Chile				
Santiago (reclusos ejercito)	24	98	GS	Lacassie et al. 1978
Santiago (cadetes ejercito)	36	97	GS	Lacassie et al. 1978
Santiago (pacientes hospital [†])	42	51	H ²	Morales et al. 2011
Colombia				
Bogotá (universitarios)	44	98	H ²	Ángel et al. 2005
México				
Huamantla (estudiantes secundarios [‡])	29	193	GS	Lisker et al. 1974
Huamantla (obreros)	17	100	BG	Lisker et al. 1974
Inxtenco (estudiantes secundarios [‡])	23	108	GS	Lisker et al. 1974
Perú				
Lima (pacientes hospital [†])	0	9	GS	Paige et al. 1972
Lima (funcionarios hospital)	33	30	GS	Figuroa et al. 1971
Lima (universitarios)	37	44	GS	Calderón 1971
Uruguay				
Montevideo (pacientes hospital [†])	47	109	H ²	Maggi et al. 1987
Guatemala				
Ciudad de Guatemala (pacientes hospital [†])	48	46	H ²	Vettorazzi et al. 1992

* La denominación de cada población fue tomada de la respectiva publicación.

[†] Pacientes de hospital no fueron referidos por síntomas gastrointestinales.

[‡] Estudiantes secundarios mayores de 12 años

TABLA 2.2. Compilación de porcentajes de digestión de lactosa según pruebas fenotípicas en algunas poblaciones mestizas de América Latina reportadas en la literatura.

País y población*	%	N	Prueba	Referencia
Colombia				
Chami	0	24	GS	Alzate et al. 1969
EE.UU.				
Gran Cuenca	8	100	GS	Johnson et al. 1978
Oklahoma	7	35	GS	Bose & Welsh 1973
Oklahoma	8	40	H ²	Caskey et al. 1977
España				
Galicia	65	546	H ²	Leis et al. 1997
Valencia [†]	72	119	—	Guix García et al. 1974 (en Sahi 1994)
Sur de España [†]	81	265	—	Yanez et al. 1971 (en Bloom & Sherman 2005)

* La denominación de cada población fue tomada de la respectiva publicación.

† Datos obtenidos de fuentes secundarias. La prueba empleada no es mencionada en la referencia.

TABLA 2.3. Porcentajes de digestión de lactosa en poblaciones parentales (Amerindias y Españolas).

otras poblaciones europeas en la costa Atlántica.

Una compilación de los reportes publicados sobre frecuencias de digestión de lactosa en poblaciones españolas y amerindias es presentada en la Tabla 2.3. Al igual que en la tabla anterior, los estudios que incluyen individuos muy jóvenes (e.g. Carnicer, 1993; Leichter & Lee, 1971; Vázquez et al., 1975), pacientes referidos por síntomas gastrointestinales (e.g. Casellas & Malagelada, 2003; Casellas et al., 2009), o con métodos poco definidos para determinar origen étnico (e.g. Morales et al., 2011; Murthy & Haworth, 1970) fueron excluidos.

En contraste al escenario de las pruebas de tolerancia a la lactosa, se han realizado pocos estudios basados en frecuencias de genotipos. La Tabla 2.1.4 muestra las frecuencias de la variante europea de persistencia de lactasa ($-13,910^*T$) reportadas en la literatura, tanto para poblaciones en América Latina como en España. Dos de estos estudios (Bulhões et al., 2007; Morales et al., 2011) han reportado una asociación significativa ($p < 0.001$) entre $-13,910^*T$ y pruebas de hidrógeno espirado negativas en poblaciones mestizas de Brasil y Chile, y tres estudios han confirmado su presencia en desequilibrio de ligamiento con $-22,018G/A$ (Bulhões et al., 2007; Friedrich et al., 2012b; Morales et al., 2011). Ambas asociaciones son características distintivas de la variante europea de persistencia de lactasa.

Los reportes expuestos son consistentes con la idea de que la persistencia de lactasa estaba ausente en América antes de su introducción por poblaciones europeas. Por su parte, las frecuencias de persistencia de lactasa en España son bajas en comparación con el Norte de Europa, pero son altas en comparación con las poblaciones mestizas latinoamericanas.

La influencia de otras poblaciones en la historia de la estructura demográfica de Chile no es clara, y ha sido objeto de discusión entre historiadores (Lizcano, 2005; Medina & Kaempffer, 1979), quienes usualmente han desestimado la contribución de población de origen africano, uno de los principales componentes étnicos en otras poblaciones de América Latina.

En contraste con las fuentes históricas, Acuña et al. (2000) han estimado entre un 5 y un 10 % de ancestría africana en un estudio de estructura genética en poblaciones rurales de la región de Coquimbo basándose en frecuencias fenotípicas de sistemas de grupos sanguíneos. Este antecedente es particularmente relevante teniendo en cuenta que corresponde a un estudio en la misma zona geográfica que la investigada en este trabajo (ver sección 2.2). Sin embargo, el tráfico colonial de esclavos a América procedía principalmente de las colonias europeas en África occidental, por lo que es razonable pensar que una mayor contribución de poblaciones parentales no europeas conllevaría a la disminución de las frecuencias de persistencia de lactasa.

2.2. Agropastoralismo de la región de Coquimbo

2.2.1. Presentación

Varias poblaciones agro–pastoralistas caracterizadas por un sistema comunitario de tenencia de la tierra y por el manejo de largas extensiones de terrenos comunes de baja productividad agrícola habitan en el semiárido de Chile, mayoritariamente en varias villas y caseríos dispersos en la región de Coquimbo. Alrededor de 180 comunidades con una población de aproximadamente 30.000 personas en total controlan colectivamente cerca de un millón de hectáreas con escasas fuentes de irrigación, poca tierra arable, y con pequeña capacidad de carga ganadera (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, 2005). La zona habitada por estas ‘Comunidades Agrícolas’(como son denominadas legalmente) se encuentra en la zona transicional entre el desierto y los valles de Chile central, contando con un promedio de precipitaciones de 100–200 mm anuales (Bahamondes, 2003) y constantes amenazas de sequía. Estos grupos han desarrollado un conjunto de prácticas que han sido descritas por la literatura sociológica y antropológica como una notable adaptación a sus condiciones ecológicas (Alexander, 2008; Avendaño & Gallardo, 1986; Gallardo, 2002). Entre estas prácticas, esenciales para entender el modo de vida de las Comunidades Agrícolas, se destacan su sistema de manejo y tenencia de la tierra, su organización territorial, su dependencia de múltiples fuentes de ingreso provenientes de migración laboral temporal, y el pastoralismo transhumante.

País y población *	%	-13,910*T	N	Referencia
Brasil				
Blancos Puerto Alegre [†]	51	30	337	Friedrich et al. 2012b
Negros Puerto Alegre [†]	32	18	182	Friedrich et al. 2012b
Belem [†]	31	18	200	Friedrich et al. 2012b
Recife [†]	37	20	262	Friedrich et al. 2012b
Guarani-Kaiowá [‡]	1,2	0,6	84	Friedrich et al. 2012a
Guarani-Ñandeva [‡]	15	7,6	59	Friedrich et al. 2012a
Kaingang [‡]	8	4,6	72	Friedrich et al. 2012a
Xavante [‡]	0,9	0,5	101	Friedrich et al. 2012a
Chile				
Santiago [†]	43	22	216	Morales et al. 2011
Santiago [†]	40	23	116	Fernández et al. 2015
Mapuche Urbano [‡]	12	6	43	Morales et al. 2011
Araucanía [†]	32	12,5	109	Fernández & Flores 2014
Mapuche Rural [‡]	10	5	29	Fernández & Flores 2014
Colombia				
Medellin [†]	48	31	94	1000 Genomes 2012
Perú				
Lima [†]	19	11	85	1000 Genomes 2012
EE.UU.				
Mexicanos en L.A. [†]	42	24	64	1000 Genomes 2012
Puerto Rico [†]	39	21	104	1000 Genomes 2012
España				
Islas Canarias	62	36	551	Almon et al. 2010
Barcelona	60	39	944	Agueda et al. 2010
Valencia	60	39	940	Corella et al. 2011
Cataluña	68	45	163	Rasinperä et al. 2005
España	69	46	107	1000 Genomes 2012

* La denominación de cada población fue tomada de la respectiva publicación.

[†] Población Mestiza.

[‡] Población Amerindia.

TABLA 2.4. Porcentajes de digestores de lactosa según genotipo (-13,910) en poblaciones de América y España.

2.2.2. Geografía

En la región de Coquimbo, el terreno está definido por una pronunciada pendiente hacia la cordillera de Los Andes, la cual alcanza entre 3500 y 6000 metros en esta región (Novoa & López, 2001). La cordillera de la costa impide el flujo de vientos desde el oeste, capturando la humedad en la vertiente occidental de la cordillera de la costa y generando las condiciones de baja humedad entre ambas cordilleras. Una de las características principales del espacio intercordillerano es la presencia de cordones transversales cordilleranos de orien-

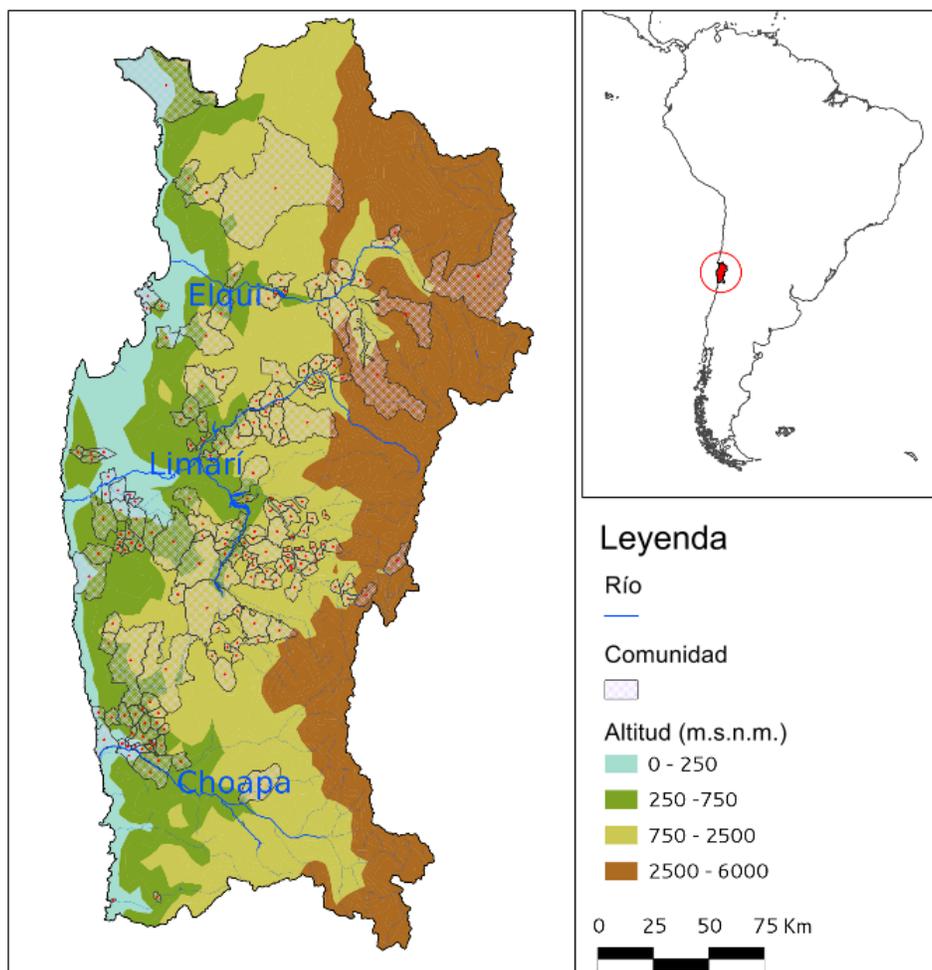


FIGURA 2.3. Mapa de las Comunidades Agrícolas, orografía e hidrografía de la Región de Coquimbo.

tación latitudinal, los cuales dividen la zona en valles transversales, siendo los de mayor relevancia los cruzados por los ríos Elqui, Limarí y Choapa (ver Figura 2.3).

La mayoría de la población de la región vive en ciudades costeras (La Serena y Coquimbo), en tanto los valles en torno a los ríos están principalmente ocupados por compañías agroindustriales. Las Comunidades Agrícolas están mayoritariamente ubicadas en el espacio marginal y de baja productividad agrícola de los cordones cordilleranos y en las cordilleras de la costa y Los Andes. Tanto la producción agrícola de secano como la disponibilidad de praderas de pastoreo dependen de precipitaciones de distribución errática debido al efecto de El Niño en la región (Fiebig-Wittmaack et al., 2011; Young et al., 2009), causando prolongados periodos de sequía seguidos de cortos episodios de precipitaciones excesivas que provocan inundaciones y erosión de los suelos. El pastoreo y la tala de vegetación para leña contribuye en este proceso de erosión, existiendo estimaciones que indican que un 85 % de la superficie regional muestra signos de erosión avanzados, de los cuales un 18,3% exhiben completa ausencia de vegetación (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias,

2005).

En resumen, estas comunidades están asentadas en áreas donde las estrategias de subsistencia disponibles están limitadas por la escasez de recursos. Las pocas fuentes de irrigación y la falta de tierra arable impiden la agricultura a gran escala, limitando la producción al consumo doméstico y a la agricultura de secano. Además, la baja disponibilidad y calidad de las praderas de pastoreo, el terreno irregular, y la baja capacidad de carga ganadera, convierten a las cabras en la especie doméstica más adecuada para la zona, a pesar de sus efectos significativos en la continua degradación de los suelos de la zona.

2.2.3. Historia

Existe evidencia de ocupación humana en la región de Coquimbo desde al menos 13000 años en las quebradas de Quereo y Santa Julia, cerca de Los Vilos (Jackson et al., 2007), seguida de ocupación continua por cazadores-recolectores tanto de los periodos Paleoindio y Arcaico, seguido de evidencia de etapas tempranas de cultivo de alimentos (maiz, poroto y quinoa), animales domésticos (llama), y cerámica en los complejos culturales El Molle y Las Ánimas entre los años 0 y 800 (Troncoso & Pavlovic, 2013). Estos rasgos culturales muestran similitudes a los documentados para el Noroeste Argentino, y pueden haber ingresado a la zona tanto por intercambio poblacional como por difusión cultural (Troncoso & Pavlovic, 2013).

Desde el 900 hasta el 1500 la región fue habitada por grupos Diaguita (Ampuero et al., 1989), los cuales ocupaban un espacio continuo entre el Noroeste Argentino, el sur de la región de Atacama y la región de Coquimbo. De acuerdo a Rodríguez et al. (2004), la agricultura y el pastoreo de llamas eran sus principales actividades de subsistencia, dando cuenta de una estrategia productiva similar a la que emplean las Comunidades Agrícolas.

Desde 1479 hasta la llegada de los conquistadores Españoles en 1537, los habitantes de la región de Coquimbo fueron invadidos, y finalmente conquistados, por el Imperio Inca. El registro arqueológico muestra un incremento de estructuras defensivas (pukaras) seguido de la adopción de motivos cerámicos incaicos (Ampuero et al., 1989).

A pesar de que es probable que la población nativa se viera demográficamente modificada producto de la invasión incaica, Lorandi et al. (1988) señala que la población nativa de aproximadamente 30000 personas que habitaba la región al momento de los primeros contactos se vio disminuida a no más de 3000 personas hacia el año 1544, una probable consecuencia de las pandemias dispersadas por los conquistadores en la población nativa (Ampuero, 1978).

Durante la Colonia, la región de Coquimbo se convirtió en la principal fuente de alimentos y combustible para las minas de Perú, mediante el uso de las tierras para producir leña, grano, y carne, siendo en este periodo donde se introduce el ganado caprino y vacuno en la zona. Estos procesos dieron inicio al progresivo deterioro de los suelos en la región debido al uso

de agricultura intensiva, pastoreo excesivo, y tala de la vegetación natural (Dubroeuq, 2004; Santander, 1993). Estas actividades se llevaban a cabo en haciendas y ranchos otorgadas como mercedes de tierra a soldados españoles de alto rango.

La fuerza de trabajo en el sistema productivo colonial presenta variaciones geográficas respecto a su composición étnica, constituyendo un factor clave para la comprensión de las diferencias en la composición étnica que exhiben los países hispanoamericanos en la actualidad. Las diferentes colonias contaban con una proporción variable de esclavos africanos, encomendados indígenas y soldados españoles de bajo rango desempeñándose como trabajadores asalariados (Gallardo, 2002).

Las características específicas de la composición de la fuerza de trabajo colonial en la región de Coquimbo son desconocidas. Por su parte, la historiografía tradicional argumenta que la fuerza de trabajo española debió ser fundamental en la zona debido a la escasez de población indígena (Castro & Bahamondes, 1984; Mellafe, 1981), mientras por otra parte, un estudio basado en proteínas sanguíneas llevado a cabo por Acuña et al. (2000) muestra evidencia a favor de un modelo de mestizaje tri-parental (europeo, amerindio y africano). La investigación presentada en esta memoria pretende arrojar luces en torno a este debate analizando marcadores de ancestría (ver Capítulo 5).

En la mayor parte de Chile y América Latina, las reglas de herencia primogenitura e indivisible de la propiedad (mayorazgo) junto con el pago de dotes en forma de tierra, contribuyeron a la concentración de la propiedad en grandes extensiones territoriales de propiedad individual (latifundios). Sin embargo, este no sería el caso para la región de Coquimbo, si no que un sistema comunal y colectivo de tenencia de la tierra habría emergido. Los orígenes de este sistema de tenencia son desconocidos, pero existen tres hipótesis recurrentes en la literatura. Santander (1993) apoya la idea de un origen prehispánico, basado en la Minka andina. Por su parte, Gallardo (2002) proponen que un sistema de multigenitura indivisible reemplazó al mayorazgo en la región como una forma de lidiar con las dificultades para la agricultura en la zona y la escasez de mano de obra. Finalmente, Castro & Bahamondes (1986) propone que este sistema habría sido ideado por peones e inquilinos que fueron abandonados por los mercederos de tierras una vez que el deterioro de los suelos ya no permitía la agricultura a gran escala.

Cualquiera sea el caso, los diferentes autores coinciden en que el deterioro de los suelos impedía las estrategias productivas que se habían empleado hasta el siglo XVIII. A partir de entonces, la agricultura perdió importancia económica en las zonas montañosas, quedando relegada a minifundos en los valles transversales, de forma que la ganadería caprina se convirtió en la actividad económica principal, y el sistema colonial de tenencia territorial fue reemplazado por la forma de organización que caracteriza a las Comunidades Agrícolas en la actualidad.

En los últimos 200 años las Comunidades Agrícolas han enfrentado desafíos como la progresiva desertificación de sus territorios durante el auge de la explotación minera y la pro-

ducción de trigo de secano en el siglo XIX, la lucha para ganar reconocimiento legal (adquirido en 1968), y múltiples cambios en su acceso a la propiedad de la tierra durante las reformas agrarias y la contrarreforma (Alexander, 2008; Gallardo, 2002). A partir de 1990, los comuneros han comenzado a registrar sus derechos comunitarios en el conservador de bienes raíces, los cuáles son finalmente reconocidos legalmente solo a partir de entonces. Sin embargo, el modo de vida de las Comunidades Agrícolas se ve constantemente amenazado por los cambios sostenidos en las condiciones del trabajo asalariado agroindustrial, las regulaciones sanitarias para la producción de lácteos, y los conflictos relacionados con el acceso a agua de riego (Alexander, 2004).

2.2.4. Economía y Subsistencia

Las múltiples limitaciones ecológicas y la historia particular de la región de Coquimbo han dado forma al sistema social de las Comunidades Agrícolas. Estos elementos han promovido el desarrollo de características que han atraído el interés de investigadores de diversas disciplinas, como su particular sistema de tenencia de la tierra y la organización social asociada al mismo, la diversidad de la red de trabajo migratorio temporal de los comuneros, y el desarrollo del pastoralismo de ordeño.

Histórica y etnográficamente es posible constatar que los sistemas comunitarios de tenencia de la tierra no son peculiares, y están usualmente asociados a la crianza de animales y al pastoralismo. Gallardo (2002) clasifica el sistema de estas comunidades como semi-comunitario, debido a la mezcla de diferentes formas de derechos individuales privados, derechos de usufructo individual temporal, y propiedad colectiva. Estas características son más similares a las del sistema medieval inglés de campos abiertos, y al sistema comunitario de los Alpes suizos, que a los sistemas americanos de tenencia comunitaria, como las reservaciones indígenas de Estados Unidos, o los ejidos en México (Gallardo, 2002).

Sin duda, la falta de tierra arable ha sido el principal promotor de este sistema de propiedad territorial. De acuerdo a estudios previos (Alexander, 2008; Castro & Bahamondes, 1986; Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, 2005), solo el 6% del territorio de una comunidad promedio recibe irrigación. La tierra irrigada es dividida en hijuelas de propiedad individual donde cada comunero cultiva una huerta irrigada para consumo doméstico. Estas hijuelas son heredadas de acuerdo a un sistema mayoritariamente agnato-cognato³, por lo que algunas personas tienen más de una hijuela (i.e. debido a que es posible heredar una del padre y una de la madre), mientras otras no tienen ninguna. La propiedad de una hijuela clasifica a una persona como comunero, otorgándole derecho al uso del campo comunitario para el pastoreo de animales, y dándole derecho a voto en elecciones comunitarias en donde cada derecho (en vez de cada persona) cuenta como un voto. Las elecciones comunitarias, además de elegir a los representantes de la comunidad, deciden asuntos como cuotas de

³Un sistema donde las hijas tienen los derechos de sucesión cuando no hay hijos varones, en lugar de tener que ser transferidos a parientes varones colaterales.

pastoreo, multas relacionadas con la violación de las cuotas, autorización para transacción de derechos comunitarios y cuotas de riego, entre otros problemas de interés productivo.

Generalmente, las hijuelas, y los derechos de comunero asociados a las mismas, no pueden ser vendidas a personas externas a la comunidad. Sin embargo, si pueden ser vendidas a otro comunero previa aprobación del resto de la comunidad en una elección comunitaria. Normalmente, se autoriza que los parientes de un comunero construyan una casa sin acceso a riego dentro de la comunidad (denominada “posesión”), y están autorizados a usar el campo común para pastoreo pagando una cuota por cada cabeza de ganado, pero no pueden votar en elecciones comunitarias ni utilizar agua de riego. Es probable que la emigración de los hijos que no reciben herencia comunitaria explique las altas tasas de emigración en las comunidades (Morales & Parada, 2005).

Los comuneros tienen derecho a solicitar un permiso temporal para el uso individual de una porción del campo de pastoreo común, el cuál es destinado a agricultura menor de secano. La petición del comunero es sometida a elección, y en caso de ser aprobada, la porción de terreno es cercada. Estos campos de cultivo son denominados “*lluvias*”, debido a que el agua caída es su única fuente de riego. Las lluvias son usadas principalmente para cultivar cebada y trigo, los cuales son usados para alimentar animales en años con escasa pradera natural así como para la venta, la cual es mucho más rentable que la venta de quesos. Sin embargo, la agricultura de secano es considerada una actividad arriesgada, debido a que toda la inversión anual puede perderse si las precipitaciones resultan ser insuficientes.

Además de la venta ocasional de trigo y cebada, las familias aumentan sus ingresos por medio del trabajo temporal en la agroindustria, en la minería, o mediante la recepción de remesas enviadas por familiares trabajando permanentemente fuera de la comunidad. A pesar de que la minería es considerada por los comuneros como una actividad extremadamente peligrosa debido al riesgo de accidentes y de enfermedades relacionadas con la minería (e.g. silicosis, neumoconiosis, etc.), los salarios son extremadamente altos en comparación con los ingresos obtenidos mediante la venta de quesos, por lo que la mayoría de los hombres jóvenes trabaja por algunos años en las regiones del norte para juntar dinero. El trabajo como temporero en plantaciones agroindustriales cercana es también común, particularmente en periodos de sequía donde la producción de leche y la agricultura doméstica se ven drásticamente disminuidas en las comunidades, pero no en los fundos, que normalmente cuentan con irrigación permanente.

Las fuentes de ingreso mencionadas complementan la crianza de ganado caprino, que constituye la principal actividad productiva de las comunidades. Entre el 80 y el 90 % de las tierras totales de una comunidad promedio son campos comunes no cercados, usados colectivamente para el pastoreo. Las cabras son la especie más común (72 %), seguidas por los ovinos (15 %). El ganado vacuno solo está presente en las comunidades del Choapa (7 %). Además, los crianceros comúnmente tienen algunos caballos (5 %), mulas, y burros (1 %) destinados a la carga y el transporte (Instituto Nacional de Estadísticas, 2007). La región de Coquimbo concentra el 57 % de las cabezas de ganado caprino del país (404.562 de

705.527), y las autoridades estiman un exceso a de un 263 % sobre el tamaño máximo del rebaño recomendado para la capacidad de carga por hectárea de la zona (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, 2005).

La carne, cuero, y el queso son destinados al mercado, principalmente mediante la venta informal en la carretera durante los periodos de mayor tráfico vehicular. La venta de queso es una importante fuente de dinero para las comunidades, que utilizan el metálico para comprar bienes que no pueden producir por si mismos (e.g. ropa, útiles escolares, aceite, fósforos, cuajo artificial, etc.).

La mayoría de los crianceros planean los alumbramientos una vez al año, alrededor de septiembre. Tradicionalmente, durante los años secos con poca disponibilidad de praderas, las familias completas cruzaban el ganado a través de la cordillera de Los Andes para pastar en las praderas argentinas⁴. Los crianceros y sus familias solían vivir entre noviembre y marzo en la cordillera. Durante estos viajes, las cabras eran ordeñadas y se preparaban los quesos en “*rucos*” instalados en las veranadas. Los quesos eran vendidos durante el viaje de vuelta a las invernadas, en el territorio de las Comunidades Agrícolas. Durante estos viajes, la alimentación estaba compuesta principalmente de pan (“churrascas”), carne de chivo, queso, y leche. Además de leche fresca, la leche también era consumida con mate, y con harina tostada (“cocho”).

El pastoralismo transhumante era la norma en el pasado, pero es poco común hoy en día. La venta y producción de quesos se ha visto amenazada por disposiciones sanitarias impracticables para poblaciones móviles (Alexander, 2004), y la obligatoriedad escolar impide que viajen las familias completas. Hoy en día pocos crianceros practican la transhumancia, y quienes la practican la reservan solo para años particularmente secos. Sin embargo, y hasta tiempos recientes, la leche y los productos lácteos formaban la parte dominante de la dieta de estas poblaciones durante al menos 5 meses. Esta dieta es sorprendente considerando el contexto evolutivo de la persistencia de lactasa y sus frecuencias en América Latina, y apuntan a las principales preguntas de investigación de este estudio.

⁴Una práctica común en el pastoralismo sudamericano (ver Capítulo 1).

Capítulo 3

Preguntas, objetivos e hipótesis

3.1. Preguntas de investigación

Esta memoria busca comprender mejor el proceso de adaptación a una dieta rica en leche en los pastores de cabras del Norte Chico. En base a los antecedentes presentados respecto a su modo de vida y ancestría, sus hábitos alimenticios suponen varias preguntas en relación a la adaptación al consumo de leche en el contexto general de la evolución de la persistencia de lactasa. Estas preguntas, junto a algunos aspectos sobre como fueron abordadas en el desarrollo de esta investigación, son presentadas a continuación:

- 1) **¿Que tan frecuente es la persistencia de lactasa en estas comunidades y cuáles alelos asociados a la persistencia de lactasa (cambios nucleotídicos reportados en la región potenciadora de *LCT*) están presentes?**

La región potenciadora de *LCT*, causal de la persistencia de lactasa, fue secuenciada en las muestras obtenidas de estas comunidades para determinar las frecuencias a las que se encuentran los alelos asociados a la persistencia de lactasa.

- 2) **¿Estan las frecuencias de persistencia de lactasa asociadas a la ancestría y/o la consanguinidad**

Se realizaron pruebas genéticas adicionales de ancestría y consanguinidad para comprobar que los resultados no se vieran afectados por asociaciones espurias debido a la estructura de la población.

- 3) **¿Cuánta leche y productos lácteos son consumidos por las personas de estas comunidades? ¿Existen diferencias en el consumo asociadas a la persistencia de lactasa?**

Esta información, recolectada por métodos etnográficos y cuestionarios, es utilizada para determinar si existe alguna relación entre el comportamiento de consumo de

lácteos y el genotipo.

4) ¿Existen diferencias en la estatura, el peso, y/o el índice de masa corporal asociadas con la persistencia de lactasa?

Los datos de peso y la estatura, tomados con instrumental portátil durante el trabajo de campo, fueron utilizados para probar asociaciones con la persistencia de lactasa.

5) ¿Hay diferencias entre el número de hijos y la supervivencia de los mismos asociadas a la capacidad de digestión de lactosa de los padres?

Datos sobre conducta reproductiva, fertilidad y mortalidad infantil, recolectados mediante cuestionarios, fueron analizados en asociación con la persistencia de lactasa y controlando por otras variables relacionadas como edad, estatus socioeconómico, sexo y estructura poblacional.

El examen de estas asociaciones podría sugerir hipótesis para el entendimiento de los mecanismos que resultaron en la documentada selección natural positiva de este rasgo en sociedades pastoralistas con adopción temprana de las prácticas de ordeño en el pasado.

3.2. Objetivos

En relación a las preguntas descritas se identifican los siguientes objetivos:

- **Objetivo General 1:** Comprender el proceso de adaptación a la adopción de una dieta rica en leche en pastores de cabra del Norte Chico.
- **Objetivo General 2:** Comprender el proceso de selección natural positiva de la persistencia de lactasa, extensivamente documentado para el Viejo Mundo, utilizando como modelo a los pastores de cabra del Norte Chico.

Los objetivos específicos, descritos a continuación, están enumerados en secciones según su asociación a las preguntas de investigación descritas en el apartado anterior.

1. Frecuencias de persistencia de lactasa y asociación fenotipo–genotipo.

- 1.1. Identificar cambios nucleotídicos en la región potenciadora de *LCT* previamente reportados en asociación con persistencia de lactasa así como mutaciones *de novo*.
- 1.2. Evaluar la asociación entre el fenotipo de digestión de lactosa y los alelos de persistencia de lactasa identificados.
- 1.3. Conocer las frecuencias génicas y genotípicas de los alelos que se identifiquen.

2. Estructura de la población y persistencia de lactasa.

- 2.1. Estimar las proporciones de ancestría en los individuos de la muestra.
 - 2.2. Examinar la relación entre la ancestría de los individuos y la persistencia de lactasa.
 - 2.3. Estimar la consanguinidad en los individuos de la muestra.
 - 2.4. Examinar la relación entre la consanguinidad de los individuos y la persistencia de lactasa.
- 3. Consumo de lacteos.**
- 3.1. Estimar las cantidades de consumo de leche y lácteos en las comunidades estudiadas.
 - 3.2. Examinar la relación entre el comportamiento de consumo de leche y la persistencia de lactasa.
- 4. Estatura, peso y persistencia de lactasa.**
- 4.1. Medir estatura y peso de los individuos de la muestra estudiada.
 - 4.2. Examinar la relación entre peso, estatura y persistencia de lactasa.
- 5. Persistencia de lactasa y adecuación biológica.**
- 5.1. Recolectar datos de la historia reproductiva y la mortalidad infantil entre los individuos de la muestra estudiada.
 - 5.2. Examinar la relación número de hijos y supervivencia de hijos con la persistencia de lactasa.

3.3. Hipótesis

A continuación se mencionan hipótesis respecto a las preguntas de investigación mencionadas. En la lista, el número que recibe cada hipótesis corresponde al de la pregunta de investigación a la que se refiere. Además, se presenta breve comentario sobre las predicciones implicadas en cada hipótesis.

***H_i1* El alelo -13910^*T , introducido desde Europa, es el único alelo responsable de la persistencia de lactasa en esta población y las frecuencias de los genotipos asociados a persistencia de lactasa son altas en las poblaciones de pastores de la región de Coquimbo debido a su modo de vida.**

Esta hipótesis predice que la población no presentará otros polimorfismos asociados a persistencia de lactasa en la literatura, ni otros cambios nucleotídicos en la región potenciadora de *LCT* que puedan ser candidatos a mutaciones *de novo* no reportadas

en dbSNP. Se espera que exista una alta asociación entre -13910^*T y el fenotipo de digestión de lactosa, que el alelo -13910^*T se encuentre en trasfondos haplotípicos similares a los europeos, y que este alelo tenga una alta frecuencia en esta población en comparación con la que presenta en poblaciones mestizas no pastoralistas de América Latina.

***H_i2* Las frecuencias de persistencia están asociadas a la proporción de ancestría europea y/o a determinados linajes familiares.**

Esta hipótesis predice que las frecuencias de persistencia de lactasa estarán fuertemente asociadas a las proporciones de ancestría europea y/o a determinados grupos familiares. En caso de que se rechace la hipótesis nula las asociaciones entre persistencia de lactasa y otros rasgos necesitarán tomar en cuenta estos elementos de la estratificación poblacional, los cuáles podrán ser considerados como variables de control adicional en las pruebas de asociación, incluso en caso de que se rechace la hipótesis alternativa.

***H_i3* Los individuos sin persistencia de lactasa evitan consumir leche debido a los síntomas de intolerancia a la lactosa que los lácteos les producen.**

Esta hipótesis predice que los individuos sin persistencia de lactasa consumen significativamente menos leche que los individuos que poseen este alelo. La capacidad de consumir cantidades de leche significativamente mayores podría conferir ventajas selectivas a los individuos lactopersistentes en contextos donde los lácteos constituyen una fuente importante de recursos alimenticios. En caso de que se rechace la hipótesis alternativa, es posible que los individuos lactopersistentes obtengan mayor rendimiento nutricional de cantidades de leche similares que los individuos no persistentes, producto de los efectos en la absorción intestinal que provoca la maldigestión de lactosa en estos últimos.

***H_i4* Los individuos con persistencia de lactasa obtienen más nutrientes de la leche que los de individuos sin persistencia de lactasa.**

Esta hipótesis predice que los individuos con persistencia de lactasa tienen una estatura y un IMC significativamente más alto que aquellos que no portan alelos asociados a persistencia de lactasa, debido a que digieren más nutrientes y obtienen más calorías de la leche, ya sea por que son capaces de consumir más leche o por que obtienen un mayor rendimiento nutricional de cantidades similares.

***H_i5* La persistencia de lactasa confiere ventajas en la reproducción y/o supervivencia en esta población.**

Debido a las señales de selección positiva reciente que presenta este rasgo, la persistencia de lactasa debe haber conferido ventajas selectivas en el pasado en las poblaciones que adoptaron tempranamente el pastoralismo de ordeño. Esta hipótesis predice que presiones selectivas que favorecen la persistencia de lactasa se encuentran

operando en esta población, y por lo tanto, se espera que los individuos portadores de alelos asociados a persistencia de lactasa tengan un número de hijos y/o razón de supervivencia de su descendencia significativamente mayor que los que no poseen alelos que confieran persistencia de lactasa

La evidencia en torno a estas hipótesis es presentada a lo largo del Capítulo 5, y un resumen de la resolución de cada una de ellas en el Capítulo 6.

Capítulo 4

Materiales y Métodos

4.1. Descripción general de las localidades estudiadas

La recolección de datos se llevó a cabo en 9 localidades de la región de Coquimbo durante 10 meses de trabajo de campo. Las localidades visitadas en este estudio no pudieron ser elegidas al azar, si no de acuerdo al tamaño de la población (para permitir el muestreo de individuos menos emparentados), densidad poblacional (para permitir tasas de respuesta eficientes) y accesibilidad (debido a las dificultades de transporte). Desafortunadamente, las comunidades de la provincia del Elqui están infrarrepresentadas, y no se pudo incluir comunidades de alta montaña.

Los tamaños poblacionales de cada localidad fueron obtenidos de un boletín especial del Instituto Nacional de Estadística (INE) dedicado a las Comunidades Agrícolas de la Región de Coquimbo (Vergara et al., 2005). Estos datos están basados en el censo del 2002.

El trabajo de campo fue organizado en dos fases: Un estudio piloto llevado a cabo entre mayo y julio del 2011, y el trabajo de campo principal entre febrero y noviembre del 2012. Un mapa mostrando la ubicación de las localidades estudiadas se muestra en la Figura 4.1, el cual también incluye las principales áreas urbanas e hitos geográficos de la región de Coquimbo como referencia.

4.1.1. Gulliguaica y Villa Puclaro

Estas dos villas están localizadas en la provincia del Elqui, entre La Serena y Vicuña, a ambos lados del embalse Puclaro. Originalmente, las villas de las Comunidades Agrícolas de Gulliguaica y La Polvada estaban en el área que fue inundada para la construcción del embalse en 1999. Los comuneros de La Polvada fueron reubicados junto con los trabajadores de un fundo ganadero que también operaba en la zona del embalse (Fundo Punta Azul)

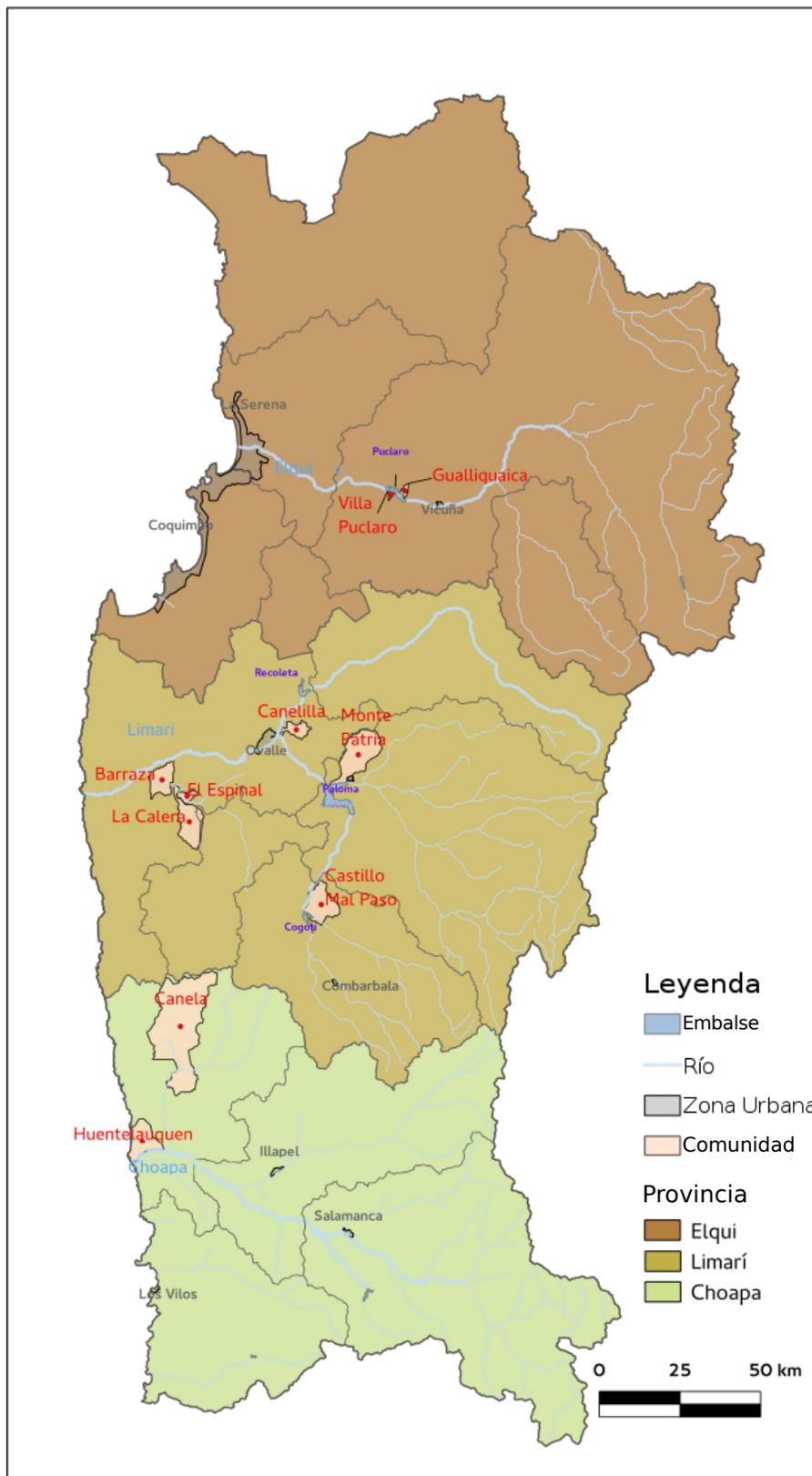


FIGURA 4.1. Mapa de caseríos y pueblos de la región de Coquimbo donde la recolección de datos fue llevada a cabo (rojo). Como referencia, otros hitos geográficos son incluidos. Áreas urbanas (gris), ríos principales (celeste), y embalses (púrpura)

en el nuevo asentamiento de Villa Puclaro al sur del embalse, mientras los comuneros de Gualliguaica fueron reubicados al otro lado del embalse.

De acuerdo a Vergara et al. (2005), Gualliguaica y Villa Puclaro tienen una población de 335 y 2400 habitantes respectivamente, pero ambas tenían tamaños similares al momento de nuestra visita (alrededor de 400 personas), una diferencia que es probablemente atribuible a la emigración que ha sufrido Villa Puclaro en los últimos años según los informantes en el trabajo de campo.

Las condiciones de reubicación fueron muy diferentes para ambos asentamientos. La gente de Gualliguaica pudo conseguir una villa exclusiva para ellos, y declaran estar conformes con su actual condición habitacional. En cambio Villa Puclaro se ve empobrecida y los informantes declaran tener conflictos constantes entre quienes provenían originalmente de La Polvada y quienes provenían del Fundo Punta Azul. Los participantes coincidían en considerar que sus condiciones de vida han empeorado producto de la reubicación.

Esta área fue visitada como parte del estudio piloto del 2011. El trabajo en la provincia del Elqui resultó considerablemente más caro en términos de transporte y alojamiento, y arrojó las más bajas tasas de respuesta del estudio: solamente 14 personas participaron, 2 hombres y 5 mujeres en Gualliguaica, y 3 hombres y 4 mujeres en Villa Puclaro. A partir de la experiencia piloto se decidió concentrar los esfuerzos de investigación en otras áreas de la región, y combinar los resultados obtenidos para estas dos localidades en una sola.¹

4.1.2. Barraza, El Espinal, y La Calera

Estas tres localidades están ubicadas 30 km al oeste de Ovalle en la provincia del Limarí, y son accesibles desde ahí por caminos de tierra. Los tres lugares fueron visitados durante el trabajo de campo principal en el 2012.

En Barraza, los asentamientos están dispersados en torno a un área extensa, y el trabajo fue dividido en tres sectores: Barraza mismo es una villa de 350 habitantes, pero rodeada de pequeños caseríos dispersos conocidos como Barraza Alto y Barraza Bajo, de alrededor de 150 habitantes cada uno. Un total de 41 personas (36 mujeres y 5 hombres) participaron en Barraza. Las pruebas fenotípicas de tolerancia a la lactosa se llevaron a cabo en esta localidad.

La Calera es una Comunidad Agrícola extensa distribuida en pequeños asentamientos, de los cuales el más poblado es la villa de Chalinga con alrededor de 300 habitantes, donde un total de 49 personas (33 mujeres y 16 hombres) formaron parte de este estudio.

Quince participantes (12 mujeres y 3 hombres) fueron reclutados en El Espinal, un asentamiento de 85 habitantes.

¹En adelante, ambas localidades son agrupadas bajo la etiqueta "Puclaro".

4.1.3. Canelilla y Monte Patria

Estas dos localidades se encuentran al Este de Ovalle y son de fácil acceso a través de caminos pavimentados. Canelilla, junto al embalse Recoleta, tiene alrededor de 300 habitantes, de los cuales 23 participaron en el estudio (15 mujeres y 8 hombres) como parte del trabajo de campo del 2012.

Monte Patria fue visitada durante el estudio piloto del 2011. Se encuentra ubicado junto al embalse La Paloma, y su población está centrada en la ciudad de Monte Patria, una ciudad pequeña de alrededor de 3000 habitantes, con acceso a servicios comerciales y administrativos propios, y con varias personas empleadas en trabajos no relacionados con la actividad pastoril (i.e. servicios, minería, proletariado agrícola). A pesar de su tamaño, solo 40 personas (24 mujeres y 16 hombres) participaron del estudio en esta localidad.

4.1.4. La Ligua de Cogotí

Un grupo de comunidades agrícolas grandes (Jimenez y Tapia, Manquehua, y Castillo Mal Paso) usa como tierras de pastoreo los alrededores del embalse Cogotí, tan solo 22 km al norte de Combarbalá. El trabajo se desarrolló en la villa de La Ligua, al borde de la comunidad agrícola de Castillo Mal Paso y con una población de 600 habitantes, de los cuales 63 (43 mujeres y 20 hombres) participaron en el estudio del año 2012.

4.1.5. Canela y Huentelauquén

La comuna de Canela (alrededor de 9000 habitantes) es principalmente un conglomerado de más de 25 Comunidades Agrícolas, en las cuales la mayoría de la economía doméstica se basa en el ganado caprino. La ciudad de Canela (con una población de 3700 habitantes y una Comunidad Agrícola en si misma) actúa como el centro urbano del área, otorgando acceso a servicios y comercio a los asentamientos, villas y caseríos cercanos (siendo Huentelauquén uno de ellos).

A diferencia de Monte Patria, la mayoría de la gente en Canela trabaja en relación al ganado caprino al menos estacionalmente. La ciudad es también conocida por su alta tasa de participación política, y en ella operan un gran contingente de organizaciones de base comunitarias. Esto podría explicar las altas tasas de respuesta obtenidas aquí en comparación con Monte Patria. Como parte del trabajo de campo del 2012, un total de 164 participantes (97 mujeres y 67 hombres) colaboraron con el estudio tanto en Canela Baja (la parte principal de la ciudad) como en Canela Alta (una villa periférica cercana).

El área de Huentelauquén (alrededor de 800 habitantes) está dividida en dos asentamientos diferentes por el río Choapa. Al sur del río opera una compañía agroindustrial ganadera

privada especializada en la producción de queso de vaca y paltas. La mayoría de los trabajadores de Huentelauquén Sur son originarios de la Comunidad Agrícola de Huentelauquén, al norte del río. Debido a que el clima es más benigno en Huentelauquén que en las otras localidades estudiadas, los campos de pastoreo son más productivos y muchos comuneros complementan el ganado caprino con ovinos y vacunos. Huentelauquén fue visitado durante el estudio piloto del 2011 donde 43 personas de ambos sectores (29 mujeres y 13 hombres) participaron en el estudio.

4.2. Recolección de datos

La recolección de datos llevada a cabo en estas localidades permitió la obtención de muestras de células bucales, peso, estatura, e información sobre hábitos alimenticios y reproductivos de 449 adultos. Los participantes fueron informados oportunamente sobre el proyecto, obteniéndose consentimiento informado por escrito de cada participante, y sus datos resguardados en todo momento, en cumplimiento de los requerimientos éticos de los organismos que aprobaron la presente investigación (Comité de Ética de la Investigación en Ciencias Sociales y Humanidades Universidad de Chile, CEDEA, número de referencia 078/2010, y Comité de Ética de la Investigación University College London, número de referencia 2967/001). Documentación de referencia con el respectivo formulario de consentimiento informado puede encontrarse en el Anexo B.

Las muestras de células bucales fueron obtenidas usando tómulas para hisopado bucal, y depositadas en tubos cónicos con 2,5 ml de solución amortiguadora de lisis (STE buffer: 100 mM NaCl, 100 mM Tris-HCl pH 8, 100 mM EDTA pH 8) con 0,2 mg/ml de Proteínasa K y 0,5% SDS. Estas muestras fueron utilizadas para extracción de DNA en intervalos de uno a dos meses, con métodos basados en fenolcloroformo (Freeman et al., 2003) y precipitación con sales (Quinque et al., 2006). El DNA extraído fue amplificado mediante reacción en cadena de polimerasa² y utilizado para secuenciar 706 pares de bases en la región potenciadora de *LCT*, genotipificar 27 SNPs en torno a esta región para reconstrucción de haplotipos, y genotipificar otras variantes (30 SNPs y 15 STRs) para estimaciones de ancestría y consanguinidad. Tablas describiendo los partidores, las condiciones de termociclado y los marcadores analizados, pueden encontrarse al final de este documento, en el Anexo C.

Junto con las muestras de células bucales para obtención de DNA, el peso y la talla de los participantes fueron medidos en terreno utilizando una pesa y un estadiómetro portátil SECA 213. Los participantes fueron medidos descalzos y con sus cabezas posicionadas con el plano de Frankfort paralelo al piso.

²Antes del PCR, el DNA fue diluido en 10 partes de agua destilada. Una PCR de 20 μ l fue llevada a cabo con 0,5 μ M de los partidores *MCM6i13* y *MCM778*, 0,2 mM de dNTPs, 2,5 mM de MgCl₂, 0,25 μ l de Taq DNA polimerasa y aproximadamente 25 ng de DNA.

Además, cada participante contestó un cuestionario que permitió relevar información sobre residencia, ancestría reciente, estatus socioeconómico, consumo de leche y productos lácteos, e historia familiar y reproductiva. El contenido de los cuestionarios puede resumirse en los temas que se listan a continuación. Los cuestionarios completos están disponibles en el Anexo D.

- **Residencia:** Duración de la residencia en la localidad y residencia de nacimiento.
- **Ancestría reciente:** Lugar de origen de padres y abuelos.
- **Estatus socioeconómico:** Propiedad de bienes, acceso a servicios, ganado, y derechos dentro de la comunidad.
- **Leche:** Varias preguntas en torno a consumo de leche y síntomas relacionados con el mismo. Los participantes refirieron su consumo en número de tazas, por lo que se seleccionó la taza como unidad de medida. Una taza corresponde a aproximadamente 250 ml.
- **Historia familiar y reproductiva:** Corresponde a la parte principal del cuestionario e incluye preguntas relativas al lugar de nacimiento, el sexo, el orden de nacimiento, el destete y los hábitos de consumo de lacteos de cada hijo del participante en un subcuestionario. También se incluyen preguntas respecto a las parejas reproductivas del participante y respecto a hijos fallecidos, si aplica.

Los fenotipos de digestión de lactosa fueron determinados por prueba de tolerancia a la lactosa usando el método descrito por Peuhkuri et al. (1998) en 40 participantes de Barraza. Los voluntarios fueron contactados de antemano para acordar las 12 horas de ayuno con las que debían presentarse a la prueba.

Los niveles de hidrógeno en el aliento fueron medidos usando un espirómetro MicroH₂ (Micromedical). Después de medir los niveles basales, los participantes ingirieron una carga de 50 g de lactosa en 250 ml de agua. A continuación, se realizaron mediciones sucesivas en intervalos de 30 minutos. Una prueba es detenida después de dos lecturas seguidas indicando incrementos sostenidos de 20 ppm sobre las mediciones basales, en cuyo caso el participante fue clasificado como no digestor de lactosa. Individuos sin un incremento importante en la presión parcial de hidrógeno después de 3 horas fueron clasificados como digestores de lactosa. Los fenotipos de individuos que mostraron valores fluctuantes en las mediciones fueron clasificados como indeterminados.

4.3. Análisis de datos

Los genotipos de *-13910 C/T* obtenidos por secuenciación fueron agrupados en dos categorías de acuerdo al modelo de dominancia de *-13910*T* (Enattah et al., 2002; Sahi, 1974; Sahi & Launiala, 1977), los cuales fueron analizados usando test exacto de Fisher en tablas

de contingencia de 2 x 2 para evaluar la asociación entre los genotipos mencionados y los fenotipos evaluados usando la prueba de tolerancia de lactosa, para evaluar la hipótesis de -13910^*T como responsable de la persistencia de lactasa en esta población, permitiendo utilizar el genotipo como indicador de persistencia de lactasa en otros análisis.

Métodos estadísticos implementados en PHASE 2.1.1 (Crawford et al., 2004; Li & Stephens, 2003; Stephens & Donnelly, 2003; Stephens & Scheet, 2005; Stephens et al., 2001) fueron utilizados para dilucidar la fase gamética de 27 SNPs en torno a la región potenciadora de LCT, permitiendo la evaluación de la hipótesis de trasfondos homogéneos en haplotipos portadores de -13910^*T , debido a su origen Europeo, y trasfondos heterogéneos en haplotipos portadores de -13910^*C , de origen tanto Europeo como Amerindio.

Para examinar cualquier posible relación entre persistencia de lactasa, consumo de leche, y rasgos fenotípicos como estatura, peso, y fertilidad, fue necesario considerar posibles efectos de la estructura poblacional. Cualquiera de las respuestas fenotípicas evaluadas puede presentar asociaciones con el genotipo de -13910^*T debido a asociaciones de este último con genotipos de otros loci en linajes específicos (i.e. familias o poblaciones parentales ancestrales). Tanto la consanguinidad como las proporciones de ancestría han sido identificadas como posibles fuentes de estratificación en estas poblaciones, las cuales fueron estimadas y evaluadas en asociación con la persistencia de lactasa para evaluar sus posibles efectos como variables de confusión y alternativas para controlar dichos efectos en posteriores modelos de regresión.

Las proporciones de ancestría para cada individuo fueron calculadas usando Admixture 1.23 (Alexander et al., 2009) en base a 30 SNPs marcadores informativos de ancestría, usando como referencia de poblaciones parentales una base de datos de 876 individuos de poblaciones parentales (169 Africanos, 299 Europeos, y 408 Amerindios). Para controlar por consanguinidad y posible parentesco críptico (Aistle & Balding, 2009; Voight & Pritchard, 2005), 15 STRs diseñados para análisis forense (Promega PowerPlex 16 HS) fueron utilizados para estimar estructura poblacional en base a la matriz de proporciones de alelos compartidos para cada uno de los 15 loci (matriz PSA en Cardoso et al. 2012; Chakraborty & Jin 1993; Zhao et al. 2007), y en base a la matriz de asignación a clusters identificados por el algoritmo de STRUCTURE 2.3.4 (Matriz Q en Falush et al. 2003, 2007; Hubisz et al. 2009; Pritchard et al. 2000).

El estatus socioeconómico fue evaluado utilizando información sobre acceso a bienes y servicios domésticos obtenida en cuestionarios. Estos datos fueron procesados para obtener un valor de estatus socioeconómico basado en la estandarización de los pesos factoriales obtenidos de la contribución de cada variable a la inercia total del primer eje (83.14 % de la varianza) en el análisis de correspondencias múltiples.

Diferentes métodos para estimar consumo de leche y productos lácteos (cuestionarios de frecuencia de consumo y métodos de recuerdo de consumo) fueron utilizados con propósitos comparativos, arrojando resultados similares. Los participantes situaron su consumo en

una escala adaptada de la presentada por el Cuestionario de Frecuencias de Alimentos en Adultos del Departamento de Nutrición de la Universidad de Harvard (Harvard School of Public Health, 2007), permitiendo la estimación de un número de tazas/porciones de consumo al día para cada participante.

Diferentes modelos estadísticos usando ANOVA, ANCOVA, regresión lineal, y modelos generalizados, fueron utilizados para evaluar asociaciones entre persistencia de lactasa y peso, estatura, y número de hijos, utilizando como variables de control los datos de ancestría, consanguinidad, estatus socioeconómico, consumo de lácteos, sexo y edad.

Capítulo 5

Resultados

5.1. Caracterización de la muestra, asociación genotipo–fenotipo y frecuencias de persistencia de lactasa

Los primeros resultados que se exponen a continuación corresponden a una descripción general de las características sociodemográficas de la muestra, un estudio de asociación entre la variable Europea de persistencia de lactasa y la digestión de lactosa y el primer reporte sobre las frecuencias del polimorfismo mencionado en poblaciones de pastores del Nuevo Mundo.

El perfil sociodemográfico de la muestra en base a las preguntas incluidas en el cuestionario es presentado en la Tabla 5.1, la cuál presenta los datos excluyendo valores perdidos y con los porcentajes redondeados al entero más cercano, por lo que los tamaños de la muestra pueden diferir para las diferentes variables y los porcentajes pueden no sumar 100 %. La tabla muestra una composición de la muestra sesgada hacia las mujeres y los grupos de mayor edad. Este sesgo no se corresponde a los índices de masculinidad de 1,05 reportados a partir de los datos del censo del 2002 de acuerdo a Vergara et al. (2005), y es probablemente una consecuencia de la mayor disponibilidad de mujeres en casa en los horarios en que se recolectaron las muestras. El reporte citado (Vergara et al., 2005) no contiene datos censales de la estructura etaria a nivel de comunidad, pero otras fuentes describen una composición similar junto con altos niveles de emigración juvenil (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, 2005; Morales & Parada, 2005). El rango de edad abarcado en esta muestra es de los 18 a los 92 años, con un promedio de 52,44 años (hombres $\bar{x} = 55,19$, $s = 18,27$, mujeres $\bar{x} = 51,03$, $s = 17,72$).

En relación a la reproducción y la mortalidad infantil, el número de hijos nacidos vivos (ambos sexos) muestra una moda de 2 y un promedio de 2,92 hijos por persona. El número de hijos fallecidos por persona es en promedio 0,19 ($s = 0,52$, dividido según sexo del hijo: hijos $\bar{x} = 0,8$, $s = 0,38$, hijas $\bar{x} = 0,12$, $s = 0,29$). Estadísticas adicionales sobre fertilidad

son presentadas en la Table 5.2. Un examen más detallado de la fertilidad y la mortalidad infantil en relación a la persistencia de lactasa es presentado en la sección 5.4

Al final de la tabla 5.1 se muestra el número de personas en la muestra con acceso a determinados bienes y servicios. La mayoría de los participantes tiene acceso a servicios básicos como agua potable y electricidad, y los bienes de mayor valor no son raros (38% de los participantes tiene un vehículo en su unidad domestica familiar). A partir de estos datos es visible que los bienes y servicios seleccionados son buenos estimadores solo para los estatus socioeconómicos en el nivel más bajo de la distribución (i.e. el estimador clasificara como pobres solo a aquellos sin acceso a servicios básicos, en tanto la mayoría de las demás personas serán clasificadas como ricas). Estos datos fueron utilizados para confeccionar una escala que varía desde 0 (el más pobre) a 1 (el más rico) y que presenta un promedio de 0,85 en la muestra ($s = 0.16$). Los detalles metodológicos sobre la confección de dicha escala son explicados en la sección 4.3.

Respecto a las frecuencias de la variante Europea de persistencia de lactasa, los antecedentes examinados en el Capítulo 2 muestran que $-13,910*T$ está altamente asociada con la persistencia de lactasa en población Europea e India (Enattah et al., 2002; Gallego Romero et al., 2012), pero no en algunas otras poblaciones para las cuales otros polimorfismos han sido descubiertos (Enattah et al., 2008; Gallego Romero et al., 2012; Imtiaz et al., 2007; Ingram et al., 2007; Jones et al., 2013; Ranciaro et al., 2014; Tishkoff et al., 2007). El trasfondos histórico de las poblaciones de pastores de la región de Coquimbo sugiere la introducción de $-13,910*T$ mediante ancestría Europea, volviendo menos probable la introducción de alguna de las variantes descubiertas en otras poblaciones.

Para confirmar esta hipótesis y evaluar la presencia de cualquier otra mutación *de novo* en la región potenciadora, se aplicó la prueba de tolerancia de lactosa para obtener el fenotipo de 41 participantes¹. De ellos, 3 participantes obtuvieron niveles fluctuantes de presión parcial de hidrógeno en las lecturas basales, sugiriendo posible incumplimiento del ayuno, por lo que no fueron cla-

¹El tiempo requerido para realizar la prueba de tolerancia a la lactosa, alrededor de 3 horas, fue una limitación importante para el número de voluntarios que fue posible reclutar.

Categoría	N	%
Sexo		
Hombres	152	34
Mujeres	297	66
Abuelos alóctonos		
Ninguno	327	73
1	43	10
2	39	9
3	12	3
Todos	29	6
Grupos etarios		
18–29	48	11
30–39	70	16
40–49	82	18
50–59	85	19
60–69	65	15
70+	95	21
Paridad		
0	66	15
1	51	11
2	111	25
3	80	18
4	53	12
5	30	7
6	23	5
7+	34	8
Acceso a bienes y servicios		
Agua potable	413	92
Electricidad	436	97
Cielo raso	439	98
Piso	429	96
Calefont	283	63
Lavadora	386	86
Refrigerador	413	92
Televisor	429	96
Computador	173	39
Vehículo	169	38

TABLA 5.1. Perfil sociodemográfico de la muestra

Stats.	Edad	1 ^{er} nac.	Hijos nacidos			Hijos vivos		
			Hijos	Hijas	Total	Hijos	Hijas	Total
\bar{x}	52,44	24	1,56	1,36	2,92	1,45	1,28	2,73
<i>s</i>	18	6,8	1,56	1,41	2,4	1,47	1,3	2,21
<i>min – max</i>	18–92	11–52	0–10	0–8	0–16	0–9	0–7	0–15

TABLA 5.2. Estadísticas generales de fertilidad: Edad al nacimiento del primer hijo, nacimientos, y supervivencia de hijos.

sificados. Un cuarto participante mostró 0 ppm durante las tres horas de duración de la prueba, sugiriendo ausencia de producción de hidrógeno. De los restantes 36 participantes 19 fueron clasificados como digestores de lactosa, y 17 como no digestores. Las secuencias de la región potenciadora de los individuos mencionados muestran que 18 de los 19 clasificados como digestores de lactosa son portadores de *-13910*T*, y que la variante está ausente en todos los clasificados como no digestores. Estos resultados muestran alta asociación entre el genotipo *-13910* y el fenotipo de digestión de lactosa (Prueba exacta de Fisher $p = 4.187 \times 10^{-9}$, ver tabla 5.3). Ningún individuo presenta otros polimorfismos en la secuencia, por lo que no nos es posible sugerir explicaciones para el fenotipo digestor presente en un individuo con genotipo *-13910 C/C*².

Estos resultados coinciden con los publicados en otros estudios (Bulhões et al., 2007; Morales et al., 2011) y nos permiten predecir que portadores *-13910*T* presentan probablemente un fenotipo digestor de lactosa. Un total de 437 de los 451 muestras recolectadas fueron exitosamente secuenciadas, mostrando presencia de *-13,910*T* en todas las localidades

estudiadas y ausencia de otras variantes asociadas a persistencia de lactasa en el examen de los cromatogramas. Las frecuencias exhibidas (Tabla 5.4) se muestran en equilibrio de Hardy-Weinberg y contienen suficiente heterogeneidad de fenotipos (38% de persistencia de lactasa) como para permitir comparaciones entre grupos de individuos persistentes y no persistentes.

Las frecuencias aquí reportadas de *-13910*T* (0.22) son comparables a las presentes en poblaciones no pastoralistas de ancestría mestiza en América Latina, y no sugieren un incremento de las frecuencias producto del estilo de vida pastoralista.

²La aparente capacidad de digestión del participante con genotipo C/C podría deberse a una digestión extremadamente lenta, insuficiente flujo de aire al soplar durante la prueba de tolerancia de lactosa, o condiciones específicas del microbioma.

Fenotipo	CC	CT	TT	Total
No digestores	17	0	0	17
Digestores	1	16	2	19
Indeterminado	3	0	1	4
No productor de H ₂	1	0	0	1
Total	22	16	3	41

TABLA 5.3. Asociación de fenotipos evaluados según prueba de tolerancia de lactosa y genotipo de *LCT – 13910* en 99,64% de los participantes (Prueba exacta de Fisher $p = 4,187 \times 10^{-9}$). No se encontraron otras variantes de persistencia de lactasa en las secuencias de la región potenciadora.

Valle	CC	CT	TT	Total (n)	Frec. *T.	Digest. (%)
Elqui	10	2	1	13	0,15	23
Limarí	135	73	15	223	0,23	39
Choapa	128	65	8	201	0,2	36
Total	273	140	24	437	0.22	38

TABLA 5.4. Frecuencias de genotipos de $-13910C > T$ en comunidades de pastores de cabras del Norte Chico.

Estos resultados descriptivos muestran la presencia de fenotipos de persistencia de lactasa en la población, su asociación con el alelo europeo de persistencia de lactasa, y la presencia de variabilidad suficiente en el rasgo como para explorar comparativamente las posibles ventajas selectivas de individuos lactopersistentes.

Sin embargo, antes de examinar cualquier posible relación entre persistencia de lactasa, consumo de leche, y respuestas fenotípicas como estatura, peso y fertilidad, es necesario una consideración completa de la estructura de la población. Debido a que el flujo génico europeo es el origen más probable de la variante encontrada en esta población, y debido a que los grupos estudiados son demográficamente pequeños y presentan bajas tasas de inmigración, la ancestría y la consanguinidad constituyen fuentes probables de estratificación. Desde un punto de vista teórico, consanguinidad y ancestría representan el mismo proceso, distanciamiento genético entre sucesivas generaciones, visto desde dos marcos temporales ubicados en extremos opuestos. Ambas fuentes de estratificación serán examinadas a continuación.

5.2. Persistencia de Lactasa y Ancestría

Una fuente de estructuración poblacional es el resultado de las diferencias en la contribución genética de distintas poblaciones parentales, diferenciadas tras un episodio de aislamiento reproductivo prolongado, como es probablemente el caso para poblaciones de América Latina.

La ancestría fue evaluada utilizando 30 marcadores informativos no ligados (descritos en el apartado C, todos los loci analizados se encontraron en equilibrio de Hardy–Weinberg) utilizando Admixture 1.23 (Alexander et al., 2009), resultando en un amplio rango de mestizaje Amerindio/Europeo, con una contribución marginal de poblaciones afrodescendientes. La proporción de ancestría amerindia muestra un promedio de 0,47 ($s = 0.12$, min–max = 0–0.8) y está normalmente distribuida (prueba de normalidad de Shapiro–Wilk $p = 0.4$). La proporción de ancestría europea es de 0.48 en promedio ($s = 0.13$, min–max = 0.09–1) y también muestra una distribución normal (prueba de normalidad de Shapiro–Wilk $p = 0.25$). Por el contrario, la proporción de ancestría africana es de solo 0,05 en promedio ($s = 0.06$, min–max = 0–0.29) con una distribución fuertemente sesgada (prueba de normalidad de

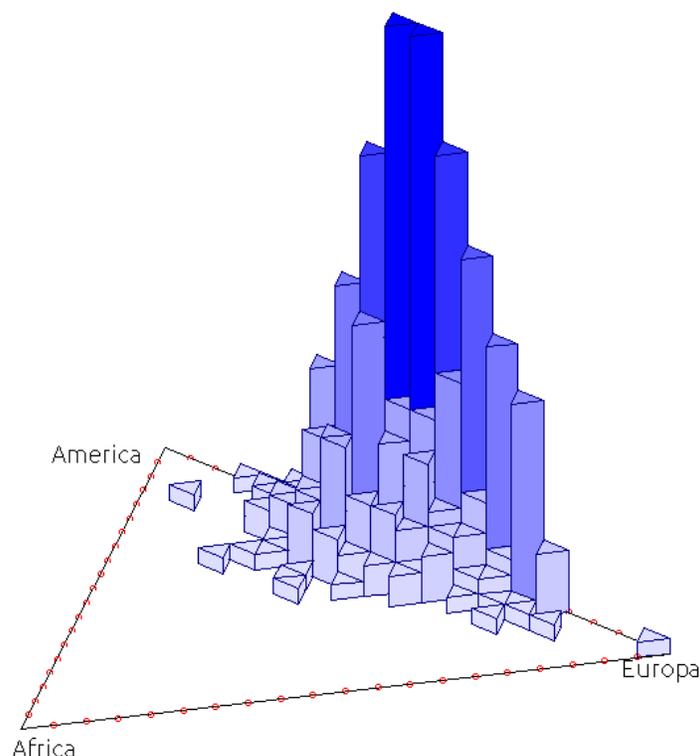


FIGURA 5.1. Histograma 3D de proporciones de ancestría estimadas para un modelo de tres poblaciones parentales: europea, africana y americana. La distribución de concentra entre ancestrías amerindia y europea, con poca contribución africana.

Shapiro–Wilk $p = 2.2 \times 10^{-16}$ ³.

Los resultados anteriores fueron comparados con el algoritmo de agrupamiento de STRUCTURE 2.3.4 usando los mismos SNPs, pero considerando solo poblaciones parentales Europeas y Amerindias y sin información previa de referencia respecto al origen de las muestras de poblaciones parentales. Los resultados, procesados usando CLUMPP 1.1.2 (Jakobsson & Rosenberg, 2007) y Distruct 1.1 (Rosenberg, 2003), pueden visualizarse en la Figura 5.2. El análisis identifica exitosamente a las poblaciones parentales como grupos separados, mientras agrupa a las muestras de las comunidades de pastores de cabras como producto del mestizaje de las anteriores. Las estimaciones obtenidas con el modelo tri-parental con información de referencia de Admixture y las obtenidas con el modelo bi-parental sin información previa de STRUCTURE resultaron similares ($R^2 = 0.588$, promedio de valores residuales = 2.9×10^{-18} , desviación estándar de valores Residuales = 0.08), permitiéndonos considerar solo una de estas proporciones para controlar por ancestría en modelos de regresión posteriores. Un resumen mostrando resultados agrupados de proporción de ancestría europea según el modelo biparental de STRUCTURE 2.3.4 se muestra en la tabla 5.5.

³Un sacerdote católico español que residía en una de las comunidades arrojó un 100% de estimación de ancestría europea, constituyendo una prueba anecdótica del método de estimación de proporciones de ancestría empleado.

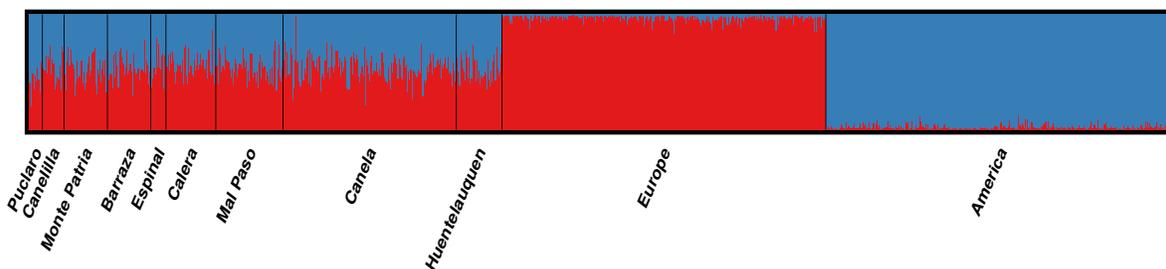


FIGURA 5.2. Agrupamiento de STRUCTURE usando 30 marcadores informativos de ancestría (AIM) para $k = 2$ e incluyendo datos de muestras europeas y amerindias. Tanto las muestras de europeos como nativos americanos son identificadas exitosamente como grupos diferentes, mientras la mayoría de los individuos de las comunidades de pastores de cabras muestras ancestría de ambas poblaciones parentales, con proporciones variables de asignación a uno y otro grupo.

La presencia del alelo $-13,910^*T$ no se muestra asociada a las estimaciones de proporciones de ancestría europea, la cual no es, en promedio, significativamente mayor en portadores del alelo que en no portadores (Portadores = 0.5, No portadores = 0.48, prueba-t $p = 0.062$). De forma similar, el análisis de componentes principales de estos marcadores de ancestría (Figure 5.3) no muestra evidencia de agrupamiento entre portadores y no portadores del alelo que confiere persistencia de lactasa, como tampoco entre genotipos (CC, CT, y TT), sugiriendo que no existe asociación entre persistencia de lactasa y ancestría general en el genoma.

Prop. Anc. Eur.	N	%
0-0.2	3	1
0.2-0.39	110	25
0.4-0.59	247	56
0.6-0.79	77	18
0.8-1	1	0

TABLA 5.5. Resultados agrupados de proporción de ancestría europea según el modelo biparental.

Para corroborar estos resultados, el algoritmo de agrupamiento de STRUCTURE se aplicó utilizando estos marcadores de ancestría dividiendo las muestras de las comunidades de Coquimbo de acuerdo a su presunto fenotipo de persistencia de lactasa como si se trataran de dos poblaciones diferentes. El resultado (Figura 5.4) no muestra diferencias en el promedio de proporción de ancestría europea, a pesar de que las proporciones de ancestría son altamente variables a nivel individual en ambos grupos.

Estos resultados sugieren que ha habido suficiente hibridación para distribuir $-13,910$ en los diferentes estratos de la población, independientemente de la ancestría general en el resto del genoma, producto de la suficiente segregación y recombinación cromosómica desde el inicio del evento de mestizaje. Sin embargo, considerando que el contacto ocurrió alrededor de 15-20 generaciones atrás, el origen Europeo de $-13,910^*T$ debería ser rastreable usando genotipos en fase rodeando la región potenciadora de *LCT*, la cual debería mostrar un trasfondo europeo en los haplotipos portadores de $-13,910^*T$.

Una de los atributos más característicos de -13910^*T en el Viejo Mundo es su asociación con un haplotipo extendido de 0.5 Mb (Hollox et al., 2001; Poulter et al., 2003) conocido como haplotipo A, el cuál se encuentra en frecuencias particularmente altas (0.86) en Europa. El

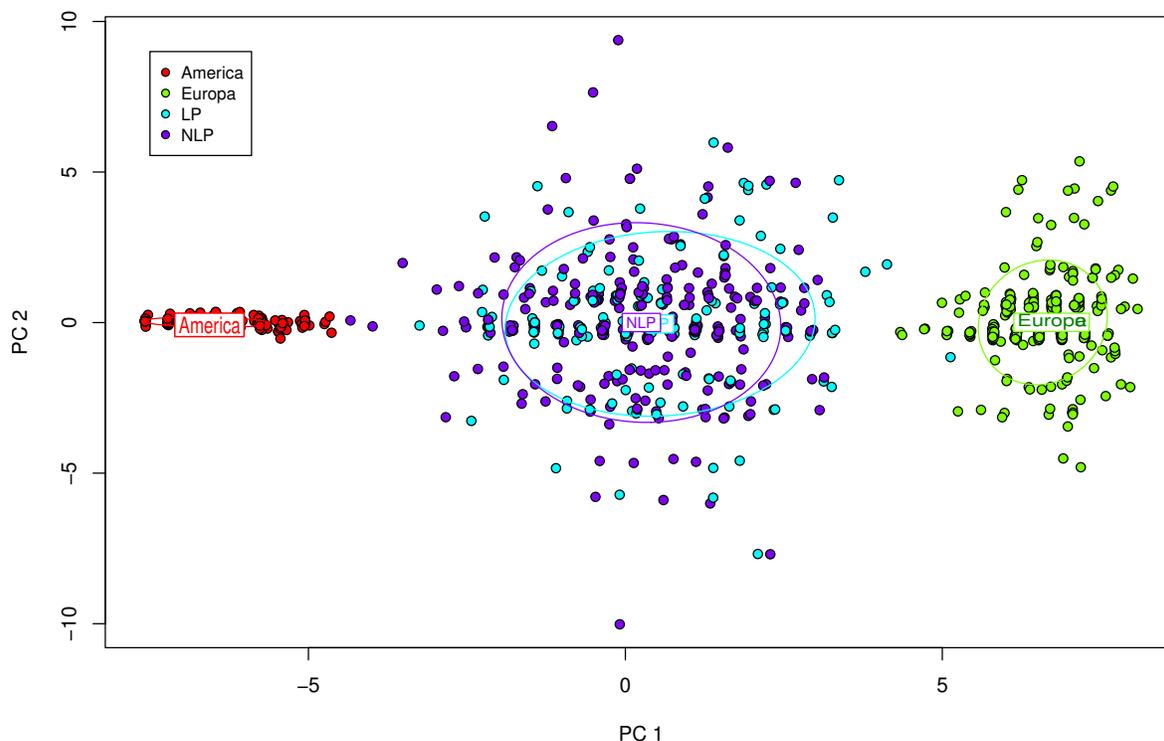


FIGURA 5.3. Análisis de Componentes Principales de marcadores informativos de ancestría según presunto fenotipo de persistencia de lactasa (LP: Persistente, NLP: No persistente). No se observa aglomeramiento de individuos según su presunto estatus de digestión de lactosa

origen europeo de -13910^*T , a pesar de su independencia respecto a la ancestría general en otros segmentos del genoma, puede ser rastreado utilizando genotipos en fase en torno a la región potenciadora de *LCT*. El trasfondo haplotípico de *LCT* en las muestras de pastores de cabras de Chile fue comparado con muestras del Viejo Mundo para evaluar el origen Europeo de -13.910^*T en estas poblaciones.

La fase de los genotipos para 27 SNPs (ver apartado C) en 621 individuos (1242 cromosomas: 862 de las muestras de Chile y 380 de poblaciones del Viejo Mundo), fue obtenida usando PHASE 2.1.1 (Crawford et al., 2004; Li & Stephens, 2003; Stephens & Donnelly, 2003; Stephens & Scheet, 2005; Stephens et al., 2001). Los marcadores utilizados se extienden desde 7,9 Mb distal a 9,7 Mb proximal de -13910 , cubriendo una región de 1,77 Mb.

Los haplotipos obtenidos fueron comparados entre las muestras chilenas y las del Viejo Mundo, dividiéndolas en 3 grupos: portadores de -13910^*T , portadores de -13910^*C en haplotipos A, y todos los otros haplotipos. Todos los haplotipos de muestras chilenas portadores de -13910^*T están en haplotipos A.

La Figura 5.5 muestra una comparación visual de la extensión de los haplotipos usando gráficos de decaimiento de la Extensión de Homocigocidad de Haplotipos, la cuál fue medida usando Sweep 1.1 (Sabeti et. al. 2002) definiendo -13910 como el núcleo de cada haplotipo,

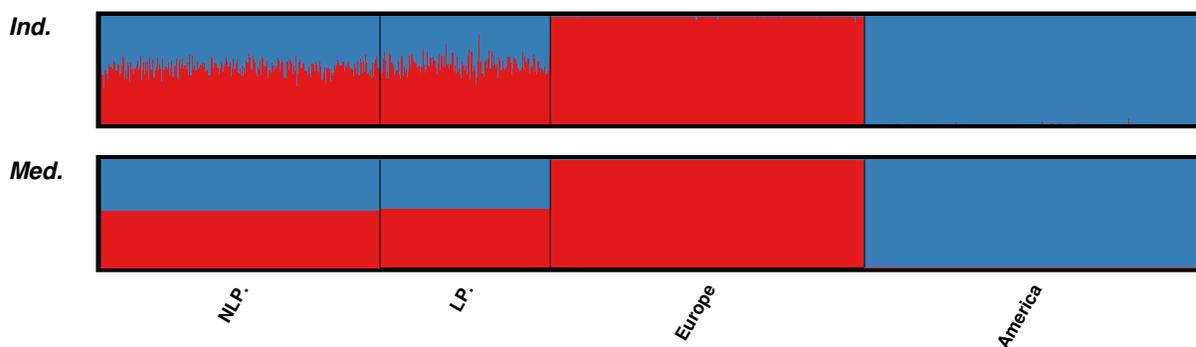


FIGURA 5.4. Resultados de STRUCTURE usando 30 AIM para $k = 2$ según persistencia de lactasa (LP: Persistencia de lactasa, NLP: No persistencia de lactasa). Arriba: Individuos. Abajo: Medias grupales. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la distribución de marcadores de ancestría entre ambos grupos.

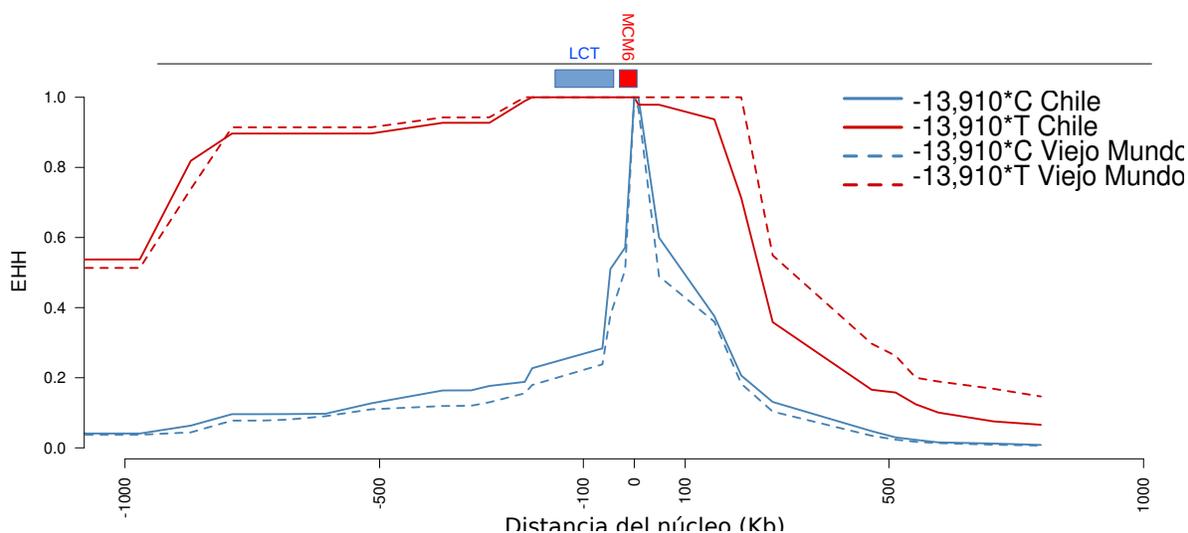


FIGURA 5.5. Decaimiento de la homocigosis extendida de haplotipos (EHH) en pastores de cabras de Chile (línea continua) y poblaciones del Viejo Mundo (línea segmentada) para -13910^*T (rojo), y -13910^*C (azul). Haplotipos A- 13910^*T se encuentran en un bloque de homocigosis extendida tanto en las muestras de Chile como del Viejo Mundo.

y graficada usando R (R Core Development Team, 2013). Los haplotipos A- 13910^*T están en el mismo bloque de homocigocidad extendida en las muestras de Chile y del Viejo Mundo, apoyando la hipótesis del origen Europeo de la persistencia de lactasa presente en esta población.

5.3. Persistencia de lactasa y consanguinidad

La estructura genética de las poblaciones es también el resultado de las diferentes distancias genéticas que pueden tener los posibles pares de progenitores. La ancestría en eventos de mestizaje es justamente un ejemplo extremo de este tipo de procesos de estratificación, en el cual los progenitores provienen de poblaciones que se han distanciado genéticamente

producto del prolongado aislamiento reproductivo. El extremo opuesto está constituido por progenitores con un ancestro común reciente y por lo tanto con alta proximidad genética. Esta situación es esperable en poblaciones demográficamente pequeñas y con baja inmigración.

Para evaluar el efecto de la consanguinidad en la estructura de la población se empleó un total de 15 STRs de identificación forense (Promega PowerPlex 16 HS, ver apartado C). Todos los marcadores mostraron alta variabilidad, comparable a la reportada para otras poblaciones mestizas de América Latina (Bravo et al., 2001; Hill et al., 2013; Rubi-Castellanos et al., 2009)). Considerados en su conjunto, no hay diferencias significativas entre la heterocigosidad observada y esperada (prueba-t $p = 0,8264$), mostrando valores en equilibrio de Hardy-Weinberg para todos los loci (ver Figura 5.6).

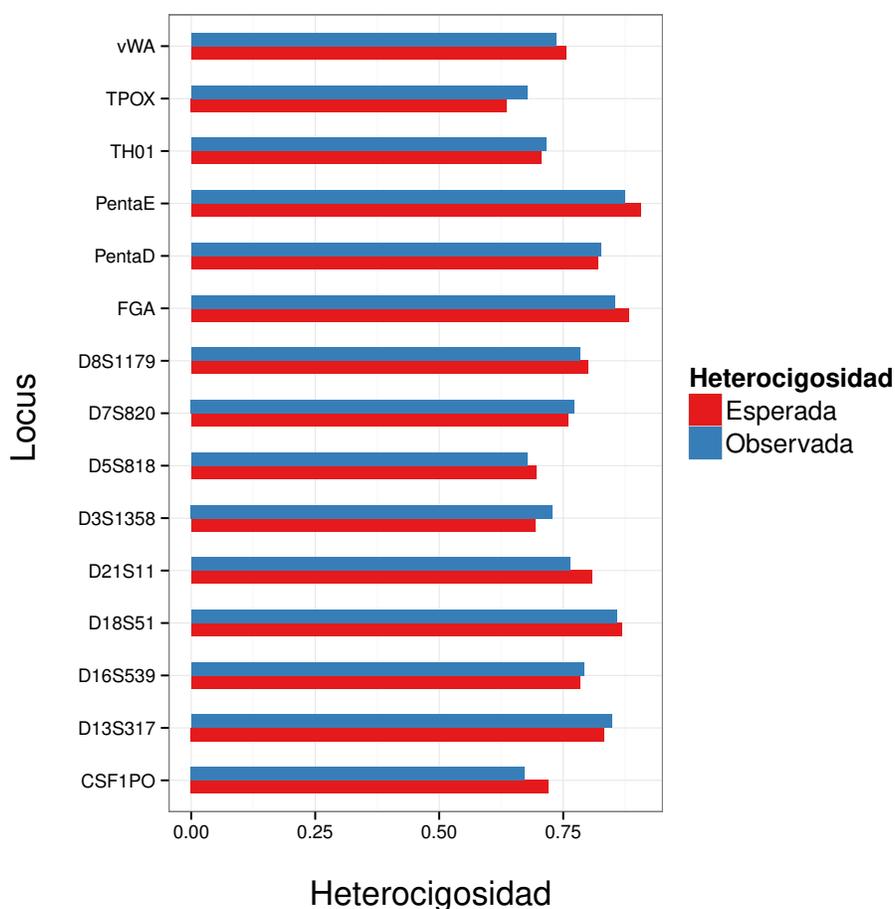


FIGURA 5.6. Heterocigosidad esperada vs observada de 15 marcadores microsatelitales autosómicos. Las diferencias no son estadísticamente significativas entre poblaciones considerando todos los loci (prueba-t $p=0,8264$)

Estos datos fueron utilizados para estimar coeficientes de endocruzamiento (F_{is}) a partir del promedio de una muestra de 1000 valores tomados de la distribución de probabilidades de homocigosidad debido a un ancestro común de ambos padres. Los valores de F resultan-

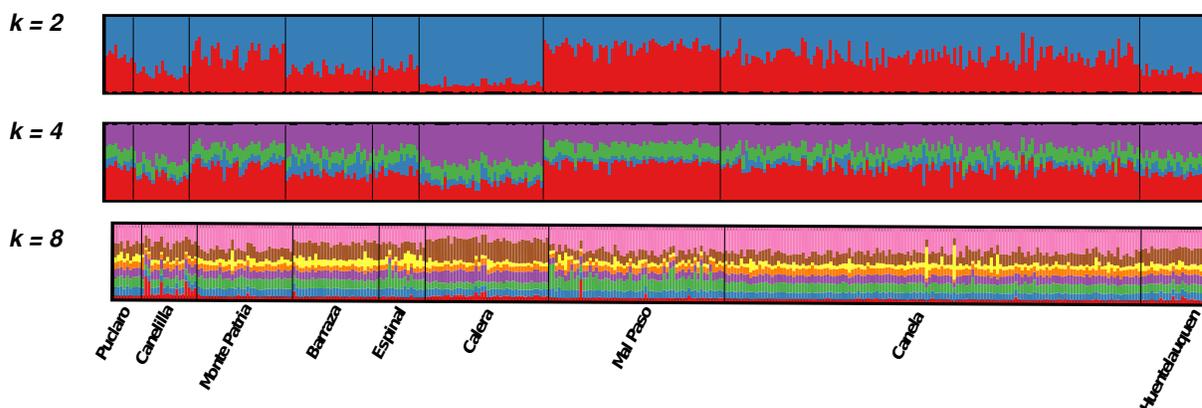


FIGURA 5.7. Resultados de STRUCUTRE usando 15 STRs para $k = 2, 4$ y 8 . De acuerdo con el método de (Evanno et al., 2005), no se obtiene más información con modelos que incluyen más de dos grupos ($k = 2$). La estructura poblacional es débil, y todos los individuos son mezcla respecto a los dos grupos. Sin embargo, algunas poblaciones tienen diferencias significativas, como Calera y Huentelauquen.

tes fluctúan entre 0,071 y 0,611, con un promedio de 0,149 y una desviación estándar de 0,07. Para interpretar estos datos, el mismo procedimiento se llevó a cabo con muestras de grupos Jaali Somalí de Etiopía reportados como no emparentados, constituyendo un grupo de pastores tradicionales, demográficamente similar pero genealógicamente muy distantes. Ambas poblaciones presentan valores similares de F sin diferencias significativas en la distribución (prueba de Kolmogorov-Smirnov $p = 0,913$) sugiriendo que el endocruzamiento en nuestra muestra de pastores chilenos es similar al presente en una población de individuos de otra población reportados como no emparentados.

Sin embargo, el parentesco reportado puede estar afectado por relaciones genealógicas desconocidas, incertidumbre parental, o consanguinidad entre ancestros de hace más de dos generaciones. En poblaciones demográficamente pequeñas, como las aquí analizadas, es improbable que individuos reportados como no emparentados no compartan ancestros en un pasado reciente. Para dar cuenta de este problema, denominado *parentesco críptico* en la literatura (Aistle & Balding, 2009; Voight & Pritchard, 2005), se utilizó la matriz de proporción de alelos compartidos entre cada par de individuos (matriz PSA por sus siglas en inglés: “*proportion of shared alleles*”, descrita por Cardoso et al. (2012); Chakraborty & Jin (1993); Zhao et al. (2007)), la cuál fue posteriormente utilizada como covariante en modelos de regresión.

Para explorar la relación entre estos marcadores y la persistencia de lactasa se analizó la distribución de los STRs utilizando STRUCTURE 2.3.4, empleando el método descrito por Evanno et al. (2005) para estimar el valor óptimo para el número de clusters (resultando en $k = 2$). Los resultados fueron procesados usando CLUMPP 1.1.2 (Jakobsson & Rosenberg, 2007) y Distruct 1.1 (Rosenberg, 2003), resultando en una estratificación poblacional débil, mostrando a todos los individuos como mezcla de ambos grupos de marcadores, pero con diferencias en la contribución de cada grupo a cada población, como puede apreciarse particularmente para los casos de Calera y Huentelauquen (Figura 5.7).

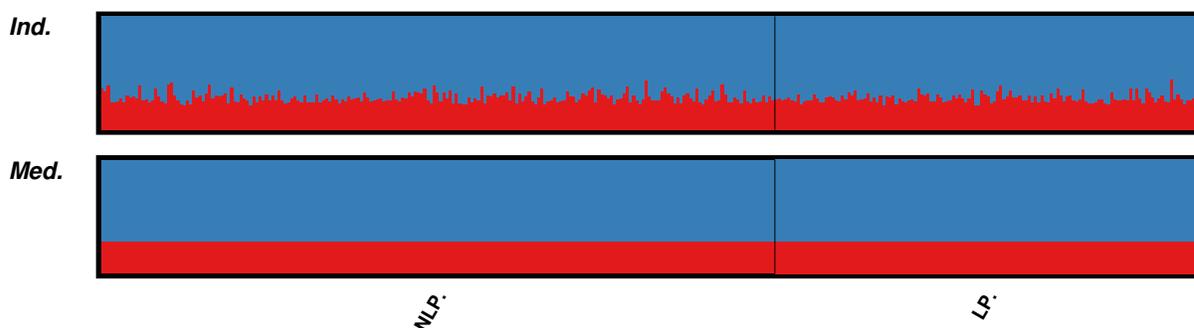


FIGURA 5.8. Agrupamiento de STRUCTURE usando 15 STRs de acuerdo a persistencia de lactasa (LP: Persistencia de Lactasa, NLP: No persistencia de lactasa). Arriba: Individuos. Abajo: Promedios. No hay diferencias entre individuos lactopersistentes y no persistentes respecto a su asignación a grupos de estructura poblacional en la distribución de los microsatelites empleados

Sin embargo, la persistencia de lactasa no está asociada a las estimaciones de endocruzamiento en base a estos marcadores, ni a la asignación de proporciones de membresía a agrupaciones indentificadas en STRUCTURE 2.3.4, en donde ambos grupos están homogéneamente asignados a grupos de individuos con y sin persistencia de lactasa (Figura 5.8). Estos resultados sugieren que, cualquier posible estratificación sistemática de estos marcadores entre grupos producto de su consanguinidad no está en asociación con la persistencia de lactasa, resultando improbable que la consanguinidad produzca asociaciones espurias cuando se evalúe el efecto de la persistencia de lactasa en otros rasgos.

5.4. Consumo de leche y posibles ventajas selectivas de la persistencia de lactasa

A pesar de la amplia cantidad de evidencia de selección natural positiva a favor de la persistencia de lactasa, los mecanismos específicos que seleccionaron este rasgo en algunas poblaciones permanecen desconocidos. Posibles alternativas a tener en cuenta incluyen un incremento en las probabilidades de supervivencia o en la fertilidad de individuos con persistencia de lactasa, pero no en aquellos sin persistencia de lactasa. Una posibilidad es que la menor adecuación biológica relativa en individuos no persistentes podría ser producto de la disminución o eliminación de la leche en la dieta para prevenir síntomas digestivos, sin poder obtener beneficios nutricionales de ella. Otra posibilidad es que el consumo de leche no reporte los mismos beneficios a individuos sin persistencia de lactasa a pesar de que consuman leche.

Un resumen sobre el consumo de leche entre los participantes de este estudio puede encontrarse en la Tabla 5.6⁴. Solamente el 16,9% de los participantes (76) declara no tomar leche nunca. Para extraer la mayor cantidad de información posible, el cuestionario incluyó preguntas sobre consumo de leche en general, consumo el día antes de la encuesta, y con-

⁴En la tabla, los valores perdidos han sido excluidos y los porcentajes redondeados al entero más próximo.

sumo en los últimos siete días⁵. De acuerdo a estos resultados, los diferentes métodos para evaluar consumo de leche están altamente asociados (Prueba log-lineal de independencia para tablas de contingencia de tres entradas $p = 7,4 \times 10^{-62}$). Estos datos fueron utilizados para estimar consumo diario de leche utilizando los métodos descritos en la sección 4.3). El consumo de otros productos lácteos es más alto que el de la leche fresca, y solo un 5 % (23) de los participantes reportó no consumir lácteos, y un 56 % (198) reportó haber consumido algún derivado de la leche el día anterior a la encuesta.

En relación a síntomas gástricos reportados en cuestionarios, malestares relacionados con el consumo de leche no se encuentran asociados con ninguno de los genotipos ($\chi^2 p = 0.68$), con la persistencia de lactasa predecida por los genotipos (prueba exacta de Fisher $p = 0.92$), ni con la digestión de lactosa según la prueba de tolerancia (prueba exacta de Fisher $p = 0.32$).

Respecto al consumo de leche, no se encontró asociación estadísticamente significativa entre número de tazas de leche diarias y genotipo (media $CC = 0.55$, media $CT = 0.52$, media $TT = 0.72$, ANOVA $p = 0.32$). A pesar de que individuos homocigotos -13910^*T presentan mayor consumo, las diferencias no son estadísticamente significativas (promedio persistente = 0.55, promedio no persistente = 0.55, prueba $t p = 0.4$). El consumo de leche tampoco está estadísticamente asociado con el fenotipo predicho (prueba $t p = 0.94$), ni con la

prueba de tolerancia a la lactosa (promedio tolerante = 0.4, promedio intolerante = 0.4, prueba $t p = 0.99$). Resultados similares fueron obtenidos analizando el consumo de otros productos lácteos, sin asociación entre genotipo y consumo de lácteos ($\chi^2 p = 0.4$), fenotipo predicho (prueba exacta de Fisher $p = 0.92$), o prueba de tolerancia a la lactosa (prueba exacta de Fisher $p = 1$). Por lo tanto, no se encontró asociación entre persistencia de lactasa, malestares gástricos asociados a la leche ni consumo de leche en este estudio.

Categoría	N	%
Consume leche	372	83
Tomó leche ayer	130	37
Consume otros lácteos	425	95
Malestar con la leche	179	40
Tazas de leche diarias		
0 (nunca)	86	19
<2	336	75
Entre 2 y 3	23	5
Más de 3	5	1
Consumo semanal de leche (días)		
0 (sin consumo la semana pasada)	162	38
1	51	12
2	43	10
3	40	9
4	14	3
5	7	2
6	3	1
7	108	25
Consumo semanal otros lácteos (días)		
0 (sin consumo la semana pasada)	78	18
1	66	15
2	74	17
3	60	14
4	26	6
5	15	3
6	7	2
7	115	26

TABLA 5.6. Consumo de leche y otros lácteos

⁵La pregunta respecto al consumo el día anterior a la encuesta no fue incluida en los cuestionarios de Pucclaro, Monte Patria y Huentelauquen, y por lo tanto los porcentajes reportados no consideran estas localidades dentro del total.

Pers. lactasa	Hombres			Mujeres		
	Estat. (cm)	Peso (kg)	IMC	Estat. (cm)	Peso (kg)	IMC
Todos						
\bar{x}	167,79	77,3	27,41	154,3	69,22	29,07
<i>s</i>	7,7	11,92	33,46	6,2	13,11	5,11
<i>min – max</i>	139,8–195	48,7–113,6	17,84–35,99	130,2–180	37,4–146,4	18,32–50,54
Persistente						
\bar{x}	169,67	82,4	28,58	153,98	69,1	29,15
<i>s</i>	7,52	11,92	3,5	6,3	12,76	5,04
<i>min – max</i>	145,5–195	54,1–113,6	21,17–35,99	140,2–180	40,7–108,1	18,32–44,64
No persistente						
\bar{x}	166,86	74,97	26,89	154,37	69,37	29,08
<i>s</i>	7,56	11,06	3,26	5,99	13,29	5,09
<i>min – max</i>	139,8–184,6	52,8–99,5	20,19–35,67	130,2–146,4	37,4–146,4	18,58–50,54
Prueba-t						
<i>valor – t</i>	2,1842	3,713	2,838	-0,534	-0,399	-0,09
<i>valor – p</i>	0,03*	3 × 10⁻⁴***	0,005**	0,594	0,69	0,928

TABLA 5.7. Resumen de estadísticas de estatura, peso e índice de masa corporal (IMC) según presunta persistencia de lactasa de acuerdo a genotipo.

Estos resultados rechazan la hipótesis de una disminución o eliminación de la leche en la dieta de individuos no persistentes, los cuales consumen tanta lactosa como los individuos con persistencia de lactasa en esta población. Por lo tanto, si el consumo de leche está relacionado con la ventaja selectiva de -13910^*T , la eliminación de la leche en la dieta de homocigotos $-13,910^*C$ no parece ser la causa de acuerdo con este estudio.

La hipótesis de que el consumo de leche no reporte los mismos beneficios a individuos sin persistencia de lactasa a pesar de que consuman leche, puede ser evaluada indirectamente en asociación con el peso y la estatura. Relaciones entre estatura y peso con persistencia de lactasa han sido previamente sugeridas en otros estudios (Almon et al., 2010; Corella et al., 2011; Lamri et al., 2013), sin embargo no se ha considerado previamente que estas variables estén relacionadas con las condiciones que llevaron al proceso de selección natural positiva de la persistencia de lactasa. Por otro lado, estudios no relacionados con este polimorfismo indican relaciones entre estatura, IMC y éxito reproductivo en humanos (Allal et al., 2004; Nettle, 2002b; Power & Schulkin, 2008; Sear, 2006; Weng et al., 2004).

La tabla 5.7 muestra estadísticas generales sobre estatura, peso e IMC según sexo y presunta persistencia de lactasa de acuerdo al genotipo de -13910 . El IMC promedio es $28,5 \text{ kg/m}^2$, y a pesar de que los valores de $\text{IMC} > 25 \text{ kg/m}^2$ se consideran sobrepeso en adultos, se sabe que este índice es más alto en adultos mayores (Heiat et al., 2001), por lo que estos resultados están probablemente influenciados por la composición etaria de la muestra.

Tanto estatura, como peso e IMC resultaron significativamente más altos en individuos masculinos con persistencia de lactasa, no existiendo diferencias significativas entre mujeres

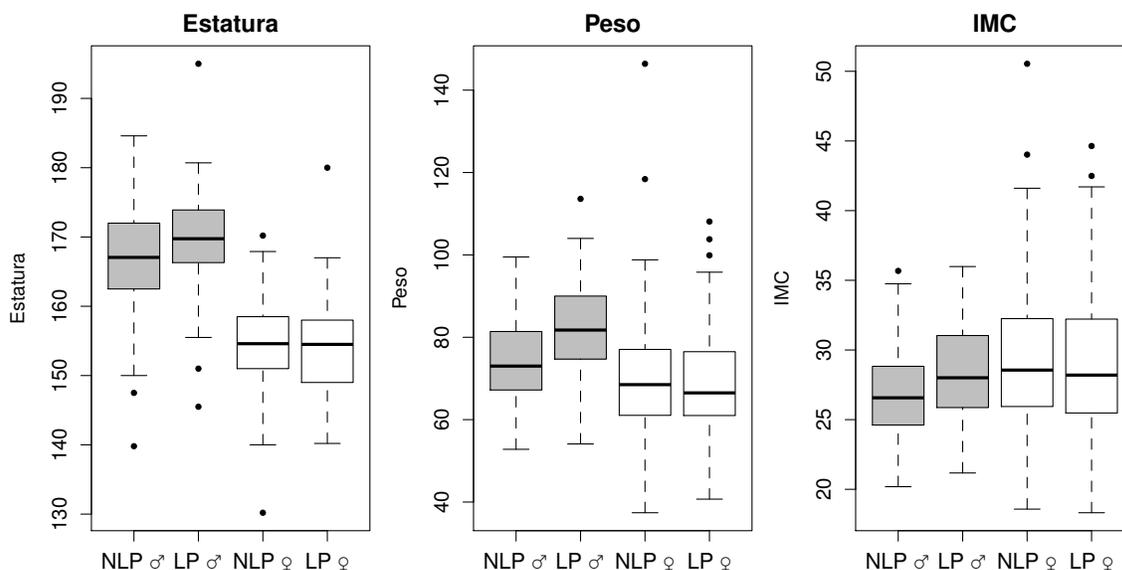


FIGURA 5.9. Diferencias en estatura, peso e IMC entre individuos lactopersistentes (LP) y no lactopersistentes (NLP), en hombres (♂) y mujeres (♀). Se encontrarán diferencias estadísticamente significativas para las tres variables, pero solo en hombres.

persistentes y no persistentes (ver Figura 5.9). Diferencias entre todas o algunas de estas variables en relación con persistencia de lactasa han sido previamente reportadas en poblaciones europeas (Corella et al., 2011; Lamri et al., 2013; Smith et al., 2008), pero ningún estudio muestra un efecto exclusivo en hombres. Este resultado podría ser producto de otras variables que jueguen un rol más importante que la lactasa en la estatura de las mujeres, como por ejemplo el calendario reproductivo, o por causas sociales como sesgo de género en las pautas nutricionales en etapas tempranas del desarrollo. Estas hipótesis no fueron contrastadas en esta memoria, pero serán comentadas en relación con los demás resultados en el Capítulo 6.

Sin embargo, los resultados expuestos en la Figura 5.9 son susceptible de ser producto de la asociación de persistencia de lactasa con alguna variable de confusión que incida también en peso y estatura, como podría ser el caso tanto de la ancestría como de la consanguinidad. Varios estudios (Malina & Reyes, 2007; Story et al., 1999, 2003) han reportado una alta prevalencia de sobrepeso y obesidad asociada con ancestría amerindia en las Américas. En la muestra estudiada, la proporción de ancestría nativa americana está positivamente correlacionada tanto con IMC como con peso, pero solo en mujeres (Prueba de correlación de Pearson para mujeres: IMC $p = 8 \times 10^{-4}$, peso $p = 0.003$, y para hombres; IMC $p = 0,9$, peso $p = 0,6$). De forma similar, la importancia de las relaciones de parentesco en la determinación del peso y la estatura es fuertemente sugerida por varios estudios basados en bases de datos de cientos de individuos emparentados y estudios de gemelos, los cuales arrojan estimaciones de heredabilidad entre 0,87–0,93 para estatura y entre 0,5–0,9 para IMC (Dubois et al., 2012; Schousboe et al., 2003; Silventoinen et al., 2003).

Si la digestión de lactosa tiene un efecto en el peso y la estatura, como ha sido sugerido en

Variables	IMC					Estatura				
	B	S.E B	β	val. t	val. p	B	S.E B	β	val. t	val. p
Hombres										
Digestor (sí)	2,042	0,655	0,293	3,119	0,002	1,576	1,446	0,102	1,09	0,278
Edad	0,018	0,017	0,096	1,031	0,305	-0,081	0,039	-0,199	-2,077	0,04
Prop. anc. europ.	-0,251	0,279	0,084	-0,899	0,371	—	—	—	—	—
Tazas de leche	—	—	—	—	—	1,955	1,784	0,105	1,096	0,275
Est. socioeconom.	0,164	0,230	0,066	0,714	0,477	—	—	—	—	—
Mujeres										
Digestor (sí)	0,514	0,706	0,053	0,728	0,468	-0,196	0,806	-0,015	-0,243	0,808
Edad	0,010	0,021	0,035	0,473	0,637	-0,127	0,024	-0,361	-5,303	3×10^{-7}
Prop. anc. europ.	-1,153	0,616	-0,177	-2,456	0,015	—	—	—	—	—
Tazas de leche	—	—	—	—	—	-1,173	1,1	-0,066	-1,035	0,302
Est. socioeconom.	—	—	—	—	—	0,421	0,398	0,069	1,058	0,291
STRU msats.	-0,446	0,398	-0,081	-1,121	0,264	0,234	0,459	0,032	0,509	0,611
Edad 1 st hijo	-0,134	0,066	-0,149	-2,038	0,043	—	—	—	—	—

TABLA 5.8. Efectos de las variables de interés en el modelo más significativo según Criterio de Información de Akaike (AIC). La digestión de lactosa según genotipo tiene efectos significativos en el incremento del IMC en hombres en $2,04 \text{ kg/m}^2 \pm 0,66 \text{ S.E.}$ ($t = 3, 12, g.l = 109, p = 0, 002$), pero no en mujeres.

otros estudios (Almon et al., 2010; Corella et al., 2011; Lamri et al., 2013), también es posible que el peso y la estatura puedan mediar en la contribución de la persistencia de lactasa al éxito reproductivo. Sin embargo, es probable que muchos factores genéticos y ambientales no considerados en este estudio puedan tener efectos importantes tanto en estatura como en IMC. Reconociendo esta complejidad, se utilizaron análisis de regresión múltiple para modelar peso y estatura como respuestas a la persistencia de lactasa, evaluando edad, consumo de leche, ancestría, estatus socioeconómico, estructura de microsatélites y edad de nacimiento del primer hijo como posibles variables de confusión utilizando Criterio de Información de Akaike (AIC) para descartar variables que no contribuían al modelo original.

Los modelos resultantes para IMC y estatura en hombres y mujeres se presentan en la Tabla 5.8. La persistencia de lactasa tiene efectos significativos incrementando el IMC de hombres en $2,04 \text{ kg/m}^2 \pm 0,66 \text{ S.E.}$ ($t = 3, 12, g.l = 109, p = 0, 002$), pero no tiene efectos significativos en estatura ni en los modelos de mujeres, para las cuales la ancestría y la edad del primer parto son mejores predictores del IMC (Figura 5.10). Estudios previos en poblaciones Europeas reportan efectos similares de la persistencia de lactasa en el IMC, pero sin las diferencias por sexo encontradas en este estudio.

Un incremento en el IMC podría ser considerado como ventajoso en nuestro pasado evolutivo reciente en épocas donde episodios de hambruna eran amenazas comunes. En caso de que las diferencias entre sexos no sean producto de sesgos culturales en las prácticas de alimentación de los niños en desmedro de las niñas, también son plausibles hipótesis de selección sexual de IMC alto como rasgo ventajoso en competencia intrasexual. El presente estudio no cuenta con evidencia para probar ninguna de estas hipótesis. Sin embargo, es posible examinar si la persistencia de lactasa, el IMC, o ambos tienen efectos directos

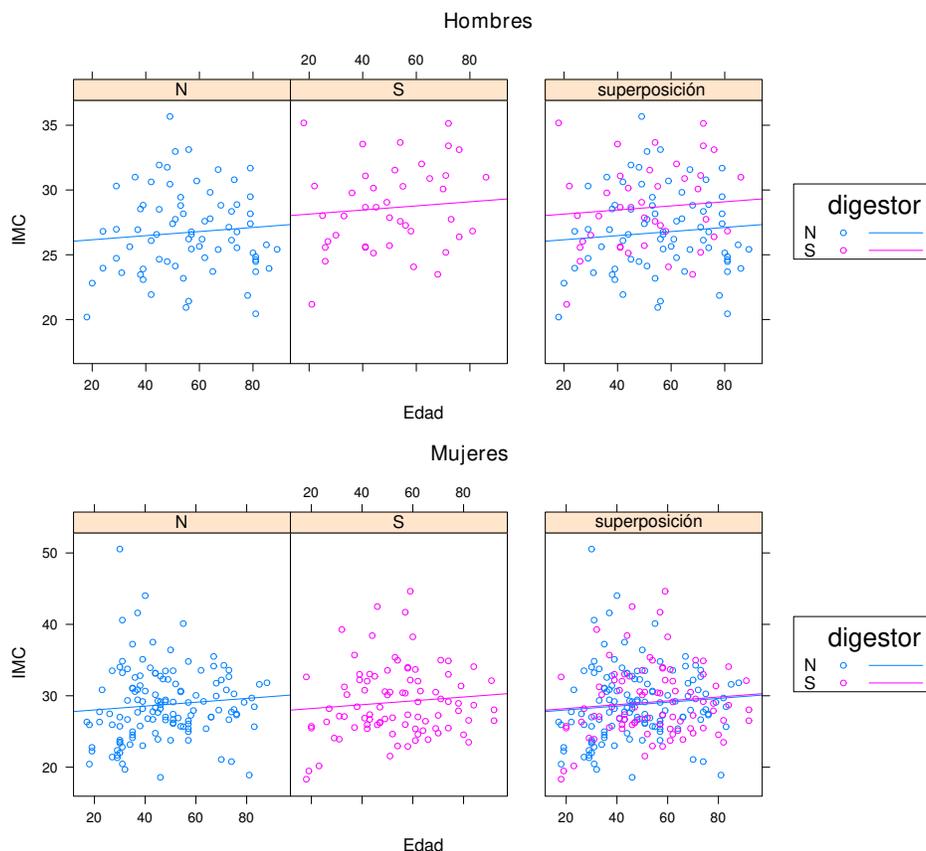


FIGURA 5.10. Comparación del incremento en el IMC y la edad entre individuos con (S) y sin persistencia (N) de lactasa según sexo. Existen diferencias significativas en el IMC de hombres con y sin persistencia de lactasa. Esta tendencia se mantiene significativa controlando por edad, consumo de leche, ancestría, estatus socioeconómico, endocruzamiento y consanguinidad. Sin embargo, no hay diferencias significativas en el IMC de mujeres según persistencia de lactasa.

y detectables en la fertilidad. Dicho análisis debe tener en cuenta la tendencia global a la reducción de la mortalidad seguida por una caída en la natalidad en poblaciones humanas, proceso conocido como “transición demográfica” en la literatura (Wilson, 2011).

Desde el punto de vista de la demografía evolutiva (revisada en Mace 2000), un escenario de baja mortalidad y baja fertilidad podría producir presiones selectivas que favorezcan rasgos relacionados con la fertilidad por sobre rasgos que favorezcan la supervivencia infantil (Moorad, 2013). Adicionalmente, estas tendencias demográficas parecen tener efectos en la estatura y el peso debido al efecto de la asignación de más recursos a una prole más pequeña (documentado en humanos por Lawson & Mace (2008)), y efectos relacionados con cambios en el éxito reproductivo conferido por diferentes fenotipos de estatura y peso, como muestra la evidencia de transiciones desde contextos que favorecen IMC altos a contextos que favorecen mayor estatura en poblaciones cursando etapas tempranas de la transición demográfica (Courtiol et al., 2013; Sear, 2006).

En América Latina, la caída en la mortalidad comenzó alrededor de 1930. En cambio, la caída en la fertilidad es mucho más reciente, comenzando a mediados de 1970 y ha sido gradual en comparación con otras regiones (Reher, 2004). En Chile, la caída en la fertilidad se inició en la década del 60 como respuesta a programas de políticas públicas resultando en indicadores demográficos correspondientes a etapas tardías de la transición demográfica en el país (Meza, 2003). El acelerado proceso de transición demográfica en Chile puede generar dificultades en la interpretación de nuestros análisis debido a la recolección de datos de individuos cuya vida reproductiva aconteció bajo diferentes regímenes demográficos, así como a la reducción de la variabilidad en fertilidad y mortalidad generada por la transición demográfica, la cual puede convertir en indetectables diferencias que fueron significativas en los contextos demográficos vigentes durante la selección a favor de la persistencia de lactasa.

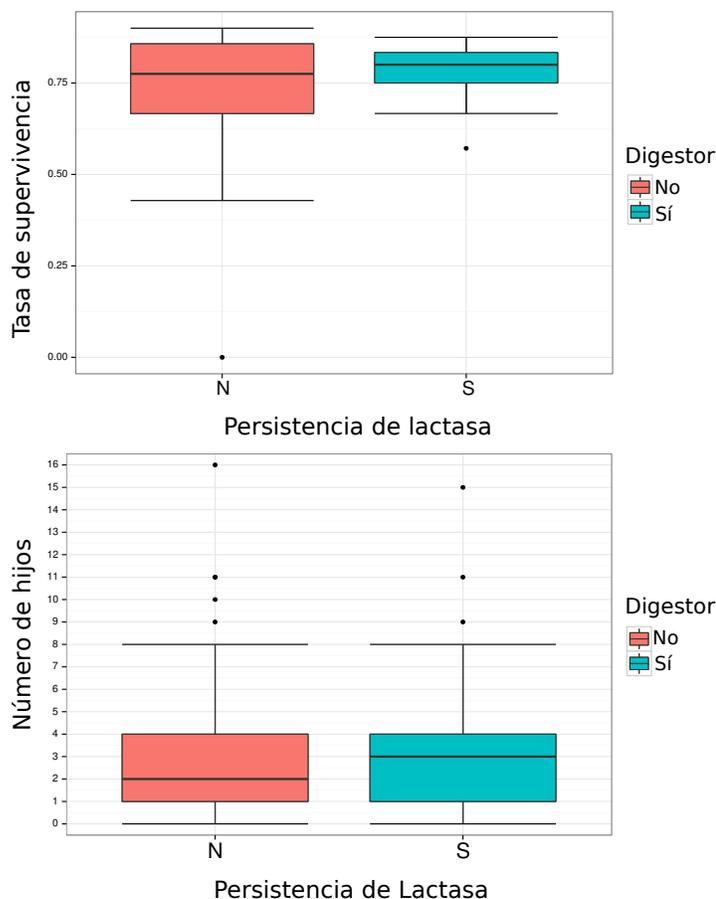


FIGURA 5.11. Arriba: Tasa de supervivencia de hijos según persistencia de lactasa. Para detectar efectos individuales sin hijos fallecidos fueron excluidos. Individuos con persistencia de lactasa tienen un promedio de tasa de supervivencia de hijos de 0,77, mientras no persistentes uno de 0,7. Abajo: Número de hijos nacidos vivos según persistencia de lactasa. Individuos con persistencia de lactasa tienen un promedio de 3,03 hijos e individuos no persistentes un promedio de 2,78. Ninguna de estas diferencias son estadísticamente significativas (prueba t: $g.l = 37, 7, p = 0, 12$)

En la muestra empleada en este estudio, los participantes tienen un promedio de 2,92 hijos, con una razón de supervivencia de 93 %. Algunas otras estadísticas generales de fertilidad y mortalidad infantil fueron presentadas en la Tabla 5.2. La transición demográfica hacia baja mortalidad convierte las muertes de menores en eventos raros, por lo que se observan casi exclusivamente en los grupos etarios más avanzados de la muestra. Esta situación dificulta el análisis de la supervivencia infantil, debido a que la muerte de hijos ha sido experimentada por solo un 14 % de los participantes.

Para lidiar con este problema, la mortalidad infantil fue estimada por medio de la razón de supervivencia (S) en base al número de hijos nacidos (CEB por sus siglas en inglés “Children ever born”) y el número de hijos sobrevivientes (NS) (i.e. $S = CEB/NS$), excluyendo los

valores de $S = 1$ para que el análisis fuera capaz de identificar diferencias, reduciendo el tamaño de la muestra a $n = 67$. La figura 5.11 muestra las diferencias en la razón de hijos sobrevivientes entre digestores y no digestores de lactosa. Los digestores tienen en promedio una razón de supervivencia de hijos de 0,77, en tanto los no digestores de 0,7. Esta diferencia no es estadísticamente significativa (prueba-t: $g.l = 37,7$, $p = 0,12$). A pesar de que la edad es una importante variable de confusión a tomar en consideración, las muertes infantiles son muy poco frecuentes como para poder dividir los datos en más categorías. Dado este tamaño de la muestra, se necesita un tamaño de efecto de 0,55 (i.e una diferencia de 0,55 en la razón de supervivencia) para detectar diferencias significativas utilizando una prueba-t con un poder de 0,9.

Se realizó el mismo análisis considerando exclusivamente el número de hijos nacidos (Figura 5.11). Los digestores de lactosa tienen 3,03 hijos en promedio, mientras los no digestores tienen 2,78. Sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas (prueba t: $g.l = 263,367$, $p = 0,36$, para ser detectable con este tamaño de la muestra con un poder de 0,9, las diferencias en el número de hijos promedio necesita ser mayor que 0,4).

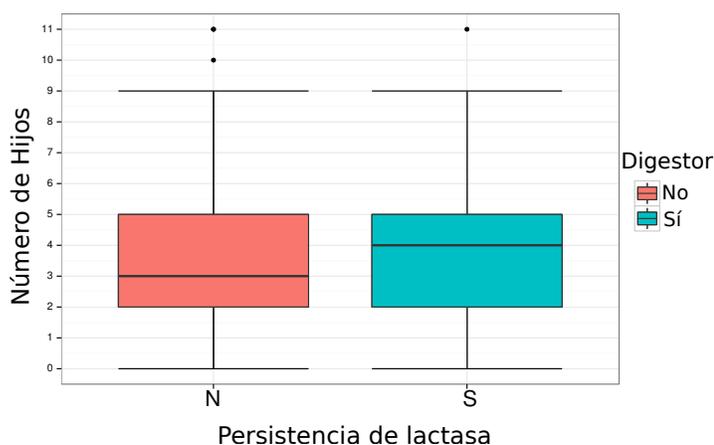


FIGURA 5.12. Diferencias en el número de hijos entre digestores de lactosa y no digestores de lactosa en personas sobre 45 años. Las diferencias no son estadísticamente significativas (prueba t: \bar{x} digestores = 3,84, \bar{x} no digestores = 3,57, $g.l = 59,57$, $p = 0,46$)

Los cambios demográficos traídos por la transición demográfica implican una disminución de la natalidad y un retraso en el inicio del calendario reproductivo, produciendo un aumento del número de hijos en los grupos etarios mayores con vidas reproductivas anteriores al inicio de la baja en la fertilidad. Además, los grupos de mayor edad ya han concluido su vida reproductiva. Estas características demandan una cuidadosa consideración de la edad cuando se compara la fertilidad entre grupos. Adicionalmente, la tendencia hacia una menor natalidad distorsiona la influencia de los valores extremos que tienen una fertilidad demasiado alta en comparación con el resto de los datos. Se examinaron las diferencias en fertilidad solamente de las personas con su calendario reproductivo completo, asumiendo 45 años como el final de la vida reproductiva de la mayoría de la población. La Figura 5.12 muestra las diferencias en la fertilidad para las personas de más de 45 años según digestión de lactosa. Nuevamente, la ventaja de los digestores es pequeña y no es estadísticamente significativa (prueba t: \bar{x} digestores = 3,84, \bar{x} no digestores = 3,57, $STR = 59,57$, $p = 0,46$).

Este análisis preliminar muestra que las diferencias a favor de individuos lactopersistentes en el número de hijos y la tasa de supervivencia de hijos (Figura 5.11) no son estadística-

Modelo completo		Log-likelihood	g.I	AIC
hijos ~ digest. + sexo + edad + ESE + leche + imc		-640.6	14	1309.1
	B	B S.E.	z – value	p – value
digest (sí)	2×10^{-4}	0.069	0.004	0.999
sexo (mujer)	0.011	0.075	0.15	0.881
edad	0.023	0.002	10.68	2×10^{-16}
E.S.E.	-0.022	0.031	-0.708	0.479
leche	-0.002	0.091	-0.017	0.986
IMC	0.023	0.008	2.893	0.004
Modelo reducido		Log-likelihood	g.I	AIC
hijos ~ digest. + edad + imc		-645.2	8	1306.3
	B	B S.E.	z – value	p – value
digest (sí)	0.007	0.069	0.1	0.833
edad	8×10^{-4}	0.002	11.788	2×10^{-16}
IMC	0.023	0.008	2.999	0.003

TABLA 5.9. Modelo generalizado (Poisson) para número de hijos nacidos vivos (hijos): Comparación del modelo completo y el modelo reducido (empleando AIC). Las diferencias entre los modelos son menores en términos de AIC, efectos significativos y valores de p . No hay evidencia de un efecto de la persistencia de lactasa en el número de hijos, pero se reporta un efecto significativo de IMC en la fertilidad.

mente significativas. Considerando la edad como covariable las diferencias permanecen sin ser significativa. Lo anterior sugiere que no existen diferencias en la adecuación biológica favorables para portadores de $-13,910^*T$, o que los procesos propios de etapas tardías de la transición demográfica pueden haber reducido la magnitud de las diferencias en fertilidad y mortalidad a niveles no detectables para el tamaño muestral de este estudio.

Para un segundo análisis, se utilizaron modelos lineales generalizados (Poisson) para evaluar el número de hijos como respuesta a persistencia de lactasa usando sexo, edad, estatus socioeconómico, consumo de leche e IMC como variables explicativas. El modelo completo fue comparado con un modelo reducido, eliminando variables de menor valor explicativo utilizando el Criterio de Información de Akaike (Tabla 5.9).

Las diferencias entre ambos modelos son pequeñas en términos de AIC, efectos significativos y valores de p . Los resultados no muestran un efecto significativo de la digestión de lactosa en el número de hijos, y por lo tanto no entregan evidencia directa de una mejora en la adecuación biológica en individuos con persistencia de lactasa. Sin embargo, ambos modelos muestran efectos significativos del IMC en la fertilidad, y a pesar de que este incremento en la fertilidad por medio del IMC no está mediado por la persistencia de lactasa en esta muestra, hay soporte para proponer la hipótesis de un efecto de la persistencia de lactasa e el IMC en este y otros estudios. A partir de estos datos no es posible concluir que un incremento en el IMC debido a la capacidad de digerir lactosa pudo haber tenido un efecto en la adecuación biológica de las poblaciones del pasado, pero es una hipótesis atractiva. Esta y otras ideas son comentadas en el capítulo siguiente.

Capítulo 6

Discusión

6.1. Hallazgos y contrastación de hipótesis

Los antecedentes sobre el modo de subsistencia y la ancestría de las poblaciones estudiadas en este proyecto las sugerían como modelo para rastrear pistas sobre el proceso de selección natural de la persistencia de lactasa documentado para el neolítico del Viejo Mundo. Preguntas sobre la adaptación a cambios en la dieta introducidos hace 500, sobre las frecuencias de persistencia de lactasa y su relación con los efectos de la deriva génica en poblaciones pequeñas emparentadas, y de los efectos de la selección natural sobre la capacidad para digerir leche fueron examinadas en el proceso. En muchos aspectos nuestros resultados difieren de los anticipados como se discute a continuación.

Respecto a las variantes de persistencia de lactasa presentes en esta población y su origen, los resultados de las pruebas de asociación genotipo–fenotipo coinciden con los reportados previamente en poblaciones europeas mostrando una fuerte asociación entre la presencia del alelo -13910^*T y la digestión de lactosa, prediciendo el fenotipo en el 99,64 % de los sujetos. La inspección de la región potenciadora no reveló ningún alelo adicional, sugiriendo que -13910^*T es causal en la persistencia de lactasa en esta población, en concordancia con las predicciones de la hipótesis 1. Además, el trasfondo haplotípico de -13910^*T sugiere su origen en Europa y su introducción reciente al continente americano.

Sin embargo, las frecuencias de los genotipos asociados a persistencia de lactasa no son particularmente altos. Este es el primer estudio que examina la persistencia de lactasa en poblaciones de pastores sudamericanas, combinado genética y demografía evolutiva. En esta población, -13910^*T tiene una frecuencia de 0,22 y se predice un 38 % de sujetos lactopersistentes. Estos valores son consistentes con los valores esperados según el modelo de mestizaje biparental Europeo–Amerindio y son similares a los valores para otras poblaciones mestizas sudamericanas sin modos de subsistencia pastoralistas.

Se constatan niveles de consumo de leche similares entre individuos portadores y no portadores de -13910^*T , un resultado contrario a las predicciones de la hipótesis 3. Este resultado permite proponer que los individuos con persistencia de lactasa no obtienen sus ventajas selectivas producto de la capacidad de consumir leche, si no que de la posibilidad de aprovechar mejor su contenido nutricional (hipótesis 4). Examinando las posibles ventajas selectivas de la persistencia de lactasa, y controlando por estratificación poblacional utilizando STRs y SNPs, se reporta un efecto altamente significativo ($p = 0.002$) de la digestión de lactosa en el IMC, en línea con las predicciones de la hipótesis 4. Reportes de efectos similares en la literatura (Almon et al., 2010; Corella et al., 2011; Lamri et al., 2013; Smith et al., 2008) apoyan que dicha relación no es producto de variables no consideradas. De forma similar, el efecto de IMC en el número de hijos ($p = 0.003$) también ha sido reportado previamente (Courtiol et al., 2013; Sear, 2006), sin embargo, una relación entre las tres variables (persistencia de lactasa, IMC y fertilidad) no ha sido examinada previamente, y los modelos evaluados para esta población no muestran que el efecto de IMC en la fertilidad sea producto de la persistencia de lactasa, en contra de las predicciones de la hipótesis 5. No obstante, es posible que la persistencia de lactasa fuera un mecanismo para ganar peso y mediar en el incremento del IMC y la fertilidad en las poblaciones protagonistas del evento de selección natural de la persistencia de lactasa en el neolítico del Viejo Mundo.

6.2. Limitaciones

Los análisis genéticos usados en este estudio se vieron limitados por restricciones de financieras y de tiempo. El panel de marcadores de ancestría utilizado contenía solamente 30 SNPs, seleccionados tomando en cuenta las frecuencias extremas en las que se encuentran los diferentes alelos en cada una de las poblaciones parentales. Sin embargo, estudios similares publicados están basados en paneles mucho mayores (como 446 SNPs en Galanter et al. 2012 o 2100 SNPs en Mao et al. 2007), una diferencia que podría ser mirada con escepticismo respecto a los resultados aquí presentados. El uso de paneles basados en INDELS es promovido por algunos autores como más adecuado para estimaciones de ancestría con pocos marcadores (Friedrich et al., 2012b; Pereira et al., 2012), y es posible que una combinación de métodos pueda mejorar las estimaciones de ancestría presentadas.

De manera similar, el uso de DNA no recombinante (cromosoma Y y DNA mitocondrial) podría haber mejorado las estimaciones de ancestría, consanguinidad y endogamia. Habría permitido la evaluación independiente de los linajes paternos y maternos, complementando la información obtenida del análisis de microsatélites autosómicos.

Finalmente el uso de microarreglos de miles de SNPs podría haber sido usado para analizar simultáneamente ancestría y consanguinidad, pero no fue posible considerando el presupuesto de este proyecto. Sin embargo, el uso de microarreglos es considerado como la mejor posibilidad para poder expandir esta investigación en el futuro.

Respecto al muestreo, el reclutamiento de participantes resultó ser extremadamente complejo en las etapas iniciales del proyecto, debido a la falta de confianza por parte de los comuneros respecto a nuestras intenciones y a las dificultades de acceso a los asentamientos. Para fines del estudio piloto fue evidente que un control estricto del parentesco entre individuos en la muestra resultaba imposible. Durante la ejecución del trabajo de campo fue necesario sacrificar los controles de inclusión y parte del cuestionario con el objetivo de alcanzar el mayor tamaño de muestra posible, resultando en 451 muestras recolectadas en 9 localidades durante 10 meses de trabajo de campo. Muchos de los datos recolectados fueron excluidos de los análisis por restricciones de tiempo y por la gran cantidad de valores perdidos.

Adicionalmente, las comunidades estudiadas fueron seleccionadas como modelo debido a su modo de subsistencia pastoralista y a la probable introducción de alelos asociados a la persistencia de lactasa. Sin embargo, los análisis presentados en esta memoria no muestran evidencia alguna de selección reciente en esta población. Muchas de las condiciones que pueden haber estado presentes en los lugares donde se seleccionó la persistencia de lactasa en el neolítico pueden estar ausentes en estas comunidades. Por ejemplo, la mortalidad infantil es poco común hoy en día, incluso en poblaciones con importantes niveles de pobreza y exclusión como las aquí presentadas. De forma similar, la fertilidad también se ha reducido en forma considerable en los últimos años, a pesar de tratarse de poblaciones rurales con escaso acceso a métodos de control de la natalidad. Estos factores hacen posible que las diferencias en el éxito reproductivo de ambos grupos no sean detectables hoy en día debido a la disminución proporcional de la fertilidad y la mortalidad infantil general (Harrison & Morphy, 1998).

Los modelos de regresión utilizados para estudiar el efecto de la persistencia de lactasa en la estatura y el peso poseen las limitaciones inherentes al estudio de dos de los rasgos fenotípicos más complejos en humanos. La naturaleza continua de estos rasgos presentó un desafío importante para la noción de herencia mendeliana discreta en el desarrollo de la genética debido a las evidentes similitudes de estatura y peso de individuos emparentados (Fisher, 1919). Los marcos teóricos de mendelianos y biometristas fueron reconciliados con el surgimiento de la idea de rasgos continuos determinados de manera conjunta por múltiples factores genéticos y ambientales actuando de forma combinada, fundando el campo de la genética cuantitativa (Fisher, 1919; Orr, 2005).

La idea de una determinación poligenética del peso y la estatura ha sido reconocida desde al menos la época de la síntesis moderna. Sin embargo la emergencia de los estudios de asociación a lo largo del genoma (GWAS por sus siglas en inglés "*Genome-wide association studies*") ha permitido recolectar evidencia sobre el particularmente alto número de loci asociados a ambos rasgos: se han identificado más de 180 y 165 loci repartidos a lo largo de todo el genoma como probables participantes en la determinación de estatura y peso respectivamente (Bell et al., 2005; Lango Allen et al., 2010).

Además de su complejidad genética, ambos rasgos se ven dramáticamente afectados por

factores ambientales. El incremento sustancial y sostenido de la estatura en varias poblaciones humanas durante el siglo XX ha sido extensamente documentado. Este fenómeno ha sido comúnmente atribuido a las mejoras en las condiciones de vida desde comienzos del siglo XX (Cole, 2000; Gustafsson et al., 2007; Silventoinen et al., 1999, 2003). Estudios comparativos de la estatura entre países ricos y pobres sugieren que la mejora tanto en las condiciones específicas de la nutrición como de la salud en general durante la infancia son responsables de esta tendencia (Silventoinen, 2003; Steckel, 1995). De forma similar, la mayor disponibilidad de alimentos altamente calóricos y el modo de vida sedentario ha provocado un aumento en el IMC en países desarrollados (Bleich et al., 2008) y, más recientemente, también en los países en vías de desarrollo a medida que la dieta y el modo de vida propio de las sociedades industrializadas ha sido adoptado. (Bell et al., 2005; Hoffman, 2001; Hossain et al., 2007).

Una capa de complejidad adicional radica en el dimorfismo sexual que presentan ambos rasgos. En promedio, los hombres son más altos que las mujeres en todas las poblaciones, en tanto el IMC tiende a ser más alto en las mujeres. Existe evidencia de la contribución de genes del cromosoma Y en la estatura (Kirsch et al., 2002; Salo et al., 1995), así como también del efecto de las hormonas sexuales en ambos rasgos (Albertsson-Wikland et al., 1994; McTiernan et al., 2006; Power & Schulkin, 2008). Este patrón de dimorfismo ha sido objeto de varias hipótesis basadas en selección sexual. Existen reportes de correlación positiva entre estatura y éxito reproductivo en hombres, pero no en mujeres (Nettle, 2002a,b), así como también entre IMC y éxito reproductivo para ambos sexos (Allal et al., 2004; Power & Schulkin, 2008; Sear, 2006; Weng et al., 2004). Algunas de las explicaciones sugeridas en la literatura para este dimorfismo son una mayor susceptibilidad a determinantes ambientales de la estatura en hombres (Kuh et al. 1991; Stinson 1985 (sin embargo, no se encontró evidencia de dicho efecto en Gustafsson & Lindenfors 2004), un sesgo en base a género en la nutrición infantil dependiendo de la contribución femenina a la economía doméstica (Holden & Mace, 1999), una correlación positiva entre estatura y atractivo sexual en hombres pero no en mujeres (Nettle, 2002a), y selección favorable al incremento del peso y la estatura por competencia intrasexual entre machos (Kanazawa, 2005).

6.3. Conclusión

En contextos de escasez de recursos y amenazas recurrentes de hambruna es posible que variantes genéticas que contribuyan al peso corporal sean favorecidas por selección natural. Si este es el caso, la persistencia de lactasa puede haber cumplido un rol similar a otras variantes que contribuyen al incremento del peso en otras regiones geográficas, de forma análoga a aquellas propuestas por hipótesis de *genotipo ahorrativo* en América (Gibson, 2007; Neel, 1962). A pesar de ser atractiva, esta hipótesis por analogía no puede ser puesta a prueba con los datos recolectados para este estudio. Otras posibilidades a considerar son la presencia de genes relacionados con peso y estatura en proximidad a la región poten-

ciadora de la lactosa, una opción probable considerando la larga región de desequilibrio de ligamiento en torno a *LCT* y al gran número de loci asociados a peso y estatura, a pesar de que ninguno de los alelos para peso y estatura reportados por Bell et al. (2005) y Lango Allen et al. (2010) están en proximidad a *LCT*. Sin embargo, altos IMC son fáciles de obtener por otras vías en la actualidad, y el modo de vida contemporáneo hace menos comunes las condiciones de crisis alimentaria, por lo que la contribución de la persistencia de lactasa puede no ser importante hoy. No obstante, el supuesto de mayor escasez de recursos en el pasado puede ser cuestionable, y ha sido criticado extensivamente en la literatura antropológica (Polanyi, 1944; Sahlins, 1972).

Este estudio sugiere explorar la relación entre persistencia de lactasa, IMC y éxito reproductivo como mecanismo hipotético para explicar la selección a favor de la persistencia de lactasa en el pasado. Estudios similares en poblaciones cursando etapas tempranas de la transición demográfica permitirían evaluar mejor el efecto de la persistencia de lactasa en el éxito reproductivo y contribuir a nuestra comprensión de una posible ruta para la evolución de este rasgo.

Bibliografía

- Acuña, M., Llop R, E., & Rothhammer E, F. (2000). Composición genética de la población chilena: las comunidades rurales de los valles de Elqui, Limarí y Choapa. *Revista Médica de Chile*, 128(6), 593–600.
- Agueda, L., Urreiziti, R., Bustamante, M., Jurado, S., Garcia-Giralt, N., Díez-Pérez, A., Nogués, X., Mellibovsky, L., Grinberg, D., & Balcells, S. (2010). Analysis of three functional polymorphisms in relation to osteoporosis phenotypes: replication in a Spanish cohort. *Calcified Tissue International*, 87(1), 14–24.
- Albertsson-Wikland, K., Rosberg, S., Karlberg, J., & Groth, T. (1994). Analysis of 24-hour growth hormone profiles in healthy boys and girls of normal stature: relation to puberty. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 78(5), 1195–1201.
- Alexander, D. H., Novembre, J., & Lange, K. (2009). Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Research*, 19(9), 1655–64.
- Alexander, W. (2004). Clandestine Artisans or Integrated Producers? Standardization of Rural Livelihood in the Norte Chico, Chile. *Culture & Agriculture*, 26(1), 38–51.
- Alexander, W. L. (2008). *Resiliency in hostile environments: a comunidad agrícola in Chile's Norte Chico*. Cranbury: Lehigh University Press.
- Allal, N., Sear, R., Prentice, M., Mace, R., Prentice, a. M., & Mace, R. (2004). An evolutionary model of stature, age at first birth and reproductive success in Gambian women. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 271(1538), 465–470.
- Almon, R., Álvarez-Leon, E. E., Engfeldt, P., Serra-Majem, L., Magnuson, A., & Nilsson, T. K. (2010). Associations between lactase persistence and the metabolic syndrome in a cross-sectional study in the Canary Islands. *European Journal of Nutrition*, 49(3), 141–146.
- Alzate, H., Gonzalez, H., Guzman, J., & Guzmán, J. (1969). Lactose intolerance in South American indians. *American Journal of Clinical Nutrition*, 22(2), 122–123.
- Ampuero, G. (1978). *Cultura Diaguita*. Santiago: Departamento de extensión cultural, Ministerio de Educación.

- Ampuero, G., Hidalgo, J., Schiappacasse, V., Niemeyer, H., Aldunate, A., & Solimano, I. (1989). La Cultura Diaguita chilena. In *Prehistoria*, (pp. 277–287). Santiago: Andres Bello.
- Ángel, L., Calvo, E., & Muñoz, Y. (2005). Prevalencia de hipolactasia tipo adulto e intolerancia a la lactosa en adultos jóvenes. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 20(4), 35–47.
- Aoki, K. (1986). A stochastic model of gene-culture coevolution suggested by the culture historical hypothesis for the evolution of adult lactose absorption in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83(9), 2929–2933.
- Aoki, K. (1987). Adult lactose absorption and milk use from the standpoint of gene-culture theory. *The Japanese Journal of Genetics*, 62(5), 445–459.
- Aoki, K. (2001). Theoretical and empirical aspects of gene-culture coevolution. *Theoretical Population Biology*, 59(4), 253–61.
- Ashton, K., Tracy, M., & Queiroz, A. D. (2000). Is Bergmann's rule valid for mammals? *The American Naturalist*, 156(4), 390–415.
- Astle, W., & Balding, D. J. (2009). Population Structure and Cryptic Relatedness in Genetic Association Studies. *Statistical Science*, 24(4), 451–471.
- Auricchio, S., Rubino, A., Landolt, M., Semenza, G., Prader, A., & Semeza, G. (1963). Isolated Intestinal Lactase Deficiency in the Adult. *Lancet*, 2(7303), 324–326.
- Avendaño, S., & Gallardo, H. (1986). *Las Comunidades Agrícolas de la 4 Region. Una particular relacion hombre tierra*. La Serena: Sociedad Editora del Norte.
- Bahamondes, M. (2003). Poverty-Environment Patterns in a Growing Economy: Farming Communities in Arid Central Chile, 1991–99. *World Development*, 31(11), 1947–1957.
- Beall, C. M. (2006). Andean, Tibetan, and Ethiopian patterns of adaptation to high-altitude hypoxia. *Integrative and Comparative Biology*, 46(1), 18–24.
- Beall, C. M. (2007). Two routes to functional adaptation: Tibetan and Andean high-altitude natives. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(Suppl. 1), 8655–8660.
- Beall, C. M., Cavalleri, G. L., Deng, L., Elston, R. C., Gao, Y., Knight, J., Li, C., Li, J. C., Liang, Y., McCormack, M., Montgomery, H. E., Pan, H., Robbins, P., Shianna, K. V., Tam, S. C., Tsering, N., Veeramah, K. R., Wang, W., Wangdui, P., Weale, M. E., Xu, Y., Xu, Z., Yang, L., Zaman, M. J., Zeng, C., Zhang, L., Zhang, X., Zhaxi, P., & Zheng, Y. T. (2010). Natural selection on EPAS1 (HIF2alpha) associated with low hemoglobin concentration in Tibetan highlanders. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(25), 11459–11464.
- Beall, C. M., Decker, M. J., Brittenham, G. M., Kushner, I., Gebremedhin, A., & Strohl, K. P.

- (2002). An Ethiopian pattern of human adaptation to high-altitude hypoxia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(26), 17215–17218.
- Beall, C. M., Strohl, K. P., Blangero, J., Williams-Blangero, S., Almasy, L. a., Decker, M. J., Worthman, C. M., Goldstein, M. C., Vargas, E., Villena, M., Soria, R., Alarcon, a. M., & Gonzales, C. (1997). Ventilation and hypoxic ventilatory response of Tibetan and Aymara high altitude natives. *American Journal of Physical Anthropology*, 104(4), 427–447.
- Beaumont, M. a. (2005). Adaptation and speciation: what can F(st) tell us? *Trends in ecology & evolution*, 20(8), 435–440.
- Bell, C. G., Walley, A. J., & Froguel, P. (2005). The genetics of human obesity. *Nature Reviews Genetics*, 6(3), 221–234.
- Bergmann, C. (1848). *Über die Verhältnisse der Wärmeökonomie der Thiere zu ihrer Grösse*. Göttingen: Vandenhoeck und Ruprecht.
- Bersaglieri, T., Sabeti, P. C., Patterson, N., Vanderploeg, T., Schaffner, S. F., Drake, J. A., Rhodes, M., Reich, D. E., & Hirschhorn, J. N. (2004). Genetic signatures of strong recent positive selection at the lactase gene. *American Journal of Human Genetics*, 74(6), 1111–1120.
- Bigham, A. W., Mao, X., Mei, R., Brutsaert, T., Wilson, M. J., Julian, C. G., Parra, E. J., Akey, J. M., Moore, L. G., & Shriver, M. D. (2009). Identifying positive selection candidate loci for high-altitude adaptation in Andean populations. *Human Genomics*, 4(2), 79–90.
- Bleich, S., Cutler, D., Murray, C., & Adams, A. (2008). Why is the developed world obese? *Annual Review of Public Health*, 29, 273–295.
- Blench, R. (2001). *'You Can't Go Home Again': Pastoralism in the New Millennium*. May 2001. London: Overseas Development Institute.
- Bloom, G., & Sherman, P. (2005). Dairying barriers affect the distribution of lactose malabsorption. *Evolution and Human Behavior*, 26(4), 301–312.
- Boll, W., Wagner, P., & Mantei, N. (1991). Structure of the chromosomal gene and cDNAs coding for lactase-phlorizin hydrolase in humans with adult-type hypolactasia or persistence of lactase. *American Journal of Human Genetics*, 48(5), 889–902.
- Bose, D., & Welsh, J. (1973). Lactose malabsorption in Oklahoma Indians. *American Journal of Clinical Nutrition*, 26(12), 1320–1322.
- Boyd, R. (1988). *Culture and the Evolutionary Process*. Chicago: University of Chicago Press.
- Bravo, M. L., Moreno, M., Builes, J. J., Salas, A., Lareu, M. V., & Carracedo, A. (2001). Autosomal STR genetic variation in negroid Chocó and Bogotá populations. *International Journal of Legal Medicine*, 115(2), 102–104.

- Briet, F., Pochart, P., Marteau, P., Flourie, B., Arrigoni, E., & Rambaud, J. C. (1997). Improved clinical tolerance to chronic lactose ingestion in subjects with lactose intolerance: a placebo effect? *Gut*, *41*(5), 632–635.
- Brines, J. (2004). Adult lactose tolerance is not an advantageous evolutionary trait. *Pediatrics*, *114*(5), 1372.
- Browman, D., Göbel, B., & Bollig, M. (1997). Pastoral risk perception and risk definition for Aitiplano herders. *Nomadic Peoples*, *1*(1), 22–36.
- Bulhões, a. C., Goldani, H. A. S., Oliveira, F. S., Matte, U. S., Mazzuca, R. B., & Silveira, T. R. (2007). Correlation between lactose absorption and the C/T-13910 and G/A-22018 mutations of the lactase-phlorizin hydrolase (LCT) gene in adult-type hypolactasia. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, *40*(11), 1441–1446.
- Burger, J., Kirchner, M., Bramanti, B., Haak, W., & Thomas, M. G. (2007). Absence of the lactase-persistence-associated allele in early Neolithic Europeans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *104*(10), 3736–3741.
- Butler, J., Reeder, D., & National Institute of Standards and Technology. U.S. Department of Commetece (2014). Short Tandem Repeat DNA Internet Database – National Institute of Standards and Technology. U.S. Department of Commetece.
- Calderón-Viacava, L., Cazorla-Talleri, A., & León-Barúa, R. (1971). [Incidence of lactose malabsorption in healthy young Peruvians]. *Acta Gastroenterologica Latinoamericana*, *3*(1), 11–16.
- Cardoso, S., Lau, W., Eiras Dias, J., Fevereiro, P., & Maniatis, N. (2012). A candidate-gene association study for berry colour and anthocyanin content in *Vitis vinifera* L. *PloS One*, *7*(9), e46021.
- Carnicer, J. (1993). Malabsorcio de lactosa en una poblacio pre-escolar i escolar. *Butlleti de la Societat Catalana de Pediatria*, *53*(1), 26–32.
- Casellas, F., & Malagelada, J. R. (2003). Applicability of short hydrogen breath test for screening of lactose malabsorption. *Digestive Diseases and Sciences*, *48*(7), 1333–1338.
- Casellas, F., Varela, E., Aparici, A., Casaus, M., & Rodríguez, P. (2009). Development, validation, and applicability of a symptoms questionnaire for lactose malabsorption screening. *Digestive Diseases and Sciences*, *54*(5), 1059–1065.
- Caskey, D. a., Payne-Bose, D., Welsh, J. D., Gearhart, H. L., Nance, M. K., & Morrison, R. D. (1977). Effects of age on lactose malabsorption in Oklahoma Native Americans as determined by breath H₂ analysis. *The American journal of digestive diseases*, *22*(2), 113–6.
- Castro, M., & Bahamondes, M. (1984). Un aporte antropológico al conocimiento de los

- mecanismos de subsistencia de las comunidades de la IV Región de Chile. *Ambiente y desarrollo*, 1(1), 143–146.
- Castro, M., & Bahamondes, M. (1986). Surgimiento y transformación del sistema comunitario: Las comunidades agrícolas, IV Región, Chile. *Ambiente y Desarrollo*, 11(1), 111–126.
- Cavalli-Sforza, L. L. (1981). *Cultural Transmission and Evolution: A Quantitative Approach*. Princeton: Princeton University Press.
- Chakraborty, R., & Jin, L. (1993). Determination of relatedness between individuals using DNA fingerprinting. *Human Biology*, 65(6), 875–895.
- Chen, C. C., Lu, R. B., Chen, Y. C., Wang, M. F., Chang, Y. C., Li, T. K., & Yin, S. J. (1999). Interaction between the functional polymorphisms of the alcohol-metabolism genes in protection against alcoholism. *American Journal of Human Genetics*, 65(3), 795–807.
- Coelho, M., Luiselli, D., Bertorelle, G., Lopes, A. I., Seixas, S., Destro-Bisol, G., & Rocha, J. (2005). Microsatellite variation and evolution of human lactase persistence. *Human Genetics*, 117(4), 329–339.
- Cole, T. J. (2000). Secular trends in growth. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 59(2), 317–324.
- Cook, G., & Al-Torki, M. (1975). High intestinal lactase concentrations in adult Arabs in Saudi Arabia. *British Medical Journal*, 3(5976), 135–136.
- Corella, D., Arregui, M., Coltell, O., Portolés, O., Guillem-Sáiz, P., Carrasco, P., Sorlí, J. V., Ortega-Azorín, C., González, J. I., & Ordovás, J. M. (2011). Association of the LCT-13910C ζ T polymorphism with obesity and its modulation by dairy products in a Mediterranean population. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 19(8), 1707–14.
- Courtiol, A., Rickard, I. J., Lummaa, V., Prentice, A. M., Fulford, A. J. C., & Stearns, S. C. (2013). The Demographic Transition Influences Variance in Fitness and Selection on Height and BMI in Rural Gambia. *Current Biology*, 23(1980), 1–6.
- Crawford, D. C., Bhangale, T., Li, N., Hellenthal, G., Rieder, M. J., Nickerson, D., & Stephens, M. (2004). Evidence for substantial fine-scale variation in recombination rates across the human genome. *Nature genetics*, 36(7), 700–706.
- Crittenden, R. G., & Bennett, L. E. (2005). Cow's milk allergy: a complex disorder. *Journal of the American College of Nutrition*, 24(sup6), 582S–591S.
- Dubois, L., Ohm Kyvik, K., Girard, M., Tatone-Tokuda, F., Pérusse, D., Hjelmberg, J., Skytthe, A., Rasmussen, F., Wright, M. J., Lichtenstein, P., & Martin, N. G. (2012). Genetic and environmental contributions to weight, height, and BMI from birth to 19 years of age: an international study of over 12,000 twin pairs. *PloS one*, 7(2), e30153.

- Dubroeuq, D. (2004). Land cover and land use changes in relation to social evolution: a case study from Northern Chile. *Journal of Arid Environments*, 56(2), 193–211.
- Durham, W. H. (1982). Interactions of genetic and cultural evolution: Models and examples. *Human Ecology*, 10(3), 289–323.
- Enattah, N. S., Jensen, T. G. K., Nielsen, M., Lewinski, R., Kuokkanen, M., Rasinpera, H., El-Shanti, H., Seo, J. K., Alifrangis, M., Khalil, I. F., Natah, A., Ali, A., Natah, S., Comas, D., Mehdi, S. Q., Groop, L., Vestergaard, E. M., Imtiaz, F., Rashed, M. S., Meyer, B., Troelsen, J., & Peltonen, L. (2008). Independent introduction of two lactase-persistence alleles into human populations reflects different history of adaptation to milk culture. *American Journal of Human Genetics*, 82(1), 57–72.
- Enattah, N. S., Sahi, T., Savilahti, E., Terwilliger, J. D., Peltonen, L., & Järvelä, I. (2002). Identification of a variant associated with adult type hypolactasia. *Nature Genetics*, 30(2), 233–237.
- Enattah, N. S., Trudeau, A., Pimenoff, V., Maiuri, L., Auricchio, S., Greco, L., Rossi, M., Lentze, M., Seo, J. K., Rahgozar, S., Khalil, I., Alifrangis, M., Natah, S., Groop, L., Shaat, N., Kozlov, A., Verschubskaya, G., Comas, D., Bulayeva, K., Mehdi, S. Q., Terwilliger, J. D., Sahi, T., Savilahti, E., Perola, M., Sajantila, A., Järvelä, I., & Peltonen, L. (2007). Evidence of still-ongoing convergence evolution of the lactase persistence T-13910 alleles in humans. *American Journal of Human Genetics*, 81(3), 615–625.
- Escoboza, P. M. L., Fernandes, M. I. M., Peres, L. C., Einerhand, A. W. C., Galvão, L. C., Martins, P., Escoboza, L., Inez, M., Wilhelmina, A., Einerhand, C., & Galva, L. C. (2004). Adult-type hypolactasia: clinical, morphologic and functional characteristics in Brazilian patients at a university hospital. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 39(4), 361–365.
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14(8), 2611–2620.
- Evershed, R., Payne, S., & Sherratt, A. (2008). Earliest date for milk use in the Near East and southeastern Europe linked to cattle herding. *Nature*, 455(7212), 528–531.
- Evsyukov, A., & Ivanov, D. (2013). Selection Variability for Arg48His in Alcohol Dehydrogenase ADH1B among Asian Populations. *Human Biology*, 85(4), 569–577.
- Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. (2003). Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 164(4), 1567–1587.
- Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. K. (2007). Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular ecology notes*, 7(4), 574–578.

- Fernández, C. I., & Flores, S. V. (2014). Lactase persistence and dairy intake in Mapuche and Mestizo populations from southern Chile. *American Journal of Physical Anthropology*, 155(3), 482–487.
- Fernández, C. I., Montalva, N., Arias, M., Hevia, M., Moraga, M. L., & Flores, S. V. (2015). Lactase non-persistence and general patterns of dairy intake in indigenous and mestizo Chilean populations. *American Journal of Human Biology*, 00(August), n/a–n/a.
- Fiebig-Wittmaack, M., Astudillo, O., Wheaton, E., Wittrock, V., Perez, C., & Ibacache, A. (2011). Climatic trends and impact of climate change on agriculture in an arid Andean valley. *Climatic Change*, 111(3-4), 819–833.
- Figuroa, R. B., Melgar, E., Jό, N., & Garca, O. L. (1971). Intestinal lactase deficiency in an apparently normal Peruvian population. *The American Journal of Digestive Diseases*, 16(10), 881–889.
- Fisher, R. A. R. (1919). The Correlation Between Relatives on the Supposition of Mendelian Inheritance. *Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, 52(02), 399–433.
- Flanagan, N., Healy, E., Ray, A., Philips, S., Todd, C., Jackson, I. J., Birch-Machin, M. a., & Rees, J. L. (2000). Pleiotropic effects of the melanocortin 1 receptor (MC1R) gene on human pigmentation. *Human Molecular Genetics*, 9(17), 2531–2537.
- Flatz, G., & Rotthauwe, H. (1973). Lactose nutrition and natural selection. *The Lancet*, 4(3), 192–192.
- Flicek, P., Amode, M. R., Barrell, D., Beal, K., Billis, K., Brent, S., Carvalho-Silva, D., Clapham, P., Coates, G., Fitzgerald, S., Gil, L., Giron, C. G., Gordon, L., Hourlier, T., Hunt, S., Johnson, N., Juettemann, T., Kahari, A. K., Keenan, S., Kulesha, E., Martin, F. J., Maurer, T., McLaren, W. M., Murphy, D. N., Nag, R., Overduin, B., Pignatelli, M., Pritchard, B., Pritchard, E., Riat, H. S., Ruffier, M., Sheppard, D., Taylor, K., Thormann, A., Trevanion, S. J., Vullo, A., Wilder, S. P., Wilson, M., Zadissa, A., Aken, B. L., Birney, E., Cunningham, F., Harrow, J., Herrero, J., Hubbard, T. J. P., Kinsella, R., Muffato, M., Parker, A., Spudich, G., Yates, A., Zerbino, D. R., & Searle, S. M. J. (2014). Ensembl 2014. *Nucleic Acids Research*, 42, D749–55.
- Freckleton, R., Harvey, P., & Pagel, M. (2003). Bergmann's rule and body size in mammals. *The American Naturalist*, 161(5), 821–825.
- Freeman, B., Smith, N., Curtis, C., Hockett, L., Mill, J., & Craig, I. W. (2003). DNA from buccal swabs recruited by mail: evaluation of storage effects on long-term stability and suitability for multiplex polymerase chain reaction genotyping. *Behavior Genetics*, 33(1), 67–72.
- Fried, M., Abramson, S., & Meyer, J. H. (1987). Passage of salivary amylase through the stomach in humans. *Digestive Diseases and Sciences*, 32(10), 1097–1103.
- Friedrich, D. C., Callegari-Jacques, S. M., Petzl-Erler, M. L., Tsuneto, L., Salzano, F. M., &

- Hutz, M. H. (2012a). Stability or variation? Patterns of lactase gene and its enhancer region distributions in Brazilian Amerindians. *American Journal of Physical Anthropology*, 147(3), 427–432.
- Friedrich, D. C., Santos, S. E. B., Ribeiro-dos Santos, A. K. C., & Hutz, M. H. (2012b). Several different lactase persistence associated alleles and high diversity of the lactase gene in the admixed Brazilian population. *PLoS One*, 7(9), e46520.
- Galanter, J. M., Fernandez-Lopez, J. C., Gignoux, C. R., Barnholtz-Sloan, J., Fernandez-Rozadilla, C., Via, M., Hidalgo-Miranda, A., Contreras, A. V., Figueroa, L. U., Raska, P., Jimenez-Sanchez, G., Zolezzi, I. S., Torres, M., Ponte, C. R., Ruiz, Y., Salas, A., Nguyen, E., Eng, C., Borjas, L., Zabala, W., Barreto, G., González, F. R., Ibarra, A., Taboada, P., Porras, L., Moreno, F., Bigham, A., Gutierrez, G., Brutsaert, T., León-Velarde, F., Moore, L. G., Vargas, E., Cruz, M., Escobedo, J., Rodriguez-Santana, J., Rodriguez-Cintrón, W., Chapela, R., Ford, J. G., Bustamante, C., Seminara, D., Shriver, M., Ziv, E., Burchard, E. G., Haile, R., Parra, E., & Carracedo, A. (2012). Development of a panel of genome-wide ancestry informative markers to study admixture throughout the Americas. *PLoS Genetics*, 8(3), e1002554.
- Gallardo, G. (2002). *Communal Land Ownership in Chile: The Agricultural Communities in the Commune of Canela, Norte Chico (1600-1998) (International Land Management Series)*. Aldershot: Ashgate.
- Gallego Romero, I., Basu Mallick, C., Liebert, A., Crivellaro, F., Chaubey, G., Itan, Y., Metspalu, M., Easwarkhanth, M., Pitchappan, R., Villems, R., Reich, D., Singh, L., Thangaraj, K., Thomas, M., Swallow, D. M., Lahr, M. M., & Kivisild, T. (2012). Herders of Indian and European cattle share their predominant allele for lactase persistence. *Molecular Biology and Evolution*, 29(1), 249–260.
- García-Borrón, J. C., Sánchez-Laorden, B. L., & Jiménez-Cervantes, C. (2005). Melanocortin-1 receptor structure and functional regulation. *Pigment Cell Research*, 18(6), 393–410.
- Gibson, G. (2007). Human evolution: thrifty genes and the dairy queen. *Current Biology*, 17(8), R295–R296.
- Graf, J., Hodgson, R., & van Daal, A. (2005). Single nucleotide polymorphisms in the MATP gene are associated with normal human pigmentation variation. *Human Mutation*, 25(3), 278–284.
- Greenwald, E., Samachson, J., & Spencer, H. (1963). Effect of lactose on calcium metabolism in man. *The Journal of Nutrition*, 79(63), 531–538.
- Groot, P., Bleeker, M., Pronk, J., & Arwert, F. (1989). The human α -amylase multigene family consists of haplotypes with variable numbers of genes. *Genomics*, 42, 29–42.

- Guix García, J., Rodrigo Gómez, J. M., Aparisi Quereda, L., Serra Desfilis, M. A., & García-Conde Gómez, F. J. (1974). [Lactose intolerance in the Spanish population]. *Revista Española de las Enfermedades del Aparato Digestivo*, 42(4), 367–382.
- Gustafsson, A., & Lindenfors, P. (2004). Human size evolution: no evolutionary allometric relationship between male and female stature. *Journal of Human Evolution*, 47(4), 253–266.
- Gustafsson, A., Werdelin, L., Tullberg, B. S., & Lindenfors, P. (2007). Stature and sexual stature dimorphism in Sweden, from the 10th to the end of the 20th century. *American Journal of Human Biology*, 19(6), 861–870.
- Han, Y., Gu, S., Oota, H., Osier, M. V., Pakstis, A. J., Speed, W. C., Kidd, J. R., & Kidd, K. K. (2007). Evidence of positive selection on a class I ADH locus. *American Journal of Human Genetics*, 80(3), 441–456.
- Hancock, A. M., Clark, V. J., Qian, Y., & Di Rienzo, A. (2011a). Population genetic analysis of the uncoupling proteins supports a role for UCP3 in human cold resistance. *Molecular Biology and Evolution*, 28(1), 601–614.
- Hancock, A. M., Witonsky, D. B., Alkorta-Aranburu, G., Beall, C. M., Gebremedhin, A., Sukernik, R., Utermann, G., Pritchard, J. K., Coop, G., & Di Rienzo, A. (2011b). Adaptations to climate-mediated selective pressures in humans. *PLoS Genetics*, 7(4), e1001375.
- Harcourt, H., & Schreier, B. M. (2009). Diversity, Body Mass, and Latitudinal Gradients in Primates. *International Journal of Primatology*, 30(2), 283–300.
- Harding, R. M., Healy, E., Ray, J., Ellis, N. S., Flanagan, N., Todd, C., Dixon, C., Sajantila, A., Jackson, I. J., Birch-Machin, M., & Rees, J. L. (2000). Evidence for variable selective pressures at MC1R. *American Journal of Human Genetics*, 66(4), 1351–1361.
- Harris, M. (1997). *Culture, people, nature: an introduction to general anthropology*. New York: Longman, 7th ed.
- Harris, M. (1998). *Good to Eat: Riddles of Food and Culture*. Illinois: Waveland Press.
- Harris, M. (2000). *The Rise of Anthropological Theory: A History of Theories of Culture*. Lanham: AltaMira Press.
- Harrison, G., & Morphy, H. (1998). *Human Adaptation*. Mid Glamorgan: Oxford International.
- Harvard School of Public Health (2007). Semi-Quantitative Food Frequency Questionnaire for Adults. Nutrition Department, Harvard School of Public Health HSPH.
- Harvey, C., Hollox, E., & Poulter, M. (1998). Lactase haplotype frequencies in Caucasians: association with the lactase persistence/non-persistence polymorphism. *Annals of Human Genetics*, 62(3), 215–223.

- Heiat, A., Vaccarino, V., & Krumholz, H. M. (2001). An evidence-based assessment of federal guidelines for overweight and obesity as they apply to elderly persons. *Archives of Internal Medicine*, *161*(9), 1194–1203.
- Hill, C. R., Duewer, D. L., Kline, M. C., Coble, M. D., & Butler, J. M. (2013). U.S. population data for 29 autosomal STR loci. *Forensic Science International. Genetics*, *7*(3), e82–3.
- Hoffman, D. (2001). Obesity in developing countries: causes and implications. *Food, Nutrition and Agriculture*, (28), 35–44.
- Holden, C., & Mace, R. (1997). Phylogenetic analysis of the evolution of lactose digestion in adults. *Human Biology*, *69*(5), 605–628.
- Holden, C., & Mace, R. (1999). Sexual dimorphism in stature and women's work: a phylogenetic cross-cultural analysis. *American Journal of Physical Anthropology*, *110*(1), 27–45.
- Hollox, E. J., Poulter, M., Zvarik, M., Ferak, V., Krause, A., Jenkins, T., Saha, N., Kozlov, I., & Swallow, D. M. (2001). Lactase haplotype diversity in the Old World. *American Journal of Human Genetics*, *68*(1), 160–172.
- Hossain, P., Kowar, B., & El Nahas, M. (2007). Obesity and diabetes in the developing world—a growing challenge. *The New England Journal of Medicine*, *356*(3), 213–215.
- Hubisz, M. J. M., Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. (2009). Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources*, *9*(5), 1322–1332.
- Imtiaz, F., Savilahti, E., Sarnesto, A., Trabzuni, D., Al-Kahtani, K., Kagevi, I., Rashed, M. S., Meyer, B. F., & Järvelä, I. (2007). The T/G 13915 variant upstream of the lactase gene (LCT) is the founder allele of lactase persistence in an urban Saudi population. *Journal of Medical Genetics*, *44*(10), e89.
- Ingram, C. J. E., Elamin, M. F., Mulcare, C., Weale, M. E., Tarekegn, A., Raga, T. O., Bekele, E., Elamin, F. M., Thomas, M. G., Bradman, N., & Swallow, D. M. (2007). A novel polymorphism associated with lactose tolerance in Africa: multiple causes for lactase persistence? *Human Genetics*, *120*(6), 779–788.
- Ingram, C. J. E., Mulcare, C., Itan, Y., Thomas, M. G., & Swallow, D. M. (2009a). Lactose digestion and the evolutionary genetics of lactase persistence. *Human Genetics*, *124*(6), 579–591.
- Ingram, C. J. E., Raga, T. O., Tarekegn, A., Browning, S. L., Elamin, M. F., Bekele, E., Thomas, M. G., Weale, M. E., Bradman, N., & Swallow, D. M. (2009b). Multiple rare variants as a cause of a common phenotype: several different lactase persistence associated alleles in a single ethnic group. *Journal of Molecular Evolution*, *69*(6), 579–588.
- Instituto Nacional de Estadísticas (2007). VII Censo Nacional Agropecuario y Forestal. Instituto Nacional de Estadísticas INE, Chile. Tech. rep.

- Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (2005). Estudio “Diseño, Implementación y Seguimiento Plan integral de desarrollo del Secano, IV Región de Coquimbo”. Etapa 1. Reconocimiento Detallado del Territorio a Intervenir. Tech. rep., Instituto Nacional De Investigaciones Agropecuarias, Chile.
- Itan, Y., Jones, B. L., Ingram, C. J. E., Swallow, D. M., & Thomas, M. G. (2010). A worldwide correlation of lactase persistence phenotype and genotypes. *BMC Evolutionary Biology*, *10*(36).
- Itan, Y., Powell, A., Beaumont, M. A., Burger, J., & Thomas, M. G. (2009). The origins of lactase persistence in Europe. *PLoS Computational Biology*, *5*(8), e1000491.
- Izagirre, N., García, I., Junquera, C., de la Rúa, C., & Alonso, S. (2006). A scan for signatures of positive selection in candidate loci for skin pigmentation in humans. *Molecular Biology and Evolution*, *23*(9), 1697–1706.
- Jablonski, N. G., & Chaplin, G. (2000). The evolution of human skin coloration. *Journal of Human Evolution*, *39*(1), 57–106.
- Jackson, D., Mendez, C., Seguel, R., Maldonado, A., & Vargas, G. (2007). Initial Occupation of the Pacific Coast of Chile during Late Pleistocene Times. *Current Anthropology*, *48*(5), 725–731.
- Jakobsson, M., & Rosenberg, N. (2007). CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*, *23*(14), 1801–1806.
- Jobling, M., Hollox, E., Hurles, M., Kivisild, T., & Tyler-Smith, C. (2013). *Human evolutionary genetics*. New York: Garland Science.
- Johnson, J., Simoons, F., Hurwitz, R., & A (1978). Lactose malabsorption among adult Indians of the Great Basin and American Southwest. *American Journal of Clinical Nutrition*, *31*(3), 381–387.
- Jones, B. L., Raga, T. O., Liebert, A., Zmarz, P., Bekele, E., Danielsen, E. T., Olsen, A. K., Bradman, N., Troelsen, J. T., & Swallow, D. M. (2013). Diversity of lactase persistence alleles in ethiopia: signature of a soft selective sweep. *American Journal of Human Genetics*, *93*(3), 538–544.
- Julian, C. G., Wilson, M. J., & Moore, L. G. (2009). Evolutionary adaptation to high altitude: a view from in utero. *American Journal of Human Biology*, *21*(5), 614–622.
- Kanaghinis, T., Hatzioannou, J., Deliargyris, N., Danos, N., Zografos, N., Katsas, A., & Gardikas, C. (1974). Primary lactase deficiency in Greek adults. *The American Journal of Digestive Diseases*, *19*(11), 1021–1027.
- Kanazawa, S. (2005). Big and tall parents have more sons: further generalizations of the Trivers-Willard hypothesis. *Journal of Theoretical Biology*, *235*(4), 583–590.

- Katzmarzyk, P. T., & Leonard, W. R. (1998). Climatic influences on human body size and proportions: ecological adaptations and secular trends. *American journal of physical anthropology*, 106(4), 483–503.
- Kirsch, S., Weiss, B., Kleiman, S., Roberts, K., Pryor, J., Milunsky, A., Ferlin, A., Foresta, C., Matthijs, G., & Rappold, G. (2002). Localisation of the Y chromosome stature gene to a 700 kb interval in close proximity to the centromere. *Journal of Medical Genetics*, 39(7), 507–513.
- Kovats, R. S., & Hajat, S. (2008). Heat stress and public health: a critical review. *Annual Review of Public Health*, 29, 41–55.
- Kruse, T., Bolund, L., Grzeschik, K. H., Ropers, H. H., Sjöström, H., Norén, O., Mantei, N., & Semenza, G. (1988). The human lactase-phlorizin hydrolase gene is located on chromosome 2. *Febs letters*, 240(1-2), 123–126.
- Kuh, D. L., Power, C., & Rodgers, B. (1991). Secular trends in social class and sex differences in adult height. *International Journal of Epidemiology*, 20(4), 1001–1009.
- Lacassie, Y., Weinberg, R., & Mönckeberg, F. (1978). Poor predictability of lactose malabsorption from clinical symptoms for Chilean populations. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 31(5), 799–804.
- Lamason, R. L., Mohideen, M.-A. P. K., Mest, J. R., Wong, A. C., Norton, H. L., Aros, M. C., Jurynech, M. J., Mao, X., Humphreville, V. R., Humbert, J. E., Sinha, S., Moore, J. L., Jagadeeswaran, P., Zhao, W., Ning, G., Makalowska, I., McKeigue, P. M., O'donnell, D., Kittles, R., Parra, E. J., Mangini, N. J., Grunwald, D. J., Shriver, M. D., Canfield, V. a., & Cheng, K. C. (2005). SLC24A5, a putative cation exchanger, affects pigmentation in zebrafish and humans. *Science*, 310(5755), 1782–1786.
- Lamri, A., Poli, A., Emery, N., Bellili, N., Velho, G., Lantieri, O., Balkau, B., Marre, M., & Fumeron, F. (2013). The lactase persistence genotype is associated with body mass index and dairy consumption in the D.E.S.I.R. study. *Metabolism*, 62(9), 1323–1329.
- Lango Allen, H., Estrada, K., Lettre, G., Berndt, S. I., Weedon, M. N., Rivadeneira, F., Willer, C. J., Jackson, A. U., Vedantam, S., Raychaudhuri, S., Ferreira, T., Wood, A. R., Weyant, R. J., Segrè, A. V., Speliotes, E. K., Wheeler, E., Soranzo, N., Park, J. H., Yang, J., Gudbjartsson, D., Heard-Costa, N. L., Randall, J. C., Qi, L., Vernon Smith, A., Mägi, R., Pastinen, T., Liang, L., Heid, I. M., Luan, J., Thorleifsson, G., Winkler, T. W., Goddard, M. E., Sin Lo, K., Palmer, C., Workalemahu, T., Aulchenko, Y. S., Johansson, A., Zillikens, M. C., Feitosa, M. F., Esko, T., Johnson, T., Ketkar, S., Kraft, P., Mangino, M., Prokopenko, I., Absher, D., Albrecht, E., Ernst, F., Glazer, N. L., Hayward, C., Hottenga, J. J., Jacobs, K. B., Knowles, J. W., Kutalik, Z., Monda, K. L., Polasek, O., Preuss, M., Rayner, N. W., Robertson, N. R., Steinthorsdottir, V., Tyrer, J. P., Voight, B. F., Wiklund, F., Xu, J., Zhao, J. H., Nyholt, D. R., Pellikka, N., Perola, M., Perry, J. R. B., Surakka, I., Tammesoo, M. L., Altmaier, E. L., Amin, N., Aspelund, T., Bhangale, T., Boucher, G., Chasman, D. I., Chen, C., Coin, L., Cooper,

- M. N., Dixon, A. L., Gibson, Q., Grundberg, E., Hao, K., Juhani Junntila, M., Kaplan, L. M., Kettunen, J., König, I. R., Kwan, T., Lawrence, R. W., Levinson, D. F., Lorentzon, M., McKnight, B., Morris, A. P., Müller, M., Suh Ngwa, J., Purcell, S., Rafelt, S., Salem, R. M., Salvi, E., Sanna, S., Shi, J., Sovio, U., Thompson, J. R., Turchin, M. C., Vandenput, L., Verlaan, D. J., Vitart, V., White, C. C., Ziegler, A., Almgren, P., Balmforth, A. J., Campbell, H., Citterio, L., De Grandi, A., Dominiczak, A., Duan, J., Elliott, P., Elosua, R., Eriksson, J. G., Freimer, N. B., Geus, E. J. C., Glorioso, N., Haiqing, S., Hartikainen, A. L., Havulinna, A. S., Hicks, A. a., Hui, J., Igl, W., Illig, T., Jula, A., Kajantie, E., Kilpeläinen, T. O., Koiranen, M., Kolcic, I., Koskinen, S., Kovacs, P., Laitinen, J., Liu, J., Lokki, M. L., Marusic, A., Maschio, A., Meitinger, T., Mulas, A., Paré, G., Parker, A. N., Peden, J. F., Petersmann, A., Pichler, I., Pietiläinen, K. H., Pouta, A., Ridderstrale, M., Rotter, J. I., Sambrook, J. G., Sanders, A. R., Schmidt, C. O., Sinisalo, J., Smit, J. H., Stringham, H. M., Bragi Walters, G., Widen, E., Wild, S. H., Willemsen, G., Zagato, L., Zgaga, L., Zitting, P., Alavere, H., Farrall, M., McArdle, W. L., Nelis, M., Peters, M. J., Ripatti, S., van Meurs, J. B. J., Aben, K. K., Ardlie, K. G., Beckmann, J. S., Beilby, J. P., Bergman, R. N., Bergmann, S., Collins, F. S., Cusi, D., den Heijer, M., Eiriksdottir, G., Gejman, P. V., Hall, A. S., Hamsten, A., Huikuri, H. V., Iribarren, C., Kähönen, M., Kaprio, J., Kathiresan, S., Kiemenev, L., Kocher, T., Launer, L. J., Lehtimäki, T., Melander, O., Mosley, T. H., Musk, A. W., Nieminen, M. S., O'Donnell, C. J., Ohlsson, C., Oostra, B., Palmer, L. J., Raitakari, O., Ridker, P. M., Rioux, J. D., Rissanen, A., Rivolta, C., Schunkert, H., Shuldiner, A. R., Siscovick, D. S., Stumvoll, M., Tönjes, A., Tuomilehto, J., van Ommen, G.-J., Viikari, J., Heath, A. C., Martin, N. G., Montgomery, G. W., Province, M. a., Kayser, M., Arnold, A. M., Atwood, L. D., Boerwinkle, E., Chanock, S. J., Deloukas, P., Gieger, C., Grönberg, H., Hall, P., Hattersley, A. T., Hengstenberg, C., Hoffman, W., Lathrop, G. M., Salomaa, V., Schreiber, S., Uda, M., Waterworth, D., Wright, A. F., Assimes, T. L., Barroso, I., Hofman, A., Mohlke, K. L., Boomsma, D. I., Caulfield, M. J., Cupples, L. A., Erdmann, J., Fox, C. S., Gudnason, V., Gyllensten, U., Harris, T. B., Hayes, R. B., Jarvelin, M. R., Mooser, V., Munroe, P. B., Ouwehand, W. H., Penninx, B. W., Pramstaller, P. P., Quertermous, T., Rudan, I., Samani, N. J., Spector, T. D., Völzke, H., Watkins, H., Wilson, J. F., Groop, L. C., Haritunians, T., Hu, F. B., Kaplan, R. C., Metspalu, A., North, K. E., Schlessinger, D., Wareham, N. J., Hunter, D. J., O'Connell, J. R., Strachan, D. P., Wichmann, H. E., Borecki, I. B., van Duijn, C. M., Schadt, E. E., Thorsteinsdottir, U., Peltonen, L., Uitterlinden, A. G., Visscher, P. M., Chatterjee, N., Loos, R. J. F., Boehnke, M., McCarthy, M. I., Ingelsson, E., Lindgren, C. M., Abecasis, G. R., Stefansson, K., Frayling, T. M., & Hirschhorn, J. N. (2010). Hundreds of variants clustered in genomic loci and biological pathways affect human height. *Nature*, *467*(7317), 832–838.
- Lao, O., de Grujter, J. M., van Duijn, K., Navarro, A., & Kayser, M. (2007). Signatures of positive selection in genes associated with human skin pigmentation as revealed from analyses of single nucleotide polymorphisms. *Annals of Human Genetics*, *71*(3), 354–369.
- Lawson, D. W., & Mace, R. (2008). Sibling configuration and childhood growth in contemporary British families. *International Journal of Epidemiology*, *37*(6), 1408–1421.

- Lebenthal, E. (1987). Role of salivary amylase in gastric and intestinal digestion of starch. *Digestive Diseases and Sciences*, 32(10), 1155–1157.
- Leichter, J. (1973). Effect of dietary lactose on intestinal lactase activity in young rats. *The Journal of Nutrition*, 103(3), 392–396.
- Leichter, J., & Lee, M. (1971). Lactose intolerance in Canadian West Coast Indians. *The American Journal of Digestive Diseases*, 16(9), 809–813.
- Leis, R., Tojo, R., Pavón, P., & Douwes, A. (1997). Prevalence of lactose malabsorption in Galicia. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 25(3), 296–300.
- Leonard, W., & Crawford, M. (Eds.) (2008). *The Human Biology of Pastoral Populations*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Leonard, W. R., Snodgrass, J. J., & Sorensen, M. V. (2005). Metabolic Adaptation in Indigenous Siberian Populations. *Annual Review of Anthropology*, 34(1), 451–471.
- Leonard, W. R., Sorensen, M. V., Galloway, V., Spencer, G. J., Mosher, M. J., Osipova, L., & Spitsyn, V. (2002). Climatic influences on basal metabolic rates among circumpolar populations. *American journal of Human Biology*, 14(5), 609–620.
- Levitt, M., Wilt, T., & Shaukat, A. (2013). Clinical Implications of Lactose Malabsorption Versus Lactose Intolerance. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 47(6), 471–480.
- Lewontin, R. C. (2001). *The Doctrine of DNA*. London: Penguin Books Ltd.
- Li, H., Borinskaya, S., Yoshimura, K., Kal'ina, N., Marusin, A., Stepanov, V., Qin, Z., Khaliq, S., Lee, M. Y., Yang, Y., Mohyuddin, A., Gurwitz, D., Mehdi, S. Q., Rogaev, E., Jin, L., Yankovsky, N. K., Kidd, J. R., & Kidd, K. K. (2009). Refined geographic distribution of the oriental ALDH2*504Lys (nee 487Lys) variant. *Annals of Human Genetics*, 73(3), 335–345.
- Li, N., & Stephens, M. (2003). Modeling linkage disequilibrium and identifying recombination hotspots using single-nucleotide polymorphism data. *Genetics*, 165(4), 2213–2233.
- Lindenbaum, S. (2008). Review. Understanding kuru: the contribution of anthropology and medicine. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 363(1510), 3715–3720.
- Lisker, R., López-Habib, G., Lopez-Habib, G., Daltabuit, M., Rostenberg, I., Arroyo, P., & I (1974). Lactase deficiency in a rural area of Mexico. *American Journal of Clinical Nutrition*, 27(7), 756–759.
- Lizcano, F. (2005). Composición étnica de las tres áreas culturales del Continente Americano al comienzo del siglo XXI. *Convergencia*, (38), 185–232.
- Lorandi, A., Dillehay, T., & Netherly, P. (1988). Los diaguitas y el Tawantinsuyu. Una hipótesis de conflicto. In T. Dillehay, & P. Netherly (Eds.) *La frontera del Estado Inca*, vol. 442, (p. 235). Quito: Fundación Alexander von Humboldt.

- Luca, F., Perry, G., & Rienzo, A. D. (2010). Evolutionary adaptations to dietary changes. *Annual Review of Nutrition*, *30*, 291–314.
- Mace, R. (1991). Overgrazing overstated. *Nature*, *349*, 280–281.
- Mace, R. (2000). Evolutionary ecology of human life history. *Animal Behaviour*, *59*(1), 1–10.
- Maggi, R., Sayagues, B., Fernandez, A., & B (1987). Lactose malabsorption and intolerance in Uruguayan population by breath hydrogen test (H₂). *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *6*(3), 373–376.
- Malina, R., & Reyes, M. (2007). Overweight and obesity in a rural Amerindian population in Oaxaca, southern Mexico, 1968–2000. *American Journal of Human Biology*, *721*(July), 711–721.
- Mao, X., Biggam, A. W., Mei, R., Gutierrez, G., Weiss, K. M., Brutsaert, T. D., Leon-Velarde, F., Moore, L. G., Vargas, E., McKeigue, P. M., Shriver, M. D., & Parra, E. J. (2007). A genomewide admixture mapping panel for Hispanic/Latino populations. *American Journal of Human Genetics*, *80*(6), 1171–1178.
- Mazess, R. (1975). Biological adaptation: aptitudes and acclimatization. In E. S. Watts, F. E. Johnston, & G. W. Lasker (Eds.) *Biosocial interrelations in population adaptation*, McCutcheon 1964, (p. 918). The Hague: Mouton Publishers.
- McTiernan, A., Wu, L., Chen, C., Chlebowski, R., Mossavar-Rahmani, Y., Modugno, F., Perri, M. G., Stanczyk, F. Z., Van Horn, L., & Wang, C. Y. (2006). Relation of BMI and physical activity to sex hormones in postmenopausal women. *Obesity*, *14*(9), 1662–1677.
- Mead, S., Stumpf, M. P. H., Whitfield, J., Beck, J., Poulter, M., Campbell, T., Uphill, J. B., Goldstein, D., Alpers, M., Fisher, E. M. C., & Collinge, J. (2003). Balancing selection at the prion protein gene consistent with prehistoric kurulike epidemics. *Science*, *300*(5619), 640–643.
- Mead, S., Whitfield, J., Poulter, M., Shah, P., Uphill, J., Beck, J., Campbell, T., Al-Dujaily, H., Hummerich, H., Alpers, M. P., & Collinge, J. (2008). Genetic susceptibility, evolution and the kuru epidemic. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, *363*(1510), 3741–3746.
- Mead, S., Whitfield, J., Poulter, M., Shah, P., Uphill, J., Campbell, T., Al-Dujaily, H., Hummerich, H., Beck, J., Mein, C. a., Verzilli, C., Whittaker, J., Alpers, M. P., & Collinge, J. (2009). A novel protective prion protein variant that colocalizes with kuru exposure. *The New England Journal of Medicine*, *361*(21), 2056–65.
- Medina, E., & Kaempffer, A. M. (1979). *Elementos de Salud Pública*. Santiago: Biblioteca Digital de la Universidad de Chile.
- Mellafe, R. (1981). Latifundio y poder rural en Chile de los siglos XVII y XVIII. *Cuadernos de Historia*, *1*(1), 87–108.

- Meza, J. S. (2003). The Demographic-Epidemiological Transition in Chile, 1960-2001. *Revista Española de Salud Pública*, 77(5), 605–613.
- Moorad, J. (2013). A demographic transition altered the strength of selection for fitness and age-specific survival and fertility in a 19th century American population. *Evolution*, 67(6), 1622–1634.
- Moore, L. G., Charles, S. M., & Julian, C. G. (2011). Humans at high altitude: hypoxia and fetal growth. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 178(1), 181–190.
- Morales, C., & Parada, S. (2005). *Pobreza, desertificación y degradación de los recursos naturales*. Santiago: Cepal.
- Morales, E., Azocar, L., Maul, X., Perez, C., Chianale, J., & Miquel, J. F. (2011). The European lactase persistence genotype determines the lactase persistence state and correlates with gastrointestinal symptoms in the Hispanic and Amerindian. *BMJ Open*, 1(1), e000125.
- Mulcare, C. A., Weale, M. E., Jones, A. L., Connell, B., Zeitlyn, D., Tarekegn, A., Swallow, D. M., Bradman, N., & Thomas, M. G. (2004). The T allele of a single-nucleotide polymorphism 13.9 kb upstream of the lactase gene (LCT) (C-13.9kbT) does not predict or cause the lactase-persistence phenotype in Africans. *American Journal of Human Genetics*, 74(6), 1102–1110.
- Mulligan, C. J., Robin, R. W., Osier, M. V., Sambuughin, N., Goldfarb, L. G., Kittles, R., Hesselbrock, D., Goldman, D., & Long, J. C. (2003). Allelic variation at alcohol metabolism genes (ADH1B, ADH1C, ALDH2) and alcohol dependence in an American Indian population. *Human Genetics*, 113(4), 325–336.
- Murthy, M. S., & Haworth, J. C. (1970). Intestinal lactase deficiency among east Indians. An adaptive rather than a genetically inherited phenomenon? *The American Journal of Gastroenterology*, 53(3), 246–251.
- Neel, J. (1962). Diabetes mellitus: a “thrifty” genotype rendered detrimental by “progress”? *American Journal of Human Genetics*, 77(8), 694–703.
- Nettle, D. (2002a). Height and reproductive success in a cohort of British men. *Human Nature*, 13(4), 473–491.
- Nettle, D. (2002b). Women’s height, reproductive success and the evolution of sexual dimorphism in modern humans. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 269(1503), 1919–1923.
- Norton, H. L., Kittles, R., Parra, E., McKeigue, P., Mao, X., Cheng, K., Canfield, V., Bradley, D. G., McEvoy, B., & Shriver, M. D. (2007). Genetic evidence for the convergent evolution of light skin in Europeans and East Asians. *Molecular Biology and Evolution*, 24(3), 710–722.
- Novoa, J. E., & López, D. (2001). IV Región: El Escenario Geográfico Físico. In F. Squeo, G. Arancio, & J. Gutiérrez (Eds.) *Libro Rojo de la Flora Nativa de los Sitios Prioritarios para*

- su Conservación: Región de Coquimbo*, chap. 2, (pp. 13 – 28). La Serena: Universidad de La Serena.
- Olds, L. C., & Sibley, E. (2003). Lactase persistence DNA variant enhances lactase promoter activity in vitro: functional role as a cis regulatory element. *Human Molecular Genetics*, 12(18), 2333–2340.
- Oota, H., Pakstis, A. J., Bonne-Tamir, B., Goldman, D., Grigorenko, E., Kajuna, S. L. B., Karoma, N. J., Kungulilo, S., Lu, R. B., Odunsi, K., Okonofua, F., Zhukova, O. V., Kidd, J. R., & Kidd, K. K. (2004). The evolution and population genetics of the ALDH2 locus: random genetic drift, selection, and low levels of recombination. *Annals of Human Genetics*, 68(2), 93–109.
- Orr, H. A. (2005). The genetic theory of adaptation: a brief history. *Nature Reviews Genetics*, 6(2), 119–127.
- Osier, M. V., Lu, R.-B., Pakstis, a. J., Kidd, J. R., Huang, S.-Y., & Kidd, K. K. (2004). Possible epistatic role of ADH7 in the protection against alcoholism. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics.*, 126B(1), 19–22.
- Osier, M. V., Pakstis, A. J., Soodyall, H., Comas, D., Goldman, D., Odunsi, A., Okonofua, F., Parnas, J., Schulz, L. O., Bertranpetit, J., Bonne-Tamir, B., Lu, R. B., Kidd, J. R., & Kidd, K. K. (2002). A global perspective on genetic variation at the ADH genes reveals unusual patterns of linkage disequilibrium and diversity. *American Journal of Human Genetics*, 71(1), 84–99.
- Paige, D. M., Leonardo, E., Cordano, A., Nakashima, J., Adrianzen, B., & Graham, G. (1972). Lactose intolerance in Peruvian children: effect of age and early nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition*, 25(March), 297–301.
- Peng, Y., Shi, H., Qi, X.-b., jie Xiao, C., Zhong, H., Ma, R.-l. Z., & Su, B. (2010). The ADH1B Arg47His polymorphism in east Asian populations and expansion of rice domestication in history. *BMC Evolutionary Biology*, 10(15).
- Pereira, R., Phillips, C., Pinto, N., Santos, C., dos Santos, S. E. B., Amorim, A., Carracedo, Á., & Gusmão, L. (2012). Straightforward inference of ancestry and admixture proportions through ancestry-informative insertion deletion multiplexing. *PloS One*, 7(1), e29684.
- Perry, G. H., Dominy, N. J., Claw, K. G., Lee, A. S., Fiegler, H., Redon, R., Werner, J., Villanea, F., Mountain, J. L., Misra, R., Carter, N. P., Lee, C., & Stone, A. C. (2007). Diet and the evolution of human amylase gene copy number variation. *Nature Genetics*, 39(10), 1256–1260.
- Peuhkuri, K., Poussa, T., & Korpela, R. (1998). Comparison of a portable breath hydrogen analyser (Micro H2) with a Quintron MicroLyzer in measuring lactose maldigestion, and the evaluation of a Micro H2 for diagnosing hypolactasia. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 58(3), 217–24.

- Peuhkuri, K., & Vapaatalo, H. (2000). Lactose intolerance—a confusing clinical diagnosis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 9(1), 599–603.
- Polanyi, K. (1944). *The Great Transformation: The Political and Economic Origins of Our Time*. Boston: Beacon Press.
- Poulter, M., Hollox, E., Harvey, C. B., Mulcare, C., Peuhkuri, K., Kajander, K., Sarner, M., Korpela, R., Swallow, D. M., & C (2003). The causal element for the lactase persistence/non-persistence polymorphism is located in a 1 Mb region of linkage disequilibrium in Europeans. *Annals of Human Genetics*, 67(4), 298–311.
- Power, M. L., & Schulkin, J. (2008). Sex differences in fat storage, fat metabolism, and the health risks from obesity: possible evolutionary origins. *The British Journal of Nutrition*, 99(5), 931–940.
- Preto, F., Silveira, T., Menegaz, V., & Oliveira, J. (2002). Lactose malabsorption in children and adolescents: diagnosis through breath hydrogen test using cow milk. *Jornal de Pediatria Rio de Janeiro*, 78(3), 213–218.
- Pritchard, J., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945–959.
- Quinque, D., Kittler, R., Kayser, M., Stoneking, M., & Nasidze, I. (2006). Evaluation of saliva as a source of human DNA for population and association studies. *Analytical biochemistry*, 353(2), 272–277.
- R Core Development Team (2013). R: A Language and Environment for Statistical Computing. [Software]. R Foundation for Statistical Computing.
- Ranciaro, A., Campbell, M. C., Hirbo, J. B., Ko, W. Y., Froment, A., Anagnostou, P., Kotze, M. J., Ibrahim, M., Nyambo, T., Omar, S., & Tishkoff, S. (2014). Genetic Origins of Lactase Persistence and the Spread of Pastoralism in Africa. *American Journal of Human Genetics*, 94(4), 496–510.
- Rasinperä, H., Forsblom, C., Enattah, N. S., Halonen, P., Salo, K., Victorzon, M., Mecklin, J., Järvinen, H., Enholm, S., Sellick, G., Alazzouzi, H., Houlston, R., Robinson, J., Groop, P., Tomlinson, I., Schwartz, S., Aaltonen, L., & Järvelä, I. (2005). The C/C-13910 genotype of adult-type hypolactasia is associated with an increased risk of colorectal cancer in the Finnish population. *Gut*, 54(5), 643–647.
- Reher, D. S. (2004). The demographic transition revisited as a global process. *Population, Space and Place*, 10(1), 19–41.
- Relethford, J. H. (2002). Apportionment of global human genetic diversity based on craniometrics and skin color. *American Journal of Physical Anthropology*, 118(4), 393–398.
- Roberts, D. F. (1953). Body weight, race and climate. *American Journal of Physical Anthropology*, 11(4), 533–558.

- Rodríguez, J., Becker A., C., González C., P., Troncoso M., A., & Pavlovic B., D. (2004). La Cultura Diaguita en el Valle del Río Illapel. *Chungará (Arica)*, 36(2), 739–751.
- Rosado, J., López, P., & Palma, M. (1994a). Mala digestión e intolerancia a la lactosa en adultos mexicanos. Importancia de evaluarlas con dosis habituales de leche. *Revista de Investigacion Clinica*, 46(3), 203–208.
- Rosado, J. L., Gonzalez, C., Valencia, M. E., López, P., Palma, M., López, B., Mejía, L., Báez, M. C., & Lopez, P. (1994b). Lactose maldigestion and milk intolerance: a study in rural and urban Mexico using physiological doses of milk. *The Journal of Nutrition*, 124(7), 1052–1059.
- Rosenberg, N. a. (2003). Distruct: a Program for the Graphical Display of Population Structure. *Molecular Ecology Notes*, 4(1), 137–138.
- Rubi-Castellanos, R., Anaya-Palafox, M., Mena-Rojas, E., Bautista-España, D., Muñoz-Valle, J. F., & Rangel-Villalobos, H. (2009). Genetic data of 15 autosomal STRs (Identifiler kit) of three Mexican Mestizo population samples from the States of Jalisco (West), Puebla (Center), and Yucatan (Southeast). *Forensic Science International. Genetics*, 3(3), e71–e76.
- Ruff, C. (2002). Variation in human body size and shape. *Annual Review of Anthropology*, 31(1), 211–232.
- Sahi, T. (1974). The inheritance of selective adult-type lactose malabsorption. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 30(Supplement), 1–73.
- Sahi, T. (1994). Hypolactasia and Lactase Persistence Historical Review and the Terminology. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 29(s202), 1–6.
- Sahi, T., & Launiala, K. (1977). More evidence for the recessive inheritance of selective adult type lactose malabsorption. *Gastroenterology*, 73(2), 231–232.
- Sahlins, M. D. (1972). *Stone Age Economics*. New Jersey: Transaction Publishers.
- Salo, P., Kääriäinen, H., Page, D. C., & de la Chapelle, A. (1995). Deletion mapping of stature determinants on the long arm of the Y chromosome. *Human Genetics*, 95(3), 283–286.
- Santander, A. (1993). Contribucion al Estudio del Impacto de la Economía Minero-Cupriferá en el Desmonte o tala de la Vegetacion Arborea y Arbustiva, 1601-1900. Tech. rep., Dirección de Aguas, Illapel.
- Schousboe, K., Willemsen, G., Kyvik, K. O., Mortensen, J., Boomsma, D. I., Cornes, B. K., Davis, C. J., Fagnani, C., Hjelmborg, J., Kaprio, J., De Lange, M., Luciano, M., Martin, N. G., Pedersen, N., Pietiläinen, K. H., Rissanen, A., Saarni, S., Sørensen, T. I., Van Baal, G. C. M., & Harris, J. R. (2003). Sex differences in heritability of BMI: a comparative study of results from twin studies in eight countries. *Twin Research*, 6(5), 409–421.

- Sear, R. (2006). Size-dependent reproductive success in Gambian men: Does height or weight matter more? *Biodemography and Social Biology*, 53(3-4), 172–188.
- Sevá-Pereira, A., Magalhães, A., & Pereira, R. (1983). Primary adult lactose malabsorption, a common genetic trait among Southeastern Brazilians. *Revista Brasileira de Genética*, 6(4), 717–759.
- Silva, C. P., & Flores, S. V. (2015). [Alcohol consumption patterns and genotypes determining alcohol tolerance in Chilean university students]. *Revista médica de Chile*, 143(6), 707–15.
- Silventoinen, K. (2003). Determinants of variation in adult body height. *Journal of Biosocial Science*, 35(2), 263–285.
- Silventoinen, K., Lahelma, E., & Rahkonen, O. (1999). Social background, adult body-height and health. *International Journal of Epidemiology*, (28), 911–918.
- Silventoinen, K., Sammalisto, S., Perola, M., Boomsma, D. I., Cornes, B. K., Davis, C., Dunkel, L., De Lange, M., Harris, J. R., Hjelmborg, J. V. B., Luciano, M., Martin, N. G., Mortensen, J., Nisticò, L., Pedersen, N. L., Skytthe, A., Spector, T. D., Stazi, M. A., Willemsen, G., & Kaprio, J. (2003). Heritability of adult body height: a comparative study of twin cohorts in eight countries. *Twin Research*, 6(5), 399–408.
- Simonson, T. S., Yang, Y., Huff, C. D., Yun, H., Qin, G., Witherspoon, D. J., Bai, Z., Lorenzo, F. R., Xing, J., Jorde, L. B., Prchal, J. T., & Ge, R. (2010). Genetic evidence for high-altitude adaptation in Tibet. *Science*, 329(5987), 72–75.
- Simoons, F. (1969). Primary adult lactose intolerance and the milking habit: a problem in biological and cultural interrelations. I Review of the Medical Research. *Digestive Diseases and Sciences*, 14(12), 819–836.
- Simoons, F. (1978). Lactose Malabsorption in Africa. *African Economic History*, 5(5), 16–34.
- Simoons, F. J. (1970). Primary adult lactose intolerance and the milking habit: a problem in biologic and cultural interrelations. II. A culture historical hypothesis. *The American Journal of Digestive Diseases*, 15(8), 695–710.
- Simoons, F. J. (1994). *Eat Not this Flesh: Food Avoidances from Prehistory to the Present*. Wisconsin: University of Wisconsin Press.
- Smith, G., Lawlor, D., Timpson, N., & Baban, J. (2008). Lactase persistence-related genetic variant: population substructure and health outcomes. *European Journal of Human Genetics*, 17(3), 357–367.
- Steckel, R. (1995). Stature and the Standard of Living. *Journal of Economic Literature*, 33(4), 1903–1940.
- Stephens, M., & Donnelly, P. (2003). A comparison of bayesian methods for haplotype re-

- construction from population genotype data. *American Journal of Human Genetics*, 73(5), 1162–1169.
- Stephens, M., & Scheet, P. (2005). Accounting for decay of linkage disequilibrium in haplotype inference and missing-data imputation. *American Journal of Human Genetics*, 76(3), 449–462.
- Stephens, M., Smith, N. J., & Donnelly, P. (2001). A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *American Journal of Human Genetics*, 68(4), 978–989.
- Stinson, S. (1985). Sex differences in environmental sensitivity during growth and development. *American Journal of Physical Anthropology*, 28(S6), 123–147.
- Story, M., Evans, M., Fabsitz, R. R., Clay, T. E., Holy Rock, B., & Broussard, B. (1999). The epidemic of obesity in American Indian communities and the need for childhood obesity-prevention programs. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(4 Suppl), 747S–754S.
- Story, M., Stevens, J., Himes, J., Stone, E., Holy Rock, B., Ethelbah, B., & Davis, S. (2003). Obesity in American-Indian children: prevalence, consequences, and prevention. *Preventive Medicine*, 37, S3–S12.
- Strickland, S. (1993). Human nutrition in Mongolia: Maternal mortality and rickets. *Nomadic Peoples*, (33), 231–239.
- Sulem, P., Gudbjartsson, D. F., Stacey, S. N., Helgason, A., Rafnar, T., Magnusson, K. P., Manolescu, A., Karason, A., Palsson, A., Thorleifsson, G., Jakobsdottir, M., Steinberg, S., Pálsson, S., Jonasson, F., Sigurgeirsson, B., Thorisdottir, K., Ragnarsson, R., Benediksdottir, K. R., Aben, K. K., Kiemenev, L., Olafsson, J. H., Gulcher, J., Kong, A., Thorsteinsdottir, U., & Stefansson, K. (2007). Genetic determinants of hair, eye and skin pigmentation in Europeans. *Nature Genetics*, 39(12), 1443–1452.
- Sverrisdóttir, O., Timpson, A., Toombs, J., Lecoeur, C., Froguel, P., Carretero, J., Arsuaga, J., Gotherstrom, A., & Thomas, M. (2014). Direct estimates of natural selection in Iberia indicate calcium absorption was not the only driver of lactase persistence in Europe. *Molecular Biology and Evolution*, 31(4), 975–983.
- Swallow, D. M. (2003). Genetics of lactase persistence and lactose intolerance. *Annual review of genetics*, 37, 197–219.
- Teves, P., Medina, J., Espinoza, Z., & EM (2001). Análisis de la prueba de tolerancia a la lactosa. *Revista Peruana de Gastroenterología*, 21, 282–286.
- The 1000 Genomes Project Consortium (2012). An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature*, 491(7422), 56–65.
- Tishkoff, S. A., Reed, F. A., Ranciaro, A., Voight, B. F., Babbitt, C. C., Silverman, J. S., Powell, K., Mortensen, H. M., Hirbo, J. B., Osman, M., Ibrahim, M., Omar, S. A., Lema, G.,

- Nyambo, T. B., Ghori, J., Bumpstead, S., Pritchard, J. K., Wray, G. A., & Deloukas, P. (2007). Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe. *Nature Genetics*, 39(1), 31–40.
- Troncoso, A., & Pavlovic, D. (2013). Historia, saberes y prácticas: un ensayo sobre el desarrollo de las comunidades alfareras del Norte Semiárido Chileno. *Revista Chilena de Antropología*, 0(27), 101–140.
- Tserendolgor, U., Mawson, J., MacDonald, A., & Oyunbileg, M. (1998). Prevalence of rickets in Mongolia. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 7(3/4), 325–328.
- Tu, G. C., & Israel, Y. (1995). Alcohol consumption by orientals in North America is predicted largely by a single gene. *Behavior Genetics*, 25(1), 59–65.
- Vázquez, C., Escobar, H., Polanco, I., Codoceo, R., & Vitoria, J. C. (1975). [Malabsorption of carbohydrates in children]. *Anales Españoles de Pediatría*, 8(2), 105–194.
- Vergara, R., Toro, H., Bonilla, D., & Meneses, J. (2005). *Población y Asentamientos Humanos en el Ámbito de las Comunidades Agrícolas - Región de Coquimbo*. Santiago: INE Instituto Nacional de Estadísticas.
- Vettorazzi, C., Canales, D., Rosales, F., Barillas-Mury, C., Woert, J., Pineda, O., & Solomons, N. (1992). Milk, lactose and ethanol as dietary factors in cataractogenesis in Guatemala. A case-control study. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 43(3), 155–162.
- Voight, B. F., Kudravalli, S., Wen, X., & Pritchard, J. K. (2006). A map of recent positive selection in the human genome. *PLoS biology*, 4(3), e72.
- Voight, B. F., & Pritchard, J. K. (2005). Confounding from cryptic relatedness in case-control association studies. *PLoS Genetics*, 1(3), e32.
- Wells, J. C. K. (2002). Thermal environment and human birth weight. *Journal of Theoretical Biology*, 214(3), 413–425.
- Weng, H., Bastian, L., Taylor, D., Moser, B., & Ostbye, T. (2004). Number of children associated with obesity in middle-aged women and men: results from the Health and Retirement Study. *Journal of Women's Health*, 13(1), 85–91.
- Westreicher, C., Mérega, J., & Palmili, G. (2006). Review of the literature on Pastoral Economics and Marketing: South America. Tech. rep., World Initiative for Sustainable Pastoralism.
- Westreicher, C. A., Mérega, J. L., & Palmili, G. (2007). The Economics of Pastoralism: Study on Current Practices in South America. *Nomadic Peoples*, 11(2), 87–105.
- Wilson, C. (2011). Understanding global demographic convergence since 1950. *Population and Development Review*, 37(2), 375–388.

- Yanez, A. P., Angulo, J. P., & Fernandez, C. J. (1971). Malabsorción de lactosa en estudiantes españoles. I. Tolerancia intestinal a la sobrecarga oral de lactosa. *Revista Española de las Enfermedades del Aparato Digestivo*, 35, 925–938.
- Young, G., Zavala, H., Wandel, J., Smit, B., Salas, S., Jimenez, E., Fiebig, M., Espinoza, R., Diaz, H., & Cepeda, J. (2009). Vulnerability and adaptation in a dryland community of the Elqui Valley, Chile. *Climatic Change*, 98(1-2), 245–276.
- Zhao, K., Aranzana, M. J., Kim, S., Lister, C., Shindo, C., Tang, C., Toomajian, C., Zheng, H., Dean, C., Marjoram, P., & Nordborg, M. (2007). An Arabidopsis example of association mapping in structured samples. *PLoS Genetics*, 3(1), e4.

Anexo A

Autorizaciones de reproducción

Este anexo contiene autorización expresa por escrito de los propietarios de los derechos de autor para reproducir el contenido de la Figura 2.1 (Adaptada de Tishkoff et al. 2007 con permiso de Macmillan Publishers Ltd: Nature Genetics ©2007 Nature Publishing Group.).

NATURE PUBLISHING GROUP LICENSE TERMS AND CONDITIONS

Dec 08, 2014

This is a License Agreement between Nicolas Montalva ("You") and Nature Publishing Group ("Nature Publishing Group") provided by Copyright Clearance Center ("CCC"). The license consists of your order details, the terms and conditions provided by Nature Publishing Group, and the payment terms and conditions.

All payments must be made in full to CCC. For payment instructions, please see information listed at the bottom of this form.

License Number	3337080694869
License date	Feb 27, 2014
Order Content Publisher	Nature Publishing Group
Order Content Publication	Nature Genetics
Order Content Title	Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe
Order Content Author	Sarah A Tishkoff, Floyd A Reed, Alessia Ranciaro, Benjamin F Voight, Courtney C Babbitt, Jesse S Silverman, Kweli Powell, Holly M Mortensen, Jibril B Hirbo, Maha Osman, Muntaser Ibrahim, Sabah A Omar, Godfrey Lema, Thomas B Nyambo, Jilur Ghorri, Suzannah Bumpstead, Jonathan K Pritchard, Gregory A Wray, Panos Deloukas
Order Content Date	Dec 10, 2006
Volume number	39
Issue number	1
Type of Use	reuse in a dissertation / thesis
Requestor type	academic/educational
Format	print and electronic
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables /illustrations	1
High-res required	no
Figures	Figure 1
Author of this NPG article	no
Your reference number	None
Title of your thesis / dissertation	Adaptation to milk drinking and evolution of lactase persistence in pastoralist goat herders in central-northern Chile
Expected completion date	Sep 2014
Estimated size (number of pages)	200
Total	0.00 GBP
Terms and Conditions	

Terms and Conditions for Permissions

Nature Publishing Group hereby grants you a non-exclusive license to reproduce this material for this purpose, and for

no other use, subject to the conditions below:

1. NPG warrants that it has, to the best of its knowledge, the rights to license reuse of this material. However, you should ensure that the material you are requesting is original to Nature Publishing Group and does not carry the copyright of another entity (as credited in the published version). If the credit line on any part of the material you have requested indicates that it was reprinted or adapted by NPG with permission from another source, then you should also seek permission from that source to reuse the material.
2. Permission granted free of charge for material in print is also usually granted for any electronic version of that work, provided that the material is incidental to the work as a whole and that the electronic version is essentially equivalent to, or substitutes for, the print version. Where print permission has been granted for a fee, separate permission must be obtained for any additional, electronic re-use (unless, as in the case of a full paper, this has already been accounted for during your initial request in the calculation of a print run). NB: In all cases, web-based use of full-text articles must be authorized separately through the 'Use on a Web Site' option when requesting permission.
3. Permission granted for a first edition does not apply to second and subsequent editions and for editions in other languages (except for signatories to the STM Permissions Guidelines, or where the first edition permission was granted for free).
4. Nature Publishing Group's permission must be acknowledged next to the figure, table or abstract in print. In electronic form, this acknowledgement must be visible at the same time as the figure/table/abstract, and must be hyperlinked to the journal's homepage.

5. The credit line should read:

Reprinted by permission from Macmillan Publishers Ltd: [JOURNAL NAME] (reference citation), copyright (year of publication)

For AOP papers, the credit line should read:

Reprinted by permission from Macmillan Publishers Ltd: [JOURNAL NAME], advance online publication, day month year (doi: 10.1038/sj.[JOURNAL ACRONYM].XXXXX)

Note: For republication from the *British Journal of Cancer*, the following credit lines apply.

Reprinted by permission from Macmillan Publishers Ltd on behalf of Cancer Research UK: [JOURNAL NAME] (reference citation), copyright (year of publication) For AOP papers, the credit line should read:

Reprinted by permission from Macmillan Publishers Ltd on behalf of Cancer Research UK: [JOURNAL NAME], advance online publication, day month year (doi: 10.1038/sj.[JOURNAL ACRONYM].XXXXX)

6. Adaptations of single figures do not require NPG approval. However, the adaptation should be credited as follows:

Adapted by permission from Macmillan Publishers Ltd: [JOURNAL NAME] (reference citation), copyright (year of publication)

Note: For adaptation from the *British Journal of Cancer*, the following credit line applies.

Adapted by permission from Macmillan Publishers Ltd on behalf of Cancer Research UK: [JOURNAL NAME] (reference citation), copyright (year of publication)

7. Translations of 401 words up to a whole article require NPG approval. Please visit <http://www.macmillanmedicalcommunications.com> for more information. Translations of up to a 400 words do not require NPG approval. The translation should be credited as follows:

Translated by permission from Macmillan Publishers Ltd: [JOURNAL NAME] (reference citation), copyright (year

of publication).

Note: For translation from the *British Journal of Cancer*, the following credit line applies.

Translated by permission from Macmillan Publishers Ltd on behalf of Cancer Research UK: [JOURNAL NAME]
(reference citation), copyright (year of publication)

We are certain that all parties will benefit from this agreement and wish you the best in the use of this material. Thank you.

Special Terms:
v1.1

Questions? customercare@copyright.com or +1-855-239-3415 (toll free in the US) or +1-978-646-2777.

Gratis licenses (referencing \$0 in the Total field) are free. Please retain this printable license for your reference. No payment is required.

Anexo B

Consentimiento informado y documentos asociados

Este anexo contiene una copia de la hoja de información y el formulario de consentimiento informado que fue entregado a las personas que participaron en este estudio, así como el documento emitido por el Comité de Ética de la Investigación en Ciencias Sociales de la Universidad de Chile (CEDEA), aprobando los aspectos éticos de esta investigación.



CONSENTIMIENTO DE PARTICIPACIÓN EN EL PROYECTO “PERSISTENCIA DE LACTASA EN COMUNIDADES AGRÍCOLAS DE LA REGIÓN DE COQUIMBO”

En caso de que no pueda leer esta carta, puede solicitar a una persona de su confianza para que se la lea en voz alta. Esta posibilidad le será anunciada verbalmente.

I.- INFORMACIÓN SOBRE EL ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

Usted ha sido invitado a participar en un estudio científico que busca conocer la relación entre el consumo de leche de cabra y la tolerancia a la leche en la comunidad de la cuál usted forma parte. Es posible conocer si una persona es tolerante a la lactosa (azúcar natural presente en la leche) a través de un análisis de ADN, el cuál puede obtenerse a partir de saliva. Por ello se le solicitará una serie de procedimientos que serán descritos a continuación, para saber si usted es tolerante o no a la leche. Además, para conocer sobre sus costumbres de alimentación y sobre la crianza de la cabra, se le solicitará que responda una entrevista con preguntas sobre estos temas.

No existe ningún beneficio directo para usted por participar en este estudio, pero su colaboración permitirá saber más sobre la tolerancia a la leche, los hábitos alimenticios y la crianza de la cabra en esta comunidad. Tampoco existe ningún tipo de peligro en participar en la toma de muestra de saliva. No existe ningún pago ni costo monetario para usted por participar en este estudio.

Solicitamos específicamente la participación de hombres y mujeres **mayores de 18 años**, que no se encuentren en tratamiento de antibióticos, provenientes de las Comunidades Agrícolas de la Región de Coquimbo.



Usted como participante, será reunido en un espacio apropiado, cómodo, limpio y seguro. Deberá presentarse en ayuno de 12 horas, y sin haber fumado en dicho periodo. Los procedimientos serán tomados simultáneamente, calculándose un total de **3 horas y media**. Usted será atendido por una persona del equipo de trabajo de la investigación, quien comenzará confirmando su edad y procedencia, si sufre de problemas intestinales y si está en tratamiento con antibióticos. Posteriormente se le realizarán los siguientes procedimientos:

1.- Prueba de hidrógeno espirado para diagnóstico de tolerancia a la lactosa:

Consistente en la medición de la concentración basal de hidrógeno en su aliento con un monitor de hidrógeno espirado. Para ello usted debe taparse al nariz y aguantar su respiración por 10 segundos, para luego expirar por tanto tiempo como pueda en un tubo desechable de cartón conectado al monitor. Tras obtener su concentración basal de hidrógeno en su aliento, usted deberá ingerir 250ml (50g) de lactosa disuelta en agua a temperatura ambiente. A continuación se tomarán mediciones de la concentración de hidrógeno de su aliento cada 30 minutos, siguiendo el mismo procedimiento empleado para obtener el valor basal hasta completar 3 horas (un total de 6 mediciones).

2.- Toma de muestras de células bucales.

Para la toma de muestra de células bucales se utilizarán 10 bastones de algodón (cotonitos) los cuáles usted deberá pasar por la parte interna de su mejilla por 20 segundos cada uno. Cada bastón debe ser dispuesto de vuelta en un tubo plástico con un líquido de almacenamiento.

3.- Encuesta y Entrevista

Durante la toma de muestra de los procedimientos anteriores, se le realizará una encuesta con respecto a su historia familiar. En algunos casos se le solicitará también una entrevista sobre la vida en la comunidad.



4.- Mediciones de Peso y Estatura:

Se registrará su peso y estatura usando una pesa y un tallímetro corrientes.

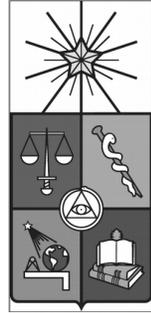
Resguardos y Riesgos.

• **Información:** Usted será informado sobre los objetivos y las características de esta investigación de forma completa y en un lenguaje no técnico. Además, usted tendrá la oportunidad de realizar las preguntas que desee.

• **Anonimato:** Su nombre no aparecerá en ninguna comunicación o informe del proyecto. Toda la información será manejada en forma confidencial por los investigadores a cargo del proyecto. Las mediciones, muestras, encuestas y entrevistas asociadas a cada paciente serán identificadas exclusivamente por el equipo de investigación y por usted si desea conocer sus resultados

• **Gratuidad:** Este estudio no tiene ningún costo para usted o su sistema de salud.

• **Voluntariedad:** Usted no tiene ninguna obligación de participar en el estudio, ya que es voluntario. Usted no recibirá ningún pago por participar en este estudio. Usted tienen el derecho de abandonar la Investigación o parte de ella en cualquier momento de la investigación (durante o al final) sin tener que dar ninguna razón para ello y sin tener ningún perjuicio para usted.



• **Riesgos:** La ingesta de lactosa puede provocar síntomas motilidad intestinal, gases y flatulencias en el caso de que usted resulte intolerante. En tanto usted se encuentra en ayuno, las probabilidades de diarrea son menores, pero posibles. **Estos síntomas son respuestas fisiológicas normales de las personas intolerantes a la lactosa y no representan ningún peligro en ningún grado para su salud.** En caso de que Ud. sufra algún daño como consecuencia de algún accidente fortuito durante su participación en este estudio, los investigadores cubrirán los gastos médicos que usted requiera, en el hospital que le corresponda, de acuerdo a su previsión de salud.

• **Muestras Biológicas (ADN):** Las muestras de saliva recolectadas durante este estudio, así como el material genético que se extraiga de ellas, solo serán utilizadas para los propósitos mencionados y serán destruidas una vez concluido este estudio. La destrucción del material será realizada siguiendo los protocolos de eliminación de materiales de laboratorio de UCL, consistente en la inactivación de todo material biológico activo mediante esterilización en autoclave, y posterior descarte de tubos plásticos limpios de saliva para la planta de desechos pertinente.

UNIVERSIDAD DE CHILE, DEPARTAMENTO DE ANTROPOLOGÍA.
Avenida Capitán Ignacio Carrera Pinto 1045, Ñuñoa, Santiago de Chile.



Los datos obtenidos solamente se mostrarán de forma general y solamente en publicaciones científicas. Ningún dato será utilizado con otros propósitos de los explicados. Todos los datos obtenidos de este estudio serán confidenciales, y nunca se mencionará su nombre ni ningún dato que permita su identificación.

El investigador responsable del estudio guardará el consentimiento y se le entregará una copia a Usted. Las instituciones patrocinantes son: Departamento de Antropología University College London, y Departamento de Antropología Universidad de Chile.

Si lo desea, podrá contactarse en cualquier momento con el responsable de este estudio:

Nicolás Montalva.

Diagonal Paraguay 383, departamento 102

Santiago.

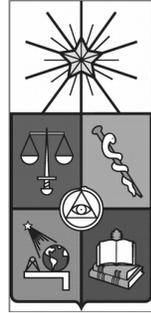
Teléfono: (2) 2224568

Correo electrónico: nicolas.montalva.09@ucl.ac.uk

Este estudio fue aprobado por los siguientes Comités de Ética, en caso que desee contactarlos:

En Chile: Comité de Ética de la Investigación en Cs. Sociales y Humanidades. Facultad de Filosofía y Humanidades, Centro de Estudios de Ética Aplicada, CEDEA. Presidenta del Comité: Prof. Marcela Ferrer.mferrer@uchile.cl. Av. Ignacio Carrera Pinto 1025, Ñuñoa, Santiago. Teléfono 9787023.

En Reino Unido: UCL/UCLH. COMMITTEES ON THE ETHICS OF HUMAN RESEARCH. Research Ethics Committee Offices. South House Block A, Rooms 7-12, Royal Free Hospital, Pond Street. Laura Keegan. Co-ordinator. London. United Kingdom. NW3 2QG.



II.- DOCUMENTACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Declaro haber leído o haber escuchado detalladamente la información descrita y mis preguntas acerca del estudio han sido respondidas satisfactoriamente. Tengo conocimiento que mi participación es voluntaria y que no se debe a la presión o influencia del equipo de investigación. Al firmar esta copia, indico que tengo un entendimiento claro del proyecto y deseo participar en él.

Señale si desea conocer el resultado del análisis. (encierre en un círculo)

SI **NO**

Nombre:

Fecha:

Firma o huella digital:



III.- CONSENTIMIENTO DEL INVESTIGADOR

He entregado información sobre el estudio al participante de esta investigación y, en mi opinión, esta información es precisa y suficiente para que el o ella, entienda completamente la naturaleza, los riesgos y beneficios del estudio, y los derechos que tiene **en** tanto sujeto de investigación. No ha existido coerción ni ha actuado bajo influencia alguna. He sido testigo que el sujeto firmó y/o estampó su huella dactilar en el documento.

Nombre del Investigador:

Firma del investigador:

Fecha:



078/2010

INFORME DE EVALUACIÓN

IDENTIFICACIÓN DEL PROYECTO

Proyecto: “Persistencia de Lactasa en Comunidades Agrícolas de la Región de Coquimbo.”

Investigador responsable: Nicolás Montalva. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Sociales, Departamento de Antropología

Otra información relevante: Proyecto de Memoria para optar al título de Antropólogo Social. Profesor Guía: Sergio Flores – Proyecto de Tesis de Doctorado. Prof. Guía: Ruth Mace, University College London. Faculty of Social and Historical Sciences. Department of Anthropology.

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL PROYECTO

La persistencia de lactasa es un rasgo genético especial que se presenta frecuentemente en aquellas poblaciones con importantes tradiciones culturales de orden en Europa y África, pero es raro el resto del mundo. El presente proyecto tiene por objetivo conocer las frecuencias de persistencia de lactasa entre los habitantes de las Comunidades Agrícolas de la Región de Coquimbo, las cuales han desarrollado una importante tradición cultural en base al ordeno del ganado caprino. Bajo un enfoque evolutivo y utilizando métodos clínicos (test de hidrógeno), genéticos (secuenciación de DNA) y de investigación social (cuestionarios y entrevistas), se pretende evaluar si los habitantes de las Comunidades Agrícolas poseen niveles mayores a los esperados para este rasgo, así como evaluar las consecuencias nutricionales del consumo de lácteos en estas poblaciones.

EVALUACIÓN DE ASPECTOS ÉTICOS

El Comité ha evaluado los antecedentes presentados por la Investigador Responsable y ha constatado que el ha introducido efectivamente las modificaciones que con anterioridad se le habían exigido respecto de la redacción del formulario de Consentimiento Informado, presentando una nueva versión en la que se han despejado debidamente las dificultades señaladas.

Al mismo tiempo, y a manera de evaluación general de los aspectos éticos del proyecto sometido a nuestra consideración, estamos en condiciones de aseverar que tanto los objetivos planteados, como el marco teórico propuesto y la metodología con que se ha organizado la estructura de la

1



investigación no presentan deficiencias de ningún tipo y atienden en forma suficiente y debida el resguardo de los derechos de los sujetos considerados en calidad de participantes en el protocolo de la investigación.

El proyecto manifiesta una especial preocupación por eventuales riesgos que pudieran desprenderse de su ejecución, asegurando en todo momento el bienestar de las personas participantes; a la vez asegura su conocimiento de los procedimientos empleados en las experiencias en que se comprometerán.

Esto último es posible que sea constatado a través de la formulación del documento de Consentimiento Informado, cuya versión definitiva se hace cargo completamente de los requisitos que se le plantean a los documentos de este tipo, según los estándares y convenciones éticas de la investigación en que participan sujetos humanos; destacándose entre estos la voluntariedad absoluta de su participación, la confidencialidad, la salvaguarda de la información entregada, así como los procedimientos empleados en la destrucción de las muestras biológicas usados.

Atendido lo anterior, el Comité de Ética de la Investigación en Ciencias Sociales y Humanidades de la Facultad de Filosofía y Humanidades de la Universidad de Chile declara no tener reparos respecto del proyecto de investigación presentado por el Sr. Nicolás Montalva, identificado en el inicio de este mismo documento y se permite certificar que cumple adecuadamente con los requisitos que este Comité le ha planteado.



Prof. Dr. Raúl Villarroel Soto
Presidente
Comité de Ética de la Investigación en Ciencias Sociales y Humanidades
Centro de Estudios de Ética Aplicada
Facultad de Filosofía y Humanidades
Universidad de Chile

Santiago de Chile, 2 de mayo de 2011.

c.c.: Archivo Comité.

Anexo C

Tablas suplementarias

Nombre del partidador	Secuencia
MCM6778:	5' - CCT GTG GGA TAA AAG TAG TGA TTG - 3'
MCM6i13:	5' - ATT CCA AAG AGT CAG AGT CAG AGG ACT TC - 3'

TABLA C.1. Partidores utilizados para PCR: Un segmento de 706 bp de la región potenciadora de *LCT* (*MCM6*, intron 13) amplificada por PCR utilizando los partidores *MCM6i13* y *MCM6778* descritos por Ingram et al. (2007).

Etapas	Temperatura C°	Tiempo (minutos)	Ciclos
Inicialización	95	5	—
Desnaturalización	95	0,5	×39 <i>ciclos</i>
Alineamiento	56	0,5	
Elongación	72	1	
Elongación final	72	5	—

TABLA C.2. Condiciones de termociclado.

Número rs (dbsnp)	Banda (build 37)	Ref/Alt	Ancestral	Alelo Menor	FAM Continental		
					África	América	Europa
rs1544450	1p13.1	G/T	T	T	0.947	0	0.089
rs1834619	2p24.2	G/A	G	A	0	0.975	0.037
rs356652	2q11.2	T/G	T	G	0	0.933	0.067
rs260690	2q12.3	C/A	C	C	0.642	0.963	0.045
rs2176046	2q37.3	G/A	G	A	0.015	0.934	0.06
rs10510511	3p24.3	G/T	G	T	0	0.916	0.023
rs3870336	3p21.31	G/A	G	A	0.089	0.936	0.085
rs10935320	3q23	T/C	T	C	0.154	0.979	0.104
rs11725412	4p14	A/G	A	A	0.21	1	0.06
rs10037656	5p15.32	A/G	A	G	0.337	0.98	0.099
rs4145160	5q33.2	G/A	G	A	0.095	0.912	0.067
rs1559163	5q33.2	A/G	A	G	0	0.853	0.023
rs2042314	5q35.1	C/T	C	T	0.139	0.999	0.146
rs12662498	6p12.1	G/A	G	A	0.012	0.980	0.07
rs17086231	6q25.3	C/T	C	T	0.018	0.943	0.117
rs6464749	7q35	A/G	A	G	0.893	0	0.05
rs7018273	8q21.13	A/G	G	G	0.858	0	0.017
rs12347078	9p24.3	A/C	A	C	0.876	0	0.035
rs734241	10q25.3	G/A	G	A	0.044	0.989	0.065
rs174570	11q12.2	C/T	C	T	0.006	0.997	0.111
rs7134749	12q13.12	T/C	T	C	0.21	0.898	0.027
rs2052386	12q15	G/A	G	A	0.077	0.929	0.095
rs1849384	12q21.31	A/C	C	C	0.973	0	0.082
rs4769128	13q12.11	C/T	C	T	0.154	0.988	0.13
rs1243370	14q11.2	T/C	T	C	0.24	0.919	0.055
rs2719921	15q11.2	G/A	A	A	0.876	0	0.033
rs1197062	17q23.2	T/G	G	G	0.891	0	0.057
rs717225	19q13.2	A/G	G	G	0.885	0	0.008
rs6119879	20q11.21	C/T	C	T	0.686	0	0.84
rs2426552	20q13.2	C/T	T	T	0.834	0	0.008

TABLA C.3. Treinta SNPs Marcadores Informativos de Ancestría (AIM). Datos de la Frecuencia del Alelo Menor (FAM) cortesía de el Laboratorio de Andrés Ruiz Linares (UCL GEE). Otros datos obtenidos de Ensembl Genome Browser (Flicek et al., 2014) y de 1000 Genomes Project (The 1000 Genomes Project Consortium, 2012).

Número rs (dbSNP)	Posición (build 37)	Ref/Alt	Ancestral	Alelo Menor	FAM
rs1446525	135637847	G/A	A	G	0.288
rs4954209	135737908	G/T	T	T	0.348
rs2874739	135818907	C/T	T	T	0.347
rs1869829	135877562	A/G	G	T	0.385
rs2305248	135928312	A/G	G	G	0.343
rs1900741	136002500	C/T	T	C	0.431
rs1561277	136092061	C/A	A	C	0.264
rs6709132	136232572	A/G	G	G	0.211
rs3806502	136288273	C/T	T	A	0.327
rs4954265	136324225	A/G	G	G	0.27
rs961360	136393658	A/G	A	C	0.315
rs4954278	136408291	C/T	C	T	0.181
rs2278544	136546110	A/G	A	G	0.492
rs2304370	136561735	G/A	G	T	0.254
rs3754689	136590746	C/T	C	T	0.339
rs182549	136616754	C/T	C	T	0.234
rs309152	136657252	T/C	C	G	0.321
rs309137	136765951	T/C	C	T	0.376
rs2090660	136818719	C/T	C	A	0.269
rs12691874	136880474	G/A	G	A	0.339
rs953387	136907170	A/C	A	T	0.46
rs12465599	137074850	A/G	G	G	0.439
rs6715450	137121731	G/A	A	A	0.346
rs543721	137161557	G/T	G	T	0.411
rs12618749	137205474	C/T	C	T	0.228
rs580879	137314139	C/T	T	A	0.257
rs6711718	137407012	T/C	T	C	0.451

TABLA C.4. Veintisiete SNPs rodeando la región potenciadora de *LCT* en el cromosoma 2 utilizados para inferencia de haplotipos. Frecuencias del alelo menor (FAM) y otros datos obtenidos de Ensembl Genome Browser (Flicek et al., 2014) y 1000 Genomes Project (The 1000 Genomes Project Consortium, 2012).

STR Locus	Banda (build 35)	N° de alelos total (en escala de Promega)	Alelos (repeticiones)
TPOX	2p25.3	8	6-13
D3S1358	3p21.31	9	12-20
FGA	4q28	28	16-18, 18.2, 19, 19.2, 20, 20.2, 21, 21.2, 22, 22.2, 23, 23.2, 24, 24.2, 25, 25.2, 26-30, 31.2, 43.2, 44.2, 45.2, 46.2
D5S818	5q23.2	10	7-16
CSF1PO	5q33.1	10	6-15
D7S820	7q21.11	9	6-14
D8S1179	8q24.13	12	7-18
TH01	11p15.5	13	4-9, 9.3, 10-11, 13.3
Vwa	12p13.31	13	10-22
D13S317	13q31.1	9	7-15
Penta E	15q26.2	20	5-24
D16S539	16q24.1	9	5, 8-15
D18S51	18q21.33	22	8-10, 10.2, 11-13, 13.2, 14-27 24, 24.2, 25, 25.2, 26-28, 28.2, 29, 29.2, 30, 30.2,
D21S11	21q21.1	25	31, 31.2, 32, 32.2, 33, 33.2, 34, 34.2, 35, 35.2, 36-38
Penta D	21q22.3	14	2.2, 3.2, 5, 7-17

TABLA C.5. Quince marcadores microsatelitales altamente variables genotipificados como control de consanguinidad usando un kit de análisis forense (Promega PowerPlex 16 HS). Datos obtenidos de Short Tandem Repeat DNA Internet Database (Butler et al., 2014).

Anexo D

Cuestionarios

Los cuestionarios fueron contestados bajo diferentes condiciones de acuerdo a las preferencias y necesidades de los participantes, incluyendo sus domicilios, sedes comunitarias, y la vía pública. Esta flexibilidad fue necesaria para permitir tasas de respuesta mayores. Las entrevistas fueron siempre llevadas a cabo en lugares seguros y cómodos, sin embargo, no siempre fue posible lograr privacidad completa, particularmente cuando las entrevistas se realizaban en las casas de los participantes con otros miembros de la vivienda presentes.

El cuestionario tomó entre 20 minutos a cerca de dos horas dependiendo del número de hijos del participante. A pesar de que no habían preguntas de respuesta abierta, varios participantes decidieron expandirse en ciertos puntos (particularmente en relación a hijos fallecidos). En estos casos se tomaron anotaciones de estas conversaciones.

Los cuestionarios fueron divididos en dos subcuestionarios, uno correspondiente a los datos sobre el participante, y otro correspondiente a cada uno de sus hijos. Versiones ligeramente diferentes fueron empleadas en el estudio piloto y en el trabajo de campo principal, debido a la identificación de preguntas que eran difíciles de responder para los participantes.

Cuestionario: Adaptación Genética y Cultural al Consumo de Leche en población del Semiárido de la Región de Coquimbo, Chile.

Instrucciones para el encuestador antes de comenzar:

- Agradezca al entrevistado por su participación.
- Aclare que la información será utilizada solo con propósitos científicos y sin dar ningún detalle sobre la identidad del entrevistado.
- Explique los temas incluidos en el cuestionario: Historia familiar, hábitos alimenticios, y modo de vida.
- Deje en claro que el participante puede declinar su participación y ser removido de la investigación en cualquier momento, hasta 3 meses después de nuestra visita.

Datos personales (esta sección será eliminada una vez que los datos sean compaginados. Su nombre no será registrado en nuestra base de datos).

FECHA: ___/___/___ HORA: ___:___

NOMBRE: _____

CÓDIGO: _____

¿CÓNYUGE INCLUIDO?

- No Sí → Código _____

¿OTROS PARIENTES INCLUIDOS?

- No Sí → Códigos

_____, _____

_____, _____

I. Detalles Personales:

1. Código : _____

2. Fecha de Nacimiento : ___/___/___

3. Sexo : Hombre Mujer

4. Localidad de Residencia: _____

5. ¿Cuanto tiempo ha vivido en esta localidad?

_____ años.

6. ¿Donde vivía cuando nació? (Su lugar de residencia al nacer, no su lugar de nacimiento).

- Esta localidad.
 Otra Comunidad Agrícola, ¿Cuál?

Otro lugar. ¿Donde?

7. ¿Ha tenido hijos?

- No → ir a pregunta 9 Sí

8. ¿Cuántos hijos ha tenido? Por favor incluya a sus hijos fallecidos.

_____ Hijos:

_____ Hombres vivos.

_____ Mujeres vivas.

_____ Hombres fallecidos.

_____ Mujeres fallecidas.

II. Acerca de sus hijos.

Las siguientes preguntas están relacionadas con sus hijos y sus hábitos de consumo de lácteos. Comenzaremos preguntando por su primer hijo y continuaremos uno por uno hasta el último.

Encuestados: Asegúrese de llenar el “Cuestionario de Hijos” para cada hijo.

Marcar este casillero cuando todos los “Cuestionarios de Hijos” hallan sido completados.

III. Sobre su padre.

9. ¿Donde vivía su padre cuando el nació? (Su lugar de residencia al nacer, no su lugar de nacimiento)

- Esta localidad.
 Otra Comunidad Agrícola, ¿Cuál?

Otro lugar. ¿Donde?

10. ¿Donde vivía el padre de su padre (abuelo paterno) cuando nació?

- Esta localidad.
 Otra Comunidad Agrícola, ¿Cuál?

Otro lugar. ¿Donde?

11. ¿Donde vivía la madre de su padre (abuela paterna) cuando nació?

- Esta localidad.
 Otra Comunidad Agrícola, ¿Cuál?

Otro lugar. ¿Donde?

12. ¿Su padre se siente/sentía mal al tomar leche o consumir productos lácteos?

- No consume/consumía
 Consume/consumía sin problemas
 Sí. Por favor indique detalles sobre los síntomas y los productos que le hacen/hacían mal.

IV. Sobre su madre.

13. ¿Donde vivía su madre cuando ella nació? (Su lugar de residencia al nacer, no su lugar de nacimiento)

- Esta localidad.
- Otra Comunidad Agrícola, ¿Cuál?

Otro lugar. ¿Donde?

14. ¿Donde vivía el padre de su madre (abuelo materno) cuando nació?

- Esta localidad.
- Otra Comunidad Agrícola, ¿Cuál?

Otro lugar. ¿Donde?

15. ¿Donde vivía la madre de su madre (abuela materna) cuando nació?

- Esta localidad.
- Otra Comunidad Agrícola, ¿Cuál?

Otro lugar. ¿Donde?

16. ¿Su madre se siente/sentía mal al tomar leche o consumir productos lácteos?

- No consume/consumía
- Consume/consumía sin problemas
- Sí. Por favor indique detalles sobre los síntomas y los productos que le hacen/hacían mal.

17. Marcar los casilleros correspondientes si en el hogar del entrevistado hay acceso a alguno de los siguientes bienes y servicios:

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> Agua potable | <input type="checkbox"/> Electricidad |
| <input type="checkbox"/> Cielo (Techo) | <input type="checkbox"/> Piso |
| <input type="checkbox"/> Alcantarillado | <input type="checkbox"/> Agua Caliente |
| <input type="checkbox"/> Teléfono (o celular) | <input type="checkbox"/> Lavadora |
| <input type="checkbox"/> Refrigerador | <input type="checkbox"/> Televisión |
| <input type="checkbox"/> Computador | <input type="checkbox"/> Auto |
| <input type="checkbox"/> Derechos de Comunero | <input type="checkbox"/> Ganado |
| <input type="checkbox"/> Hijuela | <input type="checkbox"/> Lluvia |

18. De acuerdo a las condiciones de su residencia, usted:

- Vive en su propia casa, la casa de su pareja, de sus padres, o de sus hijos.
- Vive en otra casa sin costo por dicho concepto (allegado)
- Vive en otra casa pagando por la pieza o el espacio que ocupa.

19. ¿Consume leche? (Marque NO si solo consume leche sin lactosa, o si solo consume substitutos como leche de arroz o de soya)

- No → *ir a pregunta 23*
- Sí

20. Indique su consumo regular de leche en un año durante invierno y verano.

Verano

-
-
-
-
-
-
-
-
-
-

Invierno

- Nunca
- Menos de una vez al mes
- 1-3 tazas al mes
- 1 taza a la semana
- 2-4 tazas a la semana
- 5-6 tazas a la semana
- 1 taza al día
- 2-3 tazas al día
- 4 o más tazas al día

21. ¿Tomo leche la semana pasada? (Últimos 7 días)

- No → *ir a pregunta 23*
- Sí ¿Cuántos días? ____ días.

22. ¿Tomo leche ayer?

- No → *ir a pregunta 23*
- Sí ¿Cuánto? ____ Tazas.

23. ¿Consume otros productos lácteos?

- No → *ir a pregunta 27*
- Sí, Indique cuales:

- | | |
|---|---------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Queso Fresco | <input type="checkbox"/> Queso Maduro |
| <input type="checkbox"/> Mantequilla (no margarina) | <input type="checkbox"/> Yogur |
| <input type="checkbox"/> Leche Evaporada/Condensada/Manjar (de leche) | |
| <input type="checkbox"/> Otros _____ | |

24. Indique su consumo regular de estos productos lácteos en un año durante invierno y verano.

Verano

-
-
-
-
-
-
-
-
-
-

Invierno

- Nunca
- Menos de una vez al mes
- 1-3 porciones al mes
- 1 porción a la semana
- 2-4 porciones a la semana
- 5-6 porciones a la semana
- 1 porción al día
- 2-3 porciones al día
- 4 o más porciones al día

25. ¿Consumió alguno de estos productos lácteos la semana pasada? (Últimos 7 días)

- No → *ir a pregunta 27*
- Sí ¿Cuántos días? ____ días.

26. ¿Consumió alguno de estos productos lácteos ayer?

- No → *ir a pregunta 23*
- Sí ¿Cuánto? ____ porciones.

27. ¿Se siente mal después de tomar leche o consumir productos lácteos?

- No
- Sí, por favor indique que productos le hacen sentir mal:

- | | |
|---|---------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Leche Fresca | |
| <input type="checkbox"/> Queso Fresco | <input type="checkbox"/> Queso Maduro |
| <input type="checkbox"/> Mantequilla (no margarina) | <input type="checkbox"/> Yogur |
| <input type="checkbox"/> Leche Evaporada/Condensada/Manjar (de leche) | |
| <input type="checkbox"/> Otros _____ | → <i>fin del cuestionario.</i> |

Cuestionario: Adaptación Genética y Cultural al Consumo de Leche en población del Semiárido de la Región de Coquimbo, Chile.

CUESTIONARIO DE HIJO/A

Instrucciones para el encuestador antes de comenzar:

Un nuevo formulario debe ser usado para cada hijo adicional consignado en el cuestionario principal. Por favor asegurese de que el código de cada cuestionario de hijo se corresponda al del participante.

Datos personales (esta sección será eliminada una vez que los datos sean compaginados. Su nombre no será registrado en nuestra base de datos).

NOMBRE DEL PARTICIPANTE: _____

CÓDIGO DEL PARTICIPANTE: _____

NOMBRE DEL HIJO: _____

CÓDIGO HIJO: _____

1. Código del Cuestionario Principal: _____

2. Código del Hijo: _____

3. Fecha de Nacimiento: ____/____/____

4. Sexo : Hombre
 Mujer

5. Orden de Nacimiento (1ro, 2do...): _____

6. ¿Se encuentra este hijo fallecido?

- No → *ir a pregunta 9*
- Sí

7. Fecha de defunción: ____/____/____

8. Causa de muerte: _____

9. ¿Donde vivía su hijo cuando nació? (Residencia al nacer, no lugar de nacimiento).

- Esta localidad.
- Otra Comunidad Agrícola, ¿Cuál?

- Otro lugar. ¿Donde?

10. (Encuestador: Saltar esta pregunta para el primer hijo) ¿Es este hijo medio-hermano de alguno de los hijos reportados anteriormente?

- No
- Sí, Identificar medio-hermanos por su Orden de Nacimiento:

11. ¿De donde es el otro padre de este hijo?

- Esta localidad.
- Otra Comunidad Agrícola, ¿Cuál?

Otro lugar. ¿Donde?

12. ¿Da o dio leche de pecho a su hijo?

- Sí, cuando era bebe.
- Sí, todavía toma pecho. → *ir a pregunta 14*
- No.

13. ¿Que edad tenía cuando dejo de tomar pecho?

_____ meses (0 si nunca tomo pecho)

14. ¿Su hijo toma o tomó otro tipo de leches mientras tomaba pecho?

- No
- Sí

15. ¿Su hijo siguió tomando otro tipo de leches después de dejar el pecho? (no aplica para hijo lactante)

- No
- Sí

16. ¿Su hijo toma leche todavía? (“Sí” para hijo lactante)

- No, ¿Que edad tenía cuando la dejo? ____ años
- Sí

17. ¿Su hijo consume otros productos lácteos?

- No, ¿Que edad tenía cuando los dejo? ____ años
- Sí

18. ¿Su hijo se siente mal al tomar leche o productos lácteos?

- No
- Sí, con la leche.
- Sí, con otros lácteos.
- Sí, con ambos.

19. ¿Su hijo tiene hijos? (Nietos suyos por parte de este hijo)

- No
- Sí, por favor indique cuantos abajo:

_____ Nietos:
_____ Hombres vivos.
_____ Hombres fallecidos.
_____ Mujeres vivas.
_____ Mujeres fallecidas.

→ Fin del “Cuestionario de hijo/a”. Llene otra copia de este cuestionario por cada hijo, o continúe con el cuestionario principal si este era el último hijo.

Cuestionario: Adaptación Genética y Cultural al Consumo de Leche en población del Semiárido de la Región de Coquimbo, Chile.

CUESTIONARIO DE HIJO/A

Instrucciones para el encuestador antes de comenzar:

Un nuevo formulario debe ser usado para cada hijo adicional consignado en el cuestionario principal. Por favor asegurese de que el código de cada cuestionario de hijo se corresponda al del participante.

Datos personales (esta sección será eliminada una vez que los datos sean compaginados. Su nombre no será registrado en nuestra base de datos).

NOMBRE DEL PARTICIPANTE: _____

CÓDIGO DEL PARTICIPANTE: _____

NOMBRE DEL HIJO: _____

CÓDIGO HIJO: _____

1. Código del Cuestionario Principal: _____

2. Código del Hijo: _____

3. Fecha de Nacimiento: ____/____/____

4. Sexo : Hombre
 Mujer

5. Orden de Nacimiento (1ro, 2do...): _____

6. ¿Se encuentra este hijo fallecido?

- No → *ir a pregunta 9*
- Sí

7. Fecha de defunción: ____/____/____

8. Causa de muerte: _____

9. ¿Donde vivía su hijo cuando nació? (Residencia al nacer, no lugar de nacimiento).

- Esta localidad.
- Otra Comunidad Agrícola, ¿Cuál?

- Otro lugar. ¿Donde?

10. (Encuestador: Saltar esta pregunta para el primer hijo) ¿Es este hijo medio-hermano de alguno de los hijos reportados anteriormente?

- No
- Sí, Identificar medio-hermanos por su Orden de Nacimiento:

11. ¿De donde es el otro padre de este hijo?

- Esta localidad.
- Otra Comunidad Agrícola, ¿Cuál?

Otro lugar. ¿Donde?

12. ¿Da o dio leche de pecho a su hijo?

- Sí, cuando era bebe.
- Sí, todavía toma pecho. → *ir a pregunta 14*
- No.

13. ¿Que edad tenía cuando dejo de tomar pecho?

_____ meses (0 si nunca tomo pecho)

14. ¿Su hijo toma o tomó otro tipo de leches mientras tomaba pecho?

- No
- Sí

15. ¿Su hijo siguió tomando otro tipo de leches después de dejar el pecho? (no aplica para hijo lactante)

- No
- Sí

16. ¿Su hijo toma leche todavía? (“Sí” para hijo lactante)

- No, ¿Que edad tenía cuando la dejo? ____ años
- Sí

17. ¿Su hijo consume otros productos lácteos?

- No, ¿Que edad tenía cuando los dejo? ____ años
- Sí

18. ¿Su hijo se siente mal al tomar leche o productos lácteos?

- No
- Sí, con la leche.
- Sí, con otros lácteos.
- Sí, con ambos.

19. ¿Su hijo tiene hijos? (Nietos suyos por parte de este hijo)

- No
- Sí, por favor indique cuantos abajo:

_____ Nietos:
_____ Hombres vivos.
_____ Hombres fallecidos.
_____ Mujeres vivas.
_____ Mujeres fallecidas.

→ Fin del “Cuestionario de hijo/a”. Llene otra copia de este cuestionario por cada hijo, o continúe con el cuestionario principal si este era el último hijo.