



Universitat
de les Illes Balears

TREBALL DE FI DE GRAU

PAPER DELS STRs AL CAMP DE LA GENÈTICA FORENSE

Laura Cànaves Gómez

Grau de Bioquímica

Facultat de Ciències

Any acadèmic 2020-21

PAPER DELS STRs AL CAMP DE LA GENÈTICA FORENSE

Laura Cànaves Gómez

Treball de Fi de Grau

Facultat de Ciències

Universitat de les Illes Balears

Any acadèmic 2020-21

Paraules clau del treball:

Genètica Forense, STR, relacions de parentiu, població resident mallorquina.

Nom del tutor / la tutora del treball: Antònia Picornell Rigo

Nom del tutor / la tutora (si escau)

Autoritz la Universitat a incloure aquest treball en el repositori institucional per consultar-lo en accés obert i difondre'l en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació

Autor/a		Tutor/a	
Sí	No	Sí	No
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

RESUM

Actualment hi ha una gran quantitat de marcadors moleculars de DNA disponibles en el camp de la Genètica Forense, entre els quals destaquen els *Short Tandem Repeats* (STRs), que són els marcadors per excel·lència en els casos d'investigació criminal o relacions de parentiu. Per aquest motiu es poden trobar milers de publicacions, tant d'aspectes tècnics com de dades poblacionals de marcadors STRs, que són estrictament necessàries per a l'aplicació i correcta interpretació dels resultats a la casuística forense. En aquest treball es presenta una recerca bibliogràfica de les principals aplicacions dels STRs tant en la Genètica Forense humana com en la no-humana. A més, es fa una anàlisi dels resultats de 50 proves de parentiu realitzades al laboratori de Genètica de la UIB, a partir de les quals es determinen les freqüències al·lèliques per a 17 marcadors STRs i paràmetres d'interès forense de la població resident mallorquina. Els resultats indiquen un major percentatge de publicacions al camp de la Genètica Forense humana, en comparació a la no-humana, amb una clara progressió en el nombre d'investigacions publicades al llarg dels anys. Respecte a l'anàlisi estadística dels informes pericials, s'ha elaborat una base de dades pels 17 marcadors STRs d'ús forense per a la població resident mallorquina. Aquests marcadors han mostrat alts nivells de diversitat, que s'ajusten a l'equilibri de HW i tan sols mostren desviacions significatives al Desequilibri de Lligament els marcadors Penta E i Penta D. Els valors d'Índex i Probabilitat de Paternitat (IP i W, respectivament) obtinguts amb aquesta base de dades, comparats amb els derivats de l'ús d'una població de referència general, posen de manifest diferències que depenen de les freqüències dels al·lèls implicats en cada cas.

ABSTRACT

Nowadays, there is a large number of molecular DNA markers available in Forensic Genetics, among which stands out Short Tandem Repeats (STRs) for being the markers par excellence in cases of criminal or kinship investigation. For this reason, millions of publications with genetic data of STR exist for different populations, which are essentials for the correct application and statistical interpretation of the results. The aim of the present study is to present the main uses of the STRs in human and no-human Forensic Genetics based on a bibliography research. Moreover, an analysis of the results of 50 kinship tests made at UIB's Genetics laboratory was carried out to obtain allelic frequencies for 17 STR loci. In addition, a number of forensically useful parameters are reported. The results showed a higher percentage of investigations about the human Forensic Genetic, in comparison with the no-human, as well as a clear progression over the years in the number of published researches. Regarding the statistical analysis, a database has been developed for the 17 STRs markers for forensic use for the Majorcan resident population. These markers have shown high level of diversity, no evidence for departure from HW equilibrium and only a significant deviation for the Linkage Disequilibrium was shown for the Penta E and Penta D pair. The Index and Probability of Paternity (IP and W, respectively) values obtained with that database were compared to those obtained for the general reference population (Spanish) observing differences that depend on the involved allele in each case.

ÍNDEX

Resum

Abstract

Llistat d'abreviatures

1. Introducció	
1.1. Polimorfismes de DNA: <i>Short Tandem Repeats</i>	1
1.2. STRs a la Genètica Forense.....	2
1.3. Relació de la Genètica de Poblacions amb la Genètica Forense.....	5
1.4. STRs en Genètica Forense no-humana.....	6
2. Objectius.....	7
3. Material i mètodes	
3.1. Recerca bibliogràfica.....	7
3.2. Anàlisi de casos de parentiu per informes pericials.....	8
3.3. Anàlisi poblacional.....	9
3.4. Càlculs forenses.....	10
4. Resultats i discussió	
4.1. Recerca bibliogràfica.....	11
4.2. Anàlisi de casos de parentiu per informes pericials.....	15
4.3. Anàlisi poblacional.....	16
4.4. Càlculs forenses.....	21
5. Conclusions.....	23
6. Bibliografia.....	25

LLISTAT D'ABREVIATURES

GF – Genètica Forense

STRs – *Short Tandem Repeats*

DNA – Àcid desoxirribonucleic

pb – Parells de bases

PCR - Reacció en Cadena de la Polimerassa

mtDNA – DNA mitocondrial

CoDIS - *Combined DNA Index System*

SNP – *Single Nucleotide Polymorphism*

GP – Genètica de Poblacions

GH – Genètica Humana

GFNH - Genètica Forense no-humana

GFH - Genètica Forense Humana

HRM - *High Resolution DNA Melting*

COI - Citocrom C oxidassa I

He- Heterozigositat esperada

Ho- Heterozigositat observada

HW- Hardy-Weinberg

LD – Desequilibri de lligament

NA - Nombre d'al·lells

F_{Am} - Freqüència al·lèlica mínima

W - Probabilitat de Paternitat

IP- Índex de Paternitat

AABB- *American Association of Blood Banks*

ISFG - *International Society for Forensic Genetics*

GHEP-ISFG - Grupo de Habla Española y Portuguesa de la ISFG

INTRODUCCIÓ

La genètica és l'estudi de l'herència i la variació biològica en organismes. Moltes proves d'identificació humana són realitzades usant marcadors en cromosomes autosòmics¹. Un marcador genètic és un segment de DNA amb una ubicació física coneguda (locus) en un cromosoma. La importància dels marcadors radica en el fet que ofereixen la possibilitat d'estudiar poblacions d'organismes i evidenciar variacions (polimorfismes) en la seqüència del DNA entre dos individus, gràcies a la seva herència mendeliana.

Els polimorfismes genètics són regions o seqüències hipervariables de DNA, presents en tots els individus, que es distribueixen al llarg del genoma. La seva gran utilitat i importància és donada per la variabilitat que presenten entre les persones. Les distintes varietats de cada regió, situada en un locus específic, es denominen al·lels.

Els polimorfismes de DNA es consideren caràcters hereditaris que es transmeten de pares a fills seguint les lleis de Mendel. La majoria de polimorfismes que s'usen a la Genètica Forense (GF) són zones del genoma que no tenen expressió gènica, pel que es localitzen en el DNA "no codificant" o dins dels gens que no codifiquen en les variacions genètiques. Es troben al DNA nuclear i al DNA mitocondrial².

La investigació en GF aplica les tecnologies de la Biologia Molecular a l'estudi de polimorfismes de loci de DNA d'interès forense. Aquest estudi d'importància medic-legal integra la genètica poblacional i la identificació biològica que es desenvolupa en distintes vessants, entre elles la investigació biològica de filiació, centrant-se particularment en les investigacions de paternitat, i la investigació biològica de parentiu, que engloba els estudis de casos de immigració³.

L'ús del DNA en l'àmbit forense també permet confirmar a potencials sospitosos d'haver comès delictes, exculpar a individus acusats per error, identificar a víctimes de crims o de grans catàstrofes, així com identificar restes humanes antigues. El fet de proporcionar un poder de discriminació individual altíssim en el que respecta a tots aquests processos d'identificació el converteix en una eina fonamental en aquest camp⁴.

La individualitat del genoma constitueix la base fonamental de la perícia d'identificació biològica. En l'actualitat, la resolució de problemes forenses sobre la identitat biològica es basa en l'estudi de polimorfismes genètics. La transmissió mendeliana d'aquests polimorfismes és la base de l'anàlisi de relacions de parentiu, motiu pel qual la prova del DNA es basa en l'anàlisi del perfil genètic de les distintes persones que integren la investigació i la comparació dels mateixos⁵.

1.1. Polimorfismes de DNA: *Short Tandem Repeats* (STRs)

La immensa majoria de laboratoris especialitzats en GF empren, per a la identificació d'indicis biològics, marcadors genètics localitzats majoritàriament en regions no codificants del DNA amb un grau de polimorfisme entre la població molt elevat. Són els denominats *Short Tandem Repeats* o STRs.

Els microsatèl·lits, més comunament STRs, són fragments de DNA altament abundants i àmpliament dispersos per tot el genoma (de mitjana, se'n poden trobar un cada set o vuit kilobases aproximadament)⁶. Es localitzen en organismes procariotes i eucariotes, incloent-hi els humans. Tot i aparèixer dispersos arreu del genoma humà, acostumen a concentrar-se a regions intergèniques i intragèniques dels cromosomes. Formen aproximadament un 3% del genoma complet, essent part del DNA denominat repetitiu, el qual constitueix un 30% del DNA no codificant. Estan caracteritzats per petites repeticions de seqüència, essencialment de dos a cinc parells de bases (pb) d'extensió^{6,7}.

Sobre la base dels distintes motius repetitius, poden classificar-se en distintes tipus. Per una part, segons la longitud de la principal unitat de repetició, es poden classificar en repeticions mono-, di-, tri-, tetra-, penta-, i hexanucleòtides⁸. Per una altra part, en funció de l'estructura que es repeteix, podem distingir entre: els locus STR simples, els composts, els complexos i

els locus STR hipervariables, els quals presenten una enorme variabilitat a mesura que es va incrementant la mida del fragment. Els microsatèl·lits de preferència a la comunitat científica forense presenten repeticions de quatre parells de bases, amb al·lels entre 100 i 300 pb. Els STRs tetramèrics i pentamèrics usats són sistemes amb un elevat poder de discriminació i especificitat per l'anàlisi de la variabilitat humana⁹⁻¹².

Taula 1. Exemples dels distints tipus de loci STR en funció de la complexitat de la distribució dels motius repetitius.

Locus STR simple :	Ex. TH01	(AATG) ₅₋₁₁	
Locus STR compost :	Ex. D8S1179	TCTA(TCTG) ₃₋₄ (TCTA) _n	
Locus STR complex :	Ex. D21S11	(TCTA) ₄₋₆ (TCTG) ₅₋₆ (TCTA) ₅ TA(TCTA) ₃ TCA(TCTA) ₂ TCCATA(TCTA) ₈₋₁₆ TC	
Locus STR hipervariable :	Ex. SE33	(AAAG) ₂₀	Al·lel 20
		(AAAG) ₁₂ AA(AAAG) ₁₀	Al·lel 23.2
		(AAAG) ₇ AA(AAAG) ₁₆	Al·lel 23.2
		(AAAG) ₁₁ AG(AAAG) ₁₅	Al·lel 26.2
		(AAAG) ₉ AG(AAAG) ₁₇	Al·lel 26.2

La naturalesa repetitiva indueix esdeveniments de lliscament durant la replicació del DNA resultant en freqüents modificacions en el nombre de repeticions. En conseqüència, presenten taxes de mutació que són, en ordres de magnitud, molt superiors a altres tipus de variacions⁷. Els STR són així, seqüències altament polimòrfiques entre la població, donat que el nombre de repeticions que pot contenir cada un d'aquests marcadors pot variar molt entre els distints individus, tot i que aquesta variabilitat també es basa en diferències que pot haver-hi en la mateixa seqüència de la unitat repetitiva. En aquests aspectes resideix el valor discriminatiu d'aquests marcadors genètics en el camp de la GF¹¹.

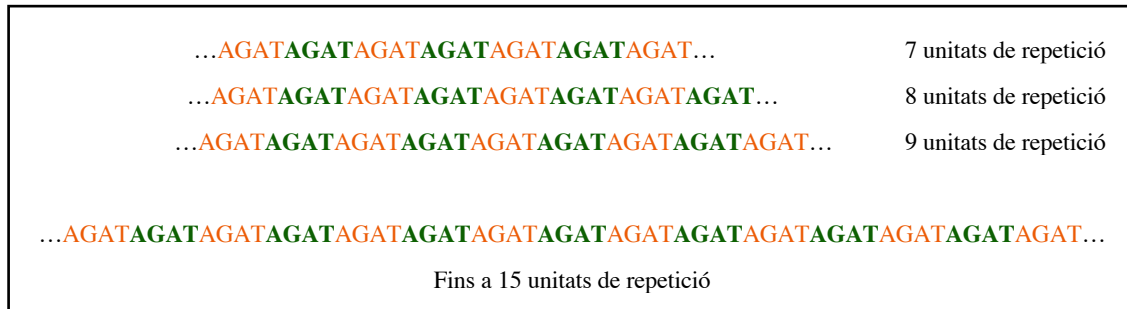


Figura 1. Representació de forma esquemàtica del STR D5S818 que conté repetida en tàndem la unitat AGAT.

A la Figura 1 es mostra l'exemple del marcador STR D5S818, amb les variants al·lèliques que presenta a la població, en funció del nombre de motius repetitius. Aquest marcador presenta en la població un total de nou formes d'expressar-se o variants al·lèliques, que contenen entre 7 i 15 unitats de repetició. Les regions que flanquegen els STR estan altament conservades entre la població, un aspecte fonamental d'aquests polimorfismes que fa que sigui relativament senzill el disseny de primers per la Reacció en Cadena de la Polimerasa (PCR), especialment per al disseny de sistemes *multiplex* d'amplificació de varis STR alhora¹³.

1.2. STRs a la Genètica Forense

Avui en dia hi ha una gran quantitat de marcadors moleculars de DNA disponibles en el camp de la GF que constitueixen la base fonamental de la perícia d'identificació biològica, la qual s'efectua normalment a través dels polimorfismes de loci de DNA amb interès forense o a través de l'estudi de polimorfismes de microsatèl·lits autosòmics i dels cromosomes sexuals.

Els STRs són els polimorfismes genètics més emprats dins aquest camp per resoldre tota classe de problemes legals, com poden ser casos de criminologia, identificació de víctimes d'accidents, així com proves d'investigació de paternitat i/o altres relacions de parentiu¹⁴. Aquests són hegemònics en el camp de la GF, enfront d'altres tipus de marcadors, bàsicament per la seva relativa facilitat d'anàlisi, aspecte que ha contribuït al seu ús àmpliament estès.

A causa del seu mode d'herència, els STRs emprats majoritàriament per la GF són els denominats autosòmics, en els que es troba acumulada l'herència de tots els avantpassats de l'individu en qüestió, a diferència dels marcadors dels cromosomes sexuals i els polimorfismes de DNA mitocondrial (mtDNA). Són altament informatius, el que permet distingir entre els diferents individus de la població i establir relacions de parentiu, essent també de gran utilitat en l'estudi de casos de criminologia, com pot ser l'estudi de vestigis biològics i /o casos de desaparicions, entre d'altres^{11,15}. Tot i això, donades les propietats de transmissió genètica úniques que presenten els cromosomes sexuals X i Y, també constitueixen una eina molt important en la identificació genètica en determinades situacions.

En el cas del cromosoma Y, els marcadors genètics emprats en identificació humana es localitzen a la porció no recombinant d'aquest cromosoma, essent transmesos sense produir variabilitat generació rere generació. L'únic mecanisme de variació en el temps entre els homes d'un mateix llinatge patern és causat per la presència de mutacions, de manera que tots els mascles d'una mateixa família via paterna presenten idèntic cromosoma Y, llevat que es donin mutacions durant la seva herència. Aquesta mateixa característica és la que confereix interès als marcadors del cromosoma Y en la identificació humana. La seva utilitat resideix fonamentalment en la investigació de casos incomplets d'investigació de paternitat amb nins, en la identificació de víctimes de catàstrofes i persones desaparegudes i en casos forenses en els quals se sospita de la contribució d'un o més homes en la composició del patró genètic d'una evidència, principalment en els casos de delictes sexuals¹⁶.

L'anàlisi dels STRs del cromosoma X pot resultar d'interès en casos on el poder d'exclusió dels marcadors autosòmics pot resultar disminuït, com és el cas de determinats casos complexos de parentiu pare-filla¹⁷.

Les condicions que se solen donar a l'àmbit forense no acostumen a ser òptimes. Això es manifesta amb una escassa o nul·la presència de DNA a les evidències estudiades, material genètic degradat o mesclades complexes de DNA de distinta procedència, entre altres. L'aplicació de la PCR en GF va permetre que els laboratoris poguessin començar a treballar amb quantitats de mostra cada cop més petites. A partir d'unes poques mostres de DNA que continguin les seqüències d'interès en àrees de la investigació genètica d'una resta biològica concreta, es pot obtenir un nombre suficient de còpies d'aquestes seqüències, que gràcies a la seva petita mida, les fa adequades per treballar amb material genètic degradat. Així, a partir d'unes poques molècules de DNA es pot establir un perfil genètic o altres elements identificatius que fan possible aconseguir resultats interpretables i/o conclouents tot i les pitjors condicions descrites¹³.

L'adopció general dels STRs com polimorfismes d'anàlisi en els laboratoris de GF no va dependre només del seu descobriment i dels avantatges estructurals que presenten aquests

marcadors, sinó que també es va donar per la ràpida evolució en les tècniques analítiques. Els primers STRs eren amplificats individualment, tot i que ràpidament van aparèixer els multiplexes de STRs que combinaven l'amplificació simultània de tres a quatre STRs en una mateixa reacció³.

Aquests polimorfismes són detectats preferentment als laboratoris usant sistemes semiautomàtics. Aquests sistemes, així com la utilització de sistemes *multiplex* que permeten l'amplificació simultània de diversos loci, condueixen a una estandardització de les tècniques de genotipació dels loci més usats per la Comunitat Forense⁵. A la Taula 2 es mostren alguns dels microsatèl·lits més usats en GF.

Entre els diversos *kits* comercials existents, els Laboratoris Forenses usen un o múltiples sistemes per l'estudi de la individualitat biològica. Mitjançant l'associació d'AmpFISTR ProfilerPlusTM, AmpFISTR, SGMPlusTM i GenePrint PowerPlexTM 1.2 System, és possible l'estudi de tretze dels loci que constitueixen el sistema CoDIS¹⁸ (*Combined DNA Index System*): D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, TH01, TPOX i CSF1PO. Cada cop més es recorre a l'ús d'un sol sistema *multiplex* per l'estudi d'aquests loci, usant els sistemes PowerPlex 16 System o el sistema AmpFISTR Identifiler, entre altres. A més d'aquests loci aquests *kits* permeten l'estudi d'altres STRs com són el PentaE i PentaD¹⁹. L'any 2015, l'FBI va anunciar una ampliació de set loci addicionals -D1S1656, D2441, D19S433, D10S1248, D12S319, D22S1045, D2S1338 - que en conjunt, amb els 13 anteriors, formen el grup de STRs consensuat internacionalment com a mínim per un perfil genètic dins la GF.

Taula 2. Microsatèl·lits (STRs) més usats als Laboratoris de Genètica Forense

Kit comercial	Microsatèl·lits amplificats
AmpFISTR Profiler Plus TM	D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820
GenePrint PowerPlex TM 1.2 System	D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, vWA, TH01, TPOX, CSF1PO
AmpFISTR SGM Plus TM	D3s1358, vWA, D16S539, D2S1338, D8S1179, D21S11, D18S51, D19S433, TH01, FGA
PowerPlex 16 System	D3S1358, TH01, D21S11, D18S51, PentaE, D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, CSF1PO, PentaD, vWA, D8S1179, TPOX, FGA
AmpFISTR Identifiler	D8S1179, D2S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818, FGA

S'ha de tenir en compte que els marcadors seleccionats, han de presentar un percentatge d'heterozigositat mínima del 70%, de manera que més del 70% dels individus representats a les bases de dades poblacionals han de ser heterozigòtics per als marcadors STR estudiats, garantint així una major variabilitat. És important emprar marcadors STR que presentin la màxima variabilitat entre la població o bé, combinar loci STR menys polimòrfics entre si i obtenir així el mateix poder de discriminació^{9,10}.

L'herència dels marcadors genètics emprats en identificació ha de ser independent. Tal com s'ha indicat els STRs es troben distribuïts per tot el genoma, és a dir, per tots els nostres cromosomes. De cara a l'anàlisi de la seva herència per part dels descendents, és preferible que

els STRs emprats es trobin localitzats en cromosomes distints, de manera que es garanteixi que la seva herència és independent⁹.

La factibilitat i practicitat que han demostrat l'ús dels STRs, respecte a estandardització, automatització o anàlisis simultànies de múltiples marcadors ha fet d'aquests els marcadors forenses per excel·lència. Es caracteritzen per ser resistents, permetent l'amplificació de petites zones del genoma, fins i tot en restes de material degradat, la qual cosa permet analitzar un ampli rang de material biològic. L'elevat poder discriminatori permet una major resolució a l'hora d'analitzar relacions de filiació o d'identificació biològica.

Els resultats obtinguts als distints laboratoris poden ser fàcilment comparats gràcies a la incorporació de certes pautes en el seu ús, com és l'estudi comú de determinats loci (CoDIS) amb tècniques estandarditzades globalment. Aquestes característiques han fet que es consolidin com el tipus de polimorfisme d'elecció per la comunitat científica internacional en la investigació de parentiu i en criminalística³.

A més dels STRs, altres tipus de polimorfismes han estat incorporats en l'anàlisi de la GF. Entre ells, els marcadors de DNA mitocondrial o els polimorfismes d'un sol nucleòtid o SNP (de *Single Nucleotide Polymorphism*).

L'anàlisi del mtDNA, degut al tipus d'herència exclusivament materna, ha demostrat ser una eina molt útil en la investigació de relacions matrilineals, sobretot en absència d'individus d'una o més generacions²⁰.

Els SNPs, comparats amb els STRs, individualment posseeixen una menor capacitat de discriminació, per ser majoritàriament bial·lèlics, però la capacitat de multiplexat permet l'anàlisi simultània de gran nombre de SNPs per assolir un poder discriminatori semblant a l'aconseguit amb els *kits* de STRs. La possibilitat d'amplificar zones de polimorfisme en fragments de PCR molt petits, ha permès el seu ús en la identificació exitosa de mostres severament degradades. Tot i això, existeix certa controvèrsia respecte al reemplaçament dels STRs¹⁴.

1.3. Relació de la Genètica de Poblacions amb la Genètica Forense

La Genètica de Poblacions (GP) és una branca de la genètica que estudia la variació genètica en una població i entre distintes poblacions, mesurant la distribució i canvis en les freqüències al·lèliques i genotípiques²¹. Els patrons de la Genètica Humana (GH) no són independents de la població en la qual es viu: l'origen, la manifestació i els gens de cada individu hi estan relacionats. D'aquesta manera, la GP és una disciplina íntimament relacionada amb la història. Les forces evolutives com són els patrons de migració i les fluctuacions demogràfiques en la mida de la població, així com les mutacions i la selecció natural també afecten aquests patrons^{21,22}.

La població humana conserva una unitat biològica. Tot i l'existència d'aquesta unitat biològica, el polimorfisme és una regla general, totes les poblacions presenten variants amb major o menor freqüència en diversos sistemes de marcadors genètics.

Els microsatèl·lits són versàtils marcadors moleculars, particularment per a les anàlisis poblacionals. El seu poder de discriminació individual ha de ser elevat, el que depèn del nombre d'al·lèls del sistema i de les seves respectives freqüències.

Per cada un dels STRs que podem trobar al genoma, s'estableixen a la població freqüències en el nombre de repeticions. Per cada STR existeix un determinat rang en el nombre de repeticions considerat "normal" dins la població (per exemple, entre 10 i 13 repeticions per un STR en concret), mentre que altres nombres de repeticions s'estableixen amb menys freqüència en el

mateix marcador. D'aquesta manera, un marcador genètic poblacional serà útil en funció de les seves característiques intrínseques i de la població on s'estudia⁵.

Els perfils de DNA varien d'una persona a una altra, per tant, podem afirmar que no hi ha dues persones amb el mateix genoma, ni amb el mateix perfil de STRs. Quan es comparen els perfils d'un sol locus per dos individus no relacionats entre si, habitualment són diferents, no obstant això, és possible que dues persones tinguin el mateix perfil en un o dos loci. La probabilitat que dues persones tinguin el mateix perfil de DNA en quatre o cinc loci diferents és extremadament baixa, motiu pel qual és necessari estudiar mínim els loci inclosos sota el nom de CoDIS per poder fer una correcta identificació. Alhora, és important tenir en compte les freqüències dels marcadors esmentats en la població, així com les fórmules estadístiques que permetin realitzar els càlculs correctes.

En l'actualitat existeixen milers de publicacions amb dades de marcadors STRs per distintes poblacions del món que resulten necessàries per a la correcta interpretació estadística dels resultats. Per valorar correctament el pes d'una evidència al camp de la Genètica Forense és important escollir la població de referència on s'han donat els fets que s'analitzen³.

1.4. STRs en Genètica Forense No-Humana

En alguns casos, la investigació criminal també pot requerir l'anàlisi de mostres d'origen no humà. A la revista *Forensic Science International: Genetics* la Genètica Forense No Humana (GFNH) es defineix com l'aplicació de la genètica a material no humà²³. Estudia les característiques hereditàries per l'anàlisi de la diversitat poblacional en una mateixa espècie i entre espècies així com la seva aplicació a la resolució de conflictes legals. En qualsevol cas, la GFNH es distingeix de la Genètica Forense Humana (GFH), aplicada a materials biològics d'origen humà, pel material i els marcadors polimòrfics usats, que depenen de cada espècie.

Les àrees principals que engloba la GFNH, es basen en la natura biològica de l'organisme que es troba en estudi. En aquesta línia es pot distingir la Genètica Forense d'animals, de plantes, de microorganismes i la Genètica Forense d'identificació de productes d'alimentació o fàrmacs²⁴.

Les tècniques aplicades a la GFNH van ser inicialment adaptades a partir de la GFH. En la GFNH, tal com en GFH, la identificació genètica de material biològic es basa en l'aplicació de marcadors de DNA polimòrfics de resolució discriminatòria. Aquest camp aplica tècniques com *High Resolution DNA Melting (HRM)*²⁵; tot i que altres vegades s'apliquen tècniques de *DNA barcoding*, les quals recorren a l'amplificació i seqüenciació de *Sanger* de determinats gens presents en el genoma dels organismes, essent necessari ajustar el tipus de marcador a la natura del material biològic.

En les mostres provinents d'animals, el marcador molecular considerat per excel·lència és el gen Citocrom C Oxidasa I (COI)²⁶. En el cas de microorganismes és freqüent l'ús del gen 16S rDNA per la identificació de bacteries²⁷, essent a vegades necessari recórrer a altres gens per augmentar la capacitat de resolució. Per la identificació de plantes existeix molta divergència respecte al marcador usat, entre els més comuns trobem *rbcL*, *rpoB*, o *matK*²⁸.

En els darrers anys, la importància dels microsatèl·lits en aquest camp, tot i no ser els marcadors per excel·lència, ha augmentat significativament per una certa varietat d'animals, inclosos els moixos, cans, o cavalls. A més, les proves de paternitat s'han convertit en una eina important en la cria de cans, cavalls o bestiar²⁹.

La GFNH s'ajusta a un ampli espectre de situacions problemàtiques relacionades amb: a) la identificació individual, b) les relacions de parentiu entre individus, c) la identificació de races o poblacions, i d) la identificació d'espècies.

Són exemples de les distintes situacions anteriors els casos on és necessari identificar un animal causant d'un atac³⁰. Sovint, també pot ser necessari certificar la descendència d'individus considerats d'important valor comercial, com són els casos de comerç il·legal. A distintes situacions és necessari discernir entre espècies, races o poblacions, com són els casos de caça furtiva³¹. També es pot incloure des de la identificació de l'espècie d'origen en aliments processats, fins a la identificació de productes derivats d'espècies protegides en risc d'extinció.

El problema més gran que presenta aquesta disciplina és que la quantitat d'informació genètica de la majoria d'espècies conegudes, la qual es troba dipositada a base de dades actuals, és nul·la o molt pobre i sovint, no representativa de poblacions localitzades en distints llocs geogràfics. Aquesta manca d'informació dificulta la comparació genètica entre la mostra i la base de dades, donant lloc a resultats estadísticament poc fiables³².

OBJECTIUS

El treball plantejat té com a finalitat obtenir una visió general de l'ús d'uns dels marcadors per excel·lència en el camp de la Genètica Forense, els STRs, tant en aplicacions de la Genètica Forense Humana com en la No-Humana. Per aquest motiu els objectius principals són:

1. Recerca bibliogràfica dels STRs i la seva aplicació actual a diversos aspectes de la Genètica Forense.
2. Anàlisi de la tipologia i els resultats de 50 proves de parentiu realitzades al laboratori de Genètica de la UIB, membre de la *International Society of Forensic Genetics*.
3. Determinació de les freqüències al·lèliques a la població resident a Mallorca dels 17 marcadors STRs emprats més habitualment a Genètica Forense.
4. Anàlisi estadística des d'un punt de vista d'eficiència forense d'aquests marcadors a la població mallorquina.

MATERIAL I MÈTODES

3.1. Recerca bibliogràfica

S'ha dut a terme una recerca bibliogràfica sistemàtica dels STRs i la seva aplicació actual a diversos aspectes de la GF. Existeix un ampli ventall de cercadors bibliogràfics acadèmics, cadascun amb distintes característiques. S'han usat els cercadors *PubMed* i *Scopus*, més especialitzats, els quals inclouen informació amb criteri científic, juntament amb publicacions procedents de revistes de prestigi. Les passes seguides són les mateixes per cada base de dades (Taula 3).

Primer que tot s'han escollit les paraules clau amb la intenció d'obtenir una idea general dels punts més importants en els que es basa la recerca. Les paraules escollides van ser "*STR and forensic genetics*" i "*STR and legal medicine*". Aquestes són inserides a cada motor de recerca elegit i com a conseqüència, s'obté una àmplia visió de la quantitat de variants que inclou aquest camp, amb un nombre d'articles no manejable, per la qual cosa es decideix limitar cada una de les cerques.

Per tal d'acotar el nombre de fonts emprades en la realització de l'estudi es fa un cribratge del llistat de títols obtingut inicialment seguint els següents criteris de selecció: a) descartar les

publicacions que no contenguin una de les paraules clau al títol, *abstract i keywords*, b) seleccionar les publicacions que datin des de l'any 2000 fins al 2020, c) elegir les publicacions d'accés lliure mitjançant el filtre *Free full text a PubMed i Open access a Scopus* c) suprimir articles de parla no anglesa ni espanyola, d) eliminació tots els capítols de llibres o llibres i selecció dels articles i revisions. Posteriorment, es fa una diferenciació dins cada una de les paraules claus, amb l'objectiu de distingir entre els articles i revisions basats en la GFH i la GFNH.

Taula 3. Metodologia seguida amb els distints motors de recerca bibliogràfica.

Motor de recerca bibliogràfica	Paraules clau	Cribratge	
PubMed	STR AND <i>legal medicine</i>	<i>Free full text</i> Cercar dins el títol i <i>abstract</i> Publicacions desde l'any 2000-2020 Idioma (anglès i espanyol) Tipus de publicació (articles i/o revisions)	<i>Human</i> <i>Other animals</i>
	STR AND <i>forensic AND genetics</i>		<i>Human</i> <i>Other animals</i>
Scopus	STR AND <i>legal medicine</i>	<i>Open access</i> Cercar dins el títol, <i>abstract i keywords</i> Publicacions desde l'any 2000-2020 Idioma (anglès i espanyol) Tipus de publicació (articles i/o revisions)	<i>Human</i> <i>No- Humans</i>
	STR AND <i>forensic AND genetics</i>		<i>Human</i> <i>No- humans</i>

Amb els resultats obtinguts a les dues bases de dades, es fa un sumatori de les distintes publicacions trobades a un document d'Excel i s'ordenen alfabèticament amb la finalitat de facilitar el procés de selecció i eliminació en cas de repetició. Finalment, els articles restants s'utilitzaran per a la realització del treball. Seguint la metodologia esmentada s'obté, com era la intenció, una recerca exhaustiva, selectiva i actualitzada de l'aplicació dels STRs al camp de la Genètica Forense Humana i No-Humana.

Com s'ha comentat anteriorment, es valora el percentatge d'articles i revisions seleccionats que hagin estat publicats a revistes científiques amb gran renom en aquest camp com són la *Forensic Science International: Genetics* i la *International Journal of Legal Medicine*. A més, en el cas que sigui necessari, s'accedirà a articles i/o revisions, així com la consulta de llibres que no hagin estat trobats durant la recerca per la contrastació de referències citades en els articles trobats.

3.2. Anàlisi de casos de parentiu per informes pericials

Una de les aplicacions més freqüents de la prova del DNA a la pràctica forense és la investigació biològica de la paternitat². A partir dels perfils genètics dels individus implicats en 50 casos anonimitzats d'investigació de parentiu duts a terme al Laboratori de Genètica de la UIB, es va analitzar la filiació dels diferents casos.

Entre les situacions que es poden investigar estarien aquelles en les que l'anàlisi es realitza amb ambdós progenitors i el possible fill/a (anomenats habitualment com "trios"), o bé en absència d'un dels dos progenitors, concretament, del que no es dubta la relació de parentiu (anomenats habitualment com "duos"). Quan no es pot comptar amb el progenitor del qual es vol investigar la filiació, per absència o defunció i, es requereix la intervenció de familiars directes de l'absent o es volen analitzar altres relacions de parentiu (per exemple si dos individus poden ser germans o no), els casos són més complexos.

En els casos més simples, els trios, es disposa del tipatge genètic de tres persones: la mare (de la que habitualment no es dubta la seva relació biològica amb el fill), el fill i el presumpte pare; per un nombre adequat de marcadors (mínim, els 13 loci del sistema CoDIS) altament polimòrfics, per així assolir una probabilitat d'exclusió *a priori* de la paternitat del 99,9%². Això significa que de cada 1.000 falsos pares se n'exclouen directament 999 i només un no pot ser exclòs *a priori* per resultar compatible amb el fill a l'atzar, tot i no ser el pare³³.

Quan s'efectua la prova de DNA primer es compara el perfil genètic del fill amb la mare i els al·lells que no comparteix amb ella hauran estat transmesos i, per tant, estaran presents en el pare biològic. Si no estan presents en el suposat pare, es considerarà una incompatibilitat².

Les incompatibilitats genètiques es basen en l'observació de la presència o absència d'al·lells en el fill/a i el progenitor. Aquestes es poden donar quan el suposat fill/a posseeix un al·lel que està absent en el suposat pare i en la mare; o bé, quan en el suposat fill/a no es detecta cap dels al·lells que estan presents en el presumpte pare i que, per tant, ha de transmetre obligatòriament als seus descendents³⁴.

En el cas d'existir incompatibilitats genètiques entre el presumpte pare i el fill, el presumpte pare és exclòs de la paternitat en qüestió quan es detecten, almanco, tres o més incompatibilitats genètiques. En el cas contrari, quan els al·lells coincideixen, es considera que és una assignació positiva de paternitat i es passa a realitzar un estudi matemàtic-estadístic per calcular la probabilitat de què realment aquesta persona sigui el pare biològic².

En el cas que es donin sols una o dues incompatibilitats, s'ha de valorar estadísticament la possibilitat de presència de possibles mutacions en la línia germinal, de manera que el pare podria haver transmès un al·lel mutat respecte al que posseeix. La mutació als marcadors ha estat precisament la que ha produït el polimorfisme al llarg de les generacions. Podem dir que la mutació és inherent a aquests, ja que com més polimòrfic siguin (que és el que és cerca), major taxa de mutació s'espera⁵.

3.3. Anàlisi poblacional

L'*Arlequin* v.3.5³⁵ és un *software* gratuït que permet l'anàlisi de dades de Genètica de Poblacions. Mitjançant un conjunt de proves estadístiques permet extreure informació sobre les característiques genètiques i demogràfiques d'una col·lecció de mostres d'una població.

A partir dels individus implicats en els casos estudiats, es recolliren a un document *Excel* els genotips dels marcadors STR estudiats de 97 mostres que no guardaven cap relació de parentiu entre elles. Aquest document serà reconegut pel programa informàtic sota el nom Residents_Mallorca. És necessari informar el programa que es tracta d'una única població diploide, en la qual es fa una anàlisi de marcadors STRs.

Un cop carregat l'arxiu al software *Arlequin* v.3.5³⁵ es calculen les freqüències al·lèliques, juntament amb distints paràmetres de diversitat (heterozigositat observada i esperada, equilibri de Hardy-Weinberg i desequilibri de lligament).

La freqüència dels diferents al·lells s'obté determinant la proporció de cada al·lel entre el nombre de mostres totals de la població en estudi³⁶.

La diversitat genètica de la població es determina mitjançant la comparació entre l'heterozigositat observada (H_o) i l'heterozigositat esperada (H_e). L' H_o , fa referència a la proporció d'individus heterozigots presents i observats en una mostra poblacional, mentre que l' H_e estima la probabilitat que dos al·lells extrets a l'atzar del conjunt de gens d'una població siguin distints³⁷.

L'equilibri de Hardy-Weinberg (HW) és calcula tenint en compte les freqüències al·lèliques i genotípiques observades i esperades mitjançant el mètode de la cadena de Markov³⁶. El teorema de HW mostra que les freqüències dels distints al·lèls en poblacions no canvien en el temps llevat que actuïn forces evolutives (com la selecció o la migració) i, per tant, la majoria d'interferències sobre la diversificació de les poblacions són degudes a les desviacions de les freqüències al·lèliques observades respecte de les esperades³⁷.

El desequilibri de lligament (LD) és l'associació no aleatòria d'al·lèls en dos o més loci (no necessàriament en el mateix cromosoma). En poblacions grans amb aparellament aleatori, s'espera que els al·lèls dels distints loci es trobin associats a l'atzar, és a dir, que manifestin equilibri en el lligament. Malgrat això, també es pot observar una desviació en les combinacions aleatòries de les freqüències al·lèliques, el que es coneix com a desequilibri en el lligament³⁷.

Certs loci altament polimòrfics contenen un nombre elevat d'al·lèls, molts dels quals poden ser inusuals o trobar-se en una freqüència molt baixa en la població estudiada. En aquests casos, les freqüències al·lèliques calculades poden ser una estimació errònia del seu valor real, és per això que es calculen les freqüències al·lèliques mínimes dels marcadors, que són les que s'empraran per càlculs estadístics de GF si un al·lèl poc freqüent o no anteriorment descrit, està implicat. Aquestes s'obtenen per mitjà de la fórmula següent, a partir del nombre de mostres i l'heterozigositat observada per aquell marcador.

$$F_{Am} = 1 - [1 - (1 - \alpha)^{1/c}]^{1/2n}$$

On "F_{Am}" és la freqüència al·lèlica mínima, "α" és el nivell de significació (0,05), "c" és el nombre d'al·lèls comuns que es poden estimar a partir de l'heterozigositat observada i n és el nombre de mostres per aquell marcador. Es defineix com un al·lèl no-polimòrfic aquell que té una freqüència inferior a 0,01³⁸.

La correcció de Bonferroni és un mètode d'ajust per múltiples contrastos que té com a objectiu no augmentar la probabilitat de trobar resultats perquè es realitzi un gran nombre d'anàlisis. Es calcula mitjançant de la següent fórmula:

$$\alpha = \text{Nivell de significació} / J$$

On "J" és el nombre de contrastos realitzats.

El valor obtingut a través de la correcció de Bonferroni ens dona un nou valor de significació i els resultats que siguin menors es prendran com significatius³⁹.

3.4. Càlculs forenses

Després de comparar els genotips obtinguts a les mostres analitzades dels distints individus implicats en una relació de filiació, en aquells casos on existeix una compatibilitat al·lèlica en tots els marcadors (assignació positiva), es fa un estudi matemàtic-estadístic dels resultats basat en el càlcul probabilístic mitjançant l'ús del *software* informàtic *Familias 3.0*⁴⁰.

El *Familias 3.0* és un *software* que permet calcular probabilitats de parentiu i d'identificació basades en l'anàlisi del DNA, examina si la coincidència de caràcters genètics del fill/a i del suposat pare es deu o no a l'atzar. En general, a les proves de paternitat es disposa dels perfils genètics del nin, la mare i el presumpte pare.

Amb aquesta finalitat el programa pot calcular la Probabilitat de Paternitat (W), és a dir, la probabilitat que té el suposat pare de ser-ho en realitat, prenent com a referència les freqüències al·lèliques obtingudes anteriorment de la població d'interès general. El valor obtingut expressat en percentatge ens indica la probabilitat que l'home que se suposa és el pare, ho sigui realment.

Es té en compte la freqüència dels al·lèles que comparteixen el fill/a i el pare a la població general de referència, ja que pot succeir que el fet que el fill/a i el suposat pare comparteixin determinats al·lèles sigui degut a l'atzar a l'estar present no només en el vertader progenitor, sinó també en altres individus de la població. D'aquí que tingui importància escollir una correcta població de referència³³.

Un altre paràmetre que es calcula és l'Índex de Paternitat (IP). Per estimar el grau de certesa amb el que s'assigna la paternitat és necessari contrastar la probabilitat de què els al·lèles presents al fill/a provinguin del presumpte pare, enfront de la probabilitat que els hagi rebut de qualsevol altre individu de la població. D'aquesta manera el *software* calcula la raó entre ambdues probabilitats, denominada Índex de Paternitat. El IP expressa quantes vegades és més probable que el presumpte pare sigui el pare biològic al fet que ho sigui qualsevol altre subjecte de la població⁴¹. El programa calcula l'IP per a cada marcador i el valor final d'IP combinant tots els resultats.

L'Índex de Paternitat i la Probabilitat de Paternitat es relacionen segons la fórmula següent:

$$W = (IP/IP+1) * 100$$

En alguns casos, on després de considerar totes les dades es troben sols un ó dos marcadors que presenten incompatibilitat i per tant, no es pot concloure una exclusió de paternitat, és necessari considerar la probabilitat de mutació per tal de no excloure erròniament una relació de filiació que podria ser correcte³³. Per al càlcul de l'IP d'aquests loci el *software* té la capacitat de considerar la possibilitat de mutació enfront d'altres evidències. S'empren les freqüències de mutacions per als distints locus reportades per l'*American Association of Blood Banks* (AABB) el 2008 com a referència⁴².

RESULTATS I DISCUSSIÓ

4.1. Recerca bibliogràfica

En aquesta secció s'explicaran els resultats obtinguts per a cada motor de recerca bibliogràfica seguint la metodologia explicada a l'apartat 3.1 (Taula 4).

La primera recerca es va realitzar amb les paraules clau *STR AND Legal Medicine* a cada un dels cercadors (*Pub Med* i *Scopus*). El nombre de publicacions obtingut fou de 4.454 i 10.592, respectivament. Al ser excessiu, es fa una segona recerca amb l'objectiu d'obtenir només aquells articles i revisions d'interès aplicant els criteris de selecció (a-d) explicats a l'apartat de Material i Mètodes 2.1.

De les publicacions obtingudes, es fa una diferenciació amb l'objectiu de diferenciar entre els articles i revisions basats en la GFH i la GFNH. En ser el nombre d'investigacions publicades sobre GFNH molt baix, en comparació al de GFH (Taula 4) es fa una repesca de les investigacions publicades sobre GFNH amb l'objectiu de tenir una millor estimació del nombre de publicacions en aquest camp. Finalment, s'obté un nombre molt superior de publicacions dedicades a la GFH, la qual cosa demostra, en comparació a la GFNH, la riquesa i amplitud d'aquesta branca.

Se segueix el mateix procediment per les paraules clau *STR and Forensic Genetics*.

En total, en la combinació de les recerques realitzades amb ambdós cercadors es van trobar un total de 578 publicacions entre els anys 2000 i el 2020. Dels 578 títols preseleccionats, s'ordenaren alfabèticament i es van eliminar 79 publicacions en tenir en compte les repeticions. D'aquestes 499 publicacions, un 17,21 % han estat publicades a la revista *Forensic Science International: Genetics*, mentre que un 4,8 % a la *International Journal of Legal Medicine*.

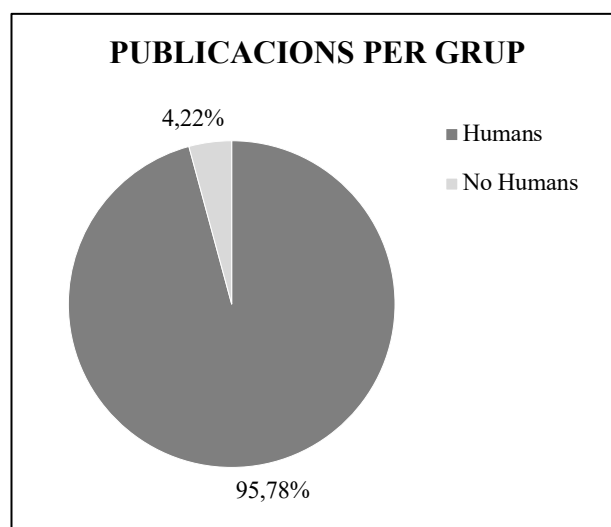
Taula 4. Resultats de la recerca sistemàtica amb els distints motors de recerca sistemàtica, on *n* és el nombre de publicacions obtingut.

Motor de recerca bibliogràfica	Paraules clau		Cribratge
PubMed	STR AND <i>legal medicine</i> n = 4.454	n = 2	Human n = 2
			Other animals
PubMed	STR AND <i>forensic AND genetics</i> n = 4.192	n = 80	Human n = 46
			Other animals n = 3
Scopus	STR AND <i>legal medicine</i> n = 10.592	n = 10	Human n = 10
			No- Human
Scopus	STR AND <i>forensic AND genetics</i> n = 12.597	n = 486	Human n = 415
			No- human

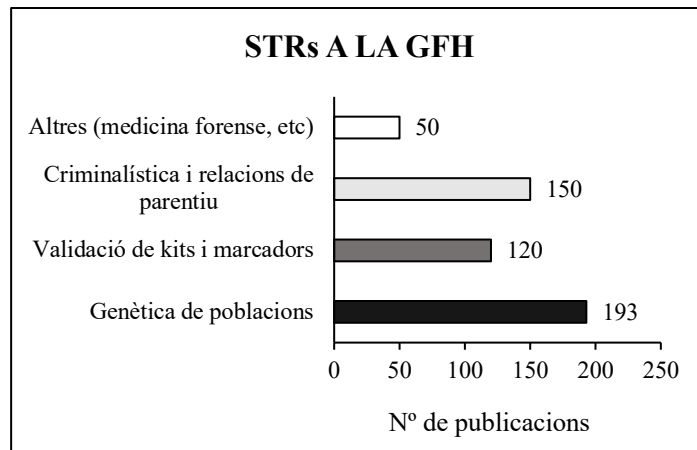
Posteriorment a aquesta selecció s'avaluen les distintes publicacions seleccionades, segons distints criteris amb la intenció de fer un estudi estadístic i visual dels resultats obtinguts.

1) STRs a la GFH i STRs a la GFNH

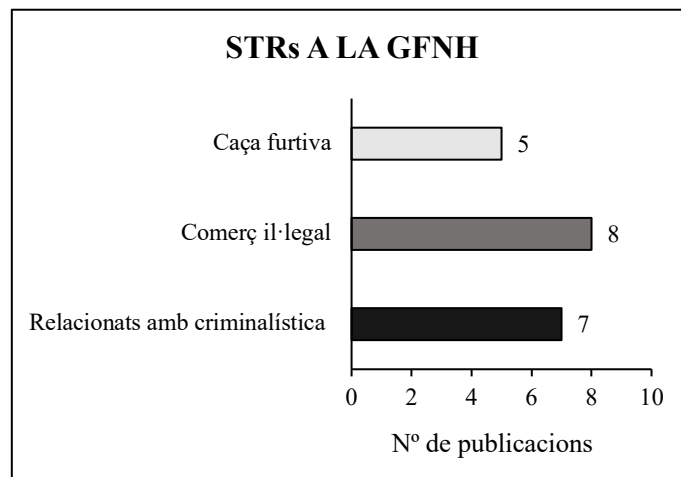
Estudiant les publicacions dels STRs a la GFH i a la GFNH la principal diferència que s'observa és el nombre de treballs publicat a cada àrea, 37 vegades superior a la GFH respecte a la GFNH (Gràfica 1). Per una altra part, es poden destacar distintes finalitats, obtenint una aproximació de les principals rames d'estudi d'ambdós camps, com es pot veure reflectit a la Gràfica 2 i 3.



Gràfica 1. Percentatge de publicacions de l'any 2000 al 2020 dedicades als STRs en el camp de la GFH i la GFNH.

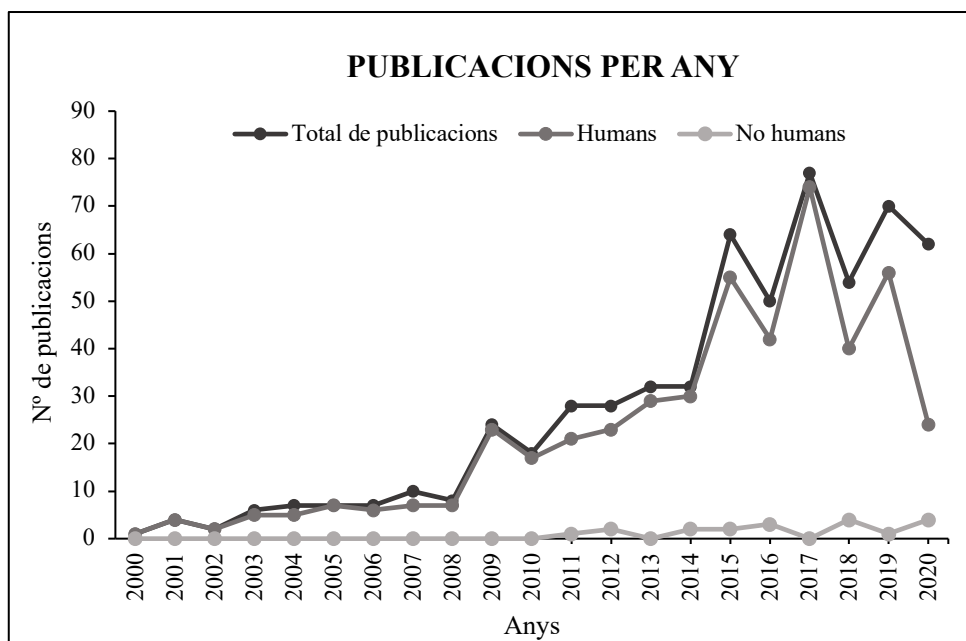


Gràfica 2. Principals tipus d'articles dels STRs en el camp de la GFH.



Gràfica 3. Principals tipus d'articles dels STRs en el camp de la GFNH.

Tot i això, el camp de la GF és un camp que està en constant creixement. A la Gràfica 4 es veu reflectida la tendència ascendent durant el període d'anys estudiat respecte al nombre de publicacions. Com ja s'ha comentat, les publicacions dedicades a la GFNH són bastant inferiors en comparació a la GFH; una de les raons d'aquesta diferència és que la GFNH és un camp més nou, amb aplicacions menys habituals, on els STRs no destaquen per ser els marcadors usats preferentment, s'empren altres tipus de tècniques d'identificació. Tanmateix, en els darrers deu anys hi ha un tímid increment en el nombre de publicacions dedicat a aquest camp, és també en aquests darrers deu anys on es dona un creixement del 80% en el nombre de publicacions dedicades a la GFH.

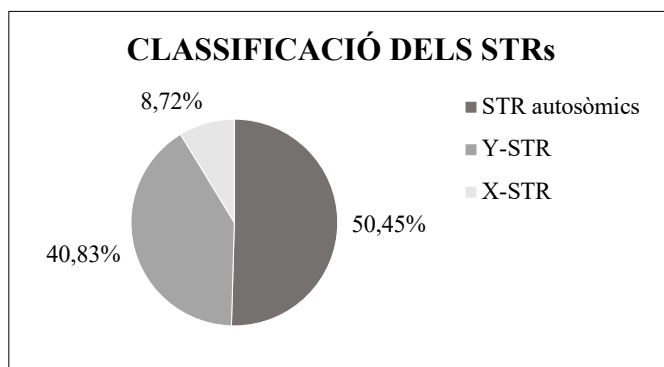


Gràfica 4. Tendència en els darrers 20 anys en el nombre de treballs publicats al camp dels STRs a la GF.

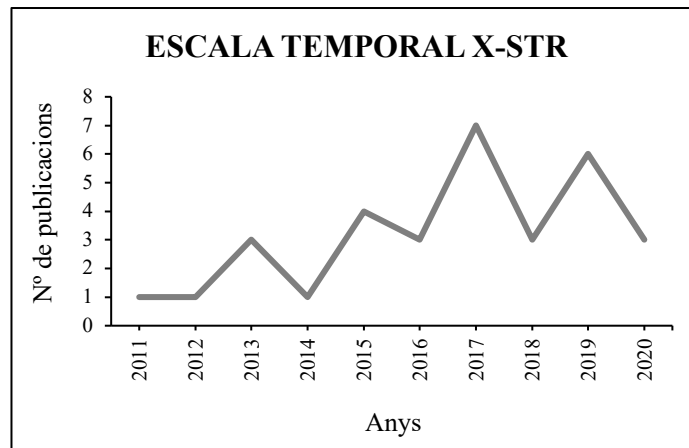
2) Tipus de marcadors: STRs autosòmics, STRs del cromosoma Y i STRs del cromosoma X

En la GFH els STRs autosòmics inclosos en el sistema CoDIS són els marcadors usats per excel·lència en la investigació criminal i relacions de parentiu; tot i que en la GFNH també hi estan presents, en destaquen d'altres.

L'anàlisi dels STRs del cromosoma Y o X pot resultar d'interès en casos on el poder d'exclusió dels marcadors autosòmics pot resultar disminuït com són els casos de parentiu complexos; tot i que són més usats els Y-STR que no pas els X-STR (Gràfica 5). No obstant, com es veu reflectit a la Gràfica 6, durant els darrers anys hi ha una clara progressió en el nombre d'investigacions publicades dedicades als marcadors X-STR, els quals resulten d'especial interès en paternitats deficientes, especialment en l'anàlisi del DNA de diverses filles sota la hipòtesi que comparteixen el mateix pare¹⁷.



Gràfica 5. Classificació dels marcadors STRs en funció del seu tipus.



Gràfica 6. Escala temporal del nombre d'investigacions publicades sobre els marcadors X-STR durant els darrers 10 anys.

4.2. Anàlisi de casos de parentiu per informes pericials

Com es pot veure reflectit a la Taula 5, dels 50 informes pericials, es comptava amb 53 casos de filiació disputada, ja que tres dels casos estudiats implicaven a dos fills i van ser considerats com casos individuals. En total, es comptava amb 36 trios, 30 dels quals van resultar en assignacions positives. En els casos restants el presumpte pare va quedar exclòs per incompatibilitat de tres o més marcadors genètics.

Taula 5. Resultats poblacionals de l'estudi de 53 casos de filiació disputada.

Tipus de cas	Nombre de casos	Resolució	Rang d'incompatibilitats	Observacions
Trios	36	6 exclusions	7-13 $\bar{x} : 10$	
		30 assignacions		1 cas de doble mutació. 1 cas de incest.
Duos	10	2 exclusions	7-8 $\bar{x} : 7,5$	
		8 assignacions		1 cas de mutació. 2 investigacions de maternitat.
Complexos	7	1 exclusió	4 $\bar{x} : 4$	
		6 assignacions		1 cas de exhumació. 4 investigacions de germandat.

En certes ocasions les anàlisis es fan amb un sol progenitor quan no es disposa de la mostra de l'altre (paternitat sense mare o maternitat sense pare). Deu dels casos estudiats són considerats duos on un dels dos progenitors es trobava absent. En aquests casos la probabilitat d'exclusió s'espera que baixi substancialment, ja que es perd la informació genètica que ens aporta el progenitor que falta.

Majoritàriament, en aquests tipus d'anàlisi es fan investigacions biològiques de la paternitat, tot i que en aquesta col·lecció s'han trobat dos casos en concret d'investigacions de maternitat. També hi ha un cas d'incest, s'ha de tenir en compte si el pare presumptiu té relació genètica amb la mare -incest-, ja que en aquests casos, la relació familiar pot influenciar en el càlcul.

En els casos d'exclusió de paternitat, el fet d'incloure a la mare permet tenir en compte només l'al·lel patern obligat per definir si hi ha exclusió de paternitat. En canvi, si només s'estudien el suposat pare i el/la fill/a, els dos al·lells del fill/a hauran d'estar absents en el suposat pare perquè es pugui excloure de la paternitat; per tant, es trobaran menys STRs que permetin excloure la paternitat que en un cas que s'estudiï també el perfil genètic matern⁴¹.

En els casos d'exclusió de paternitat estudiats amb 17 marcadors STRs analitzats, a la majoria d'aquests (66,6 %) es donen entre set i deu incompatibilitats, tot i que algun cas l'exclusió s'ha basat només en quatre marcadors i en algun altre en un número superior, com per exemple 13 incompatibilitats. Com es mostra a la Taula 5, en els casos de paternitat amb un sol progenitor, el nombre d'exclusions és més baix per al mateix nombre de marcadors, respecte als casos de trios.

Quan no podem comptar amb el progenitor del que es vol estudiar la relació biològica per absència o defunció, els casos són més complexos. En aquest treball s'han estudiat set casos complexos. Per obtenir el perfil genètic de l'absent es pot recórrer a l'estudi de restes òssies procedents de l'exhumació del cadàver; o bé, es fa un estudi de familiars directes d'on es dedueix el possible perfil genètic del progenitor. En el cas d'una investigació de paternitat on el pare ha mort, la informació pot ser deduïda dels padrins paterns, germans legals, o fills legals del difunt².

En aquests casos no sempre es dedueix el perfil complet del presumpte pare, o bé perquè hi ha varies opcions, o bé perquè per manca d'informació genètica només es pot deduir un al·lel. En els 7 casos complexos estudiats, s'han comprovat les possibles exclusions de manera que només ha estat considerada una exclusió en aquells casos on el perfil gènic complet del presumpte pare era incompatible amb el del fill/a. A mesura que disminueix la informació genètica que disposem, disminueix la possibilitat d'exclusió directa, de manera que la valoració és exclusivament probabilística. És per aquest motiu per el qual sempre és recomanable usar el màxim de marcadors possibles i màxim nombre de familiars informatius possibles³⁴.

Del total de casos analitzats (53), s'observa que un 83 % dels casos van resultar en la confirmació de la paternitat biològica i un 17 % d'ells van correspondre a l'exclusió de la paternitat. Aquests valors concorden amb el reportat per altres laboratoris, on la majoria de casos analitzats són considerats assignacions positives⁴³. El resultat obtingut a la sèrie tenen un valor semblant als obtinguts a altres estudis, com el reportat per l'AABB l'any 2013, la qual informa de l'existència d'un 24,12 % de casos d'exclusió paterna en els laboratoris acreditats per dita institució⁴⁴.

4.3. Anàlisi poblacional

Els resultats obtinguts de les freqüències al·lèliques es poden veure a la Taula 6. El nombre de marcadors analitzats varia en funció dels *kits* comercials emprats per a la genotipació, els quals permeten analitzar més o manco nombre de marcadors.

Les freqüències al·lèliques per als 17 STRs analitzats a la població resident mallorquina són comparables a les obtingudes per a altres poblacions europees⁴⁵ i més específicament, a les obtingudes per a la població de la Península Ibèrica⁴⁶.

Qüestions a destacar de l'anàlisi de les freqüències al·lèliques són l'absència de l'al·lel 14 del D5S818 i 13 del vWA a la població mallorquina estudiada, al·lells detectats a altres poblacions

espanyoles. També destaca la presència de l'al·lel 22 del marcador D18S51 i el 7 del D5S818, no observats a la població espanyola però sí a la resident de Mallorca.

La majoria d'al·lells observats a la població mallorquina s'han descrit també a altres poblacions de l'entorn⁴⁶, però si es comparen amb poblacions més llunyanes, com la població japonesa⁴⁷, es troben també al·lells diferents com són el 27 del marcador D21S11, els al·lells 2,2 i 3,2 en el marcador Penta D, els al·lells 13,2, 20,2, l'al·lel 21,2 en el marcador FGA i l'al·lel 13,2 al marcador D5S818, entre d'altres. Així mateix, existeixen alguns al·lells que s'observen a la població japonesa i no es registren a la població resident de Mallorca.

Els valors d'heterozigositat esperada (He), heterozigositat observada (Ho), freqüències al·lèliques mínimes (F_{Am}) i test exacte de l'equilibri de Hardy-Weinberg (P) obtinguts es presenten a la Taula 7.

Com major sigui el nombre de mostres analitzat, major serà la fiabilitat en l'estimació de les freqüències al·lèliques realitzades, per tant, la freqüència al·lèlica mínima serà menor. Si el nombre de mostres es manté constant, la freqüència al·lèlica mínima augmentarà en funció de l'heterozigositat, serà major en els loci més polimòrfics³⁸. Les freqüències al·lèliques mínimes dels diferents sistemes han oscil·lat en un rang entre 0,0017 i 0,2330, un rang molt ampli en comparació a les de la població general de referència (Espanya) que oscil·len entre 0,0086-0,0163⁴⁸.

Els sistemes que presenten una major diversitat són D18S51, Penta E, FGA i D2S1338 amb valors superiors al 85% d'heterozigositat esperada. Dos d'aquests sistemes (Penta E i FGA) són els que presenten un major nombre d'al·lells observats (>15). Pel que fa als sistemes amb menor diversitat són el D5S818 (72,4 %) i el TPOX (66,6 %), també són els que presenten un menor nombre d'al·lells (<10). L'heterozigositat obtinguda oscil·la entre 0,6666 i 0,9015, la qual correspon amb el rang obtingut per estudis prèvis de STRs a la població balear⁴⁹.

Els resultats obtinguts es poden comparar amb els que refereixen a poblacions del nord i sud d'Espanya^{50,51} i més específicament, als obtinguts en l'estudi de la població autòctona de les illes de Mallorca i Menorca⁴⁹. Els marcadors més polimòrfics (entre 11 i 15 al·lells), són els que presenten una major diversitat, com són el D18S51 i el FGA. El patró de distribució dels al·lells en els 13 loci de CODIS i Penta E és semblant als publicats en un estudi de la població japonesa⁴⁷, essent els loci D18S51, Penta E, FGA i D2S1338 els sistemes amb una major diversitat, amb valors superiors al 85% d'heterozigositat esperada.

Els 17 marcadors STR estudiats es troben en equilibri de HW ($p > 0,05$), és a dir no s'han observat diferències significatives entre l'Ho i l'He, que són molt semblants entre si. Aquests resultats coincideixen amb els d'altres estudis, que en la majoria de casos mostren lleugeres o nul·les desviacions en l'equilibri de HW⁴⁹.

Distints p-valors significatius, per al desequilibri de lligament (LD), van ser eliminats després d'aplicar la correcció de Bonferroni ($\alpha = 0,05/136 = 0,0003676$). D'aquesta manera només s'observen desviacions significatives per al parell de loci Penta E i Penta D dels 17 marcadors estudiats (Taula 8).

Taula 6. Freqüències al·lèliques dels 17 STRs analitzats a la població resident mallorquina. Entre parèntesi s'indica el número de cromosomes genotipats per cada marcador.

Al·lel	D3S1358	TH01	D21S11	D18S51	Penta E	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSF1PO	Penta D	vWA	D8S1179	TPOX	FGA	D19S433	D2S1338	Al·lel
	(194)	(194)	(194)	(192)	(172)	(192)	(192)	(192)	(194)	(192)	(172)	(194)	(194)	(192)	(194)	(194)	(194)	
2,2											0,0116							2,2
3,3											0,0058							3,3
5					0,0756													5
6		0,2423																6
7		0,1701			0,1221	0,0156		0,0156		0,0156								7
8		0,1598			0,0349	0,0260	0,1094	0,1302	0,0155		0,0291			0,4844				8
9		0,1701			0,0116	0,0260	0,0573	0,1094	0,1186	0,0469	0,2093		0,0103	0,1146				9
9,3		0,2474																9,3
10		0,0103			0,0930	0,0625	0,0833	0,3021	0,0515	0,2188	0,1163		0,0722	0,0729				10
11				0,0208	0,0988	0,3229	0,2969	0,1927	0,2938	0,2917	0,1628		0,0722	0,2865		0,021		11
12				0,1354	0,1744	0,3750	0,2969	0,1823	0,2938	0,3490	0,1977		0,1546	0,0417		0,098		12
12,2																0,005		12,2
13				0,1354	0,1512	0,1719	0,1146	0,0573	0,2165	0,0677	0,1919	0,0052	0,2887			0,237		13
13,2																0,015		13,2
14	0,1134			0,1354	0,0581		0,0417	0,0104	0,0103	0,0104	0,0640	0,0928	0,2113			0,284		14
14,2																0,026		14,2
15	0,2217			0,1771	0,0465						0,0116	0,1083	0,1650			0,175		15
15,2																0,072		15,2
16	0,2577			0,1250	0,0523							0,2165	0,0206			0,052	0,0464	16
16,2																0,015		16,2
17	0,1701			0,0885	0,0291							0,2835	0,0052				0,2268	17
18	0,2320			0,1042	0,0291							0,2217			0,0206		0,0722	18

18,2															0,0103			18,2
19	0,0052			0,0313	0,0058						0,0722				0,0773	0,0722		19
20				0,0208	0,0058										0,1289	0,1701		20
20,2															0,0052			20,2
21				0,0156											0,1856	0,0619		21
21,2															0,0052			21,2
22				0,0104	0,0058										0,1340	0,0361		22
22,2															0,0103			22,2
23					0,0058										0,1546	0,0928		23
23,2															0,0103			23,2
24															0,1134	0,1340		24
25															0,1134	0,0670		25
26															0,0206	0,0206		26
27			0,0155															27
28			0,1443												0,0052			28
29			0,2371												0,0052			29
30			0,2268															30
30,2			0,0464															30,2
31			0,0619															31
31,2			0,0876															31,2
32			0,0052															32
32,2			0,1443															32,2
33,2			0,0309															33,2
Al-1el	D3S1358	TH01	D21S11	D18S51	Penta E	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSF1PO	Penta D	vWA	D8S1179	TPOX	FGA	D19S433	D2S1338	Al-1el

Taula 7. Paràmetres estadístics per als 17 marcadors STR estudiats. (NA: nombre d'al·lels; Ho: heterozigositat observada; He: heterozigositat esperada; FAm: freqüència al·lèlica mínima; P: test exacte d'equilibri de Hardy-Weinberg).

Al·lel	D3S1358	TH01	D21S11	D18S51	Penta E	D5S818	D13S317	D7S820
NA	6	6	10	12	17	7	7	8
FAm	0,2330	0,0052	0,0030	0,0022	0,0017	0,0056	0,0040	0,0038
Ho	0,8247	0,8144	0,8454	0,9583	0,8954	0,6563	0,9063	0,8438
He	0,7929	0,8007	0,8401	0,8817	0,9015	0,7238	0,7908	0,8101
P	0,2938	0,4848	0,5823	0,6250	0,2103	0,1851	0,3707	0,7203

Al·lel	D16S539	CSF1PO	Penta D	vWA	D8S1179	TPOX	FGA	D19S433	D2S1338
NA	7	7	10	7	9	5	16	11	11
FAm	0,0049	0,0050	0,0029	0,0042	0,0034	0,0078	0,0018	0,0029	0,0027
Ho	0,7526	0,7292	0,8837	0,8660	0,8247	0,6563	0,8763	0,8041	0,8763
He	0,7674	0,7420	0,8399	0,8022	0,8141	0,6666	0,8786	0,8179	0,8750
P	0,1757	0,3134	0,2285	0,2887	0,8581	0,0998	0,6288	0,7635	0,0752

Taula 8. Nivell de significació del desequilibri de lligament per tots els parells de loci dels 17 marcadors STR analitzats ($\alpha = 0,0003676$).

Al·lel	D3S1358	TH01	D21S11	D18S51	Penta E	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSF1PO	Penta D	vWA	D8S1179	TPOX	FGA	D19S433	D2S1338
D3S1358	-																
TH01	0,2906	-															
D21S11	0,3167	0,1531	-														
D18S51	0,3304	0,1797	0,9873	-													
Penta E	0,9491	0,7674	0,5908	0,0281	-												
D5S818	0,2378	0,4367	0,5790	0,1160	0,1120	-											
D13S317	0,3025	0,1864	0,3842	0,0132	0,0352	0,0779	-										
D7S820	0,0355	0,0417	0,6362	0,4143	0,1749	0,2402	0,0123	-									
D16S539	0,7688	0,9842	0,1572	0,2818	0,5520	0,1913	0,0355	0,6817	-								
CSF1PO	0,4019	0,0687	0,4255	0,2000	0,8088	0,0056	0,0412	0,0018	0,6268	-							
Penta D	0,8759	0,4114	0,6569	0,0363	0,0000	0,0076	0,8280	0,0963	0,0132	0,2602	-						
vWA	0,6981	0,2477	0,6906	0,3623	0,0249	0,9295	0,6939	0,8675	0,6255	0,7441	0,2310	-					
D8S1179	0,2052	0,3268	0,2954	0,5491	0,4683	0,8129	0,3773	0,6837	0,0020	0,8983	0,8107	0,0078	-				
TPOX	0,2753	0,1273	0,2422	0,0536	0,4406	0,0525	0,0272	0,0462	0,9603	0,0245	0,2313	0,1241	0,1468	-			
FGA	0,5664	0,2190	0,6035	0,9245	0,8034	0,7143	0,0534	0,1224	0,0037	0,4928	0,0907	0,1615	0,2482	0,3202	-		
D19S433	0,4500	0,4076	0,3682	0,3245	0,4820	0,4268	0,6776	0,7590	0,4945	0,9987	0,0923	0,6677	0,2667	0,5843	0,6091	-	
D2S1338	0,0154	0,5529	0,2187	0,0794	0,6186	0,7785	0,3480	0,6788	0,4640	0,0403	0,2004	0,3153	0,3208	0,7773	0,6543	0,5704	-

4.4 . Càlculs forense

Les Taules 9 i 10 reflecteixen els valors que s'han obtingut a partir dels càlculs de la Probabilitat de Paternitat i Índex de Paternitat per als 38 casos d'assignacions positives resultants de l'anàlisi dels 53 casos de filiació disputada inicials. En dos dels casos estudiats es varen trobar mutacions, per el que la W i l'IP van ser recalculats per confirmar la paternitat. La W mínima obtinguda en els casos d'inclusió va ser del 99,992 % amb un IP de 13.808 i la major de 99,9999997 % amb un IP de 3.867.620.583. La mitjana de la probabilitat de paternitat obtinguda en els casos d'assignacions positives per a tots els marcadors, va ser del 99,9997 %.

Taula 9. Càlculs forense dels trios assumits a partir de l'anàlisi dels 38 casos d'assignacions positives. La presència de mutacions s'indica amb un *.

Cas forense	PP (%)	PP (%) previ	IP	IP previ	Diferència IP
Cas 1	99,999998	99,999998	567.141.012	689.493.003	22%
Cas 2	99,9998	99,99991	737.665	1.098.932	49%
Cas 3	99,999997	99,999993	42.959.846	16.491.585	-62%
Cas 4	99,999998	99,999998	696.419.129	589.117.581	-15%
Cas 5	99,9999995	99,9999997	2.089.237.904	3.306.556.363	58%
Cas 6	99,9999997	99,9999998	400.131.364	931.680.086	133%
Cas 7	99,9999994	99,9999996	166.963.144	294.557.503	76%
Cas 8	99,999998	99,999998	78.887.484	63.871.826	-19%
Cas 9	99,9999994	99,9999996	176.225.220	221.248.255	26%
Cas 10**	46,8416	45,2600	0,8812	0,8268	-6%
Cas 11	99,999997	99,999997	43.478.000	33.274.384	-23%
Cas 12	99,9999995	99,9999994	216.074.677	175.311.741	-19%
Cas 13	99,99997	99,99995	3.412.802	2.312.943	-32%
Cas 14	99,9999994	99,9999994	1.584.928.346	1.442.293.281	-9%
Cas 15	99,9999996	99,9999996	269.879.680	414.195.004	53%
Cas 16	99,9999996	99,999998	254.738.650	62.629.040	-75%
Cas 17	99,99996	99,99997	2.887.367	4.571.878	58%
Cas18	99,999992	99,99998	13.706.416	5.417.943	-60%
Cas 19	99,99999	99,999995	10.203.726	22.172.723	117%
Cas 20	99,99998	99,999998	9.054.935	49.675.421	449%
Cas 21	99,9999997	99,9999998	3.867.620.583	5.405.573.609	40%
Cas 22	99,999993	99,999998	15.361.544	59.670.032	288%
Cas 23	99,9999998	99,9999998	769.712.646	819.812.123	7%
Cas 24	99,9999993	99,9999997	145.415.996	333.698.483	129%
Cas 25	99,999995	99,999986	20.100.387	7.123.731	-65%
Cas 26	99,999998	99,9999994	75.833.749	193.147.202	155%
Cas 27	99,999998	99,999998	71.376.316	83.637.382	17%
Cas 28	99,999998	99,999997	92.341.239	44.859.235	-51%
Cas 29	99,999997	99,999996	45.052.662	30.537.254	-32%
Cas 30	99,9998	99,999887	843.366	889.190	5%

Taula 10. Càlculs forense dels dos assumits a partir de l'anàlisi dels 38 casos d'assignacions positives. La presència de mutacions s'indica amb un *.

Cas forense	PP (%)	PP (%) previ	IP	IP previ	Diferència IP (%)
Cas 31	99,99994	99,99996	1.934.204	2.672.235	38%
Cas 32	99,9996	99,9997	308.553	393.712	22%
Cas 33	99,998	99,998	61.375	86.656	41%
Cas 34*	99,998	99,998	79.107	67.681	-14%
Cas 35	99,998	99,9997	91.070	330.839	263%
Cas 36	99,998	99,995	63.055	22.056	-65%
Cas 37	99,9997	99,9995	383.073	207.029	-46%
Cas 38	99,9993	99,9998	157.573	537.472	241%

Respecte a l'establiment de valors referencials per la valoració estadística de l'assignació positiva de la paternitat biològica, no existeix cap estàndard científic per determinar quan un valor de probabilitat concret equival a quasi certesa. El consens d'experts i les recomanacions en l'àmbit internacional de la *International Society for Forensic Genetics (ISFG)*⁵² indiquen que ha d'aplicar-se l'estadística bayesiana. El Teorema de Bayes serveix per estimar una probabilitat final d'un esdeveniment a partir d'una probabilitat inicial, afegint una nova evidència, en aquest cas, una evidència genètica derivada del perfil genètic condensat en el valor de IP.

Actualment, en proves de paternitat s'ha considerat a alguns països europeus, entre ells, Espanya³³, segons uns antics "predicats verbals" de l'estadístic alemany *Hummel*⁵³, que una W per damunt del 99,73 % és considerada com una "paternitat pràcticament provada", essent el màxim grau de certesa verbal al que es pot arribar en casos de no exclusió de paternitat. Aquests valors es poden comparar amb els establerts a altres països, lleugerament més exigents, com és el cas de Chile o Colòmbia, on es requereix un valor igual o superior al 99,9 % de la W per acreditar una paternitat en els processos de filiació sinó, els resultats seran considerats com a no conclouents^{41,54}.

En el present estudi la majoria de les mostres rebudes (66,6%) eren genèticament compatibles amb una possible relació de paternitat. La W obtinguda generalment, excepte un cas on es va trobar una doble mutació (cas 10), va ser superior al 99,99 %, superant els valors llindar establerts internacionalment per la interpretació verbal del percentatge de la probabilitat de paternitat.

La incorporació d'altres marcadors genètics no autosòmics com els STRs del cromosoma Y, els polimorfismes de mtDNA o de cromosoma X, permeten al laboratori la investigació de casos en els quals els STRs autosòmics presenten limitacions, donant valors lleugerament inferiors, principalment als dos, o en aquells casos on apareixen mutacions. La investigació dels STRs del cromosoma Y poden ser importants en la resolució de paternitats de fills, mentre que els polimorfismes de cromosoma X destaquen en les investigacions de paternitat amb filles. També queda demostrada la utilitat de l'estudi de polimorfismes de mtDNA especialment en casos en què les persones analitzades mantenen una relació matrilineal⁵⁵.

Del total de casos analitzats, com es veu reflectit a les Taules 9 i 10, en un d'ells (cas 10) es van trobar dos al·lels discordants entre pare i fill, mentre que en un segon cas (cas 34), només un, el que es va interpretar com a doble mutació i mutació, respectivament. En el cas 10, amb dues

mutacions, els valors d'IP i W obtinguts eren molt baixos, per tant per poder obtenir un resultat conclouent es va completar la prova realitzant l'estudi de 38 marcadors autosòmics addicionals. S'estudiaren en total 55 marcadors autosòmics i 12 marcadors STRs del cromosoma X per assegurar la presència d'únicament dos loci incompatibles. D'aquesta manera els càlculs finals obtinguts foren d'una W de 99,992 % i d'un IP de 13.808, valors acceptables per l'acreditació de la paternitat biològica.

Els valors obtinguts de la W i IP generalment són superiors als tríos (Taula 9), on la W màxima obtinguda és de 99,9999997 %, que no pas als duos (Taula 10), on la W màxima obtinguda és de 99,99994 %. Això és degut a la pèrdua d'informació que ens aportaria el progenitor absent, la qual disminueix potencialment la probabilitat de paternitat. El fet de disposar dels tres perfils genètics generalment en una paternitat disputada, el de la mare (indubitada), del fill/a i del presumpte pare, permet tenir en compte l'al·lel patern obligat per definir la paternitat, augmentant així la W⁴¹.

Per una altra banda els valors de W i d'IP es modificaran en funció de la freqüència amb la que s'observin els al·lells heretats del pare a la població general d'interès⁴¹. L'IP màxim obtingut als tríos (Taula 9) és de 3.867.620.583, mentre que als duos (Taula 10) és de 1.934.204.

Aquests resultats demostren, prenent com exemple el cas 1, que la probabilitat d'obtenir els genotips observats, si el suposat pare és el pare biològic del menor, és 567.141.012 vegades major que la probabilitat d'obtenir-los si el pare biològic fos un altre home de la població d'interès escollit a l'atzar. El que equival a una probabilitat de paternitat del 99,999998 %. Tot i que genèticament no és possible afirmar que un home sigui el pare biològic d'un fill, sí que es pot valorar, donats els genotips del suposat pare i del fill/a analitzats, la probabilitat que el suposat pare sigui el biològic.

A les Taules 9 i 10 també es presenten els valors de W i IP que havien estat obtinguts prèviament emprant com a població de referència les freqüències generals espanyoles proporcionades per el Grupo de Habla Española y Portuguesa de la ISFG (GHEP-ISFG)⁴⁸. Així, podem observar com en alguns casos les diferències entre els IP són considerables, sigui positiva o negativament. Aquestes desigualtats depenen de la major o menor freqüència dels al·lells implicats en els casos concrets, a la població resident mallorquina respecte a la general espanyola. Aquests resultats reforcen la idea que per valorar correctament el pes de l'evidència en el camp de la Genètica Forense és important emprar la població de referència on s'han donat els fets que s'analitzen³³.

CONCLUSIONS

Les principals conclusions d'aquest treball es resumeixen a continuació:

1. La Genètica Forense és un camp molt ampli en constant creixement. Un 95,8% de les publicacions dedicades als STRs són aplicades a la Genètica Forense Humana, no obstant, durant els darrers anys s'ha anat desenvolupant la Genètica Forense No-Humana un camp més nou amb aplicacions menys habituals.
2. Els microsatèl·lits o STRs són els marcadors usats per excel·lència a la Genètica Forense Humana, a la Genètica Forense no-humana, tot i que cada cop s'empren més, en destaquen d'altres.
3. Partint de 50 informes pericials anonimitzats procedents del Laboratori de Genètica de la UIB, que implicaven 53 casos de paternitat (o maternitat) disputada, s'observa que un 82,7 % dels

casos van resultar en l'assignació de la paternitat biològica i un 17,3 % d'ells van correspondre a una exclusió de la paternitat.

4. A partir d'una anàlisi poblacional de 97 individus no emparentats implicats en els casos estudiats, es determinaren les freqüències al·lèliques de la població resident a Mallorca. Les freqüències al·lèliques mínimes dels diferents sistemes oscil·len en un rang entre 0,0017 i 0,2330.

5. Els 17 marcadors STRs analitzats es troben en equilibri de HW. No obstant, per als marcadors Penta E i Penta D apareixen desviacions significatives pe que fa el desequilibri de lligament.

6. Els valors de W per als 38 casos d'assignacions positives resultants de l'anàlisi dels 53 casos de filiació disputada inicials generalment són superiors al 99,99 %. En qualsevol cas superen els llindars establerts internacionalment per la interpretació verbal del percentatge de probabilitat de paternitat, i l'acreditació de la paternitat.

7. Els valors de W i IP obtinguts per a la població resident de Mallorca a partir de les freqüències al·lèliques obtingudes, són comparats amb els obtinguts per a la població de referència general (espanyola). Les diferències observades depenen dels al·lèls implicats en cada cas, ja que alguns difereixen més o menys entre les dues poblacions.

8. El valor de probabilitat que es pot assolir a les proves de DNA és generalment molt elevat, tot i que en casos d'anàlisi de parentiu complexos o incomplets disminueix significativament. La valoració correcta d'una prova implica diversos aspectes, entre ells, l'ús d'una correcta població de referència.

BIBLIOGRAFIA

1. Butler, J.M. Combined DNA Index System. *Forensic DNA Typing/Biology, Technology, and Genetics of STR Markers*. Elsevier, (2005).
2. Jiménez Moreno, S. La prueba del ADN: Aplicaciones forenses y su tramitación. Curso on line de Genética Forense. Universidad de Zaragoza. <https://www.unizar.es> [consulta: 2021].
3. Crespillo Márquez, M.C. & Caballero, P.A.B. Historia y evolución de la genética forense. Grupos de Trabajo de estandarización científica. *GENÉTICA FORENSE Del laboratorio a los Tribunales*, 1-16 (2019).
4. Roewer, L. DNA fingerprinting in forensics: Past, present, future. *Investig. Genet.*, **4**, (2013).
5. Gaeda, H. Algunos aspectos puntuales sobre la investigación biológica de la paternidad. Curso on line de Genética Forense. Universidad de Zaragoza. <https://www.unizar.es> [consulta: 2021].
6. Ellegren, H. Microsatellites: Simple sequences with complex evolution. *Nat. Rev. Genet.*, **5**, 435–445 (2004).
7. Fan, H. & Chu, J. Y. A Brief Review of Short Tandem Repeat Mutation. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, **5(1)**, 7-14 (2007).
8. Lander, E. S. *et al.* Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, **409**, 860–921 (2001).
9. Willems, T. *et al.* The landscape of human STR variation. *Genome Res.*, **24**, 1894–1904 (2014).
10. Jin, L. & Chakraborty, R. Population structure, stepwise mutations, heterozygote deficiency and their implications in dna forensics. *Heredity (Edinb)*, **74**, 274–285 (1995).
11. Urquhart, A. *et al.* Variation in Short Tandem Repeat sequences -a survey of twelve microsatellite loci for use as forensic identification markers. *Int. J. Legal Med.*, **107**, 13–20 (1994).
12. Lygo, J. E. *et al.* The validation of short tandem repeat (STR) loci for use in forensic casework. *Int. J. Legal Med.*, **107**, 77–89 (1994).
13. Crespillo Márquez, M.C. & Caballero, P.A.B. Marcadores STR autosómicos de interès forense: ampliació. *GENÉTICA FORENSE Del laboratorio a los Tribunales*, 161-184 (2019).
14. Pontes, L. *et al.* SNPs and STRs in forensic medicine. A strategy for kinship evaluation. *Archiwum medycyny sadowej i kryminologii*, **67**, 226–240 (2017).
15. Holland, M. *et al.* Short tandem repeat loci: application to forensic and human remains identification. *EXS*, **67**, 267–274 (1993).
16. Prinz, M. *et al.* Validation and casework application of a Y chromosome specific STR multiplex. *Forensic Sci. Int.*, **120**, 177–188 (2001).
17. Ayres, K. L. & Powley, W. M. Calculating the exclusion probability and paternity index for X-chromosomal loci in the presence of substructure. *Forensic Sci. Int.*, **149**, 201–203 (2005).
18. Convicted Offender/CODIS Program. Standard Operating Procedures. Washington State Patrol Crime Laboratory Division. *CODIS SOP Manual*, (2017).
19. Butler, J. M. Genetics and genomics of core short tandem repeat loci used in human identity testing. *J. Forensic Sci.*, **51**, 253–265 (2006).
20. Gill, P. *et al.* Identification of the remains of the romanov family by DNA analysis. *Nat. Genet.*, **6**, 130–135 (1994).

21. Ferragut, J.F. Genetic legacy of Sephardic Jews: paternal and maternal lineages of Chueta population. PhD thesis. University of Balearic Islands, Palma (2017).
22. Llegat genètic sefradita: llinatges paternes i materns de la població xueta. *Els jueus a les Balears: presència, expulsió i repressió*. Institut d'Estudis Balearics, Palma (2020).
23. Anònim. Launching Forensic Science International daughter journal in 2007: Forensic Science International: Genetics. *Forensic Sci. Int. Genet.*, **1**, 1-2 (2007).
24. Arenas, M. *et al.* Forensic genetics and genomics: Much more than just a human affair. *PLoS Genet.*, **13**, (2017).
25. Malewski, T. *et al.* Identification of forensically important blowfly species (Diptera: Calliphoridae) by high-resolution melting PCR analysis. *Int. J. Legal Med.*, **124**, 277–285 (2010).
26. Yang, C. H. *et al.* Single nucleotide polymorphism barcoding of cytochrome c oxidase I sequences for discriminating 17 species of Columbidae by decision tree algorithm. *Ecol. Evol.*, **7**, 4717–4725 (2017).
27. Lebonah, D. E. *et al.* DNA Barcoding on Bacteria: A Review. *Adv. Biol.*, **2014**, 1–9 (2014).
28. Li, X. *et al.* Plant DNA barcoding: from gene to genome. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.*, **90**, 157–166 (2015).
29. Poetsch, M. *et al.* Analysis of microsatellite polymorphism in red deer, roe deer, and fallow deer – Possible employment in forensic applications. *Forensic Sci. Int.*, **116**, 1-8 (2001).
30. Tsuji, A. *et al.* Unusual death of a baby: a dog attack and confirmation using human and canine STRs. *Int. J. Legal Med.*, **122**, 59–62 (2008).
31. van Asch, B. *et al.* Genetic profiles and sex identification of found-dead wolves determined by the use of an 11-loci PCR multiplex. *Forensic Sci. Int. Genet.*, **4**, 68–72 (2010).
32. Crespillo Márquez, M.C. & Caballero, P.A.B. Genética forense no humana. *GENÉTICA FORENSE Del laboratorio a los Tribunales*, 291-305 (2019).
33. Quesada González, Maria Corona. La prueba el ADN en los procesos de filiación. *Anuario de derecho civil*, 493-594 (2005).
34. Luque, J.A. Cálculos de paternidad: Casos simples y complejos. Curso on line de Genética Forense. Universidad de Zaragoza. <https://www.unizar.es> [consulta: 2021].
35. Excoffier, L. & H.E. L. Lischer. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Resour.*, **10**, 564-567 (2010).
36. Hamilton M. Population Genetics. 1st Ed. London: *Blackwell Publishing* (2009).
37. Muñoz, J.E. Diversidad genética, estructura poblacional y selección de clones superiores de *Guadua angustifolia* Kunth en la eco-región cafetera de Colombia. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Colombia, Palmira (2011).
38. Budowle, B. Estimación de las frecuencias alélicas mínimas para estimadores de frecuencias de perfiles genéticos para locus basados en PCR. *Int. J. Legal Med.*, **108**, 173-176 (1996).
39. Bland JM & Altman DG. Statistics notes: Multiple significance tests: the Bonferroni method. *BMJ*, **310**, 170 (1995).
40. Kling, Daniel, Tillmar, Andreas & Egeland, Thore. Familias 3 - Extensions and new functionality. *Forensic Sci. Int. Genet.*, **13**, 121-127 (2014).

41. Lagos L, Marcela *et al.* Conceptos básicos sobre el estudio de paternidad. *Revista médica de Chile*, **139(4)**, 542-547 (2011).
42. Annual Report Summary for Testing in 2008. Relationship Testing Program Unit PREFACE, American Association of Blood Banks (AABB), 2008.
43. Memòria 2015. Institut Nacional de Toxicologia y Ciencias Forense. Ministerio de Justicia. Gobierno de España. https://www.mjusticia.gob.es/es/ElMinisterio/OrganismosMinisterio/Documents/1292430762657-Memoria_INTCF_2015.PDF [consulta : 2021].
44. Annual Report Summary for Testing in 2013. Relationship Testing Program Unit PREFACE, American Association of Blood Banks (AABB), 2013.
45. Budowle, B. & Chakraborty, R. Population variation at the CODIS core short tandem repeat loci in Europeans. *Legal Med.*, **3**, 29–33 (2001).
46. Pérez-Lezaun, A. *et al.* Allele frequencies of 13 short tandem repeats in population samples from the Iberian Peninsula and Northern Africa. *Int. J. Legal Med.*, **113**, 208–14 (2000)
47. Hashiyada, M. *et al.* Polymorphism of 17 STRs by multiplex analysis in Japanese population. *Forensic Sci. Int.*, **133**, 250-253 (2003).
48. Base de dades de polimorfismes de DNA nuclear: <http://www.ghep-isfg/> [consulta: 2021].
49. Tomàs, C. *et al.* Genetic variability at nine STR loci in the Chueta (Majorcan Jews) and the Balearic population investigated by single multiplex reaction. *Int. J. Legal Med.*, **113**, 263-267 (2000).
50. Pérez-Miranda, A. M. *et al.* Genetic polymorphisms at 13 STR loci in autochthonous Basques from the province of Alava (Spain). *Leg. Med.*, **7**, 58-61 (2005).
51. Pérez-Miranda, A. M. *et al.* Genetic data on 13 STR loci in the Andalusian (South Spain) population. *Leg. Med.*, **7(3)**, 201-203 (2005).
52. Gjertson, DW. *et al.* ISFG: recommendations on biostatistics in paternity testing. *Forensic Sci. Int. Genet.*, **1(3-4)**, 223-231 (2007).
53. Hummel, K. & Gerchow, J. Biomathematical evidence of paternity. *Springer Berlin*, (1981).
54. Mojica Gómez, Liseth. La prueba técnica ADN en los procesos sobre filiación. *Estudios Socio-Juridicos*, **5(1)**, 250-265 (2003).
55. Jorquera, G. *et al.* Estudios de parentesco mediante marcadores del ADN: Experiencia en resolución de casos en los últimos seis años. *Rev. Med. Chil.*, **136(2)**, 193-200 (2008).