



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**RELACIONES GENÉTICAS DETERMINADAS CON
DNA MITOCONDRIAL EN POBLACIONES
MESOAMERICANAS CONTEMPORÁNEAS
MAZAHUA, OTOMÍ, LACANDONA, Y MAYA
ANTIGUA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

MAURICIO PÉREZ MARTÍNEZ



**DIRECTORA DE TESIS:
DRA. ANGÉLICA GONZÁLEZ OLIVER
2013**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

1. Datos del alumno
Apellido paterno
Apellido materno
Nombre(s)
Teléfono
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Carrera
Número de cuenta

2. Datos del tutor
Grado
Nombre(s)
Apellido paterno
Apellido materno

3. Datos del sinodal 1
Grado
Nombre(s)
Apellido paterno
Apellido materno

4. Datos del sinodal 2
Grado
Nombre(s)
Apellido paterno
Apellido materno

5. Datos del sinodal 3
Grado
Nombre(s)
Apellido paterno
Apellido materno

6. Datos del sinodal 4
Grado
Nombre(s)
Apellido paterno
Apellido materno

7. Datos del trabajo escrito
Título
Número de páginas
Año

1. Datos del alumno
Pérez
Martínez
Mauricio
58120126
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
304317626

2. Datos del tutor
Dra.
Angélica
González
Oliver

3. Datos del sinodal 1
M. en C.
Alfonso José
Vilchis
Peluyera

4. Datos del sinodal 2
M. en C.
María Isabel
De la Cruz
Laina

5. Datos del sinodal 3
M. en Antr.
Jorge Alfredo
Gómez
Valdés

6. Datos del sinodal 4
Lic.
Juan Alberto
Román
Berrelleza

7. Datos del trabajo escrito
Relaciones genéticas determinadas con DNA mitocondrial en poblaciones mesoamericanas contemporáneas mazahua, otomí, lacandona, y maya antigua
101 p
2013



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
Secretaría General
División de Estudios Profesionales

Votos Aprobatorios

DR. ISIDRO ÁVILA MARTÍNEZ
Director General
Dirección General de Administración Escolar
Presente

Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos revisado el trabajo escrito titulado:

Relaciones genéticas determinadas con DNA mitocondrial en poblaciones mesoamericanas contemporáneas mazahua, otomí, lacondona, y maya antigua

realizado por **Pérez Martínez Mauricio** con número de cuenta **3-0431762-6** quien ha decidido titularse mediante la opción de tesis en la licenciatura en **Biología**. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Propietario M. en C. Alfonso José Vilchis Peluyera

Propietario M. en C. María Isabel De la Cruz Laina

Propietario Dra. Angélica González Oliver
Tutora

Suplente M. en Antr. Jorge Alfredo Gómez Valdés

Suplente Lic. Juan Alberto Román Berrelleza

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, D. F., a 13 de marzo de 2013
EL JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ

Señor sinodal: antes de firmar este documento, solicite al estudiante que le muestre la versión digital de su trabajo y verifique que la misma incluya todas las observaciones y correcciones que usted hizo sobre el mismo.

MAG/mdm

DEDICATORIA.

A mi Madre.

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS.

A la Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

A la Dra. Angélica González Oliver por su trabajo, conocimientos y paciencia en la dirección y guía durante la realización de esta Tesis. Así como su trabajo experimental para la secuenciación de individuos mazahuas y otomíes, y la edición de éstas.

A la M. en C. María Isabel De la Cruz Laina por su enseñanza en la lectura de electroferogramas y edición de secuencias, un procedimiento básico y fundamental para la realización de este trabajo, y por su participación en la práctica experimental para la secuenciación de otomíes y mazahuas, y la edición de algunas de ellas.

Al Biólogo Ernesto Garfias Morales por la realización experimental para la obtención de secuencias de otomíes, y edición de éstas.

Al P. de Biol. Benjamin Cristian Corona Comunidad y al P. de Biol. Carlos Manuel Ponce de León Plascencia por la parte práctica de la secuenciación de individuos lacandones y mazahuas, respectivamente. Procedimiento fundamental para la realización de este estudio.

Al Dr. Alfonso Torre Blanco por sus diversos comentarios generales del trabajo.

Al M. en C. Alfonso José Vilchis Peluyera por sus comentarios y observaciones en cuestiones adicionales de Biología Molecular.

Al M. en Antr. Jorge Alfredo Gómez Valdés por sus comentarios y observaciones referentes a los análisis estadísticos y software bioinformáticos

Al Antropólogo Juan Alberto Román Berrelleza por sus comentarios en el campo de la Antropología.

A la Dra. Marina Sofía Ascunce del *Florida Museum of Natural History*, Universidad de Florida, EE.UU., por su ayuda en la interpretación de los datos de diversidad genética molecular.

A las personas pertenecientes a las comunidades indígenas que proporcionaron las muestras biológicas para la realización de este estudio, a quienes participaron en su obtención, y a las autoridades e instituciones civiles y religiosas que otorgaron su consentimiento y apoyo en la recolección de muestras.

Este trabajo contó con el apoyo de CONACyT No.: 101791. Mauricio Pérez Martínez fue becario.

AGRADECIMIENTOS Y MENCIONES PERSONALES.

A mi Mamá, la Señora Felisa Martínez García, más de la mitad del esfuerzo requerido para llegar hasta aquí es de ella.

A mis primos Raquel, Jorge Abraham (indudablemente también a Gaby), Marco Antonio y Liliana. A mis sobrinos Sebastián, Beto, Andrés, Emilio e Ivana; y a mis ahijados Leo y Toya.

A mis amigos del árbol: Andrea, Diego, Gabriel, Isabel, Juliana y Mónica. Así como a mis inolvidables amigos de primer semestre: Giovani, Karen, María y Tania.

A mis amigos de Faenza: Cinthya, Diana, Dora y Oscar, y Pedro. Y siempre a la compañía musical, en este *soundtrack* de la vida, de la Divina .

A mis amigos de la Factoría Escénica.

A mis compañeros del Laboratorio de Bioquímica: desde luego, del grupo de investigación en Antropología Molecular, y también del grupo de investigación en Biología Molecular y Celular de la Matriz Extracelular.

Y gracias a ti, Ricardo .

ÍNDICE

RESUMEN.	9
1. INTRODUCCIÓN.	11
1.1. Antropología Molecular.	11
1.2. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y Secuenciación Genómica.	11
1.3. Genoma Mitocondrial.	12
1.4. El Análisis del Genoma Mitocondrial en la Genética de Poblaciones.	13
1.5. El Poblamiento de América y el Establecimiento de los Haplogrupos Fundadores del mtDNA.	14
1.6. Evolución y Filogenética Molecular.	17
1.7. Software Bioinformático en Análisis Genéticos.	18
1.8. Antecedentes de las Poblaciones Indígenas Estudiadas.	20
1.8.1. Mazahuas.	22
1.8.2. Otomíes.	23
1.8.3. Mayas.	25
1.8.4. Lacandones.	28
1.9. Algunos Análisis Biológicos Realizados en las Poblaciones de Estudio.	30
2. OBJETIVOS.	32
2.1. Objetivo General.	32
2.2. Objetivos Particulares.	32
3. MÉTODO.	33
3.1. Extracción, Amplificación y Tipificación del mtDNA.	35
3.2. Análisis de Secuenciación de la RHI del mtDNA.	36

3.2.1. Amplificación de la RHI del mtDNA Mediante PCR.	36
3.2.2. Análisis Electroforético.	38
3.2.3. Purificación por Columnas Millipore.	38
3.2.4. Reacción de Secuenciación.	39
3.3. Análisis Estadístico de las Frecuencias de los Haplogrupos Fundadores del mtDNA.	39
3.3.1. Prueba estadística de Ji Cuadrada (X^2).	40
3.3.2. Análisis de Componentes Principales (ACP).	40
3.4. Análisis de Secuencias de la RHI del mtDNA (Haplotipos).	41
3.4.1. Edición de Secuencias.	41
3.4.2. Confirmación de la Tipificación de los Haplogrupos del mtDNA.	42
3.4.3. Alineamiento Múltiple de Secuencias.	43
3.4.4. Genética de Poblaciones.	44
3.4.5. Redes de Haplotipos.	46
4. RESULTADOS.	48
4.1. Haplogrupos Fundadores.	48
4.1.1. Prueba Estadística de Ji Cuadrada.	52
4.1.2. Análisis de Componentes Principales (ACP).	53
4.2. Análisis de la RHI del DNA Mitocondrial (Haplotipos).	56
4.2.1. Análisis de Genética de Poblaciones.	57
4.2.2. Construcción de Redes de Haplotipos.	65
5. DISCUSIÓN.	81
6. CONCLUSIONES.	87
BIBLIOGRAFÍA.	89

RESUMEN.

En el presente estudio se llevó a cabo el análisis estadístico de las frecuencias de los cuatro haplogrupos fundadores del ácido desoxirribonucleico mitocondrial (mtDNA): A, B, C y D; y de las secuencias de la región hipervariable I (RHI) en las poblaciones contemporáneas Lacandona, Mazahua y Otomí, y en la población Maya del periodo Colonial. Este trabajo incluye estudios previos realizados por el grupo de investigación de Antropología Molecular de la Facultad de Ciencias de la UNAM con el fin de realizar una integración para comprender mejor las relaciones genéticas entre los grupos indígenas del país.

Se compararon estadísticamente 31 Lacandones del Estado de Chiapas, 110 mazahuas y 36 otomíes del Estado de México, y 24 mayas coloniales de Xcaret, Quintana Roo para los principales haplogrupos del mtDNA. Se identificaron los haplotipos mitocondriales con base en la secuencia de la RHI de 31 Lacandones, 111 Mazahuas y 49 Otomíes. Además, se obtuvieron las bases de datos de los haplotipos de otras poblaciones indígenas mexicanas reportadas en la bibliografía. Se realizó el análisis estadístico comparativo para calcular diversidad nucleotídica (π), Theta S (θ_S), distancias Fst y diversidad haplotípica en las poblaciones de México. También se realizó un Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) agrupando a las poblaciones con base a su ubicación en las regiones culturales del Suroeste Americano o Mesoamérica. Se construyeron 4 redes, una de cada haplogrupo fundador, con los haplotipos de las poblaciones Lacandona, Mazahua

y Otomí de este estudio, y con los de Mayas de Campeche y Otomíes de Hidalgo que están relacionadas geográfica o culturalmente. También se construyó una red considerando los cuatro haplogrupos de las poblaciones Mazahua y Otomí del Estado de México, y Otomí de Hidalgo.

Las poblaciones analizadas en este estudio presentan los cuatro haplogrupos fundadores, excepto la población Lacandona que carece del haplogrupo B. El haplogrupo A es el más frecuente, excepto en la población Mazahua. Los resultados sugieren que la variación genética es ligeramente mayor en Mazahuas que Otomíes del Estado de México. Los Mazahuas son estadísticamente diferentes de los Otomíes, sin embargo, las redes de haplotipos muestran una relación genética entre los Mazahuas y Otomíes, así como los valores de F_{st} sugieren flujo génico entre ellas.

Los resultados indican una relación genética cercana entre las poblaciones de origen Maya, lo que apoya la hipótesis de continuidad genética, así como un probable origen maya de la población Lacandona a partir de éstas. Los Lacandones son los menos diversos genéticamente entre las poblaciones Mayas.

1. INTRODUCCIÓN.

1.1. Antropología Molecular.

La Antropología Molecular analiza la variabilidad genética presente en poblaciones humanas antiguas o contemporáneas a fin de identificar las relaciones genéticas entre ellas, así como su origen e historia evolutiva (procesos migratorios, mezclas, aislamientos, etc.), a través de la información codificada en proteínas y ácidos nucleicos (Stoneking, 2007; Sommer, 2008; Mann, 2009).

1.2. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y Secuenciación Genómica.

Un gran avance en las técnicas de Biología Molecular ocurrió en 1983 cuando Kary Mullis desarrolló la Reacción en Cadena de la Polimerasa o PCR por sus siglas en inglés (*Polymerase Chain Reaction*). La PCR consiste en la replicación *in vitro* del DNA utilizando una DNA-polimerasa termoestable, generando la producción exponencial de copias de un segmento nucleotídico específico (Alberts *et al.*, 2004). Por su sensibilidad, la PCR posibilita la amplificación de DNA a partir de una sola molécula, resultando de gran utilidad en el procesamiento de muestras biológicas que han sufrido deterioro por el paso del tiempo (Nelson y Cox, 2005).

Utilizando el método de secuenciación por dideoxinucleótidos es posible identificar la secuencia nucleotídica del DNA de manera automatizada. Aparatos robotizados llevan a cabo la mezcla de reactivos de la reacción de PCR, y la lectura del resultado final, es decir del electroferograma, mismo que es posible visualizar y almacenar fácilmente mediante un software informático especializado.

1.3. Genoma Mitocondrial.

La mitocondria es el organelo provisor de energía para la célula eucarionte. Por su origen procarionte endosimbiótico, la mitocondria posee un genoma propio (mtDNA) de forma duplo-helicoidal circular cerrada (Margulis, 1981, 1984; Margulis y Sagan, 1986; Bogenhagen y Clayton, 1974).

En 1981 Anderson y colaboradores obtuvieron la secuencia del genoma mitocondrial humano; posteriormente fue corregida por Andrews y colaboradores en 1999. Se estableció que la secuencia de referencia para el mtDNA humano posee una longitud de 16,569 nucleótidos, comenzando esta numeración en el sitio de origen de replicación de la cadena pesada¹. Del total del genoma mitocondrial 90% corresponde a la región codificante que alberga 37 genes, de los cuales 13 codifican para proteínas, 2 codifican para RNA ribosomales y 22 para RNA de transferencia (Anderson *et al.*, 1981). El mtDNA restante corresponde a la

¹ La distribución asimétrica de nucleótidos (G+C) en el mtDNA de los mamíferos permite distinguir una cadena “pesada” y una cadena “ligera” por centrifugación en gradientes alcalinos de CsCl y, por lo tanto, se puede hablar de un origen de replicación para la síntesis de la cadena pesada y un origen de replicación para la síntesis de la cadena ligera (Sheffler, 2008).

región no codificante, con aproximadamente 1,100 pares de bases, denominada Región Control; ésta contiene 2 subregiones altamente variables: la Región Hipervariable I y la Región Hipervariable II (RHI y RHII), comprendiendo la primera desde la posición 16,024 a 16,382, y la segunda desde la posición 57 a 371 (Meyer *et al.*, 1999).

1.4. El Análisis del Genoma Mitocondrial en la Genética de Poblaciones.

El mtDNA así como el Cromosoma Y humano son de gran utilidad en los estudios genéticos poblacionales debido a su modo de herencia uniparental: el mtDNA es heredado vía materna y el Cromosoma Y se hereda vía paterna. El mtDNA carece de eventos de recombinación, a diferencia del material genético nuclear, y posee una tasa de mutación 5 a 10 veces mayor que la del DNA nuclear (entre 0.19% y 3.2%/mda en la región codificante, y 8.4%/mda en la región no codificante). Aunque la RHII acumula mutaciones más rápido que la RHI, ésta última ha sido la más utilizada, posibilitando el rastreo de eventos tales como migración, mezcla y diferenciación en poblaciones consideradas genéticamente muy similares (Brown *et al.*, 1979; Greenberg *et al.*, 1983; Avise *et al.*, 1987; Avise, 1991; Francalacci, 1999; Stoneking, 2000). Gracias a este tipo de estudios se sugirió el origen africano del *Homo sapiens* y su dispersión en la Tierra (Stoneking y Soodyall, 1996; Templeton, 1997; Cavalli-Sforza, 1998). Una de las ventajas que tiene el mtDNA frente al Cromosoma Y es que el número de copias de éste es mucho mayor, una célula sólo tiene una copia del Cromosoma Y, en tanto que en una misma célula hay un número variable de mitocondrias, dependiendo del tejido en

cuestión y cada una de ellas posee de 2 a 10 copias de su DNA por lo tanto la recuperación y amplificación del mtDNA es más fácil. Una madre hereda el mtDNA a todos sus hijos independientemente de su sexo, mientras que un padre solo hereda el Cromosoma Y a sus hijos varones (Awise, 1991; Stoneking y Soodyall, 1996; Lell *et al.*, 1997; Bianchi *et al.*, 1998). En ambos casos, el análisis del mtDNA y/o del Cromosoma Y corresponde únicamente a una parte de la historia genética de las poblaciones, matrilineal o patrilineal.

Los estudios evolutivos se centran en el análisis de aquellas variaciones consideradas neutrales (Kimura, 1968; Wallace, 2007). La RHI se analiza fácilmente por secuenciación directa permitiendo la identificación de haplotipos en una población, es decir, variantes del DNA que contienen un conjunto de sitios polimórficos definidos por *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs), *Short Tandem Repeats* (STRs) también conocidas como microsatélites, deleciones, etc. El conjunto de haplotipos que comparten una o más mutaciones conforma un haplogrupo. El análisis de haplotipos y haplogrupos del mtDNA permite contrastar la variación genética entre las poblaciones con la información que aportan la Cultura, Historia, Lingüística, etc.

1.5. El Poblamiento de América y el Establecimiento de los Haplogrupos Fundadores del mtDNA.

En 1992 Torroni y colaboradores analizaron el mtDNA de varias poblaciones nativas americanas a fin de dilucidar el posible proceso de poblamiento del *Nuevo Mundo*. Mediante análisis de los *Restriction Fragment Length Polymorphisms*

(RFLPs) y basado en la comparación con la secuencia de referencia del mtDNA propusieron cuatro haplogrupos fundadores: A, B, C, y D.

El haplogrupo A se define por la ganancia de un sitio de corte para la enzima de restricción *HaeIII* en la posición nucleotídica 663 del mtDNA. Los haplogrupos C y D se definen por la pérdida de un sitio de corte para la enzima *HincII* en la posición 13,259 y *AluI* en el sitio 5,176, respectivamente. El haplogrupo B se define por la delección de una de las 2 copias de 9 pares de bases (CCCCCTCTA) entre las posiciones 8,272 y 8,289, en la región intergénica de los genes que codifican para la subunidad II de la enzima citocromo oxidasa (CO-II) y el RNA de transferencia del aminoácido lisina (tRNA^{lys}) (Torrioni *et al.*, 1992). Análisis posteriores propusieron la presencia de un quinto haplogrupo fundador llamado X, el cual se define por la transición C – T en la posición 16,223 y 16,278, la pérdida del sitio de corte para la enzima de restricción *DdeI* en la posición 1,715, y las ganancias de un sitio de corte para las enzimas *AccI* y *HaeIII* en las posiciones 14,465 y 16,517, respectivamente (Brown *et al.*, 1998). Existen individuos nativos americanos que no presentan ninguno de los cinco haplogrupos fundadores del mtDNA, los cuales conforman un grupo denominado “Otro” en la bibliografía (Bailliet *et al.*, 1994; Merriwether *et al.*, 1995; González-Oliver *et al.*, 2001).

Estos haplogrupos se encuentran distribuidos a lo largo de todo el Continente Americano entre las diferentes poblaciones humanas que lo habitan, y en bajas frecuencias en la parte noreste de Asia, donde los haplogrupos asiáticos N y M derivarían en los haplogrupos A y B, y C y D, respectivamente, apoyando la teoría

de la migración del *hombre* a través del Estrecho de Bering de un continente a otro (Schurr *et al.*, 1990; Torroni *et al.*, 1993; Tamm *et al.*, 2007). El número de eventos migratorios, el tamaño de la población migrante, la ruta seguida una vez dentro de tierras americanas y los tiempos en que se llevó a cabo el o los procesos migratorios, son tópicos que continúan en debate hoy día. Existen estudios que proponen una ola migratoria (Tamm, *et al.*, 2007; Kitchen *et al.*, 2008; Fagundes *et al.*, 2008), y aquellos que postulan tres olas migratorias correspondientes a la división tripartita de los lenguajes nativos americanos: Amerindio, Nadene y Esquimal-aleutiano (Greenberg *et al.*, 1986, 1987; Reich *et al.*, 2012).

En América la distribución de los haplogrupos fundadores se caracteriza por una alta frecuencia del haplogrupo A en el Norte con tendencia decreciente hacia el Sur. Por el contrario, los haplogrupos C y D presentan una alta frecuencia en el Sur con tendencia decreciente hacia el Norte (Merriwether *et al.*, 1995). En el caso del haplogrupo B, originalmente se propuso un patrón de frecuencia opuesto al haplogrupo A; posteriormente Lalueza *et al.* (1997) propuso que el haplogrupo B estaba restringido al área central del continente, sin embargo, recientemente Kemp *et al.* (2010) reportó una frecuencia más alta de este haplogrupo en la región cultural del Suroeste Americano con respecto a Mesoamérica.

Concretamente para Norteamérica se ha mencionado que la distribución de las frecuencias de los haplogrupos fundadores se puede atribuir a relaciones lingüísticas, geografías o culturales (Lorenz y Smith, 1996; Smith *et al.*, 1999). Específicamente entre grupos indígenas habitantes de México se observa una alta

frecuencia del haplogrupo A y B, y frecuencias muy bajas de los haplogrupos C y D (Torrioni *et al.*, 1994; González-Oliver *et al.*, 2001; Aguirre, 2007; Peñaloza *et al.*, 2007; De La Cruz *et al.*, 2008; Sandoval *et al.*, 2009; Acuña, 2010; Sánchez, 2010; Romero, 2010; Kemp *et al.*, 2010; Garfias, 2012).

1.6. Evolución y Filogenética Molecular.

De acuerdo con Li (1997), la Evolución Molecular comprende dos áreas de estudio: la Evolución de genes y proteínas durante el tiempo, así como los mecanismos responsables de tales cambios; y la reconstrucción de la historia evolutiva de genes y organismos (o Filogenética Molecular) inferida a partir de los datos moleculares.

La Filogenética Molecular (o Sistemática Molecular) es el estudio de las relaciones evolutivas entre organismos o genes mediante la combinación de datos moleculares (por ejemplo secuencias de ácidos nucleicos y/o proteínas) y técnicas estadísticas (Li, 1997).

Entre las diferentes áreas de investigación en Biología existen autores que cuestionan la confiabilidad de utilizar datos morfológicos, anatómicos, fisiológicos, paleontológicos o moleculares. Las posturas que favorecen el empleo de datos moleculares argumentan que éstos son más convincentes para el estudio evolutivo que los datos morfológicos o fisiológicos ya que evolucionan de forma más regular, son más sensibles a procedimientos y análisis cuantitativos, y se

encuentran abundantemente disponibles, por lo tanto proveen una imagen clara de las relaciones entre los organismos, y de manera particular, los datos moleculares han demostrado ser útiles en el estudio de las relaciones entre poblaciones humanas (Cavalli-Sforza y Edwards, 1967; Li, 1997; Page y Holmes, 1998).

1.7. Software Bioinformático en Análisis Genéticos.

Con el progreso en la secuenciación genómica y su disponibilidad en bases de datos internacionales como el *GeneBank* del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), la Biología Evolutiva ha podido traspasar barreras en el conocimiento de las relaciones entre los seres vivos, mediante el análisis de la secuencia del DNA a través de herramientas informáticas que hacen posible la comparación de las secuencias de nucleótidos: adenina, timina, guanina y citosina (A, T, G, C) entre diferentes muestras y su análisis bajo ciertos modelos de evolución y diversidad molecular (Excoffier, 2010; Asher, 2012). Existen numerosos programas informáticos para evaluar la diversidad genética, la mayoría se pueden obtener de forma gratuita en la Internet; y muchos desempeñan funciones similares, con diferencias en su *interface*, el tipo de ingreso y salida de datos, y el sistema operativo que posibilita su ejecución. En estos términos, la selección del programa a usar depende, en gran medida, de preferencias individuales, objetivos, tipo de datos, rapidez en el análisis, etc. (Labate, 2000).

El primer acercamiento para apreciar las diferencias entre secuencias de DNA es la comparación de éstas por medio del alineamiento, lo cual no requiere asumir ningún supuesto evolutivo (Asher, 2012). Los programas *Clustal*, *MacClade*, *BioEdit* o *DNA Aligment* pueden realizar este primer paso. Posteriormente se seleccionan los modelos evolutivos a utilizar que usualmente involucran matemáticas complejas para analizar secuencias del DNA con la finalidad de estudiar las relaciones filogenéticas entre poblaciones o especies relativamente cercanas, tal como la relación entre las poblaciones humanas. Por ejemplo, el *software Arlequin* posibilita el manejo y análisis de gran cantidad de datos moleculares como las secuencias de DNA, RFLPs, microsatélites, los cuales se analizan con diferentes modelos evolutivos: *Jukes y Cantor*, *Kimura 2P*, *Tajima y Nei*, *Tamura, Tamura y Nei*; cada uno implica el desarrollo de teorías estadísticas sofisticadas que permiten calcular diferentes variables de la genética de poblaciones como la Varianza Molecular (AMOVA), equilibrio Hardy-Weinberg, detección de loci bajo selección, diversidad molecular, estructura génica, comparación y diferenciación entre poblaciones, prueba de Mantel, etc. (Excoffier, 2005, 2009, 2010).

Las redes de haplotipos ofrecen una fácil determinación y representación de relaciones genéticas entre poblaciones. El *software Network* es utilizado para construir redes y árboles filogenéticos, inferir haplotipos ancestrales o posibles ramificaciones, y en algunos casos, puede ayudar a la datación de eventos. *Network* está desarrollado para construir árboles filogenéticos usando el principio de *máxima parsimonia*. Cuenta con dos opciones de construcción de redes:

Reduced median y *Median joining*, independiente una de la otra. La diferencia básica entre estas opciones es el tipo de datos a analizar, en la primera se utilizan datos binarios mientras que la segunda usa datos con múltiples estados (Bandelt *et al.*, 1999).

1.8. Antecedentes de las Poblaciones Indígenas Estudiadas.

México es un país caracterizado por una gran riqueza histórica y cultural; comprende las regiones culturales de Mesoamérica y parte del Suroeste Americano. El Suroeste Americano es la zona geográfica comprendida entre los Estados de Utah, Colorado, Nevada y Nuevo México (Estados Unidos) que se extiende hacia el sur a través de los Estados de Baja California y Durango en México, e incluso se ha llegado a considerar también los Estados de Nayarit y Jalisco (Beals, 1974; Cordell, 1997).

Kirchhoff (1952) reconoció a Mesoamérica como un área ocupada por diferentes poblaciones humanas que poseen un conjunto de características culturales en común, tales como la práctica del juego de pelota, estilos similares en cerámica, arquitectura, técnicas textiles, etc.; y cuyo límite ha fluctuado a través de la prehistoria llegando a superponerse con las fronteras definidas para el Suroeste Americano (Suárez, 1983; Hill, 2001).

Diferentes áreas en investigación antropológica han reconocido la importancia de las regiones culturales del Suroeste Americano y de Mesoamérica en conjunto, por

ejemplo, en la distribución actual de las lenguas indígenas pertenecientes a la familia lingüística Yuto-azteca, o en la dispersión del maíz presumiblemente desde Mesoamérica hacia el Suroeste Americano (Hedrick et al., 1974; Miller, 1983; Hill, 2001; Bellwood, 2000; Matson, 2002; Kemp *et al.*, 2010).



Figura 1.1. Regiones culturales del Suroeste Americano (naranja) y Mesoamérica (verde).
[Modificado de: <http://goo.gl/maps/rkprF>]

Además, en México existe una amplia diversidad poblacional; en buena medida, por las poblaciones indígenas (INEGI, 2004). El Censo Nacional de Población y Vivienda 2010 elaborado por el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, I.N.E.G.I., revela que en México habitan 6,913,362 personas indígenas, es decir el 6.2 % de la población total del país. El 90% se localiza en 12 Estados de las regiones Centro y Sureste del país, siendo Yucatán y Oaxaca las entidades con mayor porcentaje de población indígena.

A continuación se presentan algunos antecedentes de las poblaciones de estudio, también llamadas, con base en la Antropología Biológica, grupos poblacionales.

1.8.1. Mazahuas.

Los Mazahuas se distribuyen en Michoacán y en las zonas Norte, Centro y Oeste del Estado de México. La lengua mazahua se clasifica como parte del grupo Oto-mangué, tronco Otopame, familia Otomí-Mazahua, con variantes dialectales entendibles entre sus hablantes mazahuas (Scheffler, 1992).

No existe consenso alguno entre los especialistas acerca del origen del grupo Mazahua. Una de las versiones sugiere que formaron parte de una de las cinco tribus de migración Chichimeca hacia el Altiplano Central ocurrida en el año 538 a. de C. (Instituto Nacional Indigenista, 1982; González y Gutiérrez, 1999). Fray Bernardino de Sahagún se refiere a ellos como *“grupo de lenguaje muy diferente de otros, algunos hablantes del otomí, otros de náhuatl, y algunos más que entienden la lengua huasteca”*. Para Clavijero (1780) los Mazahuas descienden de los Otomíes, cuyas lenguas no son más que dos diferentes dialectos de una sola.

El significado de la palabra “mazahua” es incierto. Algunos sugieren que proviene del nombre del líder Mazatlitecutli que condujo a una de las cinco tribus antes referidas, o bien, por su lugar de origen, Mazahuacán, que deriva de *mazatl*, “venado”, “poseedores de venados”, “gente de venados”, “donde hay venados”, o

“los que hablan como venados”, en referencia a la forma despectiva en que los Otomíes se refieren a los Mazahuas (Soustelle, 1993; Sánchez, 1997).

En lengua mazahua se denominan a sí mismos como *nyâ t'o*, transcrito como *jñatio*, como *jnatrjo* (Boege, 2008), o cómo *hñáto*, que significa “los que hablamos o existimos” (Garduño, 1999). La población Mazahua al Censo 2010 es de 135,897 personas. Específicamente en el Estado de México habitan 116,240 personas Mazahuas (INEGI, 2011).

1.8.2. Otomíes.

El grupo poblacional Otomí se distribuye en los Estados de Veracruz, Querétaro, Puebla, Michoacán, Tlaxcala, Guanajuato, el centro de Hidalgo y el noreste del Estado de México (Scheffler, 1992). La población Otomí al Censo 2010 es de 284,992 personas a nivel Nacional, y 97,820 concretamente en el Estado de México (INEGI, 2011).

La lengua otomí se clasifica como parte del grupo Oto-mangue, tronco Otopame, familia Otomí-Mazahua, con variantes dialectales entendibles entre sus hablantes otomíes (Scheffler, 1992).

De acuerdo con los registros de Fray Toribio de Benavente (Motolinía), los grupos otomianos son descendientes de los chichimecas. El Historiador Hernando de

Alvarado Tezozómoc describe que el término chichimeca fue utilizado por los colonizadores para denominar a todas aquellas poblaciones que no hablaban náhuatl. La mayor parte de los autores españoles vieron a los otomíes a través de los ojos de los nahuas, repitiendo una visión negativa de ellos (Wright, 1994 cit. por Almaza y Castañeda, 2003).

El término *otomí* carece de certeza en su significado preciso. Se ha considerado como proveniente de *otocac*, “el que camina”, y *mitl*, “flecha”; lo mismo que se puede derivar de *totomitl*, “flechador de aves”. Con la conjunción de ambos significados, *otomí* podría significar “cazador que camina portando flechas”. O bien, haberse formado a partir de *otho*, “poseer nada” y *mi*, “establecerse”; interpretándose como “pueblo errante” (Soustelle, 1993). Sin embargo, los informantes nahuas de Fray Bernardino de Sahagún los muestran como torpes, toscos e inhábiles, refiriendo incluso a frases populares como “*¡Qué inhábil eres, eres como otomite!*”. De hecho, actualmente algunos miembros de este grupo prefieren el término *hñähñü* (“hablantes de otomí” o “gente otomí”), ya que a través de los siglos la palabra otomí ha sido usada en sentido vejatorio (Arzate, 1999; Wright, 1994 cit. por Almaza y Castañeda, 2003).

Algunos investigadores sugieren que los otomíes migraron a los valles centrales de México en tiempos post-teotihuacanos (Wright, 1994 cit. por Almaza y Castañeda, 2003). Establecidos inicialmente en Cuicuico y Copilco durante el Preclásico Tardío (400 a.C. – 150 d.C.) obligados a emigrar a Jilotepec por la erupción del volcán Xitle y posteriormente al Valle del Mezquital (Lastra, 2006).

También se ha propuesto que los Otomíes se asentaron en Tula antes de la llegada de los Toltecas, posteriormente formaron parte de este imperio hasta su caída (1168 d.C.) (INI, 1982). El común denominador es la visión de los Otomíes como un pueblo inferior, pobre y marginado, diferente en alguna manera a otros grupos de las culturas mesoamericanas, que no levantó monumentos importantes y que sufrió de dominio sucesivo (Wright, 1994 cit. por Almaza y Castañeda, 2003), siendo el dominio azteca el último hasta la llegada de los colonizadores españoles (Basauri, 1940 cit. por Wright, 1994 en Almaza y Castañeda, 2003).

Sea cual fuese su origen, Otomíes y Mazahuas han compartido el mismo territorio a lo largo de mucho tiempo y hablan lenguas cercanamente relacionadas, lo que sugiere cierta afinidad cultural, posiblemente confirmada por diversas crónicas desde tiempos de los primeros conquistadores y misioneros (Barrientos, 2004). Ambos pueblos fueron sometidos por otros, hasta finalmente ser tributarios de los Mexicas y unirse a ellos en la defensa contra los conquistadores españoles (Nolasco, 1999; Garduño, 1999; INI, 1982).

1.8.3. Mayas.

La cultura Maya se ha caracterizado por un conjunto de rasgos culturales, tales como la arquitectura monumental en centros ceremoniales, el desarrollo de una escritura jeroglífica y de un calendario de gran complejidad, la elaboración de

cerámica policromada, entre otros. Su distribución comprendió un territorio de aproximadamente 400 mil kilómetros cuadrados denominado Sureste Mesoamericano, el cual abarca gran parte de Chiapas y Tabasco, toda la península de Yucatán, Guatemala, Belice, parte de Honduras y de El Salvador, correspondiente, en general, con la distribución de los actuales pobladores que hablan lenguajes emparentados con el grupo lingüístico maya; los cuales alcanzaron su máximo esplendor durante el tiempo conocido como Periodo Clásico (Arellano *et al.*, 1997).

La conquista española en Mesoamérica se caracterizó por el sometimiento y explotación de pueblos indígenas a través del despojo en beneficio de los colonizadores, los Mayas no fueron excepción. En el aspecto religioso, los Mayas coloniales vivieron en torno a tres ejes: uno estrictamente apegado a la ortodoxia católica, otro desarrollado de manera popular e independiente de los Evangelizadores, a través de las llamadas Cofradías de los Santos (asociaciones espirituales y morales de ayuda mutua y cristianización) y los remanentes de algunos rituales prehispánicos que eran preservados secretamente (Bracamonte, 1994).

En cuanto al manejo de recursos, los Mayas Coloniales administraron tierras y bienes comunales (agua, montes y trabajo comunitario) a través de cabildos electos pero confirmados por alguna autoridad española. Sin embargo, también se reconocía la propiedad privada de parajes, ranchos y estancias. Asimismo, contaban con un fondo o caja monetaria para atender algunas necesidades

comunales como el hacer frente a crisis agrícolas y pagar los correspondientes tributos al Virreinato de la Nueva España (Bracamonte, 1994; Lohmeyer, 2012). Cabe mencionar que la zona maya carece de minas de oro y plata por lo que representó de antemano un problema para los conquistadores, quienes debieron buscar otras estrategias para beneficiarse del lugar. En este sentido, la figura de Encomienda (un tipo de recompensa a los conquistadores por sus servicios a la Corona Española) asignaba un pueblo a un colono español para servirle, obligando a los habitantes a aumentar sus producciones para ser entregadas a sus amos a base de castigos. Sin embargo, la proporción de habitantes españoles o criollos era mucho menor a la de los indígenas mayas, constituyendo así una minoritaria oligarquía (Lohmeyer, 2012). Durante los siglos XVII y XVIII se establecieron estancias ganaderas, las cuales ejercieron una gran presión hacia las tierras mayas; por un lado, numerosos litigios fueron emprendidos contra el despojo de tierras comunales, y por el otro, el ganado destruía milpas pertenecientes a los indígenas (Bracamonte, 1994).

A pesar de las condiciones desfavorables para los mayas en la época Colonial éstos fueron capaces de implementar mecanismos que permitieron la preservación de su cultura hasta nuestros días. En la actualidad el grupo indígena Maya cuenta con una población de 786,113 personas en México y se distribuye en los Estados de Campeche, Yucatán y Quintana Roo; en éste último habitan 177,979 personas Mayas (INEGI, 2011).

1.8.4. Lacandones.

Los lacandones son un grupo tribal de origen prehispánico. Sus miembros viven en pequeñas rancherías que se encuentran dispersas en la Selva Lacandona, la cual ocupa unos 10 mil kilómetros cuadrados en el noreste del Estado de Chiapas. Se dividen en tres grupos: el del norte, que es el mayor, situado a las orillas de las lagunas de Nahá, Metzabok y Peljá; el de Lacanjá, cerca del sitio arqueológico de Bonampak; y el de San Quintín, en las inmediaciones del lago del mismo nombre; habitando preferentemente en las márgenes de los ríos (Erosa, 1994).

El término lacandón se deriva de *lacamtun* (“gran peñón” en lengua ch’ol), utilizado por los españoles para llamar así a un grupo que habitaba la región. Después se extendió a los descendientes de éste y de los quejaches (de origen maya). Morley (1977) reconoce el tipo de vida lacandón en grupos pequeños, de no más de doce personas entre hombres, mujeres y niños, chozas de guano y palizada, y la práctica de la agricultura del maíz los asocia a los primeros mayas. Los lacandones se consideran originarios de la península de Yucatán y del Petén guatemalteco; emigraron durante diversos periodos hacia la selva chiapaneca huyendo de los intentos de congregarlos en pueblos coloniales, se piensa que se trataba de miembros de varias tribus que se distribuían en un área más extensa que alcanzaba hasta Belice constituyendo un primer grupo proto-lacandón resultado de la interacción entre estos grupos, y una vez constituidos, los

Lacandones no estuvieron completamente aislados de otros grupos mayas (Erosa, 1994; Palka, 2005).

Los principales portadores de la cultura Maya clásica de Tierras Bajas fueron primero los hablantes de Chol, seguidos después por los Yucatecos en el periodo de tiempo comprendido entre los años 300 – 900 d.C. (Campbell y Kaufman, 1985).

Woodward (1996) escribe que el lacandón es un dialecto del maya yucateco, y entre los grupos lacandones conocidos como del Sur y del Norte, difieren en lenguaje, tradiciones, patrones de residencia y religión, lo cual ha provocado que existan disputas políticas entre ellos; mientras que los grupos Najá del Norte continúan practicando la religión maya nativa (muchas de sus ceremonias están relacionadas con aquellas de los mayas clásicos), los lacandones Metzabok (también del Norte) se convirtieron a Adventistas del Séptimo Día, y los lacandones del sur se convirtieron al Protestantismo en 1950. Existe desacuerdo entre los investigadores acerca de si los lacandones actuales son descendientes directos de los mayas clásicos. Algunos dividen a los lacandones en Lacandones Históricos, que desaparecieron antes de 1700, que hablaban chol, y de origen Quejache (Villa, 1967) y los ancestros de los lacandones de hoy, que migraron desde Yucatán o Petén a inicios de 1850 y se asentaron en la región de Najá y estuvieron protegidos y aislados en la selva hasta 1870, fecha en que entraron en contacto con los comerciantes de caoba.

La lengua lacandona es mucho más parecida a la lengua original Maya que otros dialectos de Yucatán porque los lacandones no estaban sujetos a siglos de dominación política, cultural, religiosa y lingüística de los españoles coloniales y del Estado Mexicano (DoBeS, 2006).

No existe un dato exacto acerca del número de personas lacandonas, algunas informaciones estiman su número entre 300 y 650 (Scheffler, 1992; Gorodezky *et al.*, 2005).

1.9. Algunos Análisis Biológicos Realizados en las Poblaciones de Estudio.

Uno de los primeros estudios de carácter genético realizados en poblaciones mexicanas corresponde al descubrimiento de la variante de la proteína albúmina tipificada como *albúmina México* (AL*Mexico) (Melartin *et al.*, 1967; Franklin *et al.*, 1980), la cual ha sido reportada en baja frecuencia en todos los principales grupos lingüísticos de México (Smith *et al.*, 2000). También se han llevado a cabo estudios del sistema de grupos ABO sanguíneos y de diferentes sitios polimórficos del DNA en poblaciones tanto indígenas como mestizas (Gorodezky *et al.*, 2001; Buentello-Malo *et al.*, 2003), así como diversos estudios morfométricos en poblaciones contemporáneas y lugares arqueológicos.

En el grupo poblacional Mazahua se han hecho estudios de dermatoglifos, talla e índice cefálico, ceguera a los colores, percepción al sabor de la feniltiocarbamida, sistema sanguíneo ABO e intolerancia a la lactosa (Lagunas, 1984; Lagunas y

Jiménez, 1992, 1995; Flores, 1987). Sin embargo, debido a las limitaciones que estos marcadores tienen para explicar la relación biológica de grupos humanos muy cercanos entre sí, ninguno de ellos muestra diferencias genéticas significativas.

Montano *et al.* (2006) realizaron un estudio acerca de la predisposición genética al alcoholismo que deriva en prevalencia y mortalidad de los Otomíes, mediante al análisis genético de la frecuencia de los alelos *ADH1B*, *ALDH2*, y *CYP2E1*, correspondientes a las enzimas para el metabolismo del alcohol: alcohol-deshidrogenasa, aldehído-deshidrogenasa y citocromo P4502E1.

En los Mayas contemporáneos, existen estudios empleando el sistema de grupos sanguíneos ABO y Rh-hr que reportan una alta frecuencia del grupo O y Rh+, respectivamente (Comas, 1996).

Debido a la práctica de endogamia entre las personas de la población Lacandona, en ésta se reporta albinismo, enfermedades neurológicas, cataratas congénitas y otros problemas oftalmológicos (Gorodezky *et al.*, 2005).

2. OBJETIVOS.

2.1. Objetivo General.

Analizar los haplogrupos fundadores del mtDNA y los haplotipos de las secuencias de la RHI en las poblaciones contemporáneas Lacandona, Mazahua y Otomí, y Maya del periodo Colonial para entender las relaciones genéticas por vía materna que existen entre las poblaciones de México.

2.2. Objetivos Particulares.

1. Determinar las similitudes genéticas entre las poblaciones estudiadas y la que existe con otras poblaciones de México con base en las frecuencias de los haplogrupos fundadores (A, B, C y D) del mtDNA.
2. Identificar las cercanías génicas entre las poblaciones indígenas por medio de redes de haplotipos y variables de la genética de poblaciones.

3. MÉTODO.

Muestras de frotis bucal de individuos indígenas Mazahuas y Otomíes del Estado de México, y de Lacandones de Chiapas fueron recolectadas por la Dra. Angélica González Oliver y/o tesistas del Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Ciencias. Muestras de restos óseos de individuos Mayas del periodo Colonial de la zona arqueológica de Xcaret, Quintana Roo fueron obtenidas de la colección del Museo Nacional de Antropología e Historia, INAH-DAF a través de la Dra. Lourdes Márquez Morfín. El DNA fue recuperado de las muestras de frotis bucal o huesos, posteriormente se amplificaron los cuatro haplogrupos fundadores del mtDNA: A, B, C y D por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), los fragmentos amplificados se analizaron por restricción con enzimas específicas para cada haplogrupo fundador, y con electroforesis en geles de poliacrilamida al 12% (A, C y D) o 14% (B), se identificaron los principales haplogrupos del mtDNA en los individuos.

Todas las muestras de frotis bucal fueron proporcionadas voluntariamente por los individuos Lacandones, Mazahuas y Otomíes, quienes fueron apropiadamente informados acerca del uso de su muestra para este proyecto. Estas colectas se realizaron conforme a lo establecido por la UNESCO en la Declaración Internacional sobre los Datos Genéticos Humanos y en el marco del respeto a las etnias y su soberanía genética. Previo a la obtención de las muestras se obtuvo el consentimiento, informado y voluntario de las personas para participar en este proyecto de investigación científica así como para que las muestras

proporcionadas formen parte de la colección de muestras biológicas del grupo de Antropología Molecular del Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la UNAM.

En este estudio, y en otros previos realizados por el grupo de investigación de Antropología Molecular, se mantiene la confidencialidad de los datos personales garantizando la privacidad de los participantes conforme a las normas internacionales de los datos genéticos humanos, las cuales fueron dadas a conocer en forma clara y expresa a cada persona así como a las autoridades municipales, civiles y religiosas de las comunidades visitadas. En algunos lugares, donde sólo se habla el lenguaje nativo, participaron guías y/o traductores del grupo en cuestión.

Los individuos modernos de Mazahuas, Otomíes y Lacandones también fueron analizados para la RHI de la Región Control del mtDNA con el método de secuenciación directa para estudiar con mayor precisión las relaciones genéticas que existen entre las poblaciones.

En el presente trabajo de Tesis se realizó un re-análisis estadístico de los resultados obtenidos de las frecuencias de los principales haplogrupos fundadores del mtDNA, y por primera vez se hizo el análisis estadístico de las secuencias de la RHI de las tres poblaciones indígenas: Lacandones, Mazahuas y Otomíes. Este re-análisis excluyó a los individuos que no presentaron ninguno de los cuatro haplogrupos y que se agruparon con el nombre de "Otro". Algunos de los

individuos asignados al grupo “Otro” pudieran corresponder al haplogrupo fundador X o a otros marcadores (sitios polimórficos) que definan nuevos haplogrupos fundadores en América todavía sin identificar. Por lo tanto, debido a esta incertidumbre no pueden ser considerados en los análisis de los haplogrupos fundadores del mtDNA.

3.1. Extracción, Amplificación y Tipificación del mtDNA.

El DNA contemporáneo se extrajo utilizando el *QIAamp DNA Blood Mini Kit* de *Qiagen* siguiendo las recomendaciones del fabricante. La extracción fue realizada por estudiantes de Biología del Taller de Antropología Molecular o de la carrera de Antropología Física de la ENAH-INAH que realizaron sus tesis y/o Servicio Social en el Laboratorio de Bioquímica bajo la dirección del Dr. Alfonso Torre Blanco o de la Dra. Angélica González Oliver.

La información metodológica de los procesos de colecta, extracción, amplificación y tipificación de los haplogrupos del mtDNA se cita en las Tesis de licenciatura de Aguirre (2007): Lacandones; Romero (2010): Mazahuas y Otomíes; Sánchez (2010): Mazahuas, Otomíes y mestizos; y Garfias (2012): Lacandones, Otomíes y Mazahuas.

La información de la selección de los restos óseos de los individuos coloniales de Xcaret, Quintana Roo, de las precauciones generales realizadas en todos los procedimientos experimentales, de las condiciones de extracción y amplificación

del DNA antiguo por PCR para tipificar los haplogrupos A, B, C y D fueron citadas en De La Cruz *et al.* (2010).

3.2. Análisis de Secuenciación de la RHI del mtDNA.

Se amplificó por PCR la RHI del mtDNA y se analizó por secuenciación directa en 191 individuos seleccionados al azar, 31 lacandones, 111 mazahuas y 49 otomíes, los cuales habían sido previamente tipificados para los haplogrupos fundadores del mtDNA. El análisis práctico fue realizado por la M. en C. María Isabel De la Cruz Laina y por tesisistas de la carrera de Biología bajo la dirección de la Dra. Angélica González Oliver.

3.2.1. Amplificación de la RHI del mtDNA Mediante PCR.

Se amplificó el segmento específico de la RHI del mtDNA, correspondiente a 446 pares de bases ubicadas entre las posiciones nucleotídicas de 15,996 a 16,420 del genoma mitocondrial, con los *primers* mostrados en la siguiente tabla.

Tabla 3.1. *Primers* utilizados para la reacción de amplificación de la RHI del mtDNA.

Sitio del mtDNA	Coordenadas de los <i>primers</i>	Secuencia 5' a 3'	Referencia
RHI	L 15975 – 15996 H 16401 – 16420	CTCCACCATTAGCACCCAAAGC GTGGTAGGAGGCACTTTAGT	Vigilant <i>et al.</i> , 1989

L = cadena ligera. H = cadena pesada.

La amplificación se realizó en un volumen final de 25 μL con los reactivos indicados en la siguiente tabla.

Tabla 3.2. Reactivos y concentraciones utilizados para la amplificación de la RHI del mtDNA por PCR.

Reactivo	Concentración final	Volumen final en 25 μL
Amortiguador 10X	1X	2.5
dNTPs 10 mM	800 μM c/u	2.0
MgCl ₂ 50 mM	1.5 mM	0.75
Primer forward 10 μM	0.1 μM	0.25
Primer reverse 10 μM	0.1 μM	0.25
Platinum-Taq 5 U	0.5 U	0.1
dH ₂ O	-----	16.15
DNA	-----	3.0

μL = microlitros, mM = milimolar, μM = micromolar, U = unidades de enzima.

El programa de amplificación se realizó en el termociclador *Eppendorf Master Cycler Gradient* modelo AG22331. Las condiciones se establecen en la siguiente tabla. El programa de amplificación constó de 40 ciclos, cada uno integrado por las fases de desnaturalización, alineación y elongación (Saiki *et al.*, 1988).

Tabla 3.3. Condiciones de temperatura y tiempo utilizados en la amplificación de la RHI del mtDNA por PCR.

Fase	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Tiempo (minutos)
Desnaturalización inicial	94	5
Desnaturalización	94	1
Alineación	55	1
Elongación	72	1
Elongación final	72	7

Las fases en letras **negritas** se repiten 40 ciclos.

Se incluyeron controles negativos de amplificación, conteniendo éstos todos los reactivos excepto DNA, como control de contaminación del proceso.

3.2.2. Análisis Electroforético.

Los productos de PCR se analizaron en geles de poliacrilamida al 12%, colocando un volumen de 3 μL del amplificado de cada muestra. Se utilizó 1.5 μL del marcador de tamaño molecular conocido como DNA de bacteriófago $\Phi\text{-X174}$ digerido con la enzima de restricción *Hae III* para determinar el tamaño del producto amplificado. La electroforesis se corrió a 170 volts durante una hora. El gel fue teñido en solución de 0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ de bromuro de etidio durante 5 minutos de suave agitación constante para su visualización posterior con luz UV en el transiluminador.

3.2.3. Purificación por Columnas *Millipore*.

Los restantes 22 μL de los productos de PCR de la RHI se incubaron con las enzimas *EXO-SAP* a 37°C durante 15 minutos, y luego a 80°C por 15 minutos con la finalidad de eliminar residuos de *primers* y dNTPs en las reacciones. A cada columna *Millipore* se adicionó 378 μL de agua y 22 μL del producto de PCR para obtener un volumen final de 400 μL , posteriormente se siguió el protocolo recomendado por el fabricante para la purificación de los productos previo a la secuenciación.

3.2.4. Reacción de Secuenciación.

El producto de PCR de la RHI purificado se utilizó para la reacción de secuenciación basada en el método de Sanger *et al.* (1977) y utilizando el *Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems)*, cuya mezcla de reacción es de un volumen total de 12 μL por muestra incluyendo: 2.5 μL de amortiguador de secuenciación 2.5X, 1.5 μL de *Big Dye*, 2.0 μL de *primer* 15996, 3 μL del producto amplificado y 3.5 μL de agua. El producto de PCR de la reacción de secuenciación se purificó utilizando columnas Sephadex antes de la secuenciación.

La secuenciación automatizada fue realizada en los Institutos de Investigaciones Biomédicas y de Biología de la UNAM bajo la supervisión de la M. en C. Patricia De la Torre y la M. en C. Laura Márquez Valdemar, respectivamente utilizando el secuenciador *ABI Prism 310 (Applied Biosystems)*.

3.3. Análisis Estadístico de las Frecuencias de los Haplogrupos Fundadores del mtDNA.

Se llevó a cabo un re-análisis de datos de las frecuencias de los haplogrupos del mtDNA en un total de 200 individuos de los cuales 176 son contemporáneos correspondientes a 31 lacandones, 110 mazahuas y 35 otomíes, y los restantes 24 son individuos mayas antiguos del periodo Colonial.

3.3.1. Prueba Estadística de *Ji Cuadrada* (X^2).

Se realizó el análisis estadístico de *Ji Cuadrada* utilizando las frecuencias de los haplogrupos fundadores del mtDNA para comparar las cuatro poblaciones de este estudio entre ellas, y con otras poblaciones de México como son: Mayas prehispánicos de Xcaret, Quintana Roo (González-Oliver *et al.*, 2001), Mayas contemporáneos de Yucatán reportados por Torroni *et al.* (1994), y por Acuña (2010) y Garfias (2012), y de Campeche reportados por Sandoval *et al.* (2009) así como Otomíes de Hidalgo reportados por Peñaloza *et al.* (2007) y Sandoval *et al.* (2009) por su cercana relación geográfica o cultural. Las variables utilizadas se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 3.4. Valores utilizados en la prueba de *Ji Cuadrada*.

X ² ajustada (valor crítico)	7.815
Grados de libertad	3
Nivel de confianza	95%
Nivel de significación (α)	0.05%

3.3.2. Análisis de Componentes Principales (ACP).

Se realizó un Análisis de Componentes Principales utilizando las frecuencias de los haplogrupos fundadores del mtDNA con las cuatro poblaciones estudiadas y 32 poblaciones indígenas de México citadas en la literatura, cuyo tamaño de muestra haya sido mayor a 20 individuos, con el fin de representar gráficamente en dos dimensiones el grado de relación o similitud genética entre las poblaciones,

utilizando el complemento de análisis estadístico *XLSTAT* versión 2011 del programa *Microsoft Office Excel* 2010. Las frecuencias fueron normalizadas con la siguiente fórmula:

$$Z = \frac{(X_i - \bar{X})}{S}$$

Donde:

Z = Frecuencia normalizada

X_i = Frecuencia

\bar{X} = Media de las puntuaciones de la población

S = Desviación estándar de la población

3.4. Análisis de Secuencias de la RHI del mtDNA (Haplotipos).

3.4.1. Edición de Secuencias.

Se obtuvieron los resultados de la secuenciación del mtDNA de la RHI de 191 individuos que incluyen 31 lacandones, 111 mazahuas y 49 otomíes. Los archivos de electroferogramas fueron comparados con el segmento correspondiente a la RHI de la secuencia estándar del mtDNA humano y editados con el software *CodonCode* 3.0.1.

En los individuos que pertenecen al haplogrupo fundador B usualmente se interrumpe la reacción de secuenciación por un fenómeno llamado “*tartamudeo de la DNA-polimerasa*” que se origina por la mutación puntual T por C en la posición 16,189 que caracteriza a dicho haplogrupo. Este cambio crea un segmento polinucleotídico de citosinas ubicado desde la posición 16,184 a la 16,193 de la RHI que impide la elongación. Por lo tanto, se realiza la secuenciación en la dirección *forward* y *reverse*. Las dos secuencias se superponen (alinean) para determinar una secuencia consenso de cada individuo que presenta este caso.

3.4.2. Confirmación de la Tipificación de los Haplogrupos del mtDNA.

Con base en las secuencias obtenidas se corroboró el resultado de la tipificación de los cuatro haplogrupos fundadores obtenido por análisis de restricción. Se localizaron en la secuencia nucleotídica de cada individuo las mutaciones puntuales asociadas específicamente a cada haplogrupo (Tabla 3.5), de acuerdo con lo reportado por Kolman y Bermingham (1997).

Tabla 3.5. Sitios polimórficos específicos asociados a cada haplogrupo fundador.

Haplogrupo	Sitios Polimórficos
A	16,290 y 16,319
B	16,189 y 16,217
C	16,325 y 16,327
D	16,325

Se descartaron aquellos individuos en los cuales el resultado de la tipificación del haplogrupo fundador por análisis de restricción no coincidió con la identificación de los sitios polimórficos del haplogrupo en cuestión en la secuencia obtenida. La falta de corroboración en la tipificación del haplogrupo fue debido a un error humano durante el procesamiento de la muestra.

3.4.3. Alineamiento Múltiple de Secuencias.

Un total de 1,100 secuencias de la RHI de individuos pertenecientes a poblaciones indígenas mexicanas modernas fueron obtenidas a través del *Gene Bank* del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), de la información suplementaria de los artículos publicados por Sandoval *et al.* (2009) y Kemp *et al.* (2010), y de los resultados de este estudio.

Utilizando el software *MacClade* 4.08 se realizó el alineamiento múltiple de las 1,100 secuencias, considerando solamente 400 pares de bases correspondientes a las posiciones 16,001 a 16,400 de la RHI. Se obtuvieron los haplotipos del mtDNA para las poblaciones de este estudio: Lacandona, Mazahua y Otomí del Estado de México reportadas por Sandoval *et al.* (2009), Maya de Campeche, Mixteca y Triqui de Oaxaca, Nahuas de Xochimilco, Zitlala, Ixhuatlancillo y Necoxtla, Otomí de Hidalgo, Pima de Sonora, Purépecha de Michoacán y Tarahumara de Chihuahua; y reportadas por Kemp *et al.* (2010); Cora y Huichol de Nayarit, Mixteca, Mixe y Zapoteca de Oaxaca, Nahuas de Atocpan y Cuetzalan, y

Tarahumara de Durango. Conviene aclarar que en las bases de datos de las publicaciones antes citadas se encuentran disponibles un número menor de secuencias respecto al total de individuos reportados para cada población, por lo que en el presente trabajo se consideró un número menor de individuos para los análisis correspondientes a las secuencias de la RHI. La población Maya Colonial no se incluyó debido a un número muy pequeño de secuencias disponibles.

3.4.4. Genética de Poblaciones.

Los haplotipos determinados en las 22 poblaciones fueron analizados con el software *Arlequin* 3.5.1.2. para evaluar la composición genética de acuerdo con métodos estadísticos:

Diversidad nucleotídica (π), define la diversidad genética a nivel nucleotídico dentro de una población (Nei, 1987), con base en la fórmula:

$$\pi = \frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j<i} p_i p_j \hat{d}_{ij}}{L}$$

Donde L es el número de loci, p_i y p_j son las frecuencias de los nucleótidos i th y j th, y d_j es el número de diferencias.

Sitios segregantes Theta S de Watterson (θ_s), estima la variación genética basada en el número de sitios nucleotídicos polimórficos en una muestra de secuencias (Watterson, 1975) y se determina con base en la fórmula:

$$\theta_s = \frac{S}{n-1 \sum_{i=1}^n \frac{1}{i}}$$

Donde S es el número de sitios segregantes y n es el tamaño de muestra.

La diversidad haplotípica (H_d), se refiere a la cantidad exacta de haplotipos que existen en las poblaciones estudiadas (Nei, 1987) con base en la fórmula:

$$\hat{H} = \frac{n}{n-1} \left(1 - \sum_{i=1}^k p_i^2 \right)$$

Donde n es el número de copias génicas en la muestra, k es el número de haplotipos y p_i la frecuencia del haplotipo i -th en la muestra.

Valor medio de la diferencia de pares (Tajima, 1983):

$$\hat{\pi} = \frac{n}{n-1} \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^k p_i p_j \hat{d}_{ij}$$

Donde \hat{d}_{ij} es un estimado del número de mutaciones que han ocurrido desde la divergencia de haplotipos i y j , k es el número de haplotipos, p_i es la frecuencia del haplotipo i , y n es el tamaño de muestra.

Valores de F_{st} , indican el grado de similitud entre poblaciones permitiendo comparar de manera clara y cuantitativa la diferenciación de las poblaciones (Tajima y Nei, 1984).

Adicionalmente, se calcularon los valores de Diversidad Nucleotídica (π) y Theta S (θ_s) en las poblaciones Lacandona, Mazahua y Otomí del Estado de México considerando cada haplogrupo del mtDNA por separado, utilizando los haplotipos relacionados con cada haplogrupo.

Se efectuó un Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) considerando las variables de agrupación, región geográfica, y regiones culturales: Mesoamérica y el Suroeste Americano.

3.4.5. Redes de Haplotipos.

Se construyeron 4 redes de haplotipos con los individuos correspondientes a cada uno de los haplogrupos fundadores, utilizando el software *Network* 4.6.1.0 y empleando la opción de construcción de redes *Median Joining*, asignando un peso

de 10 por *default* a todos los sitios, así como el valor de 1 para transiciones y transversiones por igual de acuerdo con Kemp *et al.* (2010).

Inicialmente se realizó una red de los 4 haplogrupos fundadores (A, B, C, D) con las 1,100 secuencias de la RHI, sin embargo la red mostró demasiadas reticulaciones, es decir, mutaciones paralelas u homoplasias en forma de círculo debidas a mutaciones en un sitio nucleotídico que ocurren dos veces en la red en diferentes tiempos (Bandelt *et al.*, 1999); este fenómeno hacía poco práctica la interpretación de dicha red inicial. Posteriormente, se realizó una red del haplogrupo A, el más frecuente en México, con todas las poblaciones (22), la cual también mostró muchas reticulaciones por lo que ambas redes fueron descartadas. En consecuencia, a fin de evitar o disminuir la reticulación en las redes, éstas se realizaron para cada uno de los haplogrupos fundadores incluyendo solamente poblaciones del mismo grupo cultural que las analizadas en el presente estudio (2 poblaciones Otomíes, 1 Mazahua, 1 Lacandón y 1 Maya). También se realizó una quinta red considerando los 4 haplogrupos fundadores de tres poblaciones: Mazahua y 2 Otomíes que pertenecen a la misma familia lingüística (Oto-mangue).

4. RESULTADOS.

4.1. Haplogrupos Fundadores.

La tabla 4.1 muestra las frecuencias de los haplogrupos fundadores en 200 individuos que pertenecen a las poblaciones contemporáneas: Lacandona, Mazahua y Otomí, y a la población Maya del periodo Colonial. El haplogrupo A fue el más frecuente en las poblaciones analizadas, excepto en la población Mazahua.

Tabla 4.1. Frecuencias de los haplogrupos fundadores del mtDNA (%) en las poblaciones analizadas.

Población	n	A	B	C	D	Localidad	Referencia
Lacandona	31	87.0	0.0	6.5	6.5	Chiapas	Este estudio (Garfias, 2012; González-Oliver, 2011; Aguirre, 2007)
Maya Colonial	24	67.0	4.0	17.0	12.0	Xcaret, Quintana Roo	Este estudio (De La Cruz <i>et al.</i> , 2010; Torre Blanco, 2012 comunicación personal)
Mazahua	110	29.0	33.7	14.5	22.8	Estado de México	Este estudio (Garfias, 2012 González Oliver, 2012; comunicación personal)
Otomí	36	55.6	19.4	13.9	11.1	Estado de México	Este estudio (Garfias, 2012; González Oliver, 2012 comunicación personal)

La Tabla 4.2 presenta las frecuencias de los haplogrupos fundadores del mtDNA en poblaciones indígenas contemporáneas y antiguas de México incluyendo las poblaciones de este estudio. En general, el haplogrupo A fue el más frecuente. Sin embargo, el haplogrupo B presentó la mayor frecuencia en las poblaciones

Mazahua (este estudio), Cora, Huichol, Nahuas de Atocpan (Kemp *et al.*, 2010), Nahuas de Necoxtla (Sandoval *et al.*, 2009), y Tarahumara de Chihuahua (Peñaloza *et al.*, 2007). Los haplogrupos A y B estuvieron presentes en todas las poblaciones con excepción de la población Lacandona que carece del haplogrupo B. El haplogrupo C presentó la mayor frecuencia en la población Pima y está ausente en las poblaciones Nahuas de Ixhuatlancillo y Coyolillo (Peñaloza *et al.*, 2007), en Triqui y Nahuas de Necoxtla (Sandoval *et al.*, 2009). El haplogrupo D estuvo ausente en 8 de 36 poblaciones mostrando las frecuencias más bajas de los 4 haplogrupos; la población Mazahua mostró la mayor frecuencia en este haplogrupo.

Tabla 4.2. Frecuencias de los haplogrupos fundadores en poblaciones indígenas mexicanas (%).

Población	n	A	B	C	D	Localidad	Clave	Referencia
Lacandona	31	87.1	0.0	6.5	6.5	Chiapas	LC	Este estudio (Garfias, 2012; González-Oliver, 2011; Aguirre, 2007)
Maya Colonial	24	67.0	4.0	17.0	12.0	Xcaret, Quintana Roo	MY-1	Este estudio (De La Cruz <i>et al.</i> , 2010; Torre Blanco, 2012 comunicación personal)
Mazahua	110	29.1	33.6	14.5	22.7	Estado de México	MZ	Este estudio (Garfias, 2012; González Oliver, 2012; comunicación personal)
Otomí 1	35	57.1	20.0	14.3	11.4	Estado de México	OT-1	Este estudio (Garfias, 2012; González Oliver, 2012 comunicación personal)

Tabla 4.2. Cont.

Azteca Prehispánica	23	65.2	13.0	4.3	17.4	Tlatelolco, D.F.	AZ	Kemp <i>et al.</i> , 2005
Cora	72	30.6	51.4	13.9	4.2	Nayarit	CR	Kemp <i>et al.</i> , 2010
Huichol	62	30.6	53.2	16.1	0.0	Nayarit	HC	Kemp <i>et al.</i> , 2010
Maya Prehispánica	24	87.5	4.2	8.3	0.0	Xcaret, Quintana Roo	MY-2	González - Oliver <i>et al.</i> , 2001
Maya Contemporánea	26	53.8	23.1	15.4	7.7	Yucatán	MY-3	Torróni <i>et al.</i> , 1994
Maya Contemporánea	130	75.4	9.2	12.3	3.1	Yucatán	MY-4	Acuña, 2010; Garfias, 2012
Maya Contemporánea	52	61.5	17.3	15.4	5.8	Campeche	MY-5	Sandoval <i>et al.</i> , 2009
Mixe	52	30.8	28.8	28.8	11.5	Oaxaca	MX	Kemp <i>et al.</i> , 2010
Mixteca 1	67	67.2	20.9	7.5	4.5	Oaxaca	MT-1	Kemp <i>et al.</i> , 2010
Mixteca 2	27	48.1	40.7	7.4	3.7	Oaxaca	MT-2	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Mixteca 3	29	82.8	10.3	6.9	0.0	Oaxaca	MT-3	Torróni <i>et al.</i> , 1994
Mixteca 4	19	78.9	10.5	5.3	5.3	Oaxaca	MT-4	Sandoval <i>et al.</i> , 2009
Nahua 1	50	38.0	40.0	18.0	4.0	Atocpan, D.F.	NH-1	Kemp <i>et al.</i> , 2010
Nahua 2	59	47.5	35.6	11.9	5.1	Atocpan, D.F.	NH-2	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Nahua 3	43	72.1	18.6	9.3	0.0	Xochimilco, D.F.	NH-3	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Nahua 4	46	63.0	19.6	15.2	2.2	Cuetzalan, Puebla	NH-4	Lorenz y Smith, 1996; Malhi <i>et al.</i> , 2002; Kemp <i>et al.</i> , 2010
Nahua 5	47	55.3	27.7	0.0	17.0	Ixhuatlancillo, Veracruz	NH-5	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Nahua 6	35	74.3	8.6	0.0	17.1	Coyolillo, Veracruz	NH-6	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Nahua 7	37	51.4	40.5	8.1	0.0	Necoxtla, Veracruz	NH-7	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Nahua 8	41	46.3	34.1	7.3	12.2	Chilacachapa, Guerrero	NH-8	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Nahua 9	46	65.2	30.4	2.2	2.2	Zitlala, Guerrero	NH-9	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Nahua 10	35	77.1	14.3	8.6	0.0	Xochimilco, D.F.	NH-10	Sandoval <i>et al.</i> , 2009
Nahua 11	25	48.0	52.0	0.0	0.0	Necoxtla, Veracruz	NH-11	Sandoval <i>et al.</i> , 2009

Tabla 4.2. Cont.

Nahua 12	14	100	0.0	0.0	0.0	Zitlala, Guerrero	NH-12	Sandoval <i>et al.</i> , 2009
Nahua 13	10	40	10	30	20	Ixhuatlancillo, Veracruz	NH-13	Sandoval <i>et al.</i> , 2009
Otomí 2	35	60.0	20.0	11.4	8.6	Hidalgo	OT-2	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Otomí 3	68	39.7	25.0	29.4	5.9	Hidalgo	OT-3	Sandoval <i>et al.</i> , 2009
Pima	98	11.2	3.1	83.7	1.0	Sonora	PM	Sandoval <i>et al.</i> , 2009
Purépecha 1	37	56.8	21.6	16.2	5.4	Michoacán	PR-1	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Purépecha 2	34	58.8	8.8	23.5	8.8	Michoacán	PR-2	Sandoval <i>et al.</i> , 2009
Tarahumara 1	52	9.6	42.3	38.5	9.6	Chihuahua	TR-1	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Tarahumara 2	73	34.2	28.8	31.5	5.5	Durango	TR-2	Kemp <i>et al.</i> , 2010
Tarahumara 3	15	13.3	6.7	73.3	6.7	Chihuahua	TR-3	Sandoval <i>et al.</i> , 2009
Triqui	107	72.0	28.0	0.0	0.0	Oaxaca	TQ	Sandoval <i>et al.</i> , 2009
Tzeltal	35	60.0	14.3	14.3	11.4	Chiapas	TZ	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Zapoteca	85	42.4	22.4	29.4	5.9	Oaxaca	ZP	Kemp <i>et al.</i> , 2010

La Figura 4.1 muestra las frecuencias de haplogrupos del mtDNA de 10 poblaciones indígenas contemporáneas y antiguas interrelacionadas culturalmente y/o históricamente, y su ubicación geográfica.

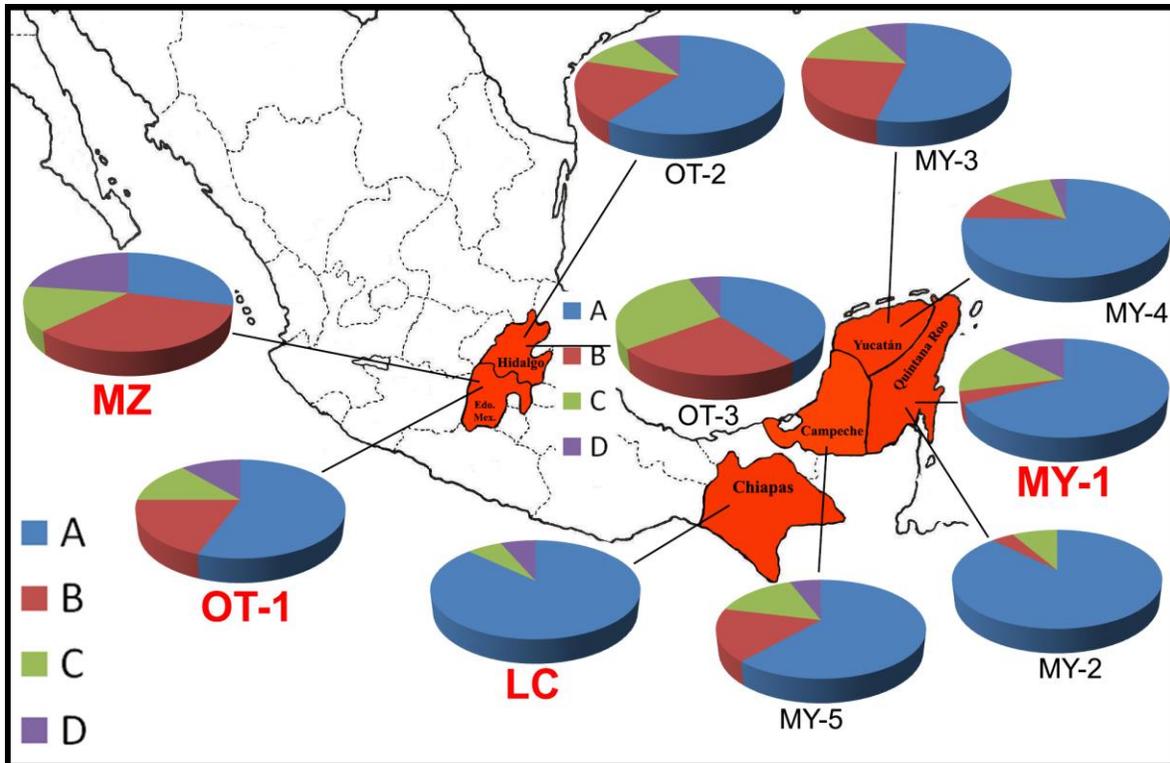


Figura 4.1. Localización geográfica de las poblaciones indígenas analizadas y representación gráfica de sus frecuencias de haplogrupos. En rojo las poblaciones analizadas en este estudio.

4.1.1. Prueba Estadística de *Ji Cuadrada*.

Se utilizó la prueba estadística de *Ji Cuadrada* para comparar las frecuencias de los haplogrupos del mtDNA entre las cuatro poblaciones estudiadas y con otras poblaciones indígenas de México reportadas en la bibliografía. La población Mazahua fue estadísticamente diferente de las poblaciones Otomí, Maya Colonial y Lacandona, mientras que las tres poblaciones Otomíes también fueron estadísticamente diferentes de los Lacandones. Las dos poblaciones Otomíes de Hidalgo fueron estadísticamente diferentes de los Mazahuas, pero no de los Otomíes del Estado de México. Las poblaciones Mayas modernas de Yucatán

(Acuña, 2010) y Campeche fueron estadísticamente diferentes de los Mazahuas.

La tabla 4.3 muestra los valores de probabilidad

Tabla 4.3. Valores de probabilidad del análisis de *Ji Cuadrada* en poblaciones indígenas mexicanas.

	LC	MZ	MY-1	OT-1	MY-2	MY-3	MY-4	MY-5	OT-2	OT-3
LC	1.0000	0.0000	0.2779	0.0215	0.4063	0.0152	0.1841	0.0376	0.0383	0.0001
MZ	0.0000	1.0000	0.0020	0.0293	0.0000	0.0733	0.0000	0.0003	0.0093	0.0024
MY-1	0.2779	0.0020	1.0000	0.4049	0.2268	0.2803	0.1662	0.3643	0.3565	0.0318
OT-1	0.0215	0.0293	0.4049	1.0000	0.0522	0.9584	0.0468	0.8067	0.9666	0.1855
MY-2	0.4063	0.0000	0.2268	0.0522	1.0000	0.0558	0.5697	0.1246	0.0964	0.0009
MY-3	0.0152	0.0733	0.2803	0.9584	0.0558	1.0000	0.0954	0.9024	0.9490	0.4868
MY-4	0.1841	0.0000	0.1662	0.0468	0.5697	0.0954	1.0000	0.2546	0.1293	0.0000
MY-5	0.0376	0.0003	0.3643	0.8067	0.1246	0.9024	0.2546	1.0000	0.9041	0.1047
OT-2	0.0383	0.0093	0.3565	0.9666	0.0964	0.9490	0.1293	0.9041	1.0000	0.1248
OT-3	0.0001	0.0024	0.0318	0.1855	0.0009	0.4868	0.0000	0.1047	0.1248	1.0000

En rojo las poblaciones analizadas en este estudio. En azul los valores que presentan diferencias estadísticas $p \leq 0.05$.

4.1.2. Análisis de Componentes Principales (ACP).

La Tabla 4.4 muestra los resultados del ACP de los valores propios de los factores F1, F2, F3 y F4 derivados de las cuatro variables (haplogrupos fundadores del mtDNA), el porcentaje de variabilidad de cada factor, y el correspondiente acumulado de éstos. Los factores 1 y 2 representan el 74.33% de la variabilidad, por lo que el gráfico en dos dimensiones puede considerarse confiable.

En la figura 4.2 se observa que la población Mazahua está genéticamente lejana de la población Otomí del Estado de México. La población Mazahua muestra una mayor relación genética con la población Otomí de Hidalgo analizada por Sandoval *et al.* (2009) que con la otra población Otomí también del Estado de Hidalgo (Peñaloza *et al.*, 2007) mientras que la población Otomí del Estado de México está cercanamente más relacionada con la población Otomí de Hidalgo analizada por Peñaloza *et al.* (2007) que con la población Otomí de Sandoval *et al.* (2009).

Comparando a los Mazahuas con las diferentes poblaciones Nahuas, los primeros presentan mayor cercanía genética con los Nahuas de Atocpan y de Chilacachapa. La población Otomí del Estado de México presenta cercanía genética con las poblaciones Maya de Campeche, Tzeltal y Azteca de Tlatelolco.

Los Mayas Coloniales muestran cercanía genética con los Purépechas (Sandoval *et al.*, 2009) y Lacandones; y éstos a su vez con los Nahuas de Coyolillo y Mayas Prehispánicos.

También se observa que existe una estrecha relación genética entre cada par de poblaciones: Tarahumaras (Chihuahua y Durango), Mixtecos [Torróni *et al.* (1994) y Kemp *et al.* (2010)] y de Nahuas de Xochimilco [Peñaloza *et al.*, (2007) y Sandoval *et al.*, (2009)] y de Atocpan [Peñaloza *et al.*, (2007) y Kemp *et al.*, (2010)].

4.2. Análisis de la RHI del DNA Mitocondrial (Haplotipos).

Se obtuvieron 191 secuencias de la RHI del mtDNA de las poblaciones Lacandona, Mazahua y Otomí que incluyen 31 de lacandones, 111 de mazahuas y 49 de otomíes. Se obtuvo un total de 83 haplotipos que corresponden a 5 de lacandones, 51 de mazahuas y 27 de otomíes.

La figura 4.3 muestra el alineamiento múltiple de algunas secuencias de la RHI del mtDNA del haplogrupo A.

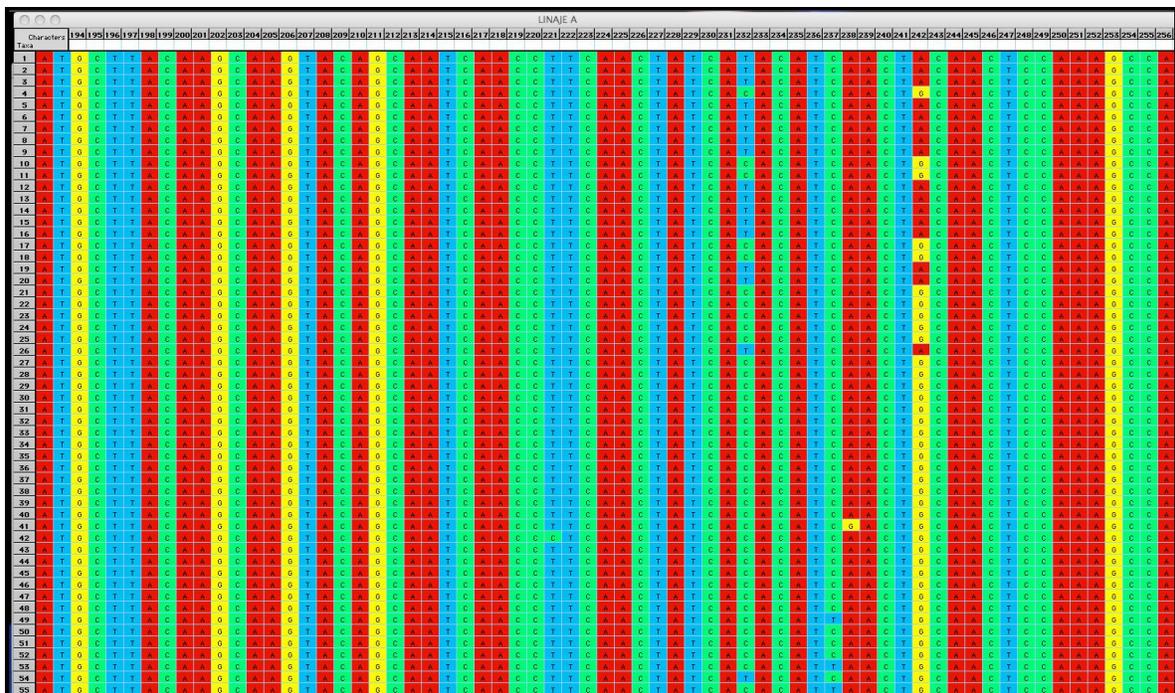


Figura 4.3. Alineamiento múltiple de secuencias nucleotídicas de la RHI del mtDNA. Alineamiento correspondiente al haplogrupo A.

4.2.1. Análisis de Genética de Poblaciones.

La Tabla 4.5 muestra los valores obtenidos de diversidad genética molecular basados en 1,100 secuencias de la RHI del mtDNA (415 haplotipos) de 22 poblaciones contemporáneas de México. Ciento noventa y un secuencias fueron obtenidas en este estudio de las poblaciones Lacandona, Mazahua y Otomí, 476 fueron referidas en el artículo de Sandoval *et al.*, 2009 y las restantes 433 del GenBank (números de acceso: EU719668, EU719794, EU719917, EU719966, EU720031, EU72075, EU720222, EU720278) (Kemp *et al.*, 2010).

Tabla 4.5. Diversidad genética molecular del mtDNA de 22 poblaciones contemporáneas de México.

Población	<i>n</i>	Número de haplotipos (A, B, C, D)	Número de haplotipos únicos	Diversidad de Haplotipo	Diversidad Nucleotídica (π)	Número de sitios polimórficos	Theta S (θ_s)	Valor medio de la diferencia de pares
Lacandona	31	5 (3/0/1/1)	3	0.6409 +/- 0.0626	0.00871 +/- 0.005077	15	3.75471	3.484
Mazahua	111	51 (23/9/10/9)	26	0.9604 +/- 0.0087	0.015686 +/- 0.008306	53	10.03363	6.274
Otomí 1	49	27 (16/3/5/3)	13	0.9524 +/- 0.0167	0.013134 +/- 0.007168	38	8.52248	5.253
Cora	68	25 (5/14/5/1)	14	0.9390 +/- 0.0145	0.015819 +/- 0.008423	31	6.47269	6.296
Huichol	56	13 (5/5/3/0)	5	0.8779 +/- 0.0204	0.013820 +/- 0.007485	22	4.78926	5.5
Maya 5	52	20 (12/2/4/2)	8	0.9223 +/- 0.0208	0.014791 +/- 0.007962	29	6.41761	5.916
Mixe	49	15 (6/6/2/1)	8	0.9065 +/- 0.0215	0.017008 +/- 0.009047	27	6.05544	6.786
Mixteca 1	65	26 (14/8/2/2)	14	0.9558 +/- 0.0093	0.014902 +/- 0.007987	33	6.95632	5.931

Tabla 4.5. Cont.

<i>Mixteca 4</i>	19	10 (6/2/1/1)	4	0.8246 +/- 0.0836	0.009638 +/- 0.005661	19	5.43617	3.855
<i>Nahua 1</i>	43	28 (11/12/5/0)	14	0.9623 +/- 0.0171	0.018280 +/- 0.009693	40	9.24483	7.276
<i>Nahua 4</i>	27	19 (14/2/3/0)	13	0.9687 +/- 0.0195	0.015811 +/- 0.008619	33	8.5616	6.308
<i>Nahua 10</i>	35	21 (14/4/3/0)	10	0.9277 +/- 0.0338	0.013226 +/- 0.007275	34	8.25601	5.29
<i>Nahua 11</i>	25	14 (4/10/0/0)	6	0.9100 +/- 0.0433	0.014606 +/- 0.008049	23	6.09117	5.842
<i>Nahua 12</i>	14	5 (5/0/0/0)	1	0.5934 +/- 0.1438	0.003915 +/- 0.002784	10	3.14452	1.566
<i>Nahua 13</i>	10	8 (3/1/2/2)	3	0.9556 +/- 0.0594	0.018487 +/- 0.010686	22	7.77669	7.395
<i>Otomí 3</i>	68	32 (16/8/6/2)	8	0.9666 +/- 0.0082	0.016954 +/- 0.008965	39	8.14306	6.782
<i>Pima</i>	97	7 (1/1/4/1)	2	0.5442 +/- 0.0564	0.007439 +/- 0.004346	16	3.10875	2.975
<i>Purépecha 2</i>	34	23 (13/3/5/2)	16	0.9733 +/- 0.0138	0.016714 +/- 0.008988	38	9.29368	6.685
<i>Tarahumara 2</i>	54	12 (5/4/2/1)	7	0.8330 +/- 0.0329	0.014590 +/- 0.007863	19	4.16949	5.807
<i>Tarahumara 3</i>	15	7 (2/1/3/1)	4	0.7714 +/- 0.1001	0.012223 +/- 0.007075	22	6.76598	4.889
<i>Triqui</i>	107	15 (5/10/0/0)	8	0.5482 +/- 0.0564	0.010855 +/- 0.005992	28	5.33805	4.342
<i>Zapoteca</i>	71	32 (17/6/7/2)	17	0.9614 +/- 0.0095	0.017842 +/- 0.009390	48	9.93205	7.101

Tabla 4.6. Valores de Diversidad Nucleotídica (π) y Theta S (θ_s) por cada haplogrupo fundador del mtDNA en tres poblaciones indígenas de México.

A	Lacandón (27)	Mazahua (46)	Otomí (33)
π	0.003978 +/- 0.002715	0.007074 +/- 0.004218	0.006301 +/- 0.003870
θ_s	1.03777	5.68835	5.42073
B	Lacandón (0)	Mazahua (13)	Otomí (3)
π	0	0.006338 +/- 0.004093	0.003347 +/- 0.003436
θ_s	0	3.22247	1.33333
C	Lacandón (2)	Mazahua (22)	Otomí (9)
π	0	0.005831 +/- 0.003694	0.004194 +/- 0.003069
θ_s	0	3.56618	2.20762
D	Lacandón (2)	Mazahua (30)	Otomí (4)
π	0	0.005078 +/- 0.003266	0.011024 +/- 0.008190
θ_s	0	2.5242	4.36364

La población Mazahua presenta el mayor número de haplotipos únicos (26) seguida de la población Zapoteca (17) y de la población Purépecha (16), mientras que las poblaciones Nahua Zitlala, Pima, Lacandona y Nahua Ixhuatlancillo presentan muy pocos haplotipos únicos: 1, 2, 3 y 3, respectivamente.

La gran mayoría de las poblaciones presentan valores altos de diversidad haplotípica en el rango de 0.8246 (Mixteca) a 0.9733 (Purépecha) en 19 poblaciones, mientras que las poblaciones Lacandona, Nahua Zitlala y Pima presentan valores bajos, de 0.6409, 0.5934 y 0.5442 respectivamente. Cabe mencionar que se analizó un número considerable de individuos Pima pero el tamaño de la muestra es pequeño en Lacandona y Nahua de Zitlala. El valor de diversidad haplotípica cercano a la unidad sugiere que existe una gran variación genética dentro de las poblaciones.

La población Otomí del estado de México presenta un menor número de haplotipos que la población Mazahua, probablemente debido a que se analizó un número menor de individuos, sin embargo, no existe gran diferencia entre los valores de diversidad haplotípica, diversidad nucleotídica de Nei (1987) (π) y Theta S de Watterson (θ_S). Es necesario analizar más individuos otomíes para determinar con mayor exactitud la diversidad genética en las poblaciones estudiadas del Estado de México. Por otra parte, la población Lacandona mostró valores muy diferentes de diversidad haplotípica y π con respecto a las poblaciones Mazahua y Otomí del Estado del México.

Los valores de π y θ_S entre las poblaciones Otomí y Mazahua del Estado de México con los Otomíes de Hidalgo son cercanos, sin embargo, los valores son ligeramente mayores en los Mazahuas lo que sugiere que son más diversos. También son similares los valores de π y θ_S entre las poblaciones Nahua de Atocpan y de Xochimilco, y sugieren que los Nahuas de Xochimilco son menos diversos. Al comparar las cinco poblaciones: Mazahuas, Otomíes del Estado de México e Hidalgo, Nahuas de Atocpan y Xochimilco del centro de México los resultados sugieren que los Mazahua y Nahua de Atocpan son los más diversos y los menos diversos los Otomí del Estado de México y Nahua de Xochimilco. Cabe mencionar que el número de individuos analizados en estas dos últimas poblaciones es menor al estudiado en las otras poblaciones, la de Otomí de Hidalgo y Nahua de Atocpan.

Se muestran valores bajos de π en las poblaciones Nahua de Zitlala (0.003915), Lacandona (0.00871) y Pima (0.007439). Por el contrario, las poblaciones Nahuas de Atocpan e Ixhuatlancillo se caracterizaron por presentar los valores más altos de π con 0.018280 y 0.018487 respectivamente. El valor de π es sensible a frecuencias de haplotipos y por lo tanto refleja eventos relativamente recientes que influyen en la diversidad (Malhi *et al.*, 2002).

Los valores más bajos de Theta S de Watterson (θ_S) fueron encontrados en las poblaciones de Pima (3.108), Nahua Zitlala (3.144) y Lacandona (3.754), probablemente debido al número pequeño de haplotipos usados para estimar θ_S : 7, 5 y 5, respectivamente. Sin embargo, la población Tarahumara de Chihuahua con 7 haplotipos muestra un valor θ_S de 6.765. Theta S es calculado independientemente de las frecuencias de haplotipos y refleja eventos más antiguos que influyeron en la diversidad entre haplotipos, a diferencia del valor π (Malhi *et al.*, 2002)

La Tabla 4.7 muestra la matriz de distancias génicas de Tajima y Nei (1987) a partir de los F_{st} calculados con el software *Arlequin* 3.5.1.2. Algunas poblaciones presentaron valores negativos, lo cual refleja un alto grado de similitud con base en las secuencias de la RHI del mtDNA. La gran mayoría de las poblaciones analizadas muestran valores de F_{st} lejanos a la unidad lo que sugiere la presencia de flujo génico entre las poblaciones. Solamente las poblaciones Pima y

Lacandona mostraron un valor de F_{st} de 0.64 sugiriendo un escaso flujo génico probablemente debido a la ubicación geográfica de estas poblaciones.

Se realizó un AMOVA para definir la estructura de las poblaciones indígenas de México, utilizando un criterio geográfico-cultural. Los resultados representados en la Tabla 4.8 muestran que el mayor porcentaje de variación génica ocurre dentro de las poblaciones con un 74.96%. Mientras que entre los grupos (16.24%) y entre las poblaciones (8.8%) es más bajo. Lo anterior es consistente con lo reportado para las poblaciones humanas (Stoneking *et al.*, 1990; Excoffier *et al.*, 1992). Un 16.25% de la variación ocurre entre grupos y sólo un 8.8% se debe a diferencias interpoblacionales, lo que sugiere flujo génico entre los grupos de Mesoamérica y el Suroeste Americano. Los índices de fijación en las distintas escalas jerárquicas indican una diferenciación genética significativa ($p < 0.05$) entre los grupos de Mesoamérica y el Suroeste Americano, entre poblaciones y dentro de ellas ($F_{SC} = 0.1051$, $F_{ST} = 0.25043$ y $F_{CT} = 0.1624$).

Tabla 4.7. Matriz de distancia Fst de Tajima y Nei (1984).

	Lacandona	Mazahua	Otomí 1	Cora	Huichol	Mixteca 1	Mixe	Nahua 1	Nahua 4	Tarahumara 2
Lacandona	0.00000									
Mazahua	0.25617	0.00000								
Otomí 1	0.19303	0.05806	0.00000							
Cora	0.35482	0.11005	0.15601	0.00000						
Huichol	0.38388	0.12026	0.16850	0.01144	0.00000					
Mixteca 1	0.19613	0.07960	0.02923	0.11620	0.11109	0.00000				
Mixe	0.31329	0.03180	0.09615	0.03318	0.03582	0.07887	0.00000			
Nahua 1	0.30190	0.07312	0.09876	0.01099	0.00909	0.06391	0.00846	0.00000		
Nahua 4	0.17812	0.07567	0.01232	0.15250	0.16676	0.01277	0.10198	0.08685	0.00000	
Tarahumara 2	0.30566	0.05945	0.08549	0.06350	0.09668	0.10378	0.03866	0.05282	0.09924	0.00000
Zapoteca	0.23880	0.03080	0.04626	0.05024	0.05038	0.04413	0.00703	0.01308	0.04963	0.02165
Maya 5	0.23822	0.05143	0.04232	0.07511	0.07970	0.01447	0.04011	0.03923	0.03439	0.06187
Mixteca 4	0.18958	0.09399	0.00739	0.18301	0.20253	0.01423	0.13623	0.12127	-0.00005	0.13084
Nahua 10	0.17317	0.09270	0.00937	0.16741	0.17642	0.01246	0.12001	0.10222	-0.00665	0.12318
Nahua 12	0.21436	0.22025	0.10741	0.31845	0.35424	0.10210	0.27769	0.25439	0.07018	0.27283
Nahua 13	0.28428	-0.00945	0.03833	0.06671	0.08715	0.03747	-0.00482	0.01237	0.01032	0.00443
Nahua 11	0.37309	0.16165	0.16697	0.04620	0.04152	0.08470	0.08865	0.03388	0.15473	0.13851
Otomí 3	0.26824	0.02020	0.05998	0.05445	0.05091	0.05557	0.00630	0.01972	0.06875	0.03408
Pima	0.63699	0.30611	0.43980	0.38922	0.42701	0.45697	0.32257	0.36151	0.47454	0.31046
Purépecha 2	0.20785	0.02391	0.00805	0.12420	0.13650	0.03727	0.05311	0.06723	0.01172	0.05119
Tarahumara 3	0.50756	0.11946	0.24458	0.17884	0.21347	0.25758	0.09761	0.14389	0.25239	0.09944
Triqui	0.22637	0.14024	0.05246	0.15768	0.16128	0.02500	0.14452	0.11129	0.05330	0.14543

Tabla 4.7. Cont.

	Zapoteca	Maya 5	Mixteca 4	Nahua 10	Nahua 12	Nahua 13	Nahua 11	Otomí 3	Pima	Purépecha 2	Tarahumara 3	Triqui
Zapoteca	0.00000											
Maya 5	0.01814	0.00000										
Mixteca 4	0.07260	0.03707	0.00000									
Nahua 10	0.06178	0.03626	-0.02080	0.00000								
Nahua 12	0.19271	0.16746	0.06178	0.05285	0.00000							
Nahua 13	-0.02176	0.01668	0.08538	0.05689	0.26879	0.00000						
Nahua 11	0.08424	0.07558	0.16864	0.14868	0.33527	0.12955	0.00000					
Otomí 3	0.00157	0.02744	0.09237	0.08285	0.22621	-0.01518	0.09661	0.00000				
Pima	0.29043	0.42354	0.55110	0.50885	0.66733	0.34933	0.54547	0.29679	0.00000			
Purépecha 2	0.01857	0.03145	0.03200	0.02926	0.14160	-0.02105	0.15300	0.02430	0.36789	0.00000		
Tarahumara 3	0.09382	0.20939	0.36105	0.30663	0.55782	0.06997	0.31916	0.09708	0.09598	0.14827	0.00000	
Triqui	0.09034	0.04477	0.01709	0.02408	0.11201	0.12772	0.11123	0.11396	0.51907	0.08833	0.37206	0.00000

El valor de distancia es de 0 a 1, donde 0 = identidad y 1 = mayor diferencia. Resaltados en rojo los valores $F_{st} \geq 0.5$.

Tabla 4.8. Análisis Molecular de Varianza.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Componentes de la Varianza	Porcentaje de Variación
<i>Entre Grupos</i>	1	199.686	0.61145 Va	16.24
<i>Entre Poblaciones Dentro de Grupos</i>	20	374.634	0.33144 Vb	8.8
<i>Dentro de Poblaciones</i>	1078	3042.411	2.82227 Vc	74.96
<i>Total</i>	1099	3616.731	3.76517	
<i>Índice de Fijación FSC</i>	0.1051			
<i>Índice de Fijación FST</i>	0.25043			
<i>Índice de Fijación FCT</i>	0.1624			
<i>Vc y FST: P =</i>	0			
<i>Vb y FSC: P =</i>	0			
<i>Va y FCT: P =</i>	0.01173+- 0.00269			

1023 permutaciones p<0.05

4.2.2. Construcción de Redes de Haplotipos.

La Figura 4.4 corresponde a la red de haplotipos mitocondriales del haplogrupo A, utilizando las secuencias de la RHI de las tres poblaciones modernas Otomí, Mazahua y Lacandona analizadas en este trabajo, e incluye las poblaciones Otomí y Maya de las cuales se encuentran disponibles las secuencias en la bibliografía (Sandoval *et al.*, 2009), y están culturalmente relacionadas, Mayas con Lacandones, y los Otomíes con Mazahuas.

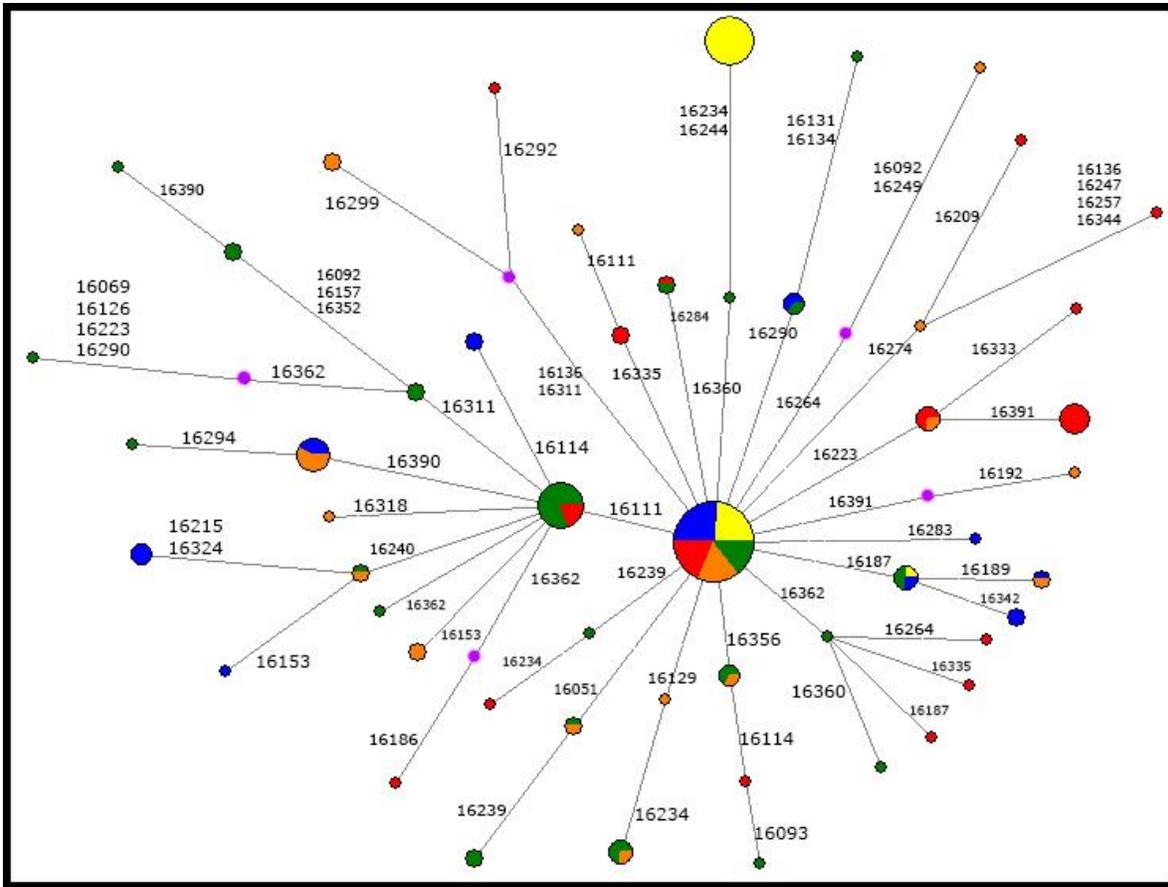


Figura 4.4. Red del Haplogrupo A de cinco poblaciones indígenas contemporáneas de México. El nodo principal presenta las siguientes mutaciones, respecto a la secuencia de Cambridge: 16,111, 16,223, 16,290, 16,319 y 16,362. El tamaño de cada círculo es proporcional a la frecuencia del haplotipo en la población. Círculos pequeños en morado representan vectores medios, haplotipos que existieron alguna vez pero que ahora están extintos, o haplotipos que simplemente no fueron muestreados en este estudio. Amarillo = Lacandona, azul = Maya de Campeche, naranja = Otomí de Hidalgo, rojo = Otomí del Estado de México, y verde = Mazahua del Estado de México.

Red del haplogrupo A.

1. Todos los individuos que pertenecen al haplogrupo A presentan la ganancia de un sitio de corte para la enzima *HaeIII* en la posición 663.
2. Todos los individuos presentan la transición C – T en la posición 16,111, excepto 21 mazahuas, 4 otomíes del Estado de México, 9 otomíes de Hidalgo y 9 mayas. Esta mutación ha sido reportada en poblaciones de

Panamá (Kolman *et al.*, 1997). Otros individuos del haplogrupo B presentan esta transición relacionada con la transición 16,217 en Norteamérica (Kemp *et al.*, 2010).

3. Todos los individuos presentan la transición: C – T en la posición 16,223 excepto 1 mazahua, 10 otomíes del Estado de México y 1 otomí de Hidalgo. Esta mutación está presente en todos los individuos pertenecientes al haplogrupo D.
4. Todos los individuos presentan la transición: C – T en la posición 16,290 excepto 3 mazahuas y 2 mayas.
5. Todos los individuos presentan la transición: G – A en la posición 16,319.
6. Todos los individuos presentan la transición: T– C en la posición 16,362 excepto 4 mazahuas y 4 otomíes del Estado de México. Esta mutación está presente en la gran mayoría de individuos pertenecientes al haplogrupo D.
7. Dos individuos mazahuas, 1 otomí del Estado de México y 1 lacandón presentan la transición C – T en la posición 16,187. Esta mutación ha sido reportada en poblaciones de Panamá (Kolman *et al.*, 1997), y en poblaciones de las regiones culturales del Suroeste Americano y Mesoamérica (Kemp *et al.*, 2010).
8. La transición G – A en la posición 16,274 deriva en un clado que contiene 2 haplotipos otomíes del Estado de México y un haplotipo otomí de Hidalgo. Esta mutación ha sido reportada en poblaciones de las regiones culturales

del Suroeste Americano (Tarahumara) y Mesoamérica (Cora y Nahua de Cuetzalan) (Kemp *et al.*, 2010) y en poblaciones de Panamá (Kolman *et al.*, 1997).

La Figura 4.5 corresponde a la red de haplotipos mitocondriales del haplogrupo B, basada en las secuencias de la RHI de cuatro poblaciones modernas: los dos grupos Otomíes, Mazahua y Maya. La red excluyó la población Lacandona debido a que ningún individuo presentó este haplogrupo. La red muestra posibles reticulaciones.

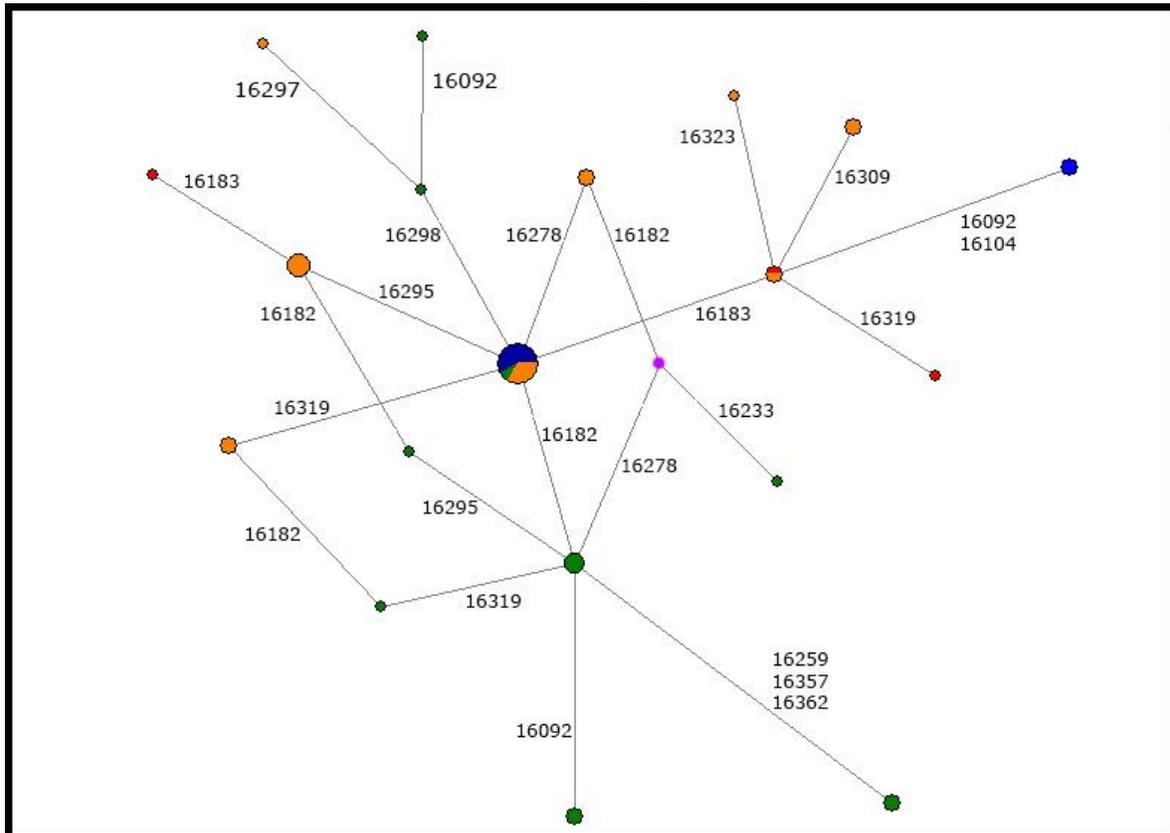


Figura 4.5. Red del Haplogrupo B de cuatro poblaciones indígenas contemporáneas de México. El nodo principal presenta las siguientes mutaciones, respecto a la secuencia de Cambridge: 16,183, 16,189, 16,217. El tamaño de cada círculo es proporcional a la frecuencia del haplotipo en la población. Círculos pequeños en morado representan vectores medios, haplotipos que existieron alguna vez pero que ahora están extintos, o haplotipos que simplemente no fueron muestreados en este estudio. Azul = Maya, naranja = Otomí de Hidalgo, rojo = Otomí del Estado de México, y verde = Mazahua.

Red del haplogrupo B.

1. Todos los individuos que pertenecen al haplogrupo B presentan la delección de 9 pares de bases entre el gen COII y tRNA^{lys}.
2. Todos los individuos presentan una transición T – C en las posiciones 16,189 y 16,217.
3. Todos los individuos mazahuas presentan las transversiones A – C en las posiciones 16,182 y 16,183, excepto 3 mazahuas que sólo la presentan en la posición 16,183. Esta última mutación también se encuentra en todos los individuos mayas y otomíes de Hidalgo, excepto 2 mayas y 4 otomíes.
4. Un individuo mazahua y 2 otomíes de Hidalgo presentan la transición C – T en la posición 16,278. Esta mutación ha sido reportada en poblaciones de Panamá (Kolman *et al.*, 1997), y en poblaciones de las regiones culturales del Suroeste Americano y Mesoamérica (Kemp *et al.*, 2010).
5. Un individuo mazahua, 1 otomí del Estado de México y 3 otomíes de Hidalgo presentan la transición C – T en la posición 16,295. Esta mutación ha sido reportada en poblaciones de Panamá (Kolman *et al.*, 1997), y en poblaciones de las regiones culturales del Suroeste Americano y Mesoamérica (Kemp *et al.*, 2010).
6. Un individuo mazahua, 1 otomí del estado de México y 2 otomíes de Hidalgo presentan la transición G – A en la posición 16,319 la cual está presente en todos los individuos del haplogrupo A.

7. Dos individuos mazahuas presentan la transición T – C en las posiciones 16,357 y 16,362. Esta última mutación está presente en la gran mayoría de individuos del haplogrupo D.
8. Dos individuos mazahuas y 1 otomí de Hidalgo presentan la transición T – C en la posición 16,298 la cual está presente en la gran mayoría de los individuos del haplogrupo C. Esta mutación ha sido reportada en poblaciones de Panamá (Kolman *et al.*, 1997), y en poblaciones de las regiones culturales del Suroeste Americano y Mesoamérica (Kemp *et al.*, 2010).

La Figura 4.6 corresponde a la red de haplotipos mitocondriales del haplogrupo C, a partir de las secuencias de la RHI de cinco poblaciones modernas: Mazahua, los dos grupos Otomíes, Lacandona y Maya. La red muestra una posible reticulación.

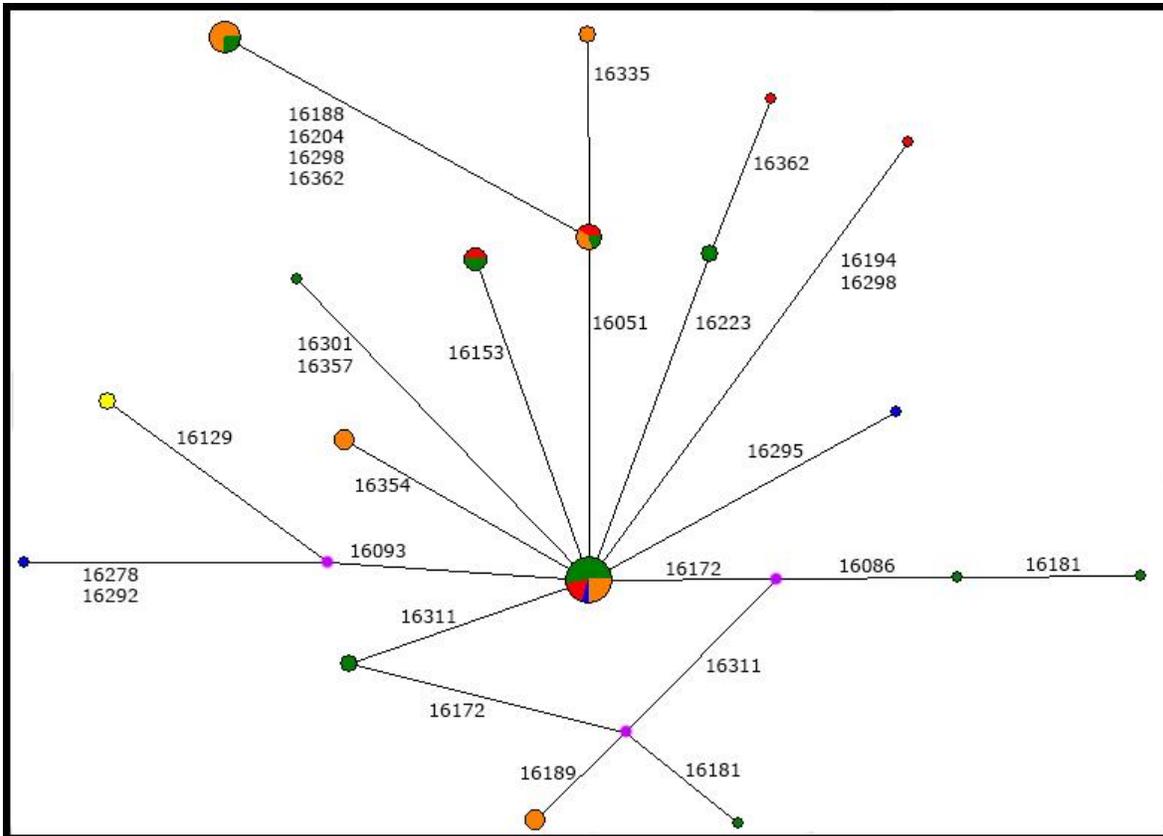


Figura 4.6. Red del Haplogrupo C de cinco poblaciones indígenas contemporáneas de México. El nodo principal presenta las siguientes mutaciones, respecto a la secuencia de Cambridge: 16,223, 16,298, 16,325, 16,327. El tamaño de cada círculo es proporcional a la frecuencia del haplotipo en la población. Círculos pequeños en morado representan vectores medios, haplotipos que existieron alguna vez pero que ahora están extintos, o haplotipos que simplemente no fueron muestreados en este estudio. Amarillo = Lacandona, azul = Maya, naranja = Otomí de Hidalgo, rojo = Otomí del Estado de México, y verde = Mazahua.

Red del haplogrupo C.

1. Todos los individuos que pertenecen al haplogrupo C presentan la pérdida de un sitio de corte para la enzima HincII en la posición 13,259.
2. Todos los individuos del haplogrupo C exhiben las transiciones T – C y C - T en las posiciones 16,325 y 16,327, respectivamente.

3. Todos los individuos presentan la transición C – T en el 16,223, excepto en 2 mazahuas y 1 otomí. Esta mutación está presente en la gran mayoría de individuos pertenecientes al haplogrupo A.
4. Todos los individuos presentan la transición T – C en la posición 16,298, excepto 2 individuos mazahuas, 1 otomí del Estado de México y 6 otomíes de Hidalgo. Esta mutación ha sido reportada en poblaciones de Panamá (Kolman *et al.*, 1997).
5. Todos los lacandones y un maya presentan la transición T – C en las posición 16,093. Esta mutación ha sido reportada en poblaciones de las regiones culturales del Suroeste Americano y Mesoamérica (Kemp *et al.*, 2010). Sólo los lacandones adicionalmente presentan la transición G – A en la posición 16,129.
6. Un individuo maya presenta la transición C – T en el 16,295. Esta mutación ha sido reportada en poblaciones de Panamá (Kolman *et al.*, 1997), y en poblaciones de las regiones culturales del Suroeste Americano y Mesoamérica (Kemp *et al.*, 2010).
7. Un individuo mazahua presenta la transiciones C – T en la posición 16,301, y T – C en la posición 16,357. Sólo la mutación 16 301 ha sido reportada en poblaciones de Panamá (Kolman *et al.*, 1997).
8. La transición T – C en las posiciones 16,172 y 16,311 deriva en un clado con reticulación que contiene individuos mazahuas y otomíes de Hidalgo.

9. Tres individuos otomíes de Hidalgo presentan la transición C – T en la posición 16,354. Esta mutación ha sido reportada en Kemp *et al.* (2010).

La Figura 4.7 corresponde a la red de haplotipos mitocondriales del haplogrupo D, a partir de las secuencias de la RHI de cinco poblaciones modernas: Mazahua, los dos grupos Otomíes, Lacandona y Maya.

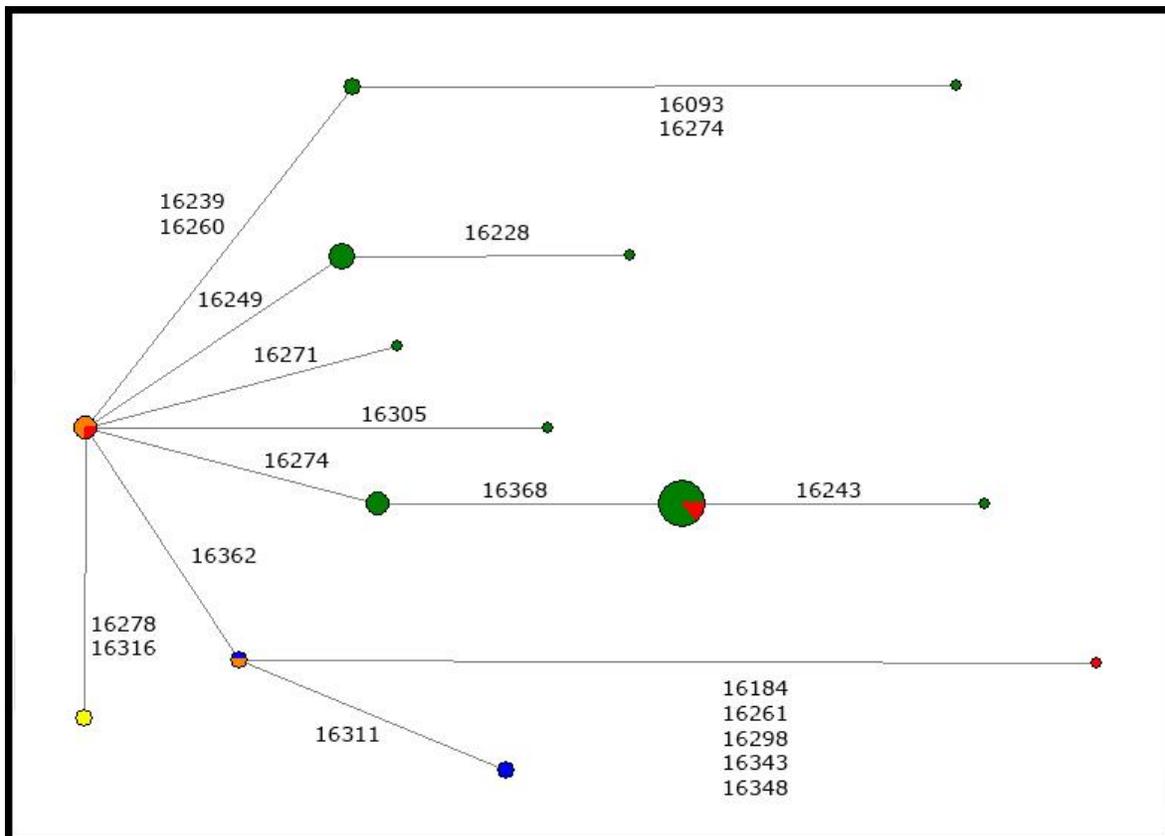


Figura 4.7. Red del Haplogrupo D de cinco poblaciones indígenas contemporáneas de México. El nodo principal presenta las siguientes mutaciones, respecto a la secuencia de Cambridge: 16,223, 16,325, 16,362. El tamaño de cada círculo es proporcional a la frecuencia del haplotipo en la población. Amarillo = Lacandona, azul = Maya, naranja = Otomí de Hidalgo, rojo = Otomí del Estado de México, y verde = Mazahua.

Red de haplogrupo D.

1. Todos los individuos que pertenecen al haplogrupo D presentan la pérdida de un sitio de corte para la enzima *AluI* en la posición 5,176.
2. Todos los individuos presentan la transición C – T en el 16,223. Esta mutación está presente en la gran mayoría de individuos pertenecientes al haplogrupo A.
3. Todos los individuos otomíes y mazahuas del Estado de México presentan la transición G – A en el 16,274 excepto 10 individuos mazahuas y 2 otomíes. Esta mutación ha sido reportada en poblaciones de Panamá (Kolman *et al.*, 1997).
4. Todos los individuos lacandones presentan las transiciones C – T en la posición 16,278 y A – G en la posición 16,316. La mutación 16,278 ha sido reportada en poblaciones de Panamá (Kolman *et al.*, 1997).
5. Todos los individuos presentan la transición T – C en el 16,325. Esta mutación está presente en todos los individuos pertenecientes al haplogrupo C.
6. Todos los individuos presentan la transición T – C en el 16,362, excepto un individuo otomí del Estado de México, un otomí de Hidalgo y 3 mayas. Esta mutación está presente en la gran mayoría de individuos pertenecientes al haplogrupo A.

7. La gran mayoría de los individuos otomíes y de mazahuas del Estado de México presentan la transición T – C en el 16,368 excepto 13 mazahuas y 2 otomíes. Esta mutación ha sido reportada en poblaciones de las regiones culturales del Suroeste Americano y Mesoamérica (Kemp *et al.*, 2010).
8. Tres individuos mazahuas presentan la transición C – T en las posiciones 16,239 y 16,260. Estas mutaciones han sido reportadas en poblaciones de las regiones culturales del Suroeste Americano y Mesoamérica (Kemp *et al.*, 2010).
9. Un individuo mazahua presenta la transición T – C en la posición 16,271. Esta mutación ha sido reportada en poblaciones de las regiones culturales del Suroeste Americano y Mesoamérica (Kemp *et al.*, 2010).

La Figura 4.8 corresponde a la red de haplotipos mitocondriales de los cuatro haplogrupos fundadores, a partir de las secuencias de la RHI de tres poblaciones contemporáneas: los Mazahuas y Otomíes del Estado de México analizadas aquí, y los Otomíes del estado de Hidalgo (Sandoval *et al.*, 2009). La red muestra una posible reticulación.

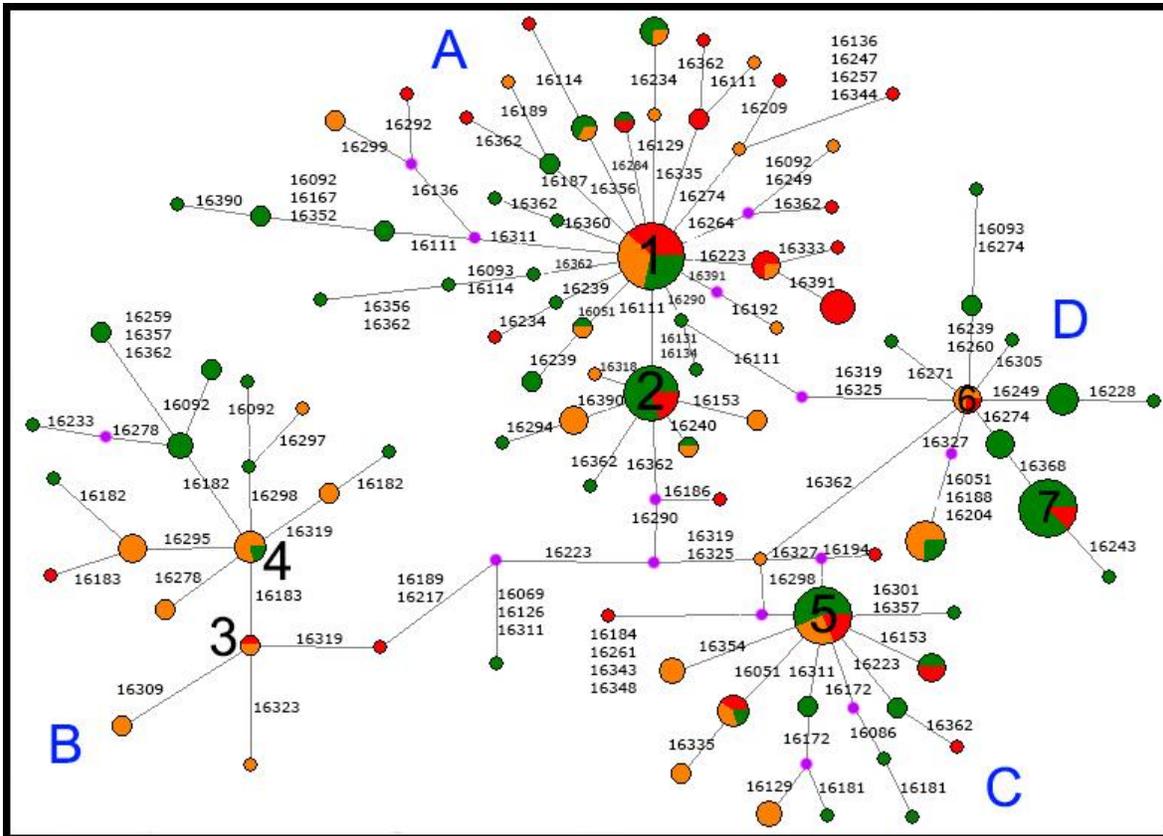


Figura 4.8. Red de tres poblaciones indígenas contemporáneas de México. El tamaño de cada círculo es proporcional a la frecuencia del haplotipo en la población. Círculos pequeños en morado representan vectores medios, haplotipos que existieron alguna vez pero que ahora están extintos, o haplotipos que simplemente no fueron muestreados en este estudio. Naranja = Otomí de Hidalgo, rojo = Otomí del Estado de México, y verde = Mazahua.

1. En el nodo 1 y 2 existen las mutaciones 16,223, 16,290, 16,319 y 16,362 de las cuales 16,290 y 16,319 están relacionadas con el haplogrupo A. Ambos nodos se conectan por la mutación 16,111 la cual ha sido reportada en este haplogrupo. El nodo 1 incluye a Mazahuas, y Otomíes del Estado de México e Hidalgo; mientras que el nodo 2 sólo incluye Mazahuas y Otomíes del Estado de México.
2. En el nodo 3 existen las mutaciones 16,189 y 16,217 específicas del haplogrupo B, y éste se conecta al nodo 4 por la mutación 16,183 que

también incluye a 16,189 y 16,217. El nodo 3 incluye Otomíes del Estado de México e Hidalgo, y el nodo 4 contiene Otomíes de Hidalgo y Mazahuas del Estado de México.

3. El nodo 5 presenta las mutaciones 16,223, 16,298, 16,325 y 16,327. Siendo éstas dos últimas específicas del haplogrupo C. Este nodo contiene a individuos de las 3 poblaciones.
4. Los nodos 6 y 7 presentan las mutaciones 16,223, 16,325 y 16,362. La mutación 16,325 es específica del haplogrupo D. Ambos nodos se conectan por las mutaciones 16,274 y 16,368. El nodo 6 incluye Otomíes del Estado de México e Hidalgo, y el nodo 7, Mazahuas y Otomíes del Estado de México.

Únicamente la red del haplogrupo A que contiene 70 haplotipos muestra una forma parecida a estrella, característica de eventos de reciente expansión poblacional. El resto de las redes de haplotipos no muestran una forma parecida a estrella lo que sugiere la carencia de evidencia de expansión dentro de éstas. Kemp *et al.* (2010) encontró que las redes de los haplogrupos A y B construidas con 82 y 110 haplotipos, respectivamente, de poblaciones mesoamericanas y del Suroeste Americano también muestran una forma parecida a estrella. En este estudio las redes de los haplogrupos B y C no muestran una clara forma de estrella y presentan diferentes reticulaciones entre ellas. Las reticulaciones presentes en la red del haplogrupo B de Kemp *et al.* (2010) y el presente estudio

son originadas por mutaciones diferentes, no así las reticulaciones de la red C causadas por la mutación 16,311. El haplogrupo D claramente no muestra una forma de estrella. Es necesario mencionar que el número de haplotipos utilizados para la construcción de estas redes es pequeño, 22 para la red B, 26 para C y 17 para D. La red de haplogrupos de C y D con 64 y 12 haplotipos, respectivamente, tampoco muestran forma de estrella en el trabajo de Kemp *et al.* (2010)

La red del haplogrupo A presenta dos nodos principales, el nodo central incluye individuos de los 5 grupos, mientras que el nodo secundario solamente incluye Mazahuas y Otomíes del Estado de México, siendo los primeros la mayoría; este nodo secundario contiene un clado único de individuos Mazahuas y haplotipos derivados específicos a grupos, ya sea Maya, Otomí de Hidalgo o Mazahua. También se observan dos ramas, una de ellas contiene individuos Otomíes de Hidalgo y Mazahuas derivando Mayas, y la otra Otomíes de Hidalgo y Mayas, derivando un Mazahua. Del nodo central se deriva un haplotipo derivado por la mutación 16,360, seguido por las mutaciones 16,234 y 16,244, que contiene principalmente a los individuos Lacandones. Se observan varios haplotipos derivados que relacionan a los Otomíes del Estado de México con los Otomíes de Hidalgo. También se observan haplotipos derivados que relacionan Mazahuas con Otomíes de Hidalgo, un haplotipo derivado que relaciona Mazahuas con Mayas y un haplotipo derivado que relaciona Mazahuas con Otomíes del Estado de México.

La red del haplogrupo B presenta un nodo central que incluye Mazahuas, Otomíes de Hidalgo, y mayas principalmente. Se observa un clado específico de

Mazahuas. También presenta haplotipos derivados que relacionan a los dos grupos Otomíes, y Mazahuas con Otomíes de Hidalgo.

La red del haplogrupo C muestra un nodo central que principalmente incluye Mazahuas, con pocos individuos Mayas. Se observan dos haplotipos derivados de las mutaciones 16,172 y 16,311 que incluyen únicamente individuos Mazahuas, una rama que relaciona Lacandones con Mayas, dos haplotipos derivados que relacionan Mazahuas con Otomíes del Estado de México por las mutaciones 16,253 y 16,223 y un haplotipo derivado que relaciona a estos tres grupos del centro de México por la mutación 16,051.

La red del haplogrupo D muestra un nodo principal conformado por Otomíes del Estado de México y principalmente Otomíes de Hidalgo. Se observa un gran clado que incluye solamente individuos Mazahuas, excepto un haplotipo derivado por la mutación 16,274 que incluye individuos Otomíes del Estado de México. El grupo Lacandón se ubica en un solo haplotipo derivado.

La red que engloba los cuatro haplogrupos fundadores, construida con 110 haplotipos de Mazahuas y Otomíes, también muestra una forma parecida a estrella, se identifican cuatro agrupaciones claras con uno o dos nodos principales que incluyen las mutaciones relacionadas con cada haplogrupo fundador del mtDNA, y solamente una reticulación en la agrupación del haplogrupo C causada por la mutación 16,298. Las agrupaciones relacionadas con los haplogrupos B y D incluyen Mazahuas y principalmente Otomíes de Hidalgo. En la agrupación del

haplogrupo B se observa un clado específico para Mazahuas, y haplotipos derivados que los relacionan con Otomíes de Hidalgo. Mientras que en las agrupaciones relacionadas con los haplogrupos A y C existen individuos de las tres poblaciones. En ambas agrupaciones existen clados que contienen únicamente individuos Mazahuas. Clados que contienen individuos Otomíes de las dos localidades sólo se observan en la agrupación correspondiente al haplogrupo A, en esta misma agrupación se observan dos haplotipos derivados por las mutaciones 16,239 y 16,264 que contienen individuos Mazahuas y Otomíes del Estado de México, y en la agrupación del haplogrupo C se aprecia un haplotipo derivado de la mutación 16,354 que incluye sólo Otomíes de Hidalgo, haplotipos derivados que incluyen sólo Mazahuas, y dos haplotipos derivados que relacionan Mazahuas con Otomíes del Estado de México por las mutaciones 16,253 y 16,223, y un clado que relaciona Mazahuas con Otomíes de Hidalgo y una clado que relaciona a los tres grupos del centro de México. En la agrupación del haplogrupo D se observa un gran clado conformado por individuos Mazahuas, entre ellos destaca un haplotipo derivado de la mutación 16,274 que relaciona Mazahuas con Otomíes del Estado de México, también se observa otro haplotipo derivado que relaciona Mazahuas con Otomíes de Hidalgo por la mutación 16,327.

5. DISCUSIÓN.

Generalmente los haplogrupos A y B son los más frecuentes en los grupos poblacionales antiguos y modernos de México, siendo A el que presenta la mayor frecuencia. Los valores de Diversidad Nucleotídica (π) y de Theta S (θ_S) determinados para cada uno de los haplogrupos del mtDNA en las poblaciones Lacandona, Mazahua y Otomí mostraron los valores más altos para el haplogrupo A, lo que concuerda que es el haplogrupo más frecuente en las poblaciones de Mesoamérica (Torrioni *et al.*, 1994; Kolman *et al.*, 1997; González-Oliver *et al.*, 2001; Peñaloza *et al.*, 2007; Sandoval *et al.*, 2009; Acuña, 2010; Sánchez, 2010; Romero, 2010; Kemp *et al.*, 2010; Garfias, 2012). Recientemente, se reportó que el haplogrupo B es el más frecuente en los grupos Cora, Huichol, Nahua de Atocpan (Kemp *et al.*, 2010), Nahua de Necoxtla (Sandoval *et al.*, 2009) y Tarahumara de Chihuahua (Peñaloza *et al.*, 2007), similar al resultado encontrado en la población Mazahua, aunque este resultado no es reflejado en los valores de π y de θ_S calculados para cada haplogrupo por separado a partir de los haplotipos, probablemente debido a que se analizaron un número menor de individuos Mazahuas de los que se estudiaron por análisis de restricción para identificar el haplogrupo a que pertenecen.

Los valores de π y θ_S calculados para los haplogrupos C y D en la población Mazahua sugieren que el haplogrupo C es más diverso que el D, a pesar de estar

en menor frecuencia. Por otro lado, en la población Otomí el haplogrupo D es más diverso que C a pesar de que C es más frecuente.

El análisis de *Ji Cuadrada* muestra que los Mazahuas son estadísticamente diferentes de los Otomíes del Estado de México lo que se confirma por la ubicación distante de ambas poblaciones en el gráfico del ACP. A pesar de lo anterior, las redes de haplotipos muestran relación genética entre los Mazahuas y los Otomíes de Hidalgo y, en menor grado con los Otomíes del Estado de México. Los valores de π y θ_S calculados de los cuatro haplogrupos mitocondriales considerados en conjunto sugieren que la variación genética es ligeramente mayor en los Mazahuas. Los resultados de distancia genética F_{st} sugieren sólo un moderado flujo genético entre las dos poblaciones del Estado de México, a pesar de tener una historia y posible origen común, pertenecer al mismo grupo lingüístico, y habitar las mismas localidades. Cabe mencionar que solamente se analizaron los haplotipos de 49 individuos otomíes seleccionados al azar de un total de 99 estudiados para las frecuencias de los haplogrupos del mtDNA. Por lo tanto, estos resultados podrían variar cuando se analice un número mayor de individuos.

También los Mazahuas son estadísticamente diferentes de las dos poblaciones Otomíes de Hidalgo, sin embargo, solamente la población Otomí de Peñaloza *et al.* (2007) se ubica distante en el ACP. Mientras que la población Otomí de Hidalgo de Sandoval *et al.* (2009) se ubica muy cerca de la Mazahua en el gráfico. Cabe

resaltar que el número de individuos Otomíes (68) analizados por Sandoval *et al.* (2009) es mayor que el de la otra población Otomí de Hidalgo (35); a pesar de la diferencia en el tamaño de las poblaciones estudiadas, no lo son estadísticamente. Las redes de haplotipos apoyan una relación genética entre los Mazahuas y la población Otomí de Hidalgo analizada por Sandoval *et al.* (2009). Cabe aclarar que no hay secuencias disponibles de la otra población Otomí.

Por otra parte, la población Otomí del Estado de México no mostró diferencias estadísticas con ninguna de las dos poblaciones Otomíes de Hidalgo. Sin embargo, en el ACP se ubicaron juntas la Otomí del Estado de México y la Otomí de Peñaloza *et al.* (2007), mientras que se ubicaron distantes la Otomí del Estado de México de la Otomí de Sandoval *et al.* (2009). Estas dos últimas poblaciones también se ubicaron próximas en las cinco redes de haplotipos, y sus valores de F_{st} , π y θ_S (calculados para los haplogrupos considerados en conjunto) apoyan que están genéticamente relacionadas a pesar de que geográficamente no son tan cercanas. Analizar un mayor número de individuos permitirá conocer con mayor precisión las relaciones al interior de este grupo cultural.

Las poblaciones Nahuas quedaron distribuidas en distintos cuadrantes del ACP, lo que sugiere relaciones genéticas lejanas entre ellas. Además mostraron valores distintos de π , θ_S y Diversidad Haplotípica, lo que sugiere una heterogeneidad genética dentro del grupo cultural Naha. Las poblaciones Nahuas de Atocpan son las más cercanas a la población Mazahua en el ACP, mientras que Naha de

Cuetzalan es la población más cercana a los Otomíes del Estado de México. Las poblaciones Nahuas tienen un origen histórico diferente de los Mazahuas y Otomíes, y pertenecen a la familia lingüística Yuto-azteca, pero comparten una historia regional común, ya que han convivido con las poblaciones Mazahuas y Otomíes del centro de México a lo largo de mucho tiempo; de hecho se considera que estas tres poblaciones (Mazahuas, Otomíes y Nahuas) fueron las primeras en habitar el altiplano central (Clavijero, 1780; López, 2005). Es necesario analizar un mayor número de individuos Nahuas, Mazahuas, y Otomíes de otros Estados para determinar con mayor precisión las relaciones genéticas que guardan los grupos de las familias lingüísticas Oto-mangue y Yuto-azteca.

Por otra parte, las poblaciones de origen Maya como son: Mayas antiguos de Xcaret, Lacandonés, Maya de Yucatán de Torroni *et al.* (1994) y de Campeche son estadísticamente diferentes de los Mazahuas. Por el contrario, las redes de haplotipos apoyan una relación genética entre Mayas de Campeche, Mazahuas y Otomíes de Hidalgo, y los valores de F_{st} sugieren flujo genético entre los Mayas de Campeche con Mazahuas, y con Otomíes. Las poblaciones Mayas, antiguas o contemporáneas, no son diferentes estadísticamente entre sí, con la excepción de los Lacandonés que son estadísticamente diferentes de las poblaciones mayas de Yucatán (26 individuos) (Torroni *et al.*, 1994) y Campeche, pero no de las otras tres [Maya Colonial de Xcaret, Quintana Roo (este estudio), Maya Prehispánica de Xcaret (González-Oliver *et al.*, 2001) y Maya Contemporánea de Yucatán (Acuña, 2010; Garfias, 2012)]. Cabe resaltar que la población Maya de Yucatán (Acuña,

2010; Garfias, 2012) con un número mucho mayor de individuos (130) no es estadísticamente diferente de Lacandones.

La ubicación de las poblaciones de origen Maya en el cuadrante inferior derecho en el ACP apoya la hipótesis de un patrón de continuidad genética entre los grupos poblacionales Mayas de la Península de Yucatán (González-Oliver *et al.*, 2001). Las redes de haplotipos sugieren una pequeña relación genética entre los Mayas de Campeche y los Lacandones en los haplogrupos A, C y D. Estos resultados también sugieren que la población Lacandona es de origen Maya. Cabe mencionar que no hay secuencias disponibles de las otras poblaciones de origen Maya.

Con base en los resultados de diversidad haplotípica, π y θ_s , las poblaciones Lacandona, Nahua de Zitlala y Pima presentan la menor variación genética. Los lacandones habitan la Selva Lacandona que funciona como una barrera geográfica, además de practicar la endogamia. De los Nahuas de Zitlala se analizó un número muy pequeño de individuos (14), sin embargo, sólo se analizaron 10 individuos Nahuas de Ixhuatlancillo y esta población mostró un valor alto de diversidad haplotípica (0.9556), por lo que esta diferencia de diversidad genética podría atribuirse a la ubicación geográfica del grupo de Zitlala en una región orográficamente accidentada que dificulta su acceso. La población Pima es la que se ubica más distante del resto de las poblaciones de México en el ACP, y los valores de F_{st} de mayor diferencia entre poblaciones; lo anterior sugiere una

relación genética lejana de la población Pima con otras poblaciones de México por vía materna, probablemente debido a su ubicación geográfica distante y a que se localizan dentro de la región cultural del Suroeste Americano. Cabe mencionar que las poblaciones Huichol y Cora, que han habitado en la zona límite entre ambas regiones culturales (Mesoamérica y el Suroeste Americano), se mostraron alejadas de los Pimas en el gráfico y más cercanas al resto de las poblaciones de Mesoamérica, específicamente a las poblaciones Nahuas, con los cuales comparten filiación lingüística en la familia Yuto-azteca.

Finalmente, se propone realizar el análisis de secuenciación de todo el genoma mitocondrial en los individuos que fueron excluidos en el presente trabajo de Tesis (referidos como "Otro") por que no presentan ninguno de los 4 haplogrupos principales del mtDNA. Su secuencia nucleotídica permitirá identificar si pertenecen al haplogrupo X o si presentan otros sitios polimórficos compartidos entre ellos, y con los individuos antiguos y modernos de la reportados en la bibliografía con la finalidad de establecer las mutaciones que definirían un nuevo haplogrupo o haplotipo fundador en los nativos americanos.

6. CONCLUSIONES.

1. Las poblaciones Mazahua y Otomí del Estado de México muestran una cercanía genética menor a la que presentan los grupos poblacionales Otomíes del Estado de México y de Hidalgo. Cabe resaltar que las poblaciones del Estado de México habitan las mismas localidades, pertenecen al tronco lingüístico Oto-mangue, comparten una historia regional y un posible origen.
2. La población Mazahua presenta mayor variación genética que la Otomí. Es necesario analizar un mayor número de individuos Otomíes para determinar con mayor precisión la diversidad génica entre las poblaciones.
3. Las poblaciones indígenas de la región cultural de Mesoamérica presentan flujo génico.
4. Se sugiere un escaso flujo génico entre las poblaciones indígenas de la región cultural de Mesoamérica y el Suroeste Americano. Esta conclusión está basada en una sola población del Suroeste Americano, por lo que el análisis de más poblaciones es necesario.
5. Los Lacandones son los menos diversos genéticamente de todas las poblaciones Mayas estudiadas aquí. Los resultados sugieren un origen Maya en los Lacandones.

6. Las poblaciones de origen maya antiguas y/o contemporáneas muestran cercanía genética apoyando una continuidad genética en la cultura Maya propuesta por González-Oliver *et al.* (2001, 2011).

7. Las poblaciones Nahuas muestran una gran heterogeneidad genética dentro de este homogéneo grupo cultural.

BIBLIOGRAFÍA.

- Acuña, A.P. (2010). *Identificación de los Haplogrupos Mitocondriales en Mayas Contemporáneos de Yucatán*. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Addinsoft, T.M. (2011). XLSTAT Your Data Analysis Solution. Versión 2011.
- Aguirre, M.E. (2007). *Análisis de las frecuencias del DNA mitocondrial, un acercamiento a la historia biológica de los Lacandones*. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. (2004). *Biología Molecular de la Célula*. España: Omega Ediciones.
- Almaza, F.J., Castañeda, A. (2003). “*En la Sementera de Piedras... Timilpan*” *Compendio de Identidad Municipal*. México: Editorial Lubudi.
- Alvarado, T. (1598). *Crónica Mexicana. Códice Ramírez*. Porrúa. México, 1975.
- Anderson, S., Bankier, A. T., Barrell, B. G., de Bruijn, M. H. L., Coulson, A. R., Drouin, J., Eperon, I. C., Nierlich, D. P., Roe, B. A., Sanger, F., Schreier, P. H., Smith, A. J. H., Staden, R., Young, I. G. (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 290(5806):457-465.
- Andrews, R. M., Kubacka, I., Chinnery, P. F., Lightowlers, R. N., Turnbull, D. M., Howell, N. (1999). Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nat Genet*, 23(2):147.
- Arellano, A., Ayala, M., De La Fuente, B., De La Garza, M., Olmedo, B., Staines, L. (1997). *Los Mayas del Periodo Clásico*. México: Consejo Nacional para la Cultura y las Artes.
- Arzate, B.J. (1999). *Temoaya Monografía Municipal*. México: Instituto Mexiquense de Cultura – Asociación Mexiquense de Cronistas Municipales – Gobierno del Estado de México.
- Asher, R.J. (2012). *Evolution and Belief Confessions of a Religious Paleontologist*. Reino Unido: Cambridge University Press.

- Avise, J., Arnold, J., Ball, R., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J., Reeb, C., Saunders, N. (1987). Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review in Ecology and Systematic*, 18:489-522.
- Avise, J. C. (1991). Ten unorthodox perspectives on evolution prompted by comparative population genetic findings on mitochondrial DNA. *Annual Review of Genetics*, 25(1):45-69.
- Bandelt, H. J., Forster, P., Röhl, A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16(1):37-48.
- Barrientos, L.G. (2004). *Otomíes del Estado de México Pueblos indígenas del México contemporáneo*. México: Instituto Nacional de Antropología e Historia.
- Bailliet, G., Rothhammer, F., Carnese, F. R., Bravi, C. M., and Bianchi, N. O. (1994). Founder mitochondrial haplotypes in amerindian populations. *American journal of human genetics*, 55(1):27-33.
- Beals, R.L. (1974). Cultural relations between Northern Mexico and the Southwest United States: Ethnologically and archaeologically. En: Hedrick, Kelley, Riley (eds.). *The Mesoamerican Southwest: Readings in Archaeology, Ethnohistory, and Ethnology*. pp. 52-57. Estados Unidos: Southern Illinois University Press.
- Bellwood, P. (2000). The time depth of major language families: An archaeologist's perspective. En: Renfrew, McMahon, Trask (eds.). *Time Depth in Historical Linguistics*. Reino Unido: McDonald Institute for Archaeological Research.
- Benavente, T. (1701-1800). *El libro perdido*. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes. México, 1989.
- Bianchi, N. O., Catanesi, C. I., Bailliet, G., Martinez-Marignac, V. L., Bravi, C. M., Vidal-Rioja, L. B., Herrera, R. J., López-Camelo, J. S. (1998). Characterization of ancestral and derived Y-chromosome haplotypes of new world native populations. *American journal of human genetics*, 63(6):1862-1871.
- Boege, E. (2008). *El patrimonio biocultural de los pueblos indígenas de México*. México: Instituto Nacional de Antropología e Historia.

- Bogenhagen, D., Clayton, D. A. (1974). The number of mitochondrial deoxyribonucleic acid genomes in mouse L and human HeLa cells. *Journal of Biological Chemistry*, 249(24):7991-7995.
- Bracamonte, P. (1994). *La memoria enclaustrada: Historia indígena de Yucatán, 1750-1915*. México: CIESAS.
- Brown, W. M., George, M., Wilson, A. C. (1979). Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(4):1967-1971.
- Brown, M. D., Hosseini, S. H., Torroni, A., Bandelt, H. J., Allen, J. C., Schurr, T. G., Scozzari, R., Cruciani, F., Wallace, D. C. (1998). mtDNA haplogroup x: An ancient link between Europe/Western Asia and North America? *American journal of human genetics*, 63(6):1852-1861.
- Buentello-Malo, L., Peñaloza-Espinosa, R. I., Loeza, F., Salamanca-Gomez, F., Cerda-Flores, R. M. (2003). Genetic structure of seven mexican indigenous populations based on five polymarker loci. *American journal of human biology: the official journal of the Human Biology Council*, 15(1):23-28.
- Campbell, L., Kaufman, T. (1985). Mayan linguistics: where are we now? *Annual Review of Anthropology*, 14:187-198.
- Cavalli-Sforza, L. L. (1998). The DNA revolution in population genetics. *Trends in genetics: TIG*, 14(2):60-65.
- Cavalli-Sforza, L. L., Edwards, A. W. (1967). Phylogenetic analysis. Models and estimation procedures. *American journal of human genetics*, 19(3 Pt 1):233-257.
- Clavijero, F.J. (1780). *Historia Antigua de México*. Porrúa. México, 2003.
- CodonCode Corporation, 2012. CodonCode 3. Version 3.01. www.codoncode.com.
- Comas, J. (1996). Características físicas de la familia lingüística Maya. En: *Cuadernos del Instituto de Investigaciones Históricas*. UNAM. 20:5-95.
- Cordell, L.S. (1997). *Archaeology of the Southwest*. (2ª ed.). Estados Unidos: Academic.
- De La Cruz, I., González-Oliver, A., Kemp, B. M., Román, J. A., Smith, D. G., Torre-Blanco, A. (2008). Sex identification of children sacrificed to the ancient Aztec rain gods in Tlatelolco. *Current Anthropology*, 49(3):519-526.

- De la Cruz, I., González-Oliver, A., Márquez, L., Torre-Blanco, A. (2010). Análisis de los linajes del ADN mitocondrial en la población maya del periodo colonial (siglos XVI-XVII) de Xcaret, Quintana Roo. *III Simposio Internacional El Hombre Temprano en América*. (pp. 103-109). IIA-UNAM, INAH, Museo del Desierto, A.C. México D. F.
- Documentation of Endangered Languages. (2006). *Lacandon*. Recuperado 10 de noviembre, 2010, de <http://www.mpi.nl/DOBES/projects/lacandon/languages>.
- Erosa, E. (1994). *Pueblos indígenas de México. Los lacandones*. México: Instituto Nacional Indigenista.
- Excoffier, L., Smouse, P. E., Quattro, J. M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131(2):479-491.
- Excoffier, L. G. Laval, S. Schneider (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50.
- Excoffier, L., Hofer, T., Foll, M. (2009). Detecting loci under selection in a hierarchically structured population. *Heredity*, 103(4):285-298.
- Excoffier, L., Lischer, H. E. L. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3):564-567.
- Fagundes, N. J., Kanitz, R., Eckert, R., Valls, A. C., Bogó, M. R., Salzano, F. M., Smith, D. G. G., Silva, W. A., Zago, M. A., Ribeiro-dos Santos, A. K., Santos, S. E., Petzl-Erler, M. L. L., Bonatto, S. L. (2008). Mitochondrial population genomics supports a single pre-Clovis origin with a coastal route for the peopling of the Americas. *American journal of human genetics*, 82(3):583-592.
- Forster, M., Forster, P, 2010. Network 4. Version 4.6.1.0. <http://www.fluxus-engineering.com/sharenet.htm>.
- Flores, C.L.P. (1987). *Análisis de las configuraciones dermopapilares en un grupo de mazahuas de ambos sexos originarios de San Felipe del Progreso*. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Francalacci, P., Montiel, R., Malgosa, A. (1999). A Mitochondrial DNA database. En: Papiha, Deka y Chakraborty (eds.). *Genomic diversity: Applications in Human Population Genetics*. pp. 103-119. Estados Unidos: Kluwer Academic/Plenum Publishers.

- Franklin, S. G., Wolf, S. I., Zweidler, A., Blumberg, B. S. (1980). Localization of the amino acid substitution site in a new variant of human serum albumin, albumin Mexico-2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 77(5):2505-2509.
- Garduño, C.J. (1999). *Temascalcingo Monografía Municipal*. México: Instituto Mexiquense de Cultura – Asociación Mexiquense de Cronistas Municipales – Gobierno del Estado de México.
- Garfias, E. (2012). *Análisis de los Linajes Fundadores del DNA mitocondrial en cuatro poblaciones indígenas de México*. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- González-Oliver, A., Márquez-Morfín, L., Jiménez, J. C., Torre-Blanco, A. (2001). Founding amerindian mitochondrial DNA lineages in ancient Maya from Xcaret, Quintana Roo. *American journal of physical anthropology*, 116(3):230-235.
- González-Oliver, A., Acuña, A.P., De La Cruz, I., Garfias, E., Aguirre, M.E., Smith, D.G., Torre-Blanco, A. (2011). Análisis genético de poblaciones mayas y lacandonas de las Tierras Bajas. *IV Simposio Internacional El Hombre Temprano en América*. (pp. 59-74). IIA-UNAM, INAH, Museo del Desierto, A.C. México D. F.
- González, G.J.D., Gutiérrez, A.P. (1999). *Villa Victoria Monografía Municipal*. México: Instituto Mexiquense de Cultura – Asociación Mexiquense de Cronistas Municipales – Gobierno del Estado de México.
- Gorodezky, C., Alaez, C., Vázquez-García, M. N., de la Rosa, G., Infante, E., Balladares, S., Toribio, R., Pérez-Luque, E., Muñoz, L. (2001). The genetic structure of mexican mestizos of different locations: tracking back their origins through MHC genes, blood group systems, and microsatellites. *Human immunology*, 62(9):979-991.
- Gorodezky, C., Alaez, C., Flores, H., Munguía, A., Vázquez, M.N. (2005). *Impacto de la diversidad genética del MHC en la epidemiología de algunos grupos mexicanos*. XXIX Congreso Nacional de Genética Humana, San Luis Potosí, 17-20 Noviembre. Disponible en Internet: [<http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2005/ee-05-2005/simposios/S4.htm>]
- Greenberg, B. D., Newbold, J. E., Sugino, A. (1983). Intraspecific nucleotide sequence variability surrounding the origin of replication in human mitochondrial DNA. *Gene*, 21(1-2):33-49.

- Greenberg, J., Turner II, C.G., Zegura, S.L. (1986). The settlement of the Americas: a comparison of the linguistic dental and genetic evidence. *Curr. Anthropol*, 4: 477-497.
- Greenberg, B.D. (1987). *Language in the Americas*. Estados Unidos: Stanford University Press.
- Hedrick, B.C., Kelley, J.C., Riley, C.L. (1974). *The Mesoamerican Southwest: Readings in Archaeology, Ethnohistory, and Ethnology*. Estados Unidos: Southern Illinois University Press.
- Hill, J. H. (2001). Proto-Uto-aztecan: A community of cultivators in central Mexico? *American Anthropologist*, 103(4):913-934.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (2004). *La Población Indígena en México*. México: Autor.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (2011). Censo de población y vivienda 2010. México. Disponible en: <http://www.censo2010.org.mx/>
- Instituto Nacional Indigenista. (1982). *Grupos Étnicos de México*. México: Autor.
- Kemp, B.M., Resendez, A., Román-Berrelleza, J.A., Malhi, R.S., Smith, D.G. (2005). An analysis of ancient Aztec mtDNA from Tlatelolco: Pre-Columbian relations and the spread of Uto-Aztecan. En: Reed (ed.). *Biomolecular Archaeology: Genetic Approaches to the Past*. pp. 22-46. Estados Unidos: Southern Illinois University.
- Kemp, B. M., González-Oliver, A., Malhi, R. S., Monroe, C., Schroeder, K. B., McDonough, J., Rhett, G., Resendéz, A., Peñaloza-Espinosa, R. I., Buentello-Malo, L., Gorodesky, C., Smith, D. G. (2010). Evaluating the Farming/Language dispersal hypothesis with genetic variation exhibited by populations in the Southwest and Mesoamerica. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(15):6759-6764.
- Kimura, M. (1968). Evolutionary rate at the molecular level. *Nature*, 217(5129):624-626.
- Kirchhoff, P. (1952). Mesoamerica: Its geographic limits, ethnic composition and cultural characteristics. En: Tax (ed.) *Heritage of Conquest*. pp. 17–31. Estados Unidos: The Free Press Publishers.

- Kitchen, A., Miyamoto, M. M., Mulligan, C. J. (2008). A Three-Stage colonization model for the peopling of the americas. *PLoS ONE*, 3(2):e1596+.
- Kolman, C. J., Bermingham, E. (1997). Mitochondrial and nuclear DNA diversity in the Chocó and Chibcha amerinds of Panamá. *Genetics*, 147(3):1289-1302.
- Labate, J.A. (2000). Software for Population Genetic Analyses of Molecular Marker Data. *Crop Sci*, 40: 1521–1528.
- Lalueza, C., Pérez-Pérez, A., Prats, E., Cornudella, L., Turbón, D. (1997). Lack of founding amerindian mitochondrial DNA lineages in extinct aborigines from Tierra del Fuego-Patagonia. *Human molecular genetics*, 6(1):41-46.
- Lagunas, R.Z. (1984). Las discromatopsias en las poblaciones mazahua otomí y mestiza del noroeste del Estado de México. *Estudios de Antropología Biológica*, 2.
- Lagunas, R.Z., Jiménez, O.R. (1992). Los grupos sanguíneos y la ‘ceguera’ al sabor de la feniltiocarbamida en los mazahuas, otomíes y mestizos del noroeste de Estado de México. *Expresión Antropológica*, 7.
- Lagunas, R.Z., Jiménez, O.R. (1995). El crecimiento corporal de los niños y los jóvenes otomíes del noreste del Estado de México. *Estudios de Antropología Biológica*, 5.
- Lastra, Y. (2006). *Los otomíes, su lengua y su historia*. México: Instituto de Investigaciones Antropológicas – UNAM.
- Lell, J. T., Brown, M. D., Schurr, T. G., Sukernik, R. I., Starikovskaya, Y. B., Torroni, A., Moore, L. G., Troup, G. M., Wallace, D. C. (1997). Y chromosome polymorphisms in native american and siberian populations: identification of native american Y chromosome haplotypes. *Human genetics*, 100(5-6):536-543.
- Li, W. (1997). *Molecular Evolution*. Estados Unidos: Sinauer Associates, Inc., Publishers.
- Lohmeyer de Lenkersdorf, Gudrun "Los mayas bajo el régimen colonial" Revista Digital Universitaria [en línea]. 1 de octubre de 2012, Vol. 13, No.10 [Consultada: 2 de octubre de 2012] Disponible en Internet: [http://www.revista.unam.mx/vol.13/num11/art109/index.html] ISSN: 1607-6079.

- López, R. (2005). *Otomíes y mexicanos en la tierra de en medio*. Tesis doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Lorenz, J. G., Smith, D. G. (1996). Distribution of four founding mtDNA haplogroups among native north americans. *American journal of physical anthropology*, 101(3):307-323.
- Malhi, R. S., Eshleman, J. A., Greenberg, J. A., Weiss, D. A., Schultz Shook, B. A., Kaestle, F. A., Lorenz, J. G., Kemp, B. M., Johnson, J. R., Smith, D. G. G. (2002). The structure of diversity within New World mitochondrial DNA haplogroups: implications for the prehistory of North America. *American journal of human genetics*, 70(4):905-919.
- Maddison, D. R., W. P. Maddison, 2005. MacClade 4: Analysis of phylogeny and character evolution. Version 4.08. <http://macclade.org>.
- Mann, H. (2009). *Molecular Anthropology: The Red Headed Step Child Of Biology*. Recuperado 11 de noviembre, 2010, de http://www.science20.com/alternate_allele/molecular_anthropology_red_headed_step_child_biology.
- Margulis, L. (1981). *Symbiosis in Cell Evolution*. (2ª ed.). Estados Unidos: W.H. Freeman and Company.
- Margulis, L. (1984). *Early Life*. (2ª ed.). Estados Unidos: Jones and Bartlett Publishers.
- Margulis, L., Sagan, C.E. (1986). *Microcosmos: Four Billion Years of Evolution from Our Microbial Ancestors*. Estados Unidos: University California Press.
- Matson, R.G. (2002). The spread of maize agriculture in the U.S. Southwest. En: Bellwood, Renfrew (eds.). *Examining the Farming/Language Dispersal Hypothesis*. Reino Unido: McDonald Institute for Archaeological Research.
- Melartin, L., Blumberg, B. S., Lisker, R. (1967). Albumin Mexico, a new variant of serum albumin. *Nature*, 215(5107):1288-1289.
- Merriwether, D. A., Rothhammer, F., Ferrell, R. E. (1995). Distribution of the four founding lineage haplotypes in native americans suggests a single wave of migration for the new world. *American journal of physical anthropology*, 98(4):411-430.

- Meyer, S., Weiss, G., Von Haeseler, A. (1999). Pattern of nucleotide substitution and rate heterogeneity in the hypervariable regions I and II of human mtDNA. *Genetics*, 152(3):1103-1110.
- Miller, W.R. (1983). *Uto-Aztecan Languages. Handbook of North American Indians, Southwest*. (vol. 10). Sturtevant (ed.). Estados Unidos: Smithsonian Institution.
- Montano Loza, A. J., Ramirez Iglesias, M. T. T., Perez Diaz, I., Cruz Castellanos, S., Garcia Andrade, C., Medina Mora, M. E. E., Robles Díaz, G., Kershenobich, D., Gutierrez Reyes, G. (2006). Association of alcohol-metabolizing genes with alcoholism in a mexican indian (otomi) population. *Alcohol (Fayetteville, N. Y.)*, 39(2):73-79.
- Morley, S. G. (1977). Historia general de los antiguos Mayas. En L. H. Hollos, R. Ruíz, R. Igoyen y H. Lara (Eds.), *Enciclopedia Yucatanense* (Vol. 2, págs. 5 – 54). México: Gobierno de Yucatán.
- Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. Estados Unidos: Columbia University Press.
- Nelson, D.L., Cox, M.M. (2005). *Lehninger Principios de Bioquímica*. (4ª ed.). España: Ediciones Omega.
- Nolasco, A.M.A. (1999). *Aculco Monografía Municipal*. México: Instituto Mexiquense de Cultura – Asociación Mexiquense de Cronistas Municipales – Gobierno del Estado de México.
- Page, R.D.M., Holmes, E.C. (1998). *Molecular Evolution A Phylogenetic Approach*. Inglaterra: Blackwell Science Ltd.
- Palka, J.W. (2005). Unconquered Lacandon Maya: Ethnohistory and Archaeology of Indigenous Culture Change. [Book review: C. Isendahl]. *Journal of Latin America Anthropology* 218 – 220.
- Peñaloza-Espinosa, R. I., Arenas-Aranda, D., Cerda-Flores, R. M., Buentello-Malo, L., González-Valencia, G., Torres, J., Alvarez, B., Mendoza, I., Flores, M., Sandoval, L., Loeza, F., Ramos, I., Muñoz, L., Salamanca, F. (2007). Characterization of mtDNA haplogroups in 14 mexican indigenous populations. *Human biology*, 79(3):313-320.

- Reich, D., Patterson, N., Campbell, D., Tandon, A., Mazieres, S., Ray, N., Parra, M. V., Rojas, W., Duque, C., Mesa, N., Garcia, L. F., Triana, O., Blair, S., Maestre, A., Dib, J. C., Bravi, C. M., Bailliet, G., Corach, D., Hunemeier, T., Bortolini, M. C., Salzano, F. M., Petzl-Erler, M. L., Acuna-Alonzo, V., Aguilar-Salinas, C., Canizales-Quinteros, S., Tusie-Luna, T., Riba, L., Rodriguez-Cruz, M., Lopez-Alarcon, M., Coral-Vazquez, R., Canto-Cetina, T., Silva-Zolezzi, I., Fernandez-Lopez, J. C., Contreras, A. V., Jimenez-Sanchez, G., Gomez-Vazquez, M. J., Molina, J., Carracedo, A., Salas, A., Gallo, C., Poletti, G., Witonsky, D. B., Alkorta-Aranburu, G., Sukernik, R. I., Osipova, L., Fedorova, S. A., Vasquez, R., Villena, M., Moreau, C., Barrantes, R., Pauls, D., Excoffier, L., Bedoya, G., Rothhammer, F., Dugoujon, J.-M., Larrouy, G., Klitz, W., Labuda, D., Kidd, J., Kidd, K., Di Rienzo, A., Freimer, N. B., Price, A. L., Ruiz-Linares, A. (2012). Reconstructing native american population history. *Nature*, 488(7411):370-374.
- Romero, E. (2010). *Análisis de los Linajes Fundadores del DNA Mitocondrial en las poblaciones contemporáneas: Mazahua y Otomí del Estado de México*. Tesis de licenciatura. Escuela Nacional de Antropología e Historia.
- Sahagún, B. (1540-1585). *Historia general de las cosas de Nueva España*. (10ª ed.). Porrúa. México, 1999.
- Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., Mullis, K. B., Erlich, H. A. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science (New York, N. Y.)*, 239(4839):487-491.
- Sánchez, B.J. (1997). *Ixtlahuaca Monografía Municipal*. México: Instituto Mexiquense de Cultura – Asociación Mexiquense de Cronistas Municipales – Gobierno del Estado de México.
- Sánchez, J.F. (2010). *Análisis de los linajes fundadores del DNA mitocondrial en individuos contemporáneos: mazahuas, otomíes y mestizos del Estado de México*. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Metropolitana.
- Sandoval, K., Buentello-Malo, L., Peñaloza-Espinosa, R., Avelino, H., Salas, A., Calafell, F., Comas, D. (2009). Linguistic and maternal genetic diversity are not correlated in native mexicans. *Human genetics*, 126(4):521-531.

- Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(12):5463-5467.
- Scheffler, L. (1992). *Los indígenas mexicanos*. México: Panorama Editorial.
- Schurr, T. G., Ballinger, S. W., Gan, Y. Y., Hodge, J. A., Merriwether, D. A., Lawrence, D. N., Knowler, W. C., Weiss, K. M., Wallace, D. C. (1990). Amerindian mitochondrial DNAs have rare asian mutations at high frequencies, suggesting they derived from four primary maternal lineages. *American journal of human genetics*, 46(3):613-623.
- Sheffler, I.E. (2008). *Mitochondria*. Estados Unidos: Wiley.
- Smith, D. G., Malhi, R. S., Eshleman, J., Lorenz, J. G., Kaestle, F. A. (1999). Distribution of mtDNA haplogroup x among native North americans. *American journal of physical anthropology*, 110(3):271-284.
- Smith, D. G., Lorenz, J., Rolfs, B. K., Bettinger, R. L., Green, B., Eshleman, J., Schultz, B., Malhi, R. (2000). Implications of the distribution of albumin Naskapi and albumin Mexico for New World prehistory. *American journal of physical anthropology*, 111(4):557-572.
- Sommer M. (2008). History in the gene: Negotiations Between Molecular and organismal anthropology. *J. Hist. Biol.*, 41, 473–528.
- Soustelle, J. (1993). *La Familia Otomí-Pame*. México: Instituto Mexiquense de Cultura y Universidad Autónoma del Estado de México.
- Stoneking, M., Jorde, L. B., Bhatia, K., Wilson, A. C. (1990). Geographic variation in human mitochondrial DNA from Papua New Guinea. *Genetics*, 124(3):717-733.
- Stoneking, M., Soodyall, H. (1996). Human evolution and the mitochondrial genome. *Current opinion in genetics & development*, 6(6):731-736.
- Stoneking, M. (2000). Hypervariable sites in the mtDNA control region are mutational hotspots. *American journal of human genetics*, 67(4):1029-1032.
- Stoneking, M. (2007). *Molecular Anthropology*. Recuperado 11 de noviembre, 2010, de http://www.eva.mpg.de/genetics/files/team_stoneking.html.
- Suárez, J.A. (1983). *The Mesoamerican Indian Languages*. Estados Unidos: Cambridge University Press.

- Tajima, F. (1983). Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics*, 105(2):437-460.
- Tajima, F., Nei, M. (1984). Estimation of evolutionary distance between nucleotide sequences. *Molecular biology and evolution*, 1(3):269-285.
- Tamm, E., Kivisild, T., Reidla, M., Metspalu, M., Smith, D. G., Mulligan, C. J., Bravi, C. M., Rickards, O., Martinez-Labarga, C., Khusnutdinova, E. K., Fedorova, S. A., Golubenko, M. V., Stepanov, V. A., Gubina, M. A., Zhadanov, S. I., Ossipova, L. P., Damba, L., Voevoda, M. I., Dipierri, J. E., Villems, R., Malhi, R. S. (2007). Beringian standstill and spread of native american founders. *PLoS ONE*, 2(9):e829+.
- Templeton, A. R. (1997). Out of africa? What do genes tell us? *Current opinion in genetics & development*, 7(6):841-847.
- Torroni, A., Schurr, T. G., Yang, C. C., Szathmary, E. J., Williams, R. C., Schanfield, M. S., Troup, G. A., Knowler, W. C., Lawrence, D. N., Weiss, K. M. (1992). Native american mitochondrial DNA analysis indicates that the Amerind and the Nadene populations were founded by two independent migrations. *Genetics*, 130(1):153-162.
- Torroni, A., Schurr, T. G., Cabell, M. F., Brown, M. D., Neel, J. V., Larsen, M., Smith, D. G., Vullo, C. M., Wallace, D. C. (1993). Asian affinities and continental radiation of the four founding native american mtDNAs. *American journal of human genetics*, 53(3):563-590.
- Torroni, A., Chen, Y. S., Semino, O., Santachiara-Beneceretti, A. S., Scott, C. R., Lott, M. T., Winter, M., Wallace, D. C. (1994). mtDNA and Y-chromosome polymorphisms in four native american populations from southern Mexico. *American journal of human genetics*, 54(2):303-318.
- Vigilant, L., Pennington, R., Harpending, H., Kocher, T. D., Wilson, A. C. (1989). Mitochondrial DNA sequences in single hairs from a southern african population. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(23):9350-9354.
- Villa, A. (1967). *Los lacandones: Su origen, costumbres y problemas vitales*. Instituto Indigenista Interamericano.
- Wallace, D. C. (2007). Why do we still have a maternally inherited mitochondrial DNA? Insights from evolutionary medicine. *Annual review of biochemistry*, 76:781-821.
- Watterson, G. A. (1975). On the number of segregating sites in genetical models without recombination. *Theoretical population biology*, 7(2):256-276.

- Woodward, L. L. (1996). Lacandones. En B. A. Tenenbaum (Ed.), *Encyclopedia of Latin American History and Culture* (Vol. 3, págs. 573 – 574). New York: Charles Scribner's Sons.