



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**FACULTAD DE CIENCIAS
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL**

**ESTUDIO DEL DNA MITOCONDRIAL EN POBLACIONES
INDÍGENAS CONTEMPORÁNEAS: MIXE, MIXTECA Y MAYA DEL
SURESTE DE MÉXICO**

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

PINEDA VÁZQUEZ DIRCÉ

**TUTOR(A) PRINCIPAL DE TESIS:
DRA. ANGÉLICA GONZÁLEZ OLIVER
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM
COMITÉ TUTOR: DRA. BLANCA ESTELA HERNÁNDEZ BAÑOS
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM
DR. MIGUEL ÁNGEL ALCÁNTARA ORTIGOZA
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

MÉXICO, D.F. AGOSTO, 2015



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.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

FACULTAD DE CIENCIAS
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**ESTUDIO DEL DNA MITOCONDRIAL EN POBLACIONES
INDÍGENAS CONTEMPORÁNEAS: MIXE, MIXTECA Y MAYA DEL
SURESTE DE MÉXICO**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

PINEDA VÁZQUEZ DIRCÉ

TUTOR(A) PRINCIPAL DE TESIS:
DRA. ANGÉLICA GONZÁLEZ OLIVER
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM
COMITÉ TUTOR: DRA. BLANCA ESTELA HERNÁNDEZ BAÑOS
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM
DR. MIGUEL ÁNGEL ALCÁNTARA ORTIGOZA
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

MÉXICO, D.F. AGOSTO, 2015



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO FCIE/DEP/438/15

ASUNTO: Oficio de Jurado

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 11 de mayo de 2015 se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS en el campo de conocimiento de Biología Experimental del (la) alumno (a) PINEDA VÁZQUEZ DIRCÉ con número de cuenta 100002100 con la tesis titulada "ESTUDIO DEL DNA MITOCONDRIAL EN POBLACIONES INDÍGENAS CONTEMPORÁNEAS: MIXE, MIXTECA Y MAYA DEL SURESTE DE MÉXICO", realizada bajo la dirección del (la) DRA. ANGÉLICA GONZÁLEZ OLIVER:

Presidente: DR. FRANCISCO ROBERTO VERGARA SILVA
Vocal: DR. JULIO GRANADOS ARRIOLA
Secretario: DR. MIGUEL ÁNGEL ALCÁNTARA ORTIGOZA
Suplente: DRA. ROSENDA ISABEL PEÑALOZA ESPINOSA
Suplente: DR. CARLOS SERRANO SÁNCHEZ

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

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 31 de julio de 2015

M del Coro Arizmendi
Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga
Coordinadora del Programa



AGRADECIMIENTOS

Agradezco el apoyo para la realización de esta tesis:

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM

A los apoyos económicos recibidos

- **Beca CONACYT**
- **Apoyo PAEP**
- **Apoyo CONACyT No. 101791.**

A los miembros del Comité Tutor:

- **Dra. Angélica González Oliver**
- **Dra. Blanca Estela Hernández Baños**
- **Dr. Miguel Ángel Alcántara Ortigoza**

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

Al Dr. Alfonso Torre Blanco por dirigir y coordinar al equipo de Antropología molecular, realizando observaciones y comentarios que promueven el debate teórico.

A la Dra. Angélica González Oliver por guiar, supervisar y corregir el desarrollo de esta tesis, cumpliendo su papel de tutora principal, disponiendo de los conocimientos de la interdisciplina.

Al la Dra. Blanca Estela Hernández Baños por las revisiones y comentarios a este trabajo, cuyas sugerencias expandieron el desarrollo del área práctica, y cuya perspicacia y discernimiento estuvieron siempre presentes.

Al Dr. Miguel Ángel Alcántara Ortigoza por las observaciones y correcciones realizadas, siempre bajo la objetividad y minuciosidad que exige la Biología Molecular.

A los Doctores Rosenda Isabel Peñaloza Espinosa, Dr. Francisco Roberto Vergara Silva, Julio Granados Arriola, Miguel ángel Alcántara Ortigoza y Carlos Serrano Sánchez.

A los miembros del laboratorio de ornitología Biol. Marisol Ramírez, Biol. Alma Melisa Vázquez López y Biol. Ernesto Espinosa por su apoyo y asesoría en el trámite, realización, procesamiento y envío de secuencias al High Throughput Genomics Center de la Universidad de Washington, Seattle WA, USA.

Al Biol. Ernesto Garfias Morales por su instrucción en el área de la Bioestadística, así como asesoría técnica en el manejo de *softwares* y temas computacionales.

Al Biol. Oscar Daniel Rosillo por esclarecer dudas acerca de la introducción a la metodología, práctica y revisión teórica de bibliografía básica.

A la Q.F.B. Miriam Jetzabel Bravo López por promover la incorporación de los miembros del equipo de trabajo.

A los Dres. Luis Felipe Jiménez García, Luis Eguiarte y Francisco Vergara Silva, cuyas enseñanzas en sus respectivas materias impartidas en el posgrado, complementaron mi formación académica y propiciaron el desarrollo de esta tesis.

A las personas pertenecientes a las comunidades indígenas que proporcionaron las muestras biológicas para la realización de este estudio, así como a quienes realizaron la recolección de las mismas.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. ANTECEDENTES	4
2.1.1 Antropología molecular	4
2.1.2 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	6
2.1.3 Endonucleasas de restricción y polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción (RFLPs) del mtDNA	7
2.1.4 Métodos de secuenciación	8
2.1.4.1 Método de Sanger	8
2.1.5 Genoma mitocondrial humano	9
2.1.6 Haplogrupos fundadores de DNA mitocondrial	12
2.1.7 Haplotipos de DNA mitocondrial (Región control)	14
2.1.8 Análisis bioinformático	15
2.1.9 Poblamiento de América y haplogrupos fundadores del mtDNA	17
2.1.9.1 Una onda migratoria	18
2.1.9.2 Dos ondas migratorias	20
2.1.9.3 Tres ondas migratorias	21
2.1.9.4 Cuatro ondas migratorias	22
2.1.10 Diversidad genómica en poblaciones indígenas mexicanas	23
2.1.11 Aspectos teóricos de la correlación lenguajes- genes	24
2.1.12 Especificaciones terminológicas sobre el tratamiento de grupos de descendencia lingüística	25
2.2 POBLACIONES INDÍGENAS	27
2.2.1 Mayas (<i>Maaya wíinik</i>): características culturales, lingüísticas y geográficas	27
2.2.2 Mixes (<i>Ayuuk jä'äy</i>): características culturales, lingüísticas y geográficas	28
2.2.3 Mixtecos (<i>Ñuu savi</i>): características culturales, lingüísticas y geográficas	29
3. JUSTIFICACIÓN	31
4. OBJETIVOS	32
4.1 Objetivo general	32
4.2 Objetivos particulares	32
5. METODOLOGÍA	33
5.1 Material biológico	33
5.1.1 Criterios de inclusión	33
5.1.2 Aspectos bioéticos	34
5.2 Procedimientos para el manejo del DNA mitocondrial (mtDNA)	34
5.2.1 Extracción de DNA	34
5.2.2 Amplificación de mtDNA mediante PCR	35

5.2.3	Análisis electroforético en geles de poliacrilamida	35
5.2.4	Tipificación con endonucleasas de restricción	36
5.2.5	Análisis estadístico de los haplogrupos fundadores	36
5.3	Procedimientos para la identificación de los haplotipos de la región hipervariable I (HVRI) de la región control del mtDNA.....	37
5.3.1	Amplificación de HVRI por PCR	37
5.3.2	Análisis electroforético en geles de poliacrilamida	37
5.3.3	Purificación con columnas.....	37
5.3.4	Secuenciación automatizada directa basada en el método de Sanger (1977).....	37
5.3.5	Análisis estadístico de los haplotipos de HVRI	38
5.3.6	Construcción de redes haplotípicas.....	39
6.	RESULTADOS	40
6.1	Identificación de haplogrupos fundadores del mtDNA	40
6.2	Identificación de haplotipos de la HVRI del mtDNA.....	40
6.3.	Diversidad genética molecular por haplogrupo mitocondrial	41
6.4	Redes de haplogrupos mitocondriales	42
6.4.1	Red del haplogrupo A	42
6.4.2	Red del haplogrupo B	42
6.4.3	Red del haplogrupo C	43
6.4.4	Red del haplogrupo D	43
7.	DISCUSION	44
7.1	Distribución de las frecuencias de los haplogrupos fundadores del mtDNA en poblaciones de la familia lingüística Maya.....	45
7.2	Distribución de las frecuencias de los haplogrupos fundadores del mtDNA en poblaciones mixes de la familia lingüística Mixe-zoque.....	46
7.3	Distribución de las frecuencias de los haplogrupos fundadores del mtDNA en poblaciones mixtecas de la familia lingüística Oto-mangue.....	46
7.4	Distribución de las frecuencias de los haplogrupos fundadores del mtDNA en las poblaciones mexicanas.....	48
7.5	Análisis de Componentes Principales (ACP) basado en cuatro haplogrupos mitocondriales.....	50
7.6	Diversidad genética molecular de los cuatro haplogrupos mitocondriales A, B, C y D en las poblaciones mayas, mixes y mixtecas	51
7.7	Redes de haplotipos.....	53
7.7.1	Haplogrupos y haplotipos del mtDNA en poblaciones de la familia lingüística	54
7.7.2	Haplogrupos y haplotipos fundadores del mtDNA en poblaciones mixes de la familia lingüística Mixe-zoque.....	55
7.7.3	Haplogrupos y haplotipos fundadores del mtDNA en poblaciones mixtecas de la familia lingüística Oto-mangue	55
8.	CONCLUSIONES	57
	APÉNDICE DE TABLAS.....	59
	APÉNDICE DE FIGURAS	67
	BIBLIOGRAFÍA	80

RESUMEN

En este estudio se determinaron las frecuencias de los cinco haplogrupos o linajes fundadores del DNA mitocondrial (mtDNA): A, B, C, D y X; y los haplotipos de la región hipervariable I (HVRI) en las poblaciones indígenas contemporáneas mixe, mixteca y maya con la finalidad de entender las relaciones genéticas entre las poblaciones. Los resultados obtenidos se compararon con los citados en la literatura para otras poblaciones indígenas contemporáneas y antiguas de México. Las poblaciones analizadas aquí presentan los principales haplogrupos mitocondriales A, B, C y D, excepto la población mixe que carece del haplogrupo D. El patrón de las frecuencias de los haplogrupos A, C, B y D de la población maya es similar al que muestran las poblaciones de origen maya de México y Guatemala, lo que apoya la hipótesis de continuidad genética entre el grupo cultural maya. El análisis de diversidad genética molecular de los haplotipos indica que la población mixteca es la de mayor diversidad genética. Mientras que los mixes son los menos diversos, a pesar de que las dos poblaciones tienen una ubicación geográfica cercana. Las tres poblaciones estudiadas muestran una mayor diversidad génica intragrupal que intergrupala. Los valores de distancia FSTs y las redes de haplotipos sugieren flujo génico entre las poblaciones independientemente de su ubicación geográfica o afiliación lingüística.

ABSTRACT

We determined the frequencies of the five Amerindian founding mitochondrial DNA haplogroups A, B, C, D and X, and the hypervariable region I haplotypes in contemporary Mixe, Mixtec and Maya to understand the genetic relationships among these populations. Mixtec and Maya populations showed the presence of the four major mitochondrial DNA haplogroups A, B, C and D, whereas Mixe lacked D haplogroup. The three populations lacked haplogroup X. We compared our results with ancient and contemporary Mexican populations cited on the literature. The pattern of haplogroup frequencies A, C, B and D in our Maya population is similar to the pattern found in other Maya populations from Mexico and Guatemala, suggesting genetic continuity within the Maya cultural group, and it is also similar to Mixe. The molecular genetic diversity analysis of the haplotypes showed that genetic diversity is greatest among Mixtec populations than among Mixe, in spite of being two neighbour groups. Genetic diversity is higher intragroup than intergroup in the three populations here analyzed. FST values and haplotype networks suggest the presence of genetic flux among the three populations independently of geographic distribution or linguistic affiliation.

1. INTRODUCCIÓN

Los primeros estudios de genética de poblaciones humanas se basaban en los polimorfismos de genes nucleares que codifican proteínas. Posteriormente, la aparición de la técnica de amplificación in vitro del DNA, reacción en cadena de la polimerasa (PCR), así como el descubrimiento de marcadores genéticos variables, facilitaron los análisis de la variación genética de poblaciones antiguas y contemporáneas del mundo.

Posteriormente, aparecieron los estudios de microsatélites, los minisatélites, los polimorfismos de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLPs), secuenciación del DNA mitocondrial (mtDNA) y cromosoma “Y” y recientemente la secuenciación de alto rendimiento de los mitogenomas (González Oliver 2001).

En los estudios de la evolución humana, los genomas mitocondrial y del cromosoma “Y” se utilizan como la principal herramienta para discernir las relaciones de ancestría y descendencia.

Desde los estudios pioneros de Cann y colaboradores (1987) se menciona que “la biología molecular es la mayor fuente de información cuantitativa y objetiva acerca de la historia evolutiva de la especie humana”. El uso del reloj molecular ha permitido calcular el tiempo evolutivo de eventos importantes ocurridos en las poblaciones humanas (Cavalli-Sforza 1997).

Inicialmente, los estudios del mtDNA y del cromosoma “Y” en las poblaciones nativas actuales y antiguas de América se enfocaron al poblamiento del continente americano lo que corroboró el origen asiático de los nativos americanos y proporcionó nueva información en relación a las rutas de migración, número de individuos de la población colonizadora, fechas de la(s) migración(es) ocurridas durante el poblamiento de América.

El análisis de marcadores moleculares del cromosoma “Y” y del mtDNA humano en conjunto con los datos lingüísticos, geográficos, arqueológicos, históricos y culturales permiten realizar estudios moleculares a nivel regional para comprender mejor la composición genética y dinámicas de las poblaciones humanas actuales.

Dada la importancia del estudio de individuos indígenas contemporáneos y antiguos, las investigaciones a nivel mundial han ido en aumento, destacando las de nativos americanos.

2. ANTECEDENTES

2.1.1 Antropología molecular

El término antropología tiene varias definiciones acorde a las distintas tradiciones nacionales. Existen dos amplias visiones del término antropología los cuales son determinados por las escuelas europea y americana.

La antropología estudia la humanidad en sus diversos aspectos, proveniente de las raíces griegas *ανθρωπος*: hombre y *λόγος*: estudio.

La primera definición como disciplina científica se remonta aproximadamente alrededor del S. XVI. En Europa Central se usó como un término que incluía la anatomía y fisiología, razón por la cual se denominó posteriormente antropología física o biológica.

Entrado el S. XVII y durante el S.XVIII, los teólogos europeos usaron el término antropología para referirse a la atribución de características humanas a sus deidades. En el germano describe atributos culturales a diferentes grupos étnicos, la cual fue usada posteriormente por algunos escritores en Rusia y Austria al final del S. XVIII, sin embargo este término se estableció entre los estudiosos muy tardíamente.

En Europa la palabra antropología frecuentemente conlleva el término antropología física, mientras que la etnología y la antropología social se consideran sinónimos.

Mientras que en la escuela americana, la antropología se caracteriza por incluir cuatro campos o subdisciplinas: antropología biológica, arqueología, antropología lingüística y antropología cultural.

Varios antropólogos americanos definen un quinto campo denominado antropología aplicada, este incluye la aplicación de ideas de la antropología cultural con la

medicina, a la solución de un desastre, para el desarrollo de una comunidad, donde el conocimiento de la cultura y la sociedad es relevante, así, la antropología aplicada puede ser considerada no como una subdisciplina separada, sino como parte de cada uno de los campos de la antropología.

La antropología biológica es una rama de la antropología que estudia “la biología humana en el marco de la evolución y con énfasis en la interacción entre biología y cultura” (Jurmain 2009).

La antropología molecular a su vez deriva de la antropología biológica, como una subdisciplina, la cual es definida por Stoneking (1997) como: “el uso de técnicas de genética molecular para dirigir cuestiones que interesan a los antropólogos, concernientes a la evolución y diversidad humana. La antropología molecular realiza el análisis e interpretación de:

- Patrones de variación genética molecular en varias poblaciones humanas contemporáneas.
- Patrones de variación genética molecular en poblaciones de primates no humanas.
- Comparación de genes primates, humanos y no humanos
- Recuperación de información genética directamente de especímenes antiguos”.

Ya como una disciplina, la antropología molecular “es útil estimando la contribución de diferentes pools genéticos a las poblaciones contemporáneas y prueba las hipótesis acerca del origen lingüístico y de movimientos históricos de las poblaciones” (Mastana 2007).

La biología molecular no es sólo una tecnología, sino una disciplina que involucra el estudio de la estructura genómica y la función. Sólo cuando el conocimiento teórico en este campo, se integren con la antropología permitirá un conocimiento profundo sobre el enfoque molecular de la historia humana (Pääbo 1993).

2.1.2 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Ideado en 1985 por Karry B. Mullis, la reacción en cadena de la polimerasa o PCR (*Polymerase Chain Reaction*), es el proceso bioquímico que consiste en la síntesis enzimática in vitro de millones de copias de un segmento específico de DNA.

El principal constituyente de la PCR es un par de primers u oligonucleótidos sintéticos (aproximadamente 20 nucleótidos) complementarios a las regiones en cadenas opuestas, que flanquea la secuencia de DNA blanco a amplificar. La secuencia de DNA blanco puede ser de 100 a 35 000 pb. El segundo componente esencial de la PCR es una polimerasa de DNA termoestable que pueda resistir temperaturas de 95°C o mayores sin perder su actividad.

Cada ciclo de la reacción consta de tres pasos determinados por temperaturas y tiempos específicos.

- Desnaturalización (92-98°C, 30-90 segundos). Se separan o desnaturalizan las dos cadenas complementarias de DNA blanco.
- Alineamiento (50-60°C, 30-60 segundos). Se realiza el apareamiento específico entre los iniciadores y las cadenas simples del segmento de DNA blanco desnaturalizado.
- Extensión o elongación (70-74°C, 30-90 segundos). La DNA polimerasa extiende la longitud de los iniciadores apareados al DNA blanco (Pasternak 2005, Rodríguez *et al.*, 1993).

2.1.3 Endonucleasas de restricción y polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción (RFLPs) del mtDNA

Las endonucleasas de restricción son enzimas que rompen la doble hélice del DNA en lugares donde reconocen secuencias específicas llamadas sitios de restricción. Originalmente se llamaron enzimas de restricción debido a que su presencia en una bacteria restringe el crecimiento de ciertos virus bacterianos (bacteriófagos) (Martin *et al.*, 1996).

En el DNA mitocondrial humano existen variaciones en la secuencia de nucleótidos, producidas por mutaciones, que caracterizan a individuos y poblaciones; estos cambios se conocen como polimorfismos. Algunas de estas mutaciones producen o eliminan sitios de reconocimiento para endonucleasas de restricción y son fácilmente reconocibles ya que alteran el patrón de fragmentos producidos por la endonucleasa correspondiente; a este tipo de cambios se les llama polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción o RFLPs (*Restriction Fragment Length Polymorphisms*) y la técnica para detectarlos se conoce como análisis de restricción. En el caso del DNA mitocondrial humano, estos polimorfismos se utilizan ampliamente para definir haplotipos o haplogrupos.

En el DNA mitocondrial de pobladores nativos del mundo se determinaron las variaciones de RFLPs mediante análisis con endonucleasas de restricción, que permiten identificar variaciones genéticas específicas de las poblaciones nativas para establecer la nomenclatura de los sitios polimórficos que caracterizan a las poblaciones. En los pobladores indígenas americanos, se determinaron cinco grupos propios de estas poblaciones: A2, B2, C1, D1 y X2A que serán explicados en el apartado 2.1.6. (Tamm *et al.*, 2007).

2.1.4 Métodos de secuenciación

El conocimiento de la secuencia de DNA de los genes y otras partes del genoma de los organismos se ha vuelto indispensable para la investigación básica en el estudio de procesos biológicos, así, la capacidad de secuenciar DNA se encuentra en el corazón de la revolución de la biología molecular (Alphey 1997; Munshi 2012). La razón fundamental para buscar conocer la secuencia de una molécula de DNA es: hacer predicciones acerca de su función y facilitar la manipulación de la molécula (Alphey 1997). La primera secuencia de DNA fue obtenida en la década de los años 70, usando métodos basados en cromatografía en dos dimensiones (Munshi 2012).

2.1.4.1 Método de Sanger

La era moderna de la secuenciación inicia a finales de 1977 con la introducción del método de terminación de cadena desarrollado por Fred Sanger y colaboradores en 1975. Este método inicia con la desnaturalización de varias copias de DNA de doble cadena en DNA de cadena sencilla. La cadena sencilla de DNA era mezclada con una DNA polimerasa, un primer, desoxiribonucleótidos trifosfato de las cuatro bases (dNTPs) y un buffer. Esta mezcla era alicuotada en cuatro tubos de reacción con una pequeña cantidad de uno de los cuatro dideoxinucleótidos trifosfos marcados. Cuando cada uno de los ddNTPs es incorporado en un fragmento de la secuencia, el fragmento no puede ser extendido posteriormente. El método de Sanger origina fragmentos que terminan en cualquier posición del DNA. El gel de secuenciación mostraba la presencia de una banda que indicaba su identidad y la posición de la base por lo que la secuencia era leída de la parte inferior del gel (extremo 5') a la parte superior del gel (extremo 3') (Nunnally 2005).

Posteriormente, se desarrolló un método de secuenciación automática del DNA basada en la metodología de Sanger pero utilizando una polimerasa termoestable que permite una reacción de secuenciación cíclica en la cual el producto de la reacción se separa por electroforesis capilar y, el marcaje de los fragmentos se realiza con 4 fluorocromos, uno por cada base. Estos fluorocromos pueden estar

incorporados en el *primer* usando el *dye primer kit* o bien en los ddNTPs terminadores utilizando el *Big Dye Terminator kit* que fue desarrollado por la compañía *Applied Biosystems* y es uno de los más utilizados.

Actualmente, los métodos de secuenciación de alto rendimiento más usados en el estudio del DNA mitocondrial son: pirosecuenciación y secuenciación Illumina (Solexa).

2.1.5 Genoma mitocondrial humano

La mitocondria es un organelo presente en todas las células eucariontes, originada por ancestros procariontes endosimbióticos, ésta regula procesos esenciales a nivel celular, desde la producción de energía hasta la apoptosis, contribuye a la señalización de calcio, crecimiento, diferenciación celular y control del ciclo celular (Margulis 2004; Osellame 2012).

El DNA mitocondrial humano es una molécula de doble cadena circular, presente entre dos y diez copias de mtDNA por mitocondria, a su vez existen varios cientos de mitocondrias por célula (la cantidad varía dependiendo del tejido), por lo tanto se calcula existen de 1,000 a 10,000 moléculas de mtDNA por célula (Bogenhagen 1974).

El genoma mitocondrial está formado por 16,596 pares de bases, que codifican para 37 genes, (28 en la cadena pesada (H-Heavy strand) y 9 en la cadena ligera (L-Light strand)).

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 (Scheffler 2011).

Estos genes del mtDNA codifican para: dos RNAs ribosomales (rRNAs) de las subunidades 12 y 16 (12S y 16S), 22 RNAs de transferencia (tRNAs) y 13 subunidades del sistema de fosforilación oxidativa y cadena respiratoria:

- 7 genes del complejo I: NADH deshidrogenasa (ND1, ND2, ND3, ND4, ND5, ND6 y ND4L).
- 3 genes del complejo IV: Citocromo C oxidasa (COI, COII, COIII)
- 2 genes del complejo V: subunidades F1 ATP sintasa (ATPasa6, ATPasa8)
- 1 gen del complejo III del Citocromo B óxido-reductasa (Anderson *et al.*, 1981; Pakendorf 2005).

Existen dos orígenes de replicación, uno para la cadena pesada (OH: heavy-strand) y otro para la cadena ligera (OL: light-strand), el primero se localiza dentro de la región control, junto con los orígenes de transcripción de ambas cadenas y el asa de desplazamiento conocida como D-loop (Displacement loop) (Anderson *et al.*, 1981; Bandelt 2006).

El DNA mitocondrial consiste predominantemente de DNA codificante, con la excepción de un segmento de aproximadamente 1100 pares de bases que tiene funciones principalmente regulatorias y es por lo tanto, denominada región control (Pakendorf 2005).

La región control comprende de la posición 16,024 a la 576 y se ubica entre los genes que codifican para el tRNA de prolina y de fenilalanina. Está involucrada en la regulación de la transcripción y replicación de la molécula.

La región hipervariable I (HVRI) comprende de la posición 16,036 a la 16,375 pares de bases y la región hipervariable II (HVRII) de la posición 8 a la 429 (Vigilant *et al.*, 1989).

El mtDNA tiene una tasa de evolución 5 a 10 veces mayor que la del DNA nuclear (Brown 1979), esta tasa de mutación del mtDNA tiene una tasa estimada de 0.017×10^{-6} sustituciones por sitio por año para todo el genoma que excluye la región control. Sin embargo en la HVRI y HVRII, la tasa es aún mayor (Ward 1991; Shields 1993; Pakendorf 2005).

Secuencias de la región control de DNA mitocondrial son ampliamente usados para resolver cuestiones concernientes a la variación genética en especies.

Las regiones hipervariables I y II en la región control del DNA mitocondrial han sido estudiadas extensivamente para inferir, por ejemplo, aspectos de biogeografía histórica y el tiempo del ancestro común más reciente del DNA mitocondrial humano.

La variabilidad molecular del mtDNA ha sido usada para definir relaciones evolutivas en muchos contextos, incluyendo un análisis del origen y radiación subsecuente de los primeros humanos en el viejo mundo, la distribución de variantes de secuencias en poblaciones del nuevo mundo pueden ser colocadas en un marco evolutivo establecido (Shields 1993).

De esta forma, el DNA mitocondrial ha sido ampliamente utilizado en estudios filogenéticos y evolutivos, debido a sus propiedades: alto número de copias, herencia materna (que permite que las relaciones evolutivas entre haplogrupos sean definidos en términos de su divergencia filogenética), ausencia de recombinación (evitando las ambigüedades causadas por recombinación) y alta tasa de mutación (Ward, 1991; Shields 1993; Pakendorf 2005).

Con respecto a éste último punto, se deriva que “todos los cambios en la secuencia del DNA mitocondrial son resultado de mutaciones acumuladas heredadas de madre a hijo” (Eshleman 2003) y, que “el único cambio introducido son mutaciones puntuales, inserciones, y deleciones, siendo estas dos últimas raras en comparación a las mutaciones puntuales” (Merriwether 1995).

Heteroplasmia es el término que se refiere a la presencia simultánea de dos tipos de DNA mitocondrial que difieren por una mutación en una célula o en un tejido (Pasternak 2005).

También se han estudiado otro tipo de marcadores, como los polimorfismos de un sólo nucleótido (SNP, *Single Nucleotide Polimorphism*), los cuales son variaciones

en una secuencia de DNA que ocurre cuando un sólo nucleótido en la secuencia es diferente de la norma en al menos 1% de la población. Cuando un SNP ocurre en un gen, crea diferentes variantes o alelos de dicho gen. (Vignal *et al.*, 2002).

2.1.6 Haplogrupos fundadores de DNA mitocondrial

Torrioni *et al.*, (1992) define “haplogrupo” como: Un conjunto o grupo de DNAs mitocondriales que presentan mutaciones únicas y compartidas que no están presentes en otros DNAs mitocondriales.

Así mismo, Merriwether (1995) describe que un “haplogrupo fundador” mitocondrial es definido por una secuencia que porta los marcadores diagnósticos, llamada haplotipo. Cada uno de los haplogrupos A, B, C, D y X agrupan un conjunto de individuos que portan la mutación característica que define cada haplogrupo.

Estos estudios revelan que los DNA mitocondriales de los amerindios modernos son definidos principalmente por cuatro grupos de mutaciones específicas que conforman cuatro haplogrupos, llamados inicialmente A, B, C, y D, actualmente A2, B2, C1, D1 y X2A (Tamm *et al.*, 2007) . Más aún, la observación de que cada uno de estos haplogrupos aparentemente fue fundado por haplogrupos presentes en Asia, ha permitido una cuantificación de la variación de DNA mitocondrial, que se ha acumulado en cada uno de estos haplogrupos desde el momento de la llegada del primer humano a las Américas (Torrioni 1994).

Estudios posteriores demostraron la existencia de un quinto haplogrupo fundador, denominado X, el cual representa una minoría entre los haplogrupos de nativos americanos. A diferencia de los haplogrupos A, B, C y D, el haplogrupo X se ha encontrado en bajas frecuencias en poblaciones europeas modernas (Brown *et al.*, 1998), cabe aclarar que éste no es el mismo que presentan los asiáticos.

Aquellos nativos americanos que no muestran ninguno de los haplogrupos antes mencionados, se clasifican como “Otros” en la bibliografía (Bailliet *et al.*, 1994; Merriwether *et al.*, 1995; González-Oliver *et al.*, 2001).

Por medio del análisis de la variación del DNA mitocondrial, se establecen los haplogrupos fundadores, característicos para los pobladores nativos de América, los cuales se describen a continuación.

El haplogrupo A se define por una transición de A por G en el nucleótido 663 de la secuencia de referencia del mtDNA (Anderson *et al.*, 1981), creando la aparición de un sitio de reconocimiento de la enzima *Hae III* en el sitio 663 (Tabla 1).

El haplogrupo B se caracteriza por una deleción de 9 pares de bases de una de las copias en tándem (CCCCCTCTA) que se encuentra entre el gen de la citocromo oxidasa II y el tRNA para la lisina (Tabla 1).

El haplogrupo C es definido por una transición de A por G en el nucleótido 13,263 lo cual elimina el sitio de reconocimiento para la enzima *Hinc II* en la posición 13,259 y crea un sitio de reconocimiento para *Alu I* en el sitio 13,262. (Tabla 1).

El haplogrupo D está definido por una transversión de C por A en el nucleótido 5,178 lo que ocasiona la ausencia del sitio de reconocimiento de *Alu I* en el sitio 5,176 (Torroni *et al.*, 1992, Torroni *et al.*, 1993) (Tabla 1).

El haplogrupo X se caracteriza por una transición de T por C en el nucleótido 14,470, que condiciona la pérdida de un sitio de reconocimiento para la enzima *Dde I* en la posición 1,715, la aparición de un sitio de reconocimiento para la enzima *Hae III* en la posición 16,517 y la presencia de un sitio de reconocimiento para la enzima *Acc I* en el sitio 14,465 (Brown *et al.*, 1998) (Tablas 1 y 2).

La distribución de los cuatro haplogrupos fundadores en nativos americanos de Norte, Centro y Sudamérica muestran un decremento de norte a sur en la frecuencia

del haplogrupo A y un incremento de norte a sur en la frecuencia del haplogrupo B. Todos los cuatro haplogrupos fundadores fueron detectados en norte, centro y Sudamérica (Merriwether 1995). Entre los nativos americanos, el haplogrupo X, parece estar restringido esencialmente a los grupos amerindios del norte (Smith *et al.*, 1999).

2.1.7 Haplotipos de DNA mitocondrial (Región control)

La secuenciación de la región control en nativos americanos contemporáneos y antiguos ha mostrado la presencia de mutaciones características que acompañan los marcadores de restricción y la delección de un fragmento que caracteriza los haplogrupos fundadores (Eshleman 2003).

Estudios regionales de la diversidad del DNA mitocondrial en Norteamérica han mostrado que el análisis detallado de los haplotipos puede proveer una mejor evidencia de la ancestría compartida antigua entre poblaciones que sólo la distribución de las frecuencias de los haplogrupos identificados en éstas (Eshleman 2003).

Cada uno de los haplogrupos del DNA mitocondrial A2, B2, C1, D1 y X2A (Tamm *et al.*, 2007), se relacionan con dos o una transición específica de la HVRI de la región control, las cuales han sido claramente identificadas en los nativos americanos.

El haplogrupo A está definido por la transición de C por T en la posición 16,290 y de G por A en el nucleótido 16,319. El haplogrupo B presenta las transiciones de T por C en las posiciones 16,189 y 16,217. El haplogrupo C muestra un cambio de T por C en el nucleótido 16,298 y de C por T en la posición 16,327. El haplogrupo D sólo tiene una transición en la posición 16,129, de G por A. El haplogrupo X se define por transición de C por T en el nucleótido 16,223 y 16,278 (Tamm, *et al.*, 2007) (Tabla 3).

2.1.8 Análisis bioinformático

Para el análisis de datos genéticos existen numerosos programas computacionales especializados en esta tarea, con características acordes a las necesidades del estudio a realizar, por lo que se pueden utilizar distintos *softwares* bioinformáticos.

El *software* Xlstat de Microsoft Office Excel 2010, se usa para calcular los valores de frecuencias de haplogrupos, Ji Cuadrada y Análisis de Componentes Principales (ACP).

Numerosos editores de secuencias han sido desarrollados para permitir al usuario modificar manualmente un alineamiento (Thompson 1997).

El programa CodonCode permite la revisión y edición de los electroferogramas con la finalidad de obtener una secuencia consenso.

El alineamiento de las secuencias consiste en el acomodo de las secuencias con respecto a la secuencia de referencia basado en un alto porcentaje de similitud con una determinada región del genoma, se hace con la finalidad de evidenciar los sitios polimórficos presentes en dichas secuencias. El alineamiento de secuencias, puede realizarse con programas tales como: *DNA Aligment*, *BioEdit*, *Clustal* o *MacClade*.

El método más ampliamente usado en biología molecular para alinear grupos de secuencias de nucleótidos o amino ácidos es el alineamiento múltiple progresivo (Thompson 1997). El programa *Clustal* es utilizado para el alineamiento múltiple de las secuencias.

El programa *Arlequin* es usado para el análisis molecular de genomas haploides puede analizar varios tipos de datos por ejemplo: secuencias de DNA, RFLPs, microsatélites y frecuencias alélicas, entre otros. Así mismo, realiza análisis

intrapoblacional o interpoblacional con base en varios modelos evolutivos como: Jukes y Cantor, Kimura 2P, Tajima y Nei, Tamura, Tamura y Nei (Excoffier 2009).

Una red haplotípica por ejemplo basada en haplotipos mitocondriales es la representación gráfica de la relación filogenética existente entre secuencias de DNA (individuos o poblaciones).

El *software* Network es utilizado para construir redes por el método *Median Joining* y árboles filogenéticos usando el principio de máxima parsimonia, para inferir haplotipos ancestrales o posibles ramificaciones y en algunos casos, puede ayudar a la datación de eventos (Bandelt *et al.*, 1999).

Cada red está conformada por varios nodos (círculos) que son representaciones gráficas de las poblaciones estudiadas y, el tamaño de éstos es proporcional con el número de individuos que contiene. Dichos círculos pueden contener una o varias poblaciones, las cuales se representan por un color cada una, puede encontrarse un círculo homogéneo, lo cual indica una única población, o un círculo con formato de gráfica pastel con distintos colores, representando varias poblaciones. Cada red tiene un nodo principal, del cual derivan otros nodos. La red también presenta otros círculos pequeños negros que representan los vectores medios, los cuales hipotetizan:

- a) haplotipos que alguna vez existieron y se han extinguido, o
- b) probables haplotipos existentes que no fueron muestreados en este estudio.

En ocasiones las redes pueden exhibir reticulaciones (mutaciones paralelas) originadas por un sitio nucleotídico que mutó más de una vez en el tiempo (Bandelt *et al.*, 1999).

2.1.9 Poblamiento de América y haplogrupos fundadores del mtDNA

La antropología molecular ha aportado un novedoso enfoque para el estudio del poblamiento de América. Ya que es del interés de antropólogos, arqueólogos,

biólogos y genetistas “la localización geográfica e identificación de la población original que tenía los individuos que portaban los cuatro (o más) haplogrupos fundadores que poblaron América (Merriwether 1995), se ha propuesto como un caso interesante el estudio de la variación genética de los nativos americanos, de sus ancestros que representan uno de los pocos grupos humanos que ingresaron en una vasta área deshabitada en un intervalo de tiempo relativamente corto y, aparentemente permanecieron aislados de otros contactos humanos por un considerable periodo de tiempo”. Originalmente, Torroni utilizó el término amerindio para referirse a los descendientes de la primer oleada(s) de migrantes que llegaron al continente americano, previo al arribo de las poblaciones na-dene y esquimales (Torroni 1994).

Existe un acuerdo general de que las poblaciones fundadoras de nativos americanos migraron de Asia a América a través de Beringia en algún momento durante el Pleistoceno (Shields 1993; Silva 2002). Sin embargo, en lo que respecta al poblamiento de América, existen varias teorías que difieren acerca del origen de la o las poblaciones migrantes, tamaño poblacional ancestral, rutas migratorias, cantidad y temporalidad de las migraciones realizadas. Se han postulado varias hipótesis, las cuales se enfocan en el número de ondas migratorias que pueden oscilar de una a cuatro, estas posturas y sus argumentos sobre estos acontecimientos, se describen a continuación.

2.1.9.1 Una onda migratoria

La gran mayoría de los autores se inclina por la teoría de que América fue poblada en un solo evento migratorio. Tal postura se sustenta en distintos aspectos sobre la distribución de los haplogrupos fundadores que como Merriwether (1995), basado en Schurr *et al.*, (1990), menciona que este grupo de investigación “fueron los primeros en reportar que todos los DNA mitocondriales de nativos americanos pueden ser agrupados en uno de los cuatro haplogrupos maternos presentes en las poblaciones originales del nuevo mundo y que estos haplogrupos pueden ser

definidos por tres sitios polimórficos de restricción y una delección de nueve pares de bases”. El hecho que los mismos cuatro haplogrupos fundadores (o un subgrupo de los mismos) aparezca en todas las poblaciones nativas americanas podría argumentar para una sola migración y/o una sola población fuente. Los estudios de las poblaciones contemporáneas asiáticas y siberianas indican que estos cuatro haplogrupos no son los más comunes y no son los únicos haplogrupos presentes. Sin embargo, el hecho que todos los nativos americanos compartan las mismas mutaciones que definen los cuatro haplogrupos del mtDNA sugiere que derivaron de la misma población original, siendo muy poco probable que múltiples migraciones de la misma área continuamente seleccionaran los mismos cuatro haplogrupos en la población parental (original) (Merriwether 1995).

En las poblaciones americanas, Ward, *et al.*, (1991) hallaron una considerable variación genética del mtDNA, la cual pudo generarse desde el continente asiático. La considerable diversidad molecular encontrada en los amerindios debió de introducirse al inicio del poblamiento americano lo que no necesariamente implicó que las poblaciones pasaron por cuellos de botellas durante el establecimiento en América. También, Merriwether (1995) y Weiss (1991, 1994) mencionaron que existe poca evidencia de que la variación de las poblaciones del Nuevo Mundo fue afectada por cuellos de botellas. Aunado a lo anterior, Foster (1996) argumenta que “el antiguo pool génico mitocondrial siberiano pudo haber incluido los ancestros de haplogrupos nativos americanos. Estas secuencias fundadoras parecen haber entrado a América hace 20,000 a 25,000 años antes del presente en una onda migratoria, como es indicado por la amplia distribución de los diferentes haplogrupos en las poblaciones Amerindias. A diferencia de las posturas previas, Bonatto y Salzano (1997) plantean que “Beringia tiene un papel central cómo el lugar donde se asentó y diversificó la población que originó a los nativos americanos antes de la colonización del resto del continente americano.

Esto puede ser llamado el modelo de “salida de Beringia”, en contraste a los tradicionales modelos de “salida de Asia”. La cronología de esta migración, se plantea en un periodo previo aproximado de entre 14,000 a 20,000 años antes del presente, puesto que en esa fecha se calcula el colapso del corredor de hielo,

aislando a las poblaciones localizadas en ambos límites de esta zona. Específicamente, Bonatto (1997) menciona que “algún tiempo después de la colonización de Beringia cruzaron el corredor Alberta libre de hielo y poblaron el resto del continente Americano”, de este modo la población al sur de la placa de hielo, dio lugar a los amerindios. Con estas evidencias, Bonatto (1997) concluye que “la cercana relación entre los tres grupos de nativos americanos sugiere un sólo modelo migratorio y, elimina la posibilidad de considerar que una población asiática ancestral desapareciera sin dejar rastro alguno”.

Apoiando la teoría del paso a través de Beringia, Stone y Stoneking (1998) observan que “Muchos grupos pequeños de gente que deambulaba a través de Beringia, lo hacía siguiendo y moviéndose hacia los recursos. Esta única onda migratoria contenía una diversidad considerable de DNA mitocondrial que exhibía una dispersión en expansión, aproximadamente de 23,000 a 37,000 años antes del presente”. Los estudios en nativos americanos realizados por Silva (2002) muestran una alta similaridad en la diversidad nucleotídica en los cuatro haplogrupos, sugiriendo que comparten un mismo tiempo de diversificación, así como una historia común, por lo que “la presencia de los cuatro haplogrupos nativos americanos a lo largo de las Américas, pero con una distribución restringida en Asia, así como su patrón de expansión poblacional sugieren que la diferenciación está correlacionada con el proceso de colonización” (Silva 2002). Estudios más recientes continúan apoiando la hipótesis de una onda migratoria, como puede observarse en Tamm, *et al.*, (2007), Kitchen *et al.*, (2008), Fagundes *et al.*, (2008).

2.1.9.2 Dos ondas migratorias

La hipótesis de dos ondas migratorias es defendida por Torroni (1994), quien argumenta que “estudios del tiempo de entrada de los ancestros de los amerindios al nuevo mundo, están divididos, uno a favor de una entrada “temprana” (más de aproximadamente 30,000 años antes del presente), y la otra a favor de una entrada “tardía” (menos de aproximadamente 13,000 años antes del presente)”.

Recientemente, se conciben dos vías de entrada para el poblamiento de América, como postula Perego (2009): “Al menos dos rutas migratorias de Beringia fueron usadas en aproximadamente el mismo tiempo por los Paleo-indios. La ruta de la costa Pacífico probablemente jugó el papel más importante en el poblamiento del continente, pero la entrada a través del corredor libre de hielo entre Laurentida y la Cordillera de placas de hielo también tuvo un impacto significativo, al menos para la colonización del norte de Norteamérica”.

Este autor reafirma su argumento anterior, con el soporte tanto de datos genéticos como lingüísticos, ya que “la detección de dos rutas de entrada diferentes para los Paleoindios, posiblemente surgidas intermitentemente por un pool génico dinámico que, a pesar de la estrecha ventana de tiempo, fue continuamente reformado no sólo por deriva, sino también por flujo génico, debió también tener impacto sobre alguna hipótesis lingüística”. De hecho, “el escenario de un cambio estructural y temporal de la población fuente de Beringia, hace más improbable que sólo una familia lingüística fuera traída por los primeros grupos de migrantes del Pleistoceno” (Perego 2009).

2.1.9.3 Tres ondas migratorias

La teoría de tres ondas migratorias, proviene de un enfoque lingüístico derivado de la división tripartita de los grupos lingüísticos americanos.

Realizando un análisis de la evidencia lingüística, dental y genética, Greenberg *et. al.*, (1986) deducen que: “las tres líneas de evidencia concuerdan con que las Américas fueron pobladas por tres movimientos poblacionales separados, cuya identidad es más precisamente expresada en términos lingüísticos como Amerindios, Na-Dene y Eskimo-Aleutiano”.

Los estudios anatómicos y lingüísticos proponen una agrupación tripartita en: amerindios, na-dene y esquimo-aleutiano de los nativos americanos; también los datos moleculares como “fragmentos de DNA nuclear y mitocondrial proveen evidencia genética de que tres migraciones están involucradas en el poblamiento del nuevo mundo, en donde la diversidad poblacional sustancial se originó en Asia” (Greenberg 1986). Tres distintos trabajos de investigación el de Greenberg, de Turner y de Zegura, consideraron las pruebas del registro arqueológico de Siberia y América y, concordaron para sugerir tres ondas de migrantes del Pleistoceno tardío que explotaron tres nichos diferentes de Beringia. Esta variación en el lenguaje, dentadura, genética y arqueología en América fue interpretada para hipotetizar tres migraciones que no pueden ser producto de una coincidencia.

Recientemente, el análisis de 364,470 SNPs en 52 poblaciones de nativos americanos y de 17 Siberianas apoyo que la gran mayoría de las poblaciones americanas desde Canadá hasta Chile, derivan de una población ancestral homogénea denominada "primeros americanos", posiblemente la única que cruzó el estrecho de Bering hace más de 15,000 años. Particularmente, tres distintos linajes asiáticos fueron detectados en las poblaciones americanas, los cuales son consistentes con el modelo de tres ondas migratorias (Reich *et al.*, 2012).

2.1.9.4 Cuatro ondas migratorias

Horai *et al.*, (1993), postula en base a secuencias de la región control del DNA mitocondrial que cada uno de los cuatro haplogrupos mitocondriales de nativos americanos derivó de cuatro poblaciones ancestrales asiáticas, que dieron lugar a diferentes ondas migratorias a América.

El autor encontró que el mtDNA de los nativos americanos se agrupaba en cuatro grupos distintos que también incluían individuos asiáticos. Identificó que individuos contemporáneos mongoloides y americanos mostraban sitios polimórficos similares con asiáticos. Por lo que propuso que los cuatro grupos que contienen a

los nativos americanos y a los asiáticos representaban las antiguas poblaciones del noreste de Asia. Estas poblaciones migraron separada y gradualmente hacia el estrecho de Bering la primer migración tuvo lugar hace 14,000 a 21,000 años. Mientras las poblaciones migraban, parte de los ancestros de asiáticos y de nativos americanos divergieron de cada población. (Horai *et al.*, 1993).

2.1.10 Diversidad genómica en poblaciones indígenas mexicanas

La presencia y distribución de los cuatro haplogrupos fundadores en poblaciones nativas americanas tanto contemporáneas como antiguas sugiere que todos los haplogrupos estuvieron presentes en el nuevo mundo previo al contacto europeo (Merriwether 1995). Estos cuatro haplogrupos mitocondriales se han heredado generación tras generación entre las poblaciones nativas americanas y su descendencia, es decir, hasta las actuales poblaciones indígenas y mestizas de América.

Los estudios del antígeno leucocitario humano (*Human Leukocyte Antigen*, HLA) y grupos sanguíneos en mestizos indican que estos son el resultado de mezcla entre los nativos americanos y europeos proporcionando una pobre idea de la estructura y diversidad genética en las poblaciones autóctonas (Sandoval *et al.*, 2009; Bonilla *et al.*, 2005; Ceda-Flores *et al.*, 2002a, 2002b; Green *et al.*, 2000).

Por otra parte, los estudios del mtDNA y cromosoma Y han mostrado una relativa homogeneidad genética en las poblaciones autóctonas mexicanas (Sandoval *et al.*, 2009; Barrot *et al.*, 2005; Buentello-Malo *et al.*, 2003; Rangel-Villalobos *et al.*, 1999, 2000, 2001a, 2001b).

Específicamente el análisis de la frecuencias de los haplogrupos del mtDNA en poblaciones indígenas contemporáneas y antiguas de México sugiere que los haplogrupos A y B son los más frecuentes (Tabla 12).

Todavía se requiere analizar muchos más individuos de las distintas poblaciones indígenas mexicanas para conocer los patrones de variabilidad genética del mtDNA que nos permitan entender las complejas relaciones genéticas entre las poblaciones indígenas de México (Sandoval *et al.*, 2009).

2.1.11 Aspectos teóricos de la correlación lenguajes- genes

Para reconstruir la historia de la evolución humana, es necesario, entre otras cosas, precisar cómo la información genética es heredada a través de las generaciones (herencia vertical). La transmisión social puede ocurrir verticalmente (de padres a hijos), oblicuamente (de una generación a otra sin tener relación biológica) u horizontalmente (transmisión intra generacional) (Laland y Brown 2002); así mismo, la cultura y el lenguaje sufren una transmisión en estos niveles, de una manera independiente al origen biológico y geográfico del individuo.

No se puede asumir que el proceso genético siempre tendrá una tasa evolutiva estrictamente constante. En general se asume que existe una proporción de cambios (evolución acumulada) en función del tiempo, es decir, a mayor tiempo de separación se espera que la diferenciación sea mayor. Lo anterior sólo es válido, como una aproximación de los cambios en periodos de tiempo largo y es menos útil o preciso para periodos de tiempo corto (Cavalli-Sforza 1997).

La evolución lingüística es muy rápida y de forma superficial parece que las lenguas más alejadas no tienen ningún parecido entre sí. El paso del tiempo es responsable de cambios y bajo la presión de cambios rápidos, una lengua llega a ser incomprensible en un plazo bastante corto (Cavalli-Sforza 1997). A su vez, las especies biológicas evolucionan y heredan características distintivas que van diferenciando a unas de las otras a partir de su ancestro común, divergiendo finalmente en especies distintas con rasgos morfológicos y genéticos característicos que las determinan.

Dentro de la diversidad de posturas encontradas sobre la relación entre lenguas, genes y distribución geográfica, encontramos las representadas por Cavalli-Sforza (1997), quien plantea que la correlación lenguaje-genes no es perfecta, pero es significativa. “La correlación entre lenguas y genes no es perfecta porque las conquistas rápidas de las grandes regiones pueden ocasionar que unas lenguas sean reemplazadas por otras no emparentadas con ellas. Pero estos fenómenos no parecen tan frecuentes como para hacer que desaparezca la correlación. En el caso de intercambios génicos muy prolongados entre poblaciones vecinas muy distintas, vemos que los genes también pueden ser reemplazados. A pesar de estas dos causas de confusión la correlación entre genes y lenguas es positiva y estadísticamente significativa”. Algunas de las causas que plantea el autor para que esta correlación no sea perfecta se deben a que “A menudo el mosaico genético-lingüístico que observamos muestra claramente los efectos de numerosas expansiones, conocidas en la historia, sus superposiciones e interacciones. Aunque se produjeron perturbaciones, en la mayoría de los casos no llegaron a destruir la claridad de la correlación entre poblaciones, genes y lenguas” (Cavalli-Sforza 1997).

De la misma manera, Cavalli-Sforza (1997), plantea que en el ámbito local esta relación es significativa, “Es interesante señalar que también a escala microgeográfica las regiones estudiadas en detalles han mostrado correlaciones muy altas entre geografía, genética, lingüística con otros aspectos culturales”.

Sin embargo, en dos estudios genéticos moleculares en poblaciones indígenas de México los resultados del mtDNA sugirieron que la filiación lingüística no ha influido en la diversidad génica de éste en las poblaciones mesoamericanas (Kemp *et al.*, 2010; Sandoval *et al.*, 2009).

2.1.12 Especificaciones terminológicas sobre el tratamiento de grupos de descendencia lingüística

Para Nichols (1997: 360), el grupo de descendencia (*descent group* o *clade*) es "el ladrillo básico de poblaciones lingüísticas". Ella utiliza los siguientes términos y definiciones:

Familia: término general estándar para cualquier unidad genética de lenguas.

Tronco o *stock*; unidad genética máxima reconstruible, por ejemplo, las familias más antiguas que exhiben correspondencias regulares de sonido y tratables por el método comparativo. Los troncos conocidos más antiguos son de unos 6000 años de edad, por ejemplo, el indoeuropeo, el urálico y la familia austronesia (Nichols, 1997: 363).

Cuasitronco: un grupo cuasigenético o probabilístico de más de un tronco, que comparte uno o más rasgos que son marcadores genéticos válidos o prometedores, pero que tiene pocos cognados claros y para el cual no se pueden demostrar correspondencias sistemáticas regulares de sonido. Por eso un cuasitronco en una unidad genética (*clade*) probable, pero no totalmente describible y no reconstruible (Nichols, 1997; 363)."

2.2 POBLACIONES INDÍGENAS

2.2.1 Mayas (*Maaya wíinik*): características culturales, lingüísticas y geográficas

La mayoría de las poblaciones mayas contemporáneas habitan en los estados de Yucatán, Campeche y Quintana Roo (Península de Yucatán), Tabasco y Chiapas en México, y en Guatemala, Belice, Honduras y El Salvador.

En Quintana Roo hay 196,060 personas mayores de 5 años que hablan alguna lengua indígena, lo que representa 16% de la población de la entidad. Las lenguas indígenas más habladas en el estado de Quintana Roo son: Maya: 177,979 hablantes, Tzotzil: 3,392, Chol: 3,059 hablantes y Kanjobal: 1,516 (INEGI. Censo de Población y Vivienda 2010).

Lengua: Maya peninsular, grupo: maya totonaco, tronco: mayense, familia mayense, subfamilia: yax (Scheffler 1992). Los detalles de la familia maya se muestran en la Tabla A.

La economía se basa en la agricultura, principalmente de maíz, además frijol, calabaza y yuca entre otros, el henequén sólo se cultiva en zonas mayas; crianza de cerdos, avicultura y apicultura, caza y pesca locales; así como artesanías de fibra de henequén y palma, y bordados de algodón. Su organización social se basa en la familia nuclear, la cual se encarga de las festividades de índole familiar como el matrimonio, el bautizo y la muerte. Practican la religión católica y el culto a deidades mayas, las cuáles juegan un importante papel en relación con la naturaleza, las cosechas y la enfermedad. Celebran fiestas patronales y ciclos pluviales. La organización política se basa en municipios y en una teocracia militar de pequeño cacicazgo (Scheffler 1992).

Las poblaciones mayas se asentaron en un territorio de casi 324,000 kilómetros cuadrados, ocupando actualmente la región geográfica antes mencionada.

El área Maya se caracteriza por una gran diversidad geográfica, se divide según el relieve en Tierras Altas y Tierras Bajas. Las Tierras Altas se subdividen en: Tierras Altas Volcánicas en el sur de Chiapas y Guatemala y las Tierras Altas Metamórficas, al norte del eje volcánico. Por otra parte, las Tierras Bajas se subdividen en tres: Tierras Bajas del Sur, las Tierras Altas Bajas Centrales, que abarcan la cuenca del Usumacinta Bajo y Medio, el Petén guatemalteco; y las Tierras Bajas del Norte, que comprenden la mitad norte de la Península de Yucatán (Sharer 1994).

2.2.2 Mixes (Ayuuk jä'äy): características culturales, lingüísticas y geográficas

Se localizan al Noreste de Oaxaca, cerca de Veracruz, distribuidos en tres zonas geográficas alta (> 1,500m, de clima frío), media (de 1,500 a 800m, bosque templado) y baja (<800m, con clima cálido y lluvioso).

En Oaxaca, hay 1 165 186 personas mayores de 5 años que hablan alguna lengua indígena, lo que representa 34% de la población de la entidad. Las lenguas indígenas más habladas en el estado de Oaxaca son: Lenguas zapotecas: 371,740 hablantes, Lenguas mixtecas 264,047 hablantes, Mazateco: 175,970 hablantes y Mixe: 117,935. (INEGI. Censo de Población y Vivienda 2010).

Lengua: mixe, grupo: maya-totonaco, tronco: mixeano, familia: mixeana, subfamilia: mixe-popoluca, variantes dialécticas (Scheffler 1992). Las especificaciones de la familia Mixe-zoque se presentan en la Tabla B.

Su economía de agricultura varía de acuerdo a la zona, en la alta cultivan maíz, papa y chile, en la media: maíz, chile, frijol, caña y café y en la baja el cultivo de maíz va aunado a la cría de cerdos y borregos. En la zona alta se presentan migraciones para contratación asalariada; y en general, las artesanías son tejido de huipil, objetos de barro y artículos de ixtle y palma.

En la organización social, la familia puede ser nuclear o extendida, se presentan rituales específicos para eventos como el matrimonio y la muerte. Se profesan la

religión católica junto con otras en un sincretismo, cumpliendo un rol fundamental en rituales y ofrendas para espíritus y enfermedad, junto con una medicina tradicional desarrollada. Los actos litúrgicos se basan en fechas del calendario ritual prehispánico, así mismo se conmemoran a los santos patronos y las festividades católicas. La organización política alterna con la religiosa, dirigidos por los ancianos o principales. Su organización política se fundamenta en el sistema municipal, donde tienen un papel importante ancianos ex políticos o religiosos, llamados principales (Scheffler 1992).

2.2.3 Mixtecos (*Ñuu savi*): características culturales, lingüísticas y geográficas

Cuarto pueblo indígena más numeroso de México, después de los nahuas, los mayas y los zapotecos, se llaman a sí mismos en su idioma *Ñuu Savi*, lo que en español significa “Pueblo de la lluvia”. Los antepasados de los actuales mixtecos se asentaron en un vasto territorio que abarca el noroeste del estado de Oaxaca, el extremo sur del estado de Puebla y una franja en el oriente del estado de Guerrero. Los nahuas llamaron a esta región Mixtlan, “lugar de nubes”, o Mixtecapan, “País de los mixtecos”. (Clark Alfaro 2008).

Desde la llegada de los españoles, en el siglo XVI, es conocida como la Mixteca. Con una superficie aproximada de 40,000 kilómetros cuadrados, la región Mixteca presenta un relieve abrupto y desigual y, por consiguiente, una variedad de microclimas y ecosistemas. Tomando como criterio la altura sobre el nivel del mar, el área se divide en la Mixteca Alta, la Mixteca Baja y la Mixteca de la Costa (Clark Alfaro 2008).

Lengua: mixteco, grupo: otomangue, tronco: savizaa, familia mixteca. Semitonal. Existen variantes lingüísticas entre pueblos como se puede observar en la Tabla C.

El rubro económico varía acorde a la región, siendo la agricultura en la mixtequilla baja: maíz, frijol, calabaza, chile y jitomate; en la alta trigo y maguey y en la costa:

frutal, cacao, caña y algodón. La industria textil en la zona baja es tejido de palma, en la alta: tejidos de palma, artículos de ixtle, cuero barro, algodón y lana, con telares de cintura; a nivel costero artículos de barro y telares de cintura. La organización social se sustenta en la familia, ya sea nuclear o extendida, y en el compadrazgo, que participa en bautizos, matrimonio y muerte. Su religión es católica con creencias de concepción animista (espíritu/naturaleza). Se presenta una rica medicina tradicional con curanderos y brujos. Se realizan festividades patronales y de efemérides católicas (Scheffler, 1992).

3. JUSTIFICACIÓN

Existen muchos estudios culturales, lingüísticos e históricos de las poblaciones indígenas mexicanas. Sin embargo, a nivel biológico, los datos son escasos y la investigación genético-molecular de las poblaciones se encuentra en una etapa de desarrollo.

El sureste mexicano posee un complejo conjunto cultural que incluye poblaciones indígenas de distintas familias lingüísticas de las que se conoce muy poco la variación genética de éstas poblaciones.

Por lo que se propuso analizar la variabilidad genética del mtDNA en tres de las actuales poblaciones indígenas del sureste de México que pertenecen a distintas familias lingüísticas. Con la finalidad de contribuir al entendimiento de las relaciones genéticas que mantienen entre sí y determinar si la geografía y/o lingüística influyen en la diversidad génica de las poblaciones.

En la presente tesis se realizaron comparaciones intra e interpoblacionales basadas en los haplogrupos y haplotipos del mtDNA entre las poblaciones indígenas del sureste mexicano. Por lo que la información genética puede utilizarse para otros estudios socioculturales, de genética de poblaciones, del área médica y de la salud con la finalidad de comprender y profundizar en particularidades de las poblaciones autóctonas.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Determinar la variación genética en el DNA mitocondrial entre los actuales habitantes mixes y mixtecos de Oaxaca y mayas de Quintana Roo del sureste de México.

4.2 Objetivos particulares

- Determinar las frecuencias de los haplogrupos fundadores (A, B, C, D y X) del DNA mitocondrial en las muestras de estudio.
- Identificar los haplotipos del DNA mitocondrial basados en la secuencia de la Región Hipervariable I en las poblaciones estudiadas.
- Comparar con los datos bibliográficos de otras poblaciones indígenas modernas y antiguas del sureste del país para identificar la cercanía genéticas entre poblaciones de distinta filiación lingüística.

5. METODOLOGÍA

5.1 Material biológico

Se realizó la colecta de muestras biológicas (frotis bucales) de 273 individuos de las poblaciones maya, mixe y mixteca. De los cuales 75 individuos mayas provenientes de 3 localidades del estado de Quintana Roo; 95 mixes y 103 mixtecos originarios de 5 y 33 comunidades de Oaxaca respectivamente.

De los 75 individuos mayas, 31 son originarios de la comunidad de Laguna Kaná, 32 de Santa María Poniente y 12 de Tulum. La Figura 1 muestra la ubicación geográfica de las localidades donde habitan los individuos analizados.

De los 95 individuos mixes, 75 pertenecen a la comunidad de Santa María Alotepec, 1 de Santiago Atitlan, 7 de Totontepec Villa de Morelos, 2 de Asunción Cacalotepec, 2 de San Miguel Quetzaltepec, 2 de San Juan Juquila Mixes, 1 de San Pedro y San Pablo Ayutla y 5 de Santiago Atitlan, todos pertenecientes al municipio Mixe (Figura 2).

De los 103 individuos mixtecos, habitan en los municipios de Jamiltepec 8 individuos, 3 de Juxtlahuaca, 2 de Mihuatlán, 4 de Putla, 11 de Sola de Vega, 67 de Tlaxiaco y 8 de Zaachila (Figura 3).

5.1.1 Criterios de inclusión

- Endémicos de la comunidad
- Padres y/o abuelos originarios de la comunidad
- Practican usos y costumbres propios
- Autoreconocimiento a un grupo indígena
- Hablar o entender la lengua natal
- No emparentados por vía materna

5.1.2 Aspectos bioéticos

Se realizó la colecta de muestras, 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. Se obtuvo el consentimiento previo, informado y voluntario de los individuos para participar en el proyecto de investigación científica del DNA mitocondrial, así como para que su material genético forme parte de la colección de muestras biológicas del Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la UNAM.

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 individuo así como a las autoridades municipales, civiles y religiosas de las comunidades visitadas. En aquellas comunidades donde los individuos son monolingües de la lengua indígena, se contó con el apoyo de guías y traductores para las poblaciones respectivas. Las muestras biológicas de individuos mayas de Quintana Roo fueron colectadas por el Dr. Allan Ortega Muñoz y la M. en C. Mirna Ethel Canul Montañez del Instituto Nacional de Antropología e Historia, Quintana Roo. Las muestras biológicas de individuos mixes y mixtecos fueron colectadas por la Dra. González con el apoyo de dos guías de una de las comunidades del estado de Oaxaca.

5.2 Procedimientos para el manejo del DNA mitocondrial (mtDNA)

5.2.1 Extracción de DNA

El DNA se extrajo utilizando el *QIAamp DNA Blood Mini Kit* de *Qiagen* y se siguió las recomendaciones del fabricante.

5.2.2 Amplificación de mtDNA mediante PCR

Se identificaron los cinco principales haplogrupos A, B, C, D y X del mtDNA, mediante la amplificación de los segmentos específicos de cada haplogrupo (Tabla 4). La amplificación se realizó en un volumen final de 25 μ L que contenía los reactivos indicados (Tabla 5). Los programas de amplificación fueron específicos para cada haplogrupo y se realizaron en el termociclador *Eppendorf Master Cycler Gradient* modelo AG22331 (Tabla 6). En cada PCR realizado se incluyeron controles negativos de amplificación que contenía todos los reactivos excepto DNA, como control de contaminación de los reactivos de PCR y del proceso mismo.

5.2.3 Análisis electroforético en geles de poliacrilamida

Los productos de PCR se analizaron en geles de poliacrilamida al 12% (en el caso de productos del haplogrupo B, se usó poliacrilamida al 14%), utilizando amortiguador Tris-Borato-EDTA (TBE 1X) (Sambrook y Russell 2001).

Se colocó un volumen de 5 μ L del amplificado por muestra en cada carril. Para determinar el tamaño del producto amplificado, en un carril por gel, se colocaron 2 μ L del marcador de tamaño molecular ϕ X174, el cual estaba digerido con la endonucleasa de restricción *Hae III*.

La electroforesis se corrió a 170 volts durante una hora, en el caso del haplogrupo B, se realizó a 120 volts durante dos horas. El gel se tiñó en solución de 0.5 μ g/ μ L de bromuro de etidio, durante 5 minutos, en agitación ligera y constante. Se visualizó con UV en el transiluminador.

5.2.4 Tipificación con endonucleasas de restricción

Se colocaron 6 μ L del producto amplificado por PCR de los haplogrupos A, C, D y X, los cuales se incubaron con cinco unidades de la enzima de restricción específica de cada haplogrupo (*Hae III*, *Hinc II*, *Alu I* y *Acc I* respectivamente). (Tabla 7 y 8). El tiempo de restricción fue de toda la noche a una temperatura de 37°C. Los productos de la digestión se analizaron en geles de poliacrilamida al 12% de acuerdo al método descrito anteriormente.

5.2.5 Análisis estadístico de los haplogrupos fundadores

Por medio de la prueba estadística de Ji cuadrada, se compararon las frecuencias de haplogrupos de mtDNA entre las poblaciones estudiadas y con poblaciones de la bibliografía que pertenecen a las familias lingüísticas estudiadas. Los valores utilizados para la realización de esta prueba fueron: χ^2 ajustada (valor crítico): 7.815, grados de libertad: 3, nivel de confianza: 95% y, nivel de significación (α) de 0.05%. Con el Análisis de Componentes Principales (ACP) basado en las frecuencias de los haplogrupos mitocondriales, se representó de manera gráfica el grado de relación genética entre las poblaciones estudiadas y otras de la bibliografía que pertenecen a las familias lingüísticas Maya, Mixe-Zoque y Otomangue. Los datos se normalizaron con la siguiente fórmula:

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

Donde Z es la frecuencia normalizadora, X_i la frecuencia del haplogrupo mitocondrial, \bar{X} la media de los valores de la población y S la desviación estándar de la población. Se realizó el análisis estadístico en el programa XLSTAT versión 2014 de Microsoft Office Excel 2010.

5.3 Procedimientos para la identificación de los haplotipos de la región hipervariable I (HVRI) de la región control del mtDNA

5.3.1 Amplificación de HVRI por PCR

Se amplificó el segmento específico de la HVRI del mtDNA que corresponde a 446 pares de bases, ubicadas entre las posiciones nucleotídicas 15,996 y 16,410 del genoma mitocondrial (Tablas 9).

5.3.2 Análisis electroforético en geles de poliacrilamida

Los productos de PCR se analizaron en geles de poliacrilamida al 12% como se describió arriba.

5.3.3 Purificación con columnas

Posterior a la electroforesis, los restantes 23 μ L de los productos de PCR de la HVRI se adicionaron en cada columna *Millipore* con 377 μ L de agua para obtener un volumen final de 400 μ L, posteriormente se siguió el protocolo recomendado por el fabricante para la purificación de los productos.

5.3.4 Secuenciación automatizada directa basada en el método de Sanger (1977)

El producto de PCR purificado de la HVRI se utilizó para la reacción de secuenciación en la que se usó el *Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems)* (Tabla 10). Seguido se realizó la purificación de los productos por columnas de *Sephadex* y posteriormente se enviaron a secuenciar al Laboratorio de Secuenciación Genómica de la Biodiversidad y de la Salud, del Instituto de Biología de la UNAM que utilizó el secuenciador *ABI Prism 310 (Applied Biosystems)*. También se realizó la secuenciación en el *High Throughput Genomics Center* de la Universidad de *Washington, Seattle WA, USA*.

5.3.5 Análisis estadístico de los haplotipos de HVRI

Una vez obtenidas las secuencias de la HVRI del mtDNA, se realizó la edición manual de los electroferogramas utilizando el programa *CodonCode* versión 5.0.2 para determinar la secuencia consenso de cada individuo, la cual se comparó con la secuencia estándar del mtDNA humano (Anderson *et al.*, 1981).

Las secuencias del mtDNA (haplotipos) se alinearon con el programa *Clustal X* versión 2.0.12. y se revisaron los sitios polimórficos de cada haplogrupo mitocondrial de acuerdo a Tamm *et al.*, (2007) para corroborar su correcta asignación al haplogrupo en cuestión. En los resultados contradictorios se repitió el análisis de restricción y de secuenciación.

Posteriormente se realizó el alineamiento múltiple de 199 secuencias, obtenidas utilizándose los pares de bases correspondientes a las posiciones 16,021 a 16,400 de la HVRI del mtDNA con el programa *MacClade* versión 4.08.

Los haplotipos determinados de las poblaciones indígenas estudiadas y los obtenidos de la bibliografía se analizaron con el programa *Arlequin* 3.5.1.2 y se evaluó la composición genética poblacional.

Dicho programa, se usó para calcular 1) diversidad nucleotídica (π) en donde el valor de uno indica la mayor variación genética en una población o haplogrupo mitocondrial. 2) sitios segregantes Theta S de Watterson (θ_s), 3) diversidad haplotípica (H_d), 4) valor medio de las diferencias pares, 5) valores de distancia genética F_{ST} (Tajima y Nei 1987) así como 6) análisis molecular de varianza (AMOVA) para definir la estructura de las seis poblaciones indígenas, utilizando un criterio cultural-lingüístico, es decir, basado en su clasificación lingüística.

Las distancias genéticas son un ejemplo especial de distancias entre poblaciones. Las distancias genéticas están basadas en la frecuencia de los haplogrupos o en el número de cambios entre dos secuencias (haplotipos) del mtDNA. Existen

diversas formas de calcular la FST y sus equivalentes. Wright en 1951 la definió para un locus con dos alelos. Nei en 1973 amplió la definición para incluir un número ilimitado de alelos por *loci*, en términos de la comparación de la heterocigosis y la llamó GST. Posteriormente, se desarrollaron distintos algoritmos que tienen la ventaja de estar menos sesgados que las dos estimaciones antes mencionadas. En general, las distancias calculadas por diferentes fórmulas son siempre altamente correlacionadas. Sin embargo, las fórmulas propuestas por Nei para calcular distancias genéticas se hicieron muy populares y son las que frecuentemente se utilizan con los datos humanos.

Los valores de FST tienen la ventaja de que se han calculado en una gran cantidad de estudios de poblaciones humanas, por lo cual facilita su comparación. Su interpretación es sencilla, cero indica que las frecuencias alélicas o que las secuencias del mtDNA son iguales en todas las poblaciones. El valor máximo posible es de 1, es decir, cuando cada población está fija en alelos diferentes o es el valor máximo de distancia entre las secuencias mitocondriales (Piñero *et al.*, 2008; Cavalli-Sforza *et al.*, 1994).

5.3.6 Construcción de redes haplotípicas

Se hicieron 4 redes una para cada haplogrupo A, B, C y D del mtDNA utilizando las secuencias de la RHVI de las poblaciones estudiadas mixe, mixteca y maya, así como de otras poblaciones de la literatura que pertenecen a las mismas familias lingüísticas: Mixe-zoque, Oto-mangue y Maya.

6. RESULTADOS

6.1 Identificación de haplogrupos fundadores del mtDNA

Los 273 individuos indígenas tipificados (75 mayas, 95 mixes y 103 mixtecos) para los haplogrupos fundadores A, B, C y D del mtDNA presentaron alguno de los haplogrupos fundadores con excepción de los mixes que no mostraron el haplogrupo D.

Se calcularon las frecuencias de los haplogrupos mitocondriales en cada población (maya, mixe y mixteca). Los haplogrupos A, B y C están presentes en las tres poblaciones, el más frecuente es el haplogrupo A, le sigue el haplogrupo C y luego el B (Tabla 11). En la población mixteca los haplogrupos B y C se encontraron en la misma frecuencia (20.39%) y en mixe los haplogrupos A y C mostraron frecuencias muy parecidas de 43.16% y 42.11% respectivamente. El haplogrupo D muestra las frecuencias más bajas, en maya fue de 6.67% y en mixteca de 6.79%, es decir las frecuencias son similares. Ningún individuo mostró el linaje X.

La población maya es estadísticamente distinta por el método de ji cuadrada ($p \leq 0.05$) de las poblaciones mixe y mixteca, las cuales muestran valores de probabilidad de 0.0000 y 0.0032 respectivamente. Así mismo, la población mixe es estadísticamente diferente de la población mixteca ($p = 0.0012$).

6.2 Identificación de haplotipos de la HVRI del mtDNA

Se obtuvieron las secuencias de la HVRI del mtDNA de 199 individuos de los 273 que se analizaron para los haplogrupos mitocondriales. Se determinaron las secuencias en 67 individuos mayas, 62 mixes y 70 mixtecos. Las Tablas 12, 13 y 14 muestran el número total de haplotipos identificados en las poblaciones maya, mixe y mixteca respectivamente, las tablas también indican el número de

haplotipos únicos para cada población y el número de haplotipos compartidos dentro de una población y entre las tres poblaciones analizadas.

6.3. Diversidad genética molecular por haplogrupo mitocondrial

Se calculó la diversidad haplotípica para cada haplogrupo mitocondrial por población. Dentro del haplogrupo A, la población maya mostró una diversidad haplotípica de 0.9357, mixe de 0.9133 y mixteca de 0.9098. Dentro del haplogrupo B la diversidad haplotípica de maya fue de 0.8333, mixe 0.7556, mixteca de 0.8901. Dentro del haplogrupo C la diversidad haplotípica maya fue de 0.9000, mixe de 0.1000, mixteca de 0.9286. Finalmente, dentro del haplogrupo D, la población maya presentó un valor de 0.0 mientras que mixteca de 0.8571.

La Tabla 15 muestra los valores de diversidad nucleotídica (π) y de valor Theta S de Watterson (θ_S) de cada haplogrupo fundador del mtDNA en las tres poblaciones. Los valores más altos de Theta S se presentaron en el haplogrupo A en las tres poblaciones, mientras que los valores más bajos, estuvieron en el haplogrupo C. Por otra parte, los valores de diversidad nucleotídica fueron bajos en la mayoría de los haplogrupos mitocondriales, excepto, para el haplogrupo B en la población maya y el haplogrupo D de la población mixteca, que presentaron valores ligeramente altos.

6.4 Redes de haplogrupos mitocondriales

6.4.1 Red del haplogrupo A

Se construyeron dos redes para el haplogrupo A, una de las redes incluyó únicamente a poblaciones de la familia lingüística Maya (Figura 4), mientras que la otra red contiene poblaciones exclusivamente del estado de Oaxaca de la familia lingüística Oto-mangue y la población mixe estudiada aquí de la familia lingüística Mixe-zoque (Figura 5). El nodo central de cada red presenta las mutaciones características de la región hipervariable I: 16,111, 16,223, 16,290, 16,319 y 16,362 que se relacionan con el haplogrupo A.

La red con poblaciones mayas presenta dos nodos principales. Uno de ellos es el nodo central denominado (1) y prácticamente no incluye a los mayas de Quintana de Roo, la mayoría de éstos se encuentran en los nodos secundarios. Por otra parte, la red del haplogrupo A con poblaciones de la familia lingüística Oto-mangue presenta tres nodos principales. El nodo central incluye a todas las poblaciones analizadas. Las dos redes exhiben reticulaciones y tienen forma de estrella, característica de eventos expansión poblacional reciente.

6.4.2 Red del haplogrupo B

La Figura 6 representa la red de los individuos que pertenecen al haplogrupo B de las familias lingüísticas Maya, Oto-mangue y Mixe-zoque; ésta muestra reticulaciones. La red presenta tres nodos principales, el nodo central es el mayor de estos e incluye seis de las ocho poblaciones. Es de destacar, que tanto los mayas, como los mixtecos se encuentran en el nodo central, mientras que los mixes y purépechas sólo se presentan en nodos derivados.

6.4.3 Red del haplogrupo C

La Figura 7 está basada en haplotipos de individuos de las familias lingüísticas Maya, Oto-mangue y Mixe-zoque que pertenecen al haplogrupo C. La red tiene forma de estrella con reticulaciones. Existe un nodo central que contiene todas las poblaciones pero resalta el gran número de individuos mixes y después de individuos mazahuas y otomíes en un número similar. La mayoría de los nodos derivados contienen solamente una población.

6.4.4 Red del haplogrupo D

La Figura 8 incluye los haplotipos de individuos del haplogrupo D de las tres familias lingüísticas Maya, Oto-mangue y Mixe-zoque. Esta red exhibe un claro patrón reticulado. La red tiene un nodo central que contiene mixtecas, mayas, purépechas y otomíes. Existe un gran nodo secundario que es incluso ligeramente mayor que el nodo central y que contiene en su mayoría mazahuas y otomíes. La red no incluye la población mixe de este estudio porque no presentó el haplogrupo D.

7. DISCUSION

Los resultados obtenidos de las frecuencias de los haplogrupos del mtDNA se compararon con los datos de otras poblaciones citados en la literatura en donde la mayoría pertenecen a las mismas familias lingüísticas de las poblaciones estudiadas en la presente tesis y geográficamente cercanas (Tabla 16).

El haplogrupo A está presente en todas las poblaciones de México y Guatemala. En las poblaciones mayas este haplogrupo muestra las frecuencias más altas en el rango del 70 al 93%.

El haplogrupo B es el segundo más frecuente después del A en las poblaciones de las familias lingüísticas Oto-mangue y Yuto-azteca. Mientras que, este haplogrupo está ausente o muestra las frecuencias más bajas entre las poblaciones de origen maya, excepto maya 7 de Guatemala que muestra una frecuencia alta de 33% (Melton *et al.*, 2007) pero cabe aclarar que ésta representa una muestra de individuos forenses. Específicamente, el haplogrupo B mostró las frecuencias más altas en las poblaciones nahuas de Atocpan, Distrito Federal (37.61%) (Peñaloza *et al.*, 2007), nahua de Chilacachapa, Guerrero (34.15%), nahua de Necoxtla (40.54%) (Peñaloza *et al.*, 2007) y mazahuas (33.64%) (Romero García 2010; Sánchez Solís 2010) (Tabla 16).

El haplogrupo C presentó bajas frecuencias menores al 30% en la mayoría de las poblaciones, cabe resaltar que los mixes estudiados son la excepción y tienen la frecuencia más alta con 42.11%. Este haplogrupo está ausente en 3 de las 30 poblaciones, en nahuas de Coyolillo e Ixhuatlancillo del estado de Veracruz y en triqui del estado de Oaxaca (Sandoval *et al.*, 2009).

El haplogrupo D es el menos frecuente en las poblaciones y particularmente está ausente en la mayoría de las poblaciones mayas.

El haplogrupo X está ausente en todas las poblaciones de México y Guatemala. Existen individuos que no presentaron ninguno de los haplogrupos mitocondriales y están reportados con el nombre de “Otro”, éstos se encuentran en poblaciones con filiación lingüística Maya, Yuto-azteca y Oto-mangue (Tabla 16).

7.1 Distribución de las frecuencias de los haplogrupos fundadores del mtDNA en poblaciones de la familia lingüística Maya

Los haplogrupos A, B y C están presentes en la mayoría de las poblaciones mayas contemporáneas y antiguas, excepto el haplogrupo B en mayas Chorti de Guatemala (Justice *et al.*, 2011) y lacandones (González *et al.*, 2011) (Tabla 16).

El haplogrupo más frecuente es el A, el linaje C es el segundo más frecuente en la mayoría de las poblaciones mayas contemporáneas citadas en la bibliografía. Cabe resaltar que en general, la frecuencia del haplogrupo B es pequeña en comparación con las frecuencias que presentan las poblaciones de la familia lingüística Yuto-azteca. El haplogrupo D solamente se detectó en mayas modernos de Campeche, Yucatán y en mayas del periodo colonial de Quintana Roo (Sandoval *et al.*, 2009, Torroni *et al.*, 1994 y De la Cruz *et al.*, 2010 respectivamente).

Las poblaciones maya 4 de Yucatán (Torroni *et al.*, 1994), maya 5 de Guatemala (Justice *et al.*, 2011) y lacandona presentan individuos que no mostraron ninguno de los cinco principales haplogrupos del mtDNA (Tabla 17, Figura 9).

La población maya de Quintana Roo estudiada aquí solamente presentó diferencias estadísticamente significativas por ji cuadrada ($p \leq 0.05$) con las poblaciones lacandona de Chiapas (González-Oliver *et al.*, 2011) y maya 4 de Yucatán (Torroni *et al.*, 1994) (Tabla 20).

Los lacandones fueron la única población maya estadísticamente diferente de todas las poblaciones lo que concuerda con lo citado en González-Oliver *et al.*,

2011.

7.2 Distribución de las frecuencias de los haplogrupos fundadores del mtDNA en poblaciones mixes de la familia lingüística Mixe-zoque

Los haplogrupos A, B y C están presentes en las tres poblaciones contemporáneas mixes del Estado de Oaxaca. El haplogrupo A fue el más frecuente, mientras que el D el menos frecuente. No existe un patrón claro de la distribución de las frecuencias de los haplogrupos B y C (Tabla 18, Figura 10).

La población mixe analizada en esta tesis fue estadísticamente diferentes por ji cuadrada de todas las poblaciones indígenas con las que se comparó (Tabla 20).

Los mixes estudiados por Torroni *et al.*, 1994 y Kemp *et al.*, 2010 no mostraron diferencias estadísticas entre sí (datos no mostrados), por lo que se agruparon en una sola población llamada mixe 2 que fue diferente de las poblaciones mixteca 2 (Kemp *et al.*, 2010), mazahua (Romero García 2010; Sánchez Solís 2010), otomí 1 (Garfías Morales 2012) y triqui (Sandoval *et al.*, 2009) que pertenecen a la familia lingüística Oto-mangue (Tabla 20).

7.3 Distribución de las frecuencias de los haplogrupos fundadores del mtDNA en poblaciones mixtecas de la familia lingüística Oto-mangue

Los haplogrupos A, B, C y D están presentes en las cinco poblaciones contemporáneas mixtecas del Estado de Oaxaca, excepto mixteca 4 (Torroni *et al.*, 1994) que no presentó el haplogrupo D.

En general el haplogrupo B es más frecuente que el C y el menos frecuente es el D, excepto la mixteca de este estudio que presentó frecuencias similares de B y C del 20.19% para cada uno (Tabla 19, Figura 11).

Este patrón de similitud en las frecuencias de los haplogrupos mitocondriales de mixteca es parecido al que inicialmente presentó la población zapoteca de 33% de A, de B y de C en 15 individuos analizados (Torrioni *et al.*, 1994). Posteriormente, se incrementó el número de individuos a 103 y las frecuencias de B (23.30%) y de C% (29.13) son parecidas (Kemp *et al.*, 2010; Malhi *et al.*, 2008).

La población mixteca de este estudio fue estadísticamente diferente por ji cuadrada ($p \leq 0.05$) de mixe (estudiada aquí) y mixteca 2 (Kemp *et al.*, 2010). Por otra parte, mixteca 2 fue significativamente diferente de mixe 2 (Kemp *et al.*, 2010), otomí 2 (Sandoval *et al.*, 2009) y zapoteca (Kemp *et al.*, 2010). Las dos poblaciones mixtecas fueron diferentes de las poblaciones mazahua y triqui (Tabla 20). Cabe resaltar que mixteca de la presente tesis y mixe 2 (Kemp *et al.*, 2010) no mostraron diferencias estadísticas con la población zapoteca también del estado de Oaxaca. Mientras que mixe de este estudio y mixteca 2 (Kemp *et al.*, 2010) son diferentes de zapoteca.

Las poblaciones mixes (de esta tesis y Kemp *et al.*, 2010) y mixteca (ésta tesis y Kemp *et al.*, 2010) son estadísticamente diferentes de los triqui, quienes a su vez fueron diferentes de todas las poblaciones analizadas en este estudio, excepto de la zapoteca (Tabla 20).

Las dos poblaciones mixtecas (presente estudio y Kemp *et al.*, 2010) fueron estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) de maya 1 (presente tesis), maya 3 (Pérez-Martínez 2013; Garfias Morales 2012) y lacandona. Mixteca de la presente tesis fue diferente de maya prehispánica mientras que mixteca 2 de maya colonial.

Finalmente, cabe resaltar que la población mazahua también mostró diferencias estadísticas significativas con todas las poblaciones, excepto con maya 4 (Torrioni *et al.*, 1994).

7.4 Distribución de las frecuencias de los haplogrupos fundadores del mtDNA en las poblaciones mexicanas

Basado en los estudios del mtDNA en poblaciones nativas contemporáneas y antiguas de México se propuso que el haplogrupo A presenta la mayor frecuencia, seguido del B y en menor proporción C y D (Torrioni *et al.*, 1994; González-Oliver *et al.*, 2001).

Esta generalidad en la distribución de los haplogrupos concuerda con el que presentan algunas poblaciones de México. Recientemente, se propuso que los haplogrupos A y B son los más frecuentes en las poblaciones indígenas de Norteamérica pero el haplogrupo A no siempre es más frecuente que B, ya que su frecuencia puede estar relacionada con la región cultural y geográfica de las poblaciones (Kemp *et al.*, 2010; Malhi *et al.*, 2002).

Por otro lado, se identificó que el haplogrupo C es más frecuente que B en algunas poblaciones y que C es el segundo más frecuente de los 4 haplogrupos mitocondriales, es decir la distribución de los haplogrupos es la siguiente, primero A, seguido de C, B y finalmente D. Esta distribución de los haplogrupos mitocondriales es parecida a la que presentan las poblaciones de origen maya de México y Guatemala como se mencionó en Pérez Martínez 2013.

Por lo que, en términos generales la distribución de los haplogrupos encontrada en las tres poblaciones analizadas aquí es la que presentan la mayoría de las poblaciones mexicanas del sureste. Esta distribución es diferente a la que presentan algunas poblaciones del centro de México de la familia lingüística Yuto-azteca, en las cuales el haplogrupo A es el más frecuente, seguido de B luego C y por último D y este patrón de distribución de los haplogrupos es opuesto al que muestran las poblaciones indígenas de la región cultural del Suroeste americano (USA) que es B, A, C y D (Kemp *et al.*, 2010).

Es importante mencionar que la alta frecuencia del haplogrupo A y la baja frecuencia del haplogrupo D en las poblaciones maya y mixe estudiadas aquí se refleja en los

valores de diversidad génica Theta S y diversidad nucleotídica calculados para los haplogrupos por separado a partir de los haplotipos (Tabla 15). Por otro lado, en la población mixteca, también los valores de diversidad nucleotídica reflejan que el haplogrupo A es el más diverso pero no reflejan que el haplogrupo D es el menos diverso. Por el contrario, en mixteca los resultados muestran que el haplogrupo D es más diverso que B y C a pesar de presentar la frecuencia más baja.

Los valores de diversidad nucleotídica (π) y de Theta S calculados para los haplogrupos B y C en las poblaciones maya y mixe sugieren que el haplogrupo B es más diverso que el C a pesar de que B presenta una menor frecuencia. Por otro lado, en la población mixteca el haplogrupo B es más diverso que C, lo que concuerda con las poblaciones maya y mixe pero a diferencia de éstas, los haplogrupos B y C están en la misma frecuencia en la población mixteca.

Por lo tanto, la alta frecuencia de un haplogrupo mitocondrial no siempre se correlaciona con una gran diversidad genética del haplogrupo en la población.

Por lo que es importante analizar en conjunto los haplogrupos y haplotipos mitocondriales para entender la variación genética de éstos.

7.5 Análisis de Componentes Principales (ACP) basado en cuatro haplogrupos mitocondriales

La Figura 12 muestra el ACP basado en los haplogrupos mitocondriales A, B, C y D con 24 poblaciones antiguas y contemporáneas indígenas. La Tabla 21 muestra los resultados de los valores propios de los factores F1, F2, F3 y F4 del ACP, derivados de los cuatro haplogrupos (variables) del mtDNA. Los factores 1 y 2 representan una variabilidad del 82.479%, lo que indica que el gráfico en dos dimensiones es confiable.

Los mayas de Quintana Roo (MY1) estudiados aquí se ubicaron distantes en el gráfico del ACP de los mixtecos (MT1) y los mixes (MX1) estudiados. Por lo que de acuerdo al método de ji cuadrada y el ACP, las 3 poblaciones son significativamente diferentes para los haplogrupos mitocondriales.

El gráfico del ACP muestra que las poblaciones mayas de Quintana Roo (tesis), Yucatán (MY3) (Pérez-Martínez 2013; Garfias Morales 2012), maya prehispánico de Quintana Roo (MYP) (González-Oliver *et al.*, 2001), Pogomchi (MY6) (Justice *et al.*, 2011) y maya Chorti (MY5) (Justice *et al.*, 2011) de Guatemala están genéticamente relacionadas. Mientras que, los análisis estadísticos del ACP y ji cuadrada sugieren que los mayas de Quintana Roo estudiados son diferentes de los mayas de Campeche y lacandones (Sandoval *et al.*, 2009 y González *et al.*, 2011 respectivamente).

Por otra parte, la población mixe de este estudio (MX1) se ubicó distante de mixe 2 (MX2) (Kemp *et al.*, 2010) y mixe 3 (MX3) (Torrioni *et al.*, 1994) y de la mayoría de las poblaciones, siendo los zapotecos (ZP) Kemp *et al.*, 2010), los genéticamente menos distantes. Lo anterior no concuerda con el análisis de ji cuadrada. Cabe mencionar que tampoco las poblaciones mixe 2 (MX2) (Kemp *et al.*, 2010) y mixe 3 (MX3) (Torrioni *et al.*, 1994) se ubican cercanas en el ACP.

De las poblaciones que pertenecen a la familia lingüística Oto-mangue, la mixteca estudiada, la zapoteca (Kemp *et al.*, 2010), otomí 2 (Sandoval *et al.*, 2009) y 1 (Garfias Morales 2012) se ubicaron cercanas en el ACP lo que sugiere están genéticamente relacionadas. Cabe aclarar que la población mixteca analizada se ubicó lejana de las otras poblaciones mixtecas. Solamente, las mixtecas (MT4) (Torroni *et al.*, 1994) y (MT5) (Sandoval *et al.*, 2009) están cercanas en el ACP. A su vez, estas poblaciones mixtecas 4 y 5 están relacionadas con algunos grupos mayas. La población mazahua (MZ) (Romero García 2010; Sánchez Solis 2010) no muestra cercanía genética con ninguna de las poblaciones (Figura 7).

7.6 Diversidad genética molecular de los cuatro haplogrupos mitocondriales A, B, C y D en las poblaciones mayas, mixes y mixtecas

En términos generales, los valores Theta S de Watterson fueron altos en todas las poblaciones mayas, mixes y mixtecas comparadas, mientras que los valores de diversidad nucleotídica fueron bajos (Tabla 22). Específicamente, los valores Theta son mayores para maya 1 (presente estudio) que para maya 2 (Sandoval *et al.*, 2009), así como para mixteca 1 (presente estudio) que para mixteca 2 (Kemp *et al.*, 2010), lo que sugiere que son más diversos; mientras que para mixe 1 (presente estudio) los valores son ligeramente mayores que para mixe 2 (Kemp *et al.*, 2010), lo que sugiere que son menos diversos estos últimos. Cabe mencionar que el número de individuos analizados en mixe 2 es menor que en mixe 1 pero esta diferencia en el número de individuos (13) no parece ser la responsable de que la diversidad genética entre las dos poblaciones sea similar; ya que entre las poblaciones maya 1 y 2 existe una diferencia de 15 individuos más analizados en maya 1 y, los valores de diversidad genética obtenidos de las dos poblaciones fueron claramente diferentes.

Los valores más bajos de Theta S de Watterson fueron detectados en las poblaciones maya 2 (6.41) y mixe 2 (6.27) quizá se deba al número pequeño de haplotipos empleados para estimar θ_S (Tabla 22). Aunque cabe mencionar que

maya 1 presentó un valor alto de Theta, con un número ligeramente mayor de haplotipos.

Por otra parte los valores de diversidad nucleotídica fueron muy parecidos entre las poblaciones mayas, mixes y mixtecas que sugiere que éstas presentan una diversidad similar.

La matriz de distancias génicas de Tajima y Nei (1987) muestra los valores de FST calculados con el *software* Arlequin 3.5.1.2. el valor máximo observado es de 0.17874 y el mínimo de 0.01346 lo que indica que no existen diferencias génicas entre las poblaciones mayas, mixes y mixtecas (Tabla 23).

Los resultados obtenidos con el análisis molecular de varianza sugieren que el mayor porcentaje de variación génica ocurre dentro de las poblaciones con un 92.94%, por otro lado, la menor variación se encontró entre los grupos (2.77%) y se observaron valores casi igual de bajos entre las poblaciones (4.28%) Tabla 24. Lo que es consistente con lo reportado para las poblaciones humanas (Stoneking *et al.*, 1990; Excoffier *et al.*, 1992; Pérez Martínez 2013).

Los bajos porcentajes de variación intergrupala e interpoblacional, sugieren la existencia de flujo génico entre estas poblaciones. Los índices de fijación en las distintas escalas jerárquicas no indican una diferenciación genética significativa ($p < 0.05$) entre los tres grupos culturales-lingüísticos, tanto a nivel interpoblacional como intrapoblacional (FSC = 0.04407, FST = 0.07059 y FCT = 0.02774). Por lo tanto, el AMOVA sugiere una carencia de correlación entre la diversidad genética del mtDNA y la clasificación lingüística como ha sido propuesto para las poblaciones mexicanas (Sandoval *et al.*, 2009 y Kemp *et al.*, 2010).

7.7 Redes de haplotipos

Cabe destacar que la red del haplogrupo A sugiere que los lacandones tienen una distribución limitada a sólo cuatro nodos, el nodo central y tres nodos secundarios, mientras que los mayas de Quintana Roo muestran una distribución más heterogénea, intercalando con los purépechas y mayas de Campeche (Figura 4).

En la red del haplogrupo A con las poblaciones del estado de Oaxaca los individuos triquis representan más de la mitad del nodo central. Por otra parte, el nodo principal (3) presenta proporciones semejantes de zapotecos y triquis. Cabe resaltar que los zapotecos se encuentran distribuidos en toda la red (Figura 5).

La principal mutación 16,111 (transición de C por T) que caracteriza al haplotipo A2 del haplogrupo A estuvo presente en casi todos los individuos de origen mayas y en los individuos del estado de Oaxaca lo que concuerda con la presencia de este haplotipo en las poblaciones mexicanas (Kemp *et al.*, 2010; (Sandoval *et al.*, 2009). Dicha mutación también se ha reportado en poblaciones panameñas (Kolman *et al.*, 1997).

El nodo central de la red del haplogrupo B está conformado de individuos que presentan las mutaciones 16,189 y 16,217 características del haplotipo B2 (Tamm *et al.*, 2007) (Figura 6). Las mutaciones 16,298 y 16,325 que caracterizan al haplotipo C1 esta presente en la mayoría de los individuos del haplogrupo C excepto en los zapotecos (Figura 7). Las mutaciones 16,362 y 16,325 que define al haplotipo D1 del haplogrupo D se encuentran prácticamente en todos los individuos excepto en mixtecos y otomíes (Figura 8).

En las redes de los haplotipos A, B, C y D se incluyó a la población purépecha de la familia lingüística Maya-totonaco de acuerdo a Scheffler (1999) y ésta se localizó tanto en nodos centrales, como secundarios y periféricos en las redes, lo anterior sugiere relación genética entre los purépechas y todas las poblaciones. Analizar otro marcador genético del mtDNA por ejemplo la región hipervariable II y

un número mayor de individuos purépechas, permitirá entender con mayor claridad si ésta tiene una relación genética por origen con poblaciones de la familia lingüística Maya-totonaco ya que su filiación lingüística esta en debate.

7.7.1 Haplogrupos y haplotipos del mtDNA en poblaciones de la familia lingüística Maya

Las redes de haplotipos muestran relaciones genéticas entre las poblaciones de origen maya. Los resultados de distancia genética F_{ST} indican que existe flujo génico entre los mayas de Quintana Roo y los de Campeche (Sandoval *et al.*, 2009) aunque las dos poblaciones se ubicaron distantes en el gráfico del ACP. Por otra parte, los valores de diversidad haplotípica, diversidad nucleotídica y Theta S, calculados para los cuatro haplogrupos mitocondriales considerados en conjunto, sugieren que la variación genética es mayor en la población maya de Quintana Roo que en mayas de Campeche. Cabe mencionar que ambas poblaciones se localizan en la parte norte de la Península de Yucatán, pertenecen a la misma familia lingüística Maya y probablemente tienen un origen en común.

El gráfico del ACP muestra que la población maya de Campeche (Sandoval *et al.*, 2009) está ubicada lejana de la lacandona (González *et al.*, 2011), sin embargo, en Pérez Martínez 2013 se sugirió un moderado flujo génico entre las dos poblaciones, basado en el valor obtenido de $F_{ST} = 0.23822$. Además con base en los resultados de diversidad génica el autor propuso que la población maya de Campeche es mucho más diversa que la lacandona, la cual mostró un valor Theta S de 3.75471, de diversidad nucleotídica (π) de 0.00871 y diversidad de haplotipo de 0.6409. Todos estos valores son más pequeños que los obtenidos aquí para las poblaciones mayas de Quintana Roo ($S=9.0063$, $\pi=0.0135$ y diversidad de haplotipo de 0.9543) y maya de Campeche ($S=6.4176$, $\pi=0.0165$ y diversidad de haplotipo de 0.9223). Por lo que apoyan la propuesta de que la población lacandona de origen maya es la que presenta la menor variación genética debido a que se encuentra aislada

geográficamente por la selva y presenta endogamia (González Oliver *et al.*, 2011; Pérez Martínez 2013; Garfias Morales 2012).

Se ha propuesto una continuidad genética en las poblaciones mayas antiguas y modernas de México basada en el patrón de distribución de los haplogrupos del mtDNA (González Oliver *et al.*, 2001, 2011). Esta propuesta es apoyada por el resultado obtenido con la población maya de Quintana Roo. Sin embargo, es necesario identificar los haplotipos de las otras poblaciones mayas de la literatura para realizar una comparación más completa.

7.7.2 Haplogrupos y haplotipos fundadores del mtDNA en poblaciones mixes de la familia lingüística Mixe-zoque

Los valores de diversidad haplotípica, nucleotídica y Theta S calculados de los cuatro haplogrupos considerados en conjunto, sugieren que la variación genética es mayor en la población mixe de este estudio que en mixe de la literatura (Kemp *et al.*, 2010). Los resultados de distancia génica FST indicaron flujo génico entre las poblaciones mixes.

7.7.3 Haplogrupos y haplotipos fundadores del mtDNA en poblaciones mixtecas de la familia lingüística Oto-mangue

La población mixteca de este estudio tampoco presentó diferencias estadísticas por el método de Ji cuadrada con las poblaciones mixtecas agrupadas de la literatura (Kemp *et al.*, 2010; Sandoval *et al.*, 2009; Peñaloza *et al.*, 2007 y Torroni *et al.*, 1994). Lo que no concuerda con el ACP ya que se ubicaron distantes en el gráfico. Basado en los valores de diversidad genética, la mixteca de este estudio es mucho más diversa y presenta flujo génico con la otra población mixteca.

Las poblaciones mixe y mixteca del presente estudio no fueron estadísticamente diferentes, sin embargo, ambas se ubicaron lejanas en el ACP. Los resultados de la diversidad genética indican que la población mixteca es más diversa que la mixe. Los resultados de FST y las redes de haplotipos indican flujo génico entre las poblaciones. Cabe mencionar que el número de individuos analizados de cada población fue parecido y, que la población mixe no presentó el haplogrupo D.

Cabe resaltar que los individuos de ambas poblaciones habitan en municipios cercanos en el Estado de Oaxaca y que ambas poblaciones pertenecen a diferentes familias lingüísticas.

Finalmente, los mixes estudiados aquí no mostraron diferencias estadísticas por Ji cuadrada con ninguna población maya, incluso los mixes de la literatura tampoco mostraron diferencias con algunas de las poblaciones mayas estudiadas. Las redes de haplotipos y los valores de FST de la población maya de este estudio y de las dos poblaciones mixes (presente tesis y Kemp *et al.*, 2010) indican flujo génico entre las poblaciones. Por lo que es necesario analizar un número mayor de individuos y más poblaciones mayas y mixes que permitan conocer con mayor precisión las relaciones genéticas entre éstas para explorar hipótesis relacionadas con la lingüística.

8. CONCLUSIONES

Las poblaciones maya y mixe presentan un patrón de distribución de los haplogrupos mitocondriales A, C, B y D similar al de las poblaciones de origen maya de México y Guatemala. Mientras que el patrón de la población mixteca es parecido al de la población zapoteca del sureste del país.

El haplogrupo mitocondrial A es el más frecuente y muestra la mayor diversidad genética. Mientras que el haplogrupo D es el menos frecuente y presenta la menor diversidad génica en las poblaciones indígenas contemporáneas de México. El haplogrupo X está ausente en las poblaciones de México.

Los resultados de los haplotipos mitocondriales sugieren que la población maya de Quintan Roo es genéticamente más diversa que la maya de Campeche y que la población lacandona es la menos diversa de las poblaciones mayas ya que se encuentra geográficamente aislada dentro de la selva lacandona y practica la endogamia.

Los resultados del ACP, de Ji cuadrada y las redes de haplotipos de las poblaciones maya estudiada y de la bibliografía sugieren una relación genética entre sí, lo que apoya una continuidad genética por vía materna en las poblaciones de la cultura maya antes propuesta por González-Oliver et al. (2001, 2011).

Los resultados de los haplotipos sugieren que la población mixteca es la más diversa genéticamente y los mixe los menos diversos aunque tengan una ubicación geográfica cercana y los resultados de FST y las redes de haplotipos indiquen flujo génico entre las poblaciones.

Las poblaciones maya, mixe y mixteca estudiadas muestran una mayor diversidad génica intragrupal que intergrupala. Los valores de FSTs y las redes de haplotipos

sugieren flujo génico entre las poblaciones estudiadas independientemente de su ubicación geográfica o afiliación lingüística.

El estudio de otros marcadores genéticos debe continuarse en las poblaciones indígenas mexicanas para responder con mayor precisión como afectan las Interacciones culturales, históricas y la geografía en la diversidad genética de las poblaciones.

APÉNDICE DE TABLAS

Tabla A. Familia lingüística Maya

Huasteco

Huasteco *Veracruz, San Luis Potosi*

Chicomucelteco *Chiapas*

Yucatecano – Maya nuclear

Yucatecano

Yucateco-Lacandón

Yucateco *Yucatán, Campeche, Quintana Roo, Belice; Petén, Guatemala*

Lacandón *Chiapas*

Mopán-Itzá

Mopán *Petén, Guatemala; Belice*

Itzá (Itzá) *Petén, Guatemala*

Maya nuclear

Cholano -Tzeltalano (Gran Tzeltalano, Gran Tzotzilano)

Cholano

Chol-Chontal

Chol (Ch'ol) *Chiapas*

Chontal *Tabasco*

Chorti-Cholti

Ch'orti' (Chorti) *Zacapa, Guatemala*

Cholti *Guatemala*

Tzeltalano (Tzotzilano)

Tzeltal *Chiapas*

Tzotzil *Chiapas*

Q'anjob'alan-Chujeano (Gran Kanjobalano)

Q'anjob'alano

Q'anjob'al-Akateko-Jakalteko

Q'anjob'al (Kanjobal) *Guatemala*

Akateko (Acateco) *Guatemala*

Jakalteko (Jacalteco) *Guatemala*

Motocintleco (con Tuzanteco)

Chujeano

Chuj *Guatemala*

Tojolabal *Chiapas*

K'icheano-Mameano (Maya del este)

K'icheano (Quicheano) *Guatemala*

Q'eqchi' (Kekchf)

Uspanteko (Uspanteco)

Poqom-K'icheano

Poqom

Poqomchi' (Pokomchi)

Poqomam (Pokomam)

K'icheano nuclear

K'iche' (Quiche)

Kaqchikel-Tz'utujil

Kaqchikel (Cakchiquel)

Tz'utujil (Tzutujil)

Sakapulteko (Sacapulteco)

Sipakapense (Sipacapa, Sipacapeno)

Mameano

Teco-Mam

Teco (Tektiteko) *Chiapas, Guatemala*

Mam *Guatemala, Chiapas*

Awakateko-Ixil

Awakateko (Aguacateco) *Guatemala*

Ixil *Guatemala*

Campbell y Kaufman 1985 en (Campbell, 2007)

Tabla B. Familia lingüística Mixe-Zoque

Mixeano

Mixeano de *Oaxaca*

Mixe de la Sierra Norte (Totontepec)

Mixe de la Sierra Sur

Zempoaltepetl (Tlahuitoltepec, Ayutla, Tamazulapan)

No-Zempoaltepetl (Tepuxtepec, Tepantlali, Mixistlan)

Mixe de la zona media

Mixe zona media del Norte (Jaltepec, Puxmetacán, Matamoros, Cotzocón)

Mixe zona media del Norte (Juquila, Cacalotepec)

Mixe de la zona baja (Camotlán, San José El Paraiso/ Coatlán, Mazatlán, Guichicovi)

Tapachulteco

Sayula Popoluca

Oluta Popoluca

Zoqueano

Zoqueano del Golfo

Zoque de Texistepec

Ayapa

Soteapan Zoque (Sierra Popoluca)

Zoque de Chimalapa (*Oaxaca*)

Zoque de Santa María Chimalapa

Zoque de San Miguel Chimalapa

Zoque de Chiapas

Zoque del Norte (Magdalena / Francisco León)

Zoque del Noreste

Zoque del Noreste A (Tapalapa, Ocoatepec, Pantepec, Rayon)

Zoque del Noreste B (Chapultenango, Oxolotan)

Zoque Central (Copainala, Tecpatán, Ostuacán)

Zoque del Sur (Tuxtla Gutiérrez, Ocozocuahtla)

Wichmann 1995 en (Campbell, 2007).

Tabla C. Familia lingüística Oto-mangue

Otomangue del Oeste

Oto-Pame-Chinantecano

Oto-Pameano

Otomi *Hidalgo, Estado de México, Guanajuato, Querétaro*

Mazahua *Michoacán, Estado de México*

Matlatzinca-Ocuilteco

Matlatzincas (Pirinda) *Estado de México*

Ocuilteco (Tlahuica, Atzingo) *Estado de México*

Pame *Estado de México*

Chichimeco (Jonaz) *Guanajuato*

Chinantecano *Oaxaca*

Ojtlán

Usila

Quiotepec

Palantla

Lalana

Chiltepec

Tlapaneco-Mangueano

Tlapaneco-Subtiaba

Subtiaba *Nicaragua*

Tlapaneco *Guerrero* (Dialectos: Azoyu, Malinaltepec)

Mangueano

Chiapaneco *Chiapas*

Mangue (Diriano, Nagranda, Chorotega, Orotifía) *Nicaragua, Costa*

Rica

Otomangue del este

Popolocano-Zapotecano

Popolocano

Mazateco *Oaxaca, Puebla* (varios dialectos)

Ixcateco *Oaxaca*

Chocho *Oaxaca*

Popoloca *Puebla, Oaxaca*

Zapotecano *Oaxaca*

Complejo Zapoteco (incluye Papabuco y entre 6 y 55 lenguas

distintas)

Chatino

Amuzgo-Mixtecano

Amuzgo (dos variedades) *Oaxaca, Guerrero*

Mixtecano

Mixteco *Guerrero, Puebla, Oaxaca*

Cuicateco *Oaxaca*

Trique *Oaxaca*

Kaufmann, Rensch 1978 en (Campbell, 2007).

Tabla 1. Sitios de mutación y reconocimiento enzimático en el mtDNA que definen los haplogrupos de nativos americanos

	A	B	C	D	X
Mutación	A → G	Delección de 9 pb	A → G	C → A	T → C
Nucleótido	663	8,272-8,289	13,263	5,178	14,470
Endonucleasa	Hae III Ganancia (+)	-----	Hinc II Pérdida (-)	Alu I 5,177-	Acc I 14,465-
de restricción	664-665*		13,261-16,362*	5,178 (-)*	14,466 (+)*

* Posición nucleotídica donde realiza el corte la enzima

Tabla 2. Secuencias del mtDNA que definen los haplogrupos fundadores

Haplogrupo	Secuencia mtDNA				
A	651		663	677	Posición nucleotídica
	5'-AGGTTTGGTCCT AG CC TTTCTATTAGC-3'				Secuencia estándar
	GG ↓ CC				Secuencia mutada
B	8,262			8,291	Posición nucleotídica
	5'-CCCTATAGCACCCCCTCTACCCCCTCTAGA-3'				Secuencia estándar
	5'-CCCTATAGCACCCCCTCTAGA-3'				Secuencia mutada
C	13,251	13,259	13,263	13,270	Posición nucleotídica
	5'-CACTTCAA G T C ↓ A A C TAGGAC-3'				Secuencia estándar
	G T C A G C				Secuencia mutada
D	5,171	5,176		5,192	Posición nucleotídica
	5'-AAACA A G ↓ C T A ACATGACTAACA-3'				Secuencia estándar
	A G A T A				Secuencia mutada
X	14,461	14,465	14,470		Posición nucleotídica
	TGTA G T A T A C				Secuencia estándar
	TGTA G T ↓ A T A T				Secuencia mutada

No. de referencia GeneBank: NC_012920.1

Tabla 3. Mutaciones que definen los haplotipos de la HVRI

A2	B2	C1	D1	X2A
16,290 (C→T)	16,189 (T→C)	16,298 (T→C)	16,129 (G→A)	16,213 (C → T)
16,319 (G→A)	16,217 (T→C)	16,327 (C→T)		16,278 (C → T)

Tabla 4. *Primers* usados para amplificar regiones del mtDNA por PCR

Haplogrupo	Coordenadas	Secuencias 5'-3'	Bibliografía
mitocondrial	de primers		
A	L 590–611	ACCTCCTCAAAGCAATACACTG	Stone y Stoneking (1993)
	H 743–765	GTGCTTGATGCTTGTTCCCTTTTG	
B	L 8196–8215	GTGCTTGATGCTTGTTCCCTTTTG	González-Oliver <i>et al.</i> , (2001)
	H 8295–8316	ATGCTAAGTTAGCTTTACAGTG	
C	L 13209–13232	CGCTATCACCACCTCTGTTTCGC	González-Oliver <i>et al.</i> , (2001)
	H 13393–13416	CAGATGTGCAGGAATGCTAGG	
D	L 13179–13199	TAAGTACTACCGCATTCTACT	González-Oliver <i>et al.</i> , (2001)
	H 13305–13325	AAAGCCGGTTAGCGGGGGCA	
X	L 5101–5122	CTGACCCCCATGCCTCAGGA	Kemp <i>et al.</i> , (2010)
	H 5230–5249	CTAAGCCTTCTCCTATTTATGG	

Tabla 5. Reactivos y concentraciones utilizadas para las amplificaciones del mtDNA por PCR

Reactivos	Concentración final	Volumen final en 25 µL
Amortiguador 10X	1X	2.5
dNTP's 10 mM	100 µM c/u	2.0
MgCl ₂ 50 Mm	1.5 mM	0.75
<i>Primer forward</i> 10 µM	0.1 µM	0.25
<i>Primer reverse</i> 10 µM	0.1 µM	0.25
Platinum-Taq 5 U	0.02 U	0.1
H ₂ O	-----	17.15
DNA	-----	2.0

Tabla 6. Condiciones de temperatura y tiempo utilizados en la amplificación de la HVRI del mtDNA por PCR

	A-HAE		B-DEL		C-HINC		D-ALU		X-ACC		40 ciclos
	°C	Tiempo	°C	Tiempo	°C	Tiempo	°C	Tiempo	°C	Tiempo	
Desnaturalización inicial	94	2'	94	2'	94	2'	94	2'	94	2'	
Desnaturalización	94	1'	94	1'	94	1'	94	1'	94	1'	
Alineación	63	1'	52	1'	60	1'	55	1'	49	1'	
Elongación	72	1'	72	1'	72	1'	72	1'	72	1'	
Elongación final	72	7'	72	7'	72	7'	72	7'	72	7'	

Tabla 7. *Primers* utilizados para la reacción de amplificación de la HVRI del mtDNA

Región	Coordenadas	de Secuencia 5'-3'	Bibliografía
mtDNA	primers		
HVRI	L 15,975-15,996	CTCCACCATTAGCACCCAAAGC	Vigilant <i>et al.</i> , (1989)
	H 16,401-16,410	GTCCTAGGAGGCACTTTAGT	

L= Cadena ligera del mtDNA, H= Cadena pesada del mtDNA

Tabla 8. Tamaños de los productos de PCR y de los fragmentos de restricción

Haplogrupo	Enzima de restricción	Tamaño del producto PCR (pb)	Tamaño de los fragmentos de restricción (pb)
A	Hae III	176	101 + 75
B	-----	112-121	-----
C	Hinc II	147	83 + 64
D	Alu I	149	77 + 72
X	Acc I	194	150 + 44

Tabla 9. Reactivos y concentraciones utilizadas para las amplificaciones de la HVRI por PCR

Reactivos	Concentración final	Volumen final en 25 µL
Amortiguador 10X	1X	2.5 µl
dNTP's 10 mM	100 µM c/u	2 µl
MgCl ₂ 50 Mm	1.5 mM	0.75 µl
<i>Primer forward</i> 10 µM	0.1 µM	0.25 µl
<i>Primer reverse</i> 10 µM	0.1 µM	0.25 µl
Platinum-Taq 5 U	0.02 U	0.1 µl
H ₂ O	-----	16.15 µl
DNA	-----	3 µl

Tabla 10. Reactivos y concentraciones utilizadas para la reacción de secuenciación de la HVRI por PCR

Reactivos	Concentración final	Volumen final en 12 µL
DNA	-----	3 µl
H ₂ O	-----	3.5 µl
<i>Primer</i> 3 µM	0.03 µM	2 µl
Amortiguador 2.5X	2.5 X	2 µl
<i>Big Dye</i>	-----	1.5 µl

TABLAS DE RESULTADOS

Tabla 11. Frecuencias de haplogrupos de mtDNA en las poblaciones estudiadas.

Población	Localidad	n	A%	B%	C%	D%	X%	Otro%
Maya	Quintana Roo	75	77.30	5.30	10.70	6.70	0.00	0.00
Mixe	Oaxaca	95	43.20	14.70	42.10	0.00	0.00	0.00
Mixteca	Oaxaca	103	52.42	20.39	20.39	6.79	0.00	0.00

Tabla 12. Número de haplotipos del mtDNA observados en la población maya

Haplogrupos mtDNA	n	No. haplotipos	Haplotipos únicos	Haplotipos compartidos intrapoblación	Haplotipos compartidos interpoblación
A	54	21	5 (23.81 %)	11 (52.38 %)	5 (23.81 %)
B	4	3	2 (66.66 %)	1 (33.33 %)	0 (0.00 %)
C	5	3	1 (33.33 %)	1 (33.33 %)	1 (33.33 %)
D	4	1	0 (0.00 %)	1 (100.00 %)	0 (0.00 %)
Total	67	28	8 (28.57 %)	14 (50.00 %)	6 (33.59 %)

Tabla 13. Número de haplotipos del mtDNA observados de la población mixe

Haplogrupos mtDNA	n	No. haplotipos	Haplotipos únicos	Haplotipos compartidos intrapoblación	Haplotipos compartidos interpoblación
A	32	15	5 (33.33 %)	4 (26.66 %)	6 (40.00 %)
B	10	5	3 (60.00 %)	2 (40.00 %)	0 (0.00 %)
C	20	2	1 (50.00 %)	1 (50.00 %)	0 (0.00 %)
Total	62	22	9 (40.90 %)	7 (31.82 %)	6 (27.28 %)

Tabla 14. Número de haplotipos del mtDNA de la población mixteca

Haplogrupos mtDNA	n	No. haplotipos	Haplotipos únicos	Haplotipos compartidos intrapoblación	Haplotipos compartidos interpoblación
A	41	21	11 (52.38%)	5 (23.81 %)	5 (23.81 %)
B	14	8	5 (62.50%)	3 (37.50 %)	0 (0.00 %)
C	8	6	3 (50.00%)	2 (33.33%)	1 (16.66%)
D	7	4	1 (25.00%)	2 (50.00%)	1 (25.00%)
Total	70	39	20 (51.28 %)	12 (30.77%)	7 (17.94%)

Tabla 15. Valores de Diversidad Nucleotídica y Theta S por cada haplogrupo fundador del mtDNA en las poblaciones estudiadas

Población	Haplogrupo	Theta S	Diversidad Nucleotídica	
		(θ S)	(π)	
Maya	A	6.363959 +/- 2.058280	0.008922 +/-	0.005167
	B	3.818182 +/- 2.384197	0.010923 +/-	0.008196
	C	0.960000 +/- 0.758032	0.002707 +/-	0.00251
	D	0.000000	0.000000	
Mixe	A	6.207717 +/- 2.210923	0.007786 +/-	0.004672
	B	3.534858 +/- 1.750444	0.008197 +/-	0.005268
	C	0.281870 +/- 0.281870	0.000270 +/-	0.000535
	D	*	*	
Mixteca	A	5.375662 +/- 1.871898	0.006572 +/-	0.004037
	B	3.144522 +/- 1.478266	0.006220 +/-	0.004063
	C	1.928375 +/- 1.135730	0.004749 +/-	0.00349
	D	3.265306 +/- 1.785908	0.010443 +/-	0.006823

*= No aplica

Tabla 16. Frecuencias de los haplogrupos fundadores del mtDNA de las poblaciones indígenas mexicanas

Población	n	A %	B %	C %	D %	X %	Otro %	Localidad	Referencia
Maya 1	75	77.33	5.33	10.67	6.67	0.00	0.00	Quintana Roo	Presente estudio
Mixe 1	95	43.16	14.74	42.11	0.00	0.00	0.00	Oaxaca	Presente estudio
Mixteca 1	103	52.42	20.39	20.39	6.79	0.00	0.00	Oaxaca	Presente estudio
Azteca	37	62.16	16.22	5.41	16.22	0.00	0.00	Tlatelolco, D.F.	De la Cruz <i>et al.</i> , 2008; Kemp <i>et al.</i> , 2005
Lacandona	86	93.02	0.00	1.16	0.00	0.00	5.81	Chiapas	González <i>et al.</i> , 2011
Maya 2	52	61.54	17.31	15.38	5.77	0.00	0.00	Campeche	Sandoval <i>et al.</i> , 2009
Maya 3	130	75.38	9.23	12.31	3.08	0.00	0.00	Yucatán	Pérez-Martínez 2013; Garfías Morales 2012; Acuña Alonso 2010
Maya 4	27	51.85	22.22	14.81	7.41	0.00	3.70	Yucatán	Torróni <i>et al.</i> , 1992; Schurr <i>et al.</i> , 1990
Maya Chorti 5	57	70.00	0.00	25.00	0.00	0.00	5.00	Guatemala	Justice <i>et al.</i> , 2011
Maya Pogomchi 6	65	82.00	6.00	12.00	0.00	0.00	0.00	Guatemala	Justice <i>et al.</i> , 2011
Maya 7*	30	63.00	33.00	3.00	0.00	0.00	0.00	Guatemala	Melton <i>et al.</i> , 2007; Boles <i>et al.</i> , 1995
Maya Colonial	24	66.67	4.17	16.67	12.50	0.00	0.00	Xcaret, Quintana Roo	Pérez Martínez 2013; De la Cruz <i>et al.</i> , 2010
Maya Prehispánica	25	84.00	4.00	8.00	0.00	0.00	4.00	Xcaret, Quintana Roo	González-Oliver <i>et al.</i> , 2001
Mazahua	110	29.09	33.64	14.55	22.73	0.00	0.00	Estado de México	Romero García 2010; Sánchez Solís 2010
Mixe 2	68	38.24	29.41	23.53	8.82	0.00	0.00	Oaxaca	Kemp <i>et al.</i> , 2010; Malhi <i>et al.</i> , 2008; Torróni <i>et al.</i> , 1994
Mixteca 2	142	68.31	21.13	7.04	3.52	0.00	0.00	Oaxaca	Kemp <i>et al.</i> , 2010; Sandoval <i>et al.</i> , 2009; Malhi <i>et al.</i> , 2008; Peñaloza <i>et al.</i> , 2007; Torróni <i>et al.</i> , 1994
Nahua 1	109	43.12	37.61	14.68	4.59	0.00	0.00	Atocpan, D.F.	Kemp <i>et al.</i> , 2010; Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Nahua 2	41	46.34	34.15	7.32	12.20	0.00	0.00	Chilacachapa, Guerrero	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Nahua 3	35	74.29	8.57	0.00	17.14	0.00	8.57	Coyolillo, Veracruz	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Nahua 4	46	63.04	19.57	15.22	2.17	0.00	0.00	Cuetzalan, Puebla	Kemp <i>et al.</i> , 2010; Malhi <i>et al.</i> , 2003 y 2008
Nahua 5	47	55.32	27.66	0.00	17.02	0.00	0.00	Ixhuatlancillo, Veracruz	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Nahua 6	37	51.35	40.54	8.11	0.00	0.00	0.00	Necoxtla, Veracruz	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Nahua 7	43	72.09	18.60	9.30	0.00	0.00	0.00	Xochimilco, D.F	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Nahua 8	46	65.22	30.43	2.17	2.17	0.00	0.00	Zitlala, Guerrero	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Otomí 1	99	57.58	16.16	14.14	2.02	0.00	10.10	Estado de México	Garfías Morales 2012; Romero García 2010; Sánchez Solís 2010
Otomí 2	103	46.60	23.30	23.30	6.80	0.00	0.00	Hidalgo	Sandoval <i>et al.</i> , 2009; Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Purépecha	37	56.76	21.62	16.22	5.41	0.00	0.00	Michoacán	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Triqui	107	71.96	28.04	0.00	0.00	0.00	0.00	Oaxaca	Sandoval <i>et al.</i> , 2009
Tzeltal	35	60.00	14.29	14.29	11.43	0.00	0.00	Chiapas	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Zapoteca	103	39.81	23.30	29.13	4.85	0.00	2.91	Oaxaca	Kemp <i>et al.</i> , 2010; Malhi <i>et al.</i> , 2008; Torróni <i>et al.</i> , 1994

*muestras forense

Tabla 16. Frecuencias de los haplogrupos fundadores del mtDNA de las poblaciones indígenas mexicanas (Continuación)

Población	Familia lingüística¹
Maya 1	Maya
Mixe 1	Mixe-zoque
Mixteca 1	Oto-mangue
Azteca	Yuto-nahua
Lacandona	Maya
Maya 2	Maya
Maya 3	Maya
Maya 4	Maya
Maya Chorti 5	Maya
Maya Pogomchi 6	Maya
Maya 7*	Maya
Maya Colonial	Maya Maya
Prehispánica	Maya Mazahua
Oto-mangue Mixe 2	
Mixe-zoque Mixteca 2	
Oto-mangue Nahua 1	
Yuto-nahua Nahua 2	
Yuto-nahua Nahua 3	
Yuto-nahua Nahua 4	
Yuto-nahua Nahua 5	
Yuto-nahua Nahua 6	
Yuto-nahua Nahua 7	
Yuto-nahua Nahua 8	
Yuto-nahua Otomí 1	
Oto-mangue Otomí 2	
Oto-mangue	
Purépecha	Maya-Totonaco ²
Triqui	Oto-mangue
Tzeltal	Maya
Zapoteca	Oto-mangue

¹Basada en INALI 2008

²Scheffler 1999

Tabla 17. Frecuencias de los haplogrupos fundadores del mtDNA de las poblaciones indígenas de la familia lingüística Maya

Clave	No. Individuos		Haplogrupos						Referencia
	TOTAL	A%	B%	C%	D%	X%	Otro%		
Maya (MY1)	1	75	77.33	5.33	10.67	0.00	0.00	0.00	Presente estudio
Maya (MY2)	2	52	61.54	17.31	15.38	5.77	0.00	0.00	Sandoval <i>et al.</i> , 2009
Maya (MY3)	3	130	75.38	9.23	12.31	3.08	0.00	0.00	Pérez Martínez 2013; Garfías Morales 2012; Acuña Alonso 2010
Maya (MY4)	4	27	51.85	22.22	14.81	7.41	0.00	3.70	Torróni <i>et al.</i> , 1994
Maya (MY5)	5	57	70.00	0.00	25.00	0.00	0.00	5.00	Justice <i>et al.</i> , 2011
Chorti									
Maya (MY6)	6	65	82.00	6.00	12.00	0.00	0.00	0.00	Justice <i>et al.</i> , 2011
Pogomchi									
Maya (MY7)	7*	30	63.00	33.00	3.00	0.00	0.00	0.00	Melton <i>et al.</i> , 2007; Boles <i>et al.</i> , 1995
Lacandona (LC)		86	93.02	0.00	1.16	0.00	0.00	5.81	González Oliver <i>et al.</i> , 2011, Pérez Martínez 2013; Garfías Morales 2012
Maya (MYP)		25	84.00	4.00	8.00	0.0	0.00	0.00	González-Oliver <i>et al.</i> , 2001
Prehispánica									
Maya Colonial (MYC)		24	66.67	4.17	16.67	12.50	0.00	0.00	Pérez Martínez 2013; De la Cruz <i>et al.</i> , 2010

*muestras forenses

Tabla 18. Frecuencias de los haplogrupos fundadores del mtDNA de las poblaciones indígenas de la familia lingüística Mixe-zoque

Clave	No. Individuos		Haplogrupos					Referencia
	TOTAL	A%	B%	C%	D%	X%	Otro%	
Mixe 1 (MX1)	95	43.16	14.74	42.11	0.00	0.00	0.00	Presente estudio
Mixe 2 (MX2)	52	30.76	28.84	28.84	11.53	0.00	0.00	Kemp <i>et al.</i> , 2010
Mixe 3 (MX3)	16	62.50	31.25	6.25	0.00	0.00	0.00	Torróni <i>et al.</i> , 1994

Tabla 19. Frecuencias de los haplogrupos fundadores del mtDNA de las poblaciones indígenas de la familia lingüística Oto-mangue

Clave	No. Individuos		Haplogrupos					Referencia
	TOTAL	A%	B%	C%	D%	X%	Otro%	
Mixteca 1 (MT1)	104	51.92	20.19	20.19	6.73	0.00	0.96	Presente estudio
Mixteca 2 (MT2)	67	67.16	20.89	7.46	4.47	0.00	0.00	Kemp <i>et al.</i> , 2010
Mixteca 3 (MT3)	27	48.14	40.74	7.40	3.70	0.00	0.00	Peñaloza-Espinoza <i>et al.</i> , 2007
Mixteca 4 (MT4)	29	82.75	10.34	6.89	0.00	0.00	0.00	Torróni <i>et al.</i> , 1994
Mixteca 5 (MT5)	19	78.94	10.52	5.26	5.26	0.00	0.00	Sandoval <i>et al.</i> , 2009

Tabla 20. Valores de probabilidad de la prueba de *Ji cuadrada* de poblaciones indígenas de las familias lingüísticas: Maya, Mixe-zoque y Oto-mangue

	MY 1	MY 2	MY 3	MY 4	MY C	MYP	LC	TZ	MX 1	MX 2	MT 1	MT 2	MZ	OT1	OT 2	TQ	ZP
MY 1	1.000000	0.113400	0.483500	0.045500	0.652400	0.575900	0.000500	0.234500	0.000000	0.000010	0.003200	0.016900	0.000000	0.029300	0.000200	0.000000	0.000010
MY 2	0.113400	1.000000	0.254600	0.902400	0.364300	0.124600	0.000000	0.806900	0.001600	0.092000	0.751800	0.277000	0.000300	0.754900	0.364400	0.000020	0.083100
MY 3	0.483500	0.254600	1.000000	0.095400	0.166200	0.569700	0.000100	0.130400	0.000000	0.000000	0.003300	0.033500	0.000000	0.194658	0.000100	0.000000	0.000000
MY 4	0.045500	0.902400	0.095400	1.000000	0.280300	0.055800	0.000000	0.810500	0.005400	0.579700	0.946000	0.391600	0.073300	0.507000	0.837400	0.000010	0.441900
MY C	0.652400	0.364300	0.166200	0.280300	1.000000	0.226800	0.000020	0.000000	0.000300	0.033200	0.202300	0.031200	0.002000	0.074600	0.095000	0.000000	0.023400
MYP	0.575900	0.124600	0.569700	0.055800	0.226800	1.000000	0.031989	0.106200	0.000521	0.000500	0.016900	0.163400	0.000000	0.159600	0.003900	0.000797	0.000800
LC	0.000500	0.000000	0.000100	0.000000	0.000020	0.031989	1.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000001	0.000000
TZ	0.234500	0.806900	0.130400	0.810500	0.000000	0.106200	0.000000	1.000000	0.000400	0.126800	0.569900	0.104700	0.007100	0.197000	0.300400	0.000001	0.064300
MX 1	0.000000	0.001600	0.000000	0.005400	0.000300	0.000521	0.000000	0.000400	1.000000	0.000800	0.001200	0.000000	0.000000	0.000700	0.000200	0.000000	0.030100
MX 2	0.000010	0.092000	0.000000	0.579700	0.033200	0.000500	0.000000	0.126800	0.000800	1.000000	0.312800	0.000100	0.048900	0.009100	0.687100	0.000000	0.561500
MT 1	0.003200	0.751800	0.003300	0.946000	0.202300	0.016900	0.000000	0.569900	0.001200	0.312800	1.000000	0.006800	0.000100	0.268600	0.752941	0.000000	0.277300
MT 2	0.016900	0.277000	0.033500	0.391600	0.031200	0.163400	0.000000	0.104700	0.000000	0.000100	0.006800	1.000000	0.000000	0.196000	0.000500	0.005500	0.000010
MZ	0.000000	0.000300	0.000000	0.073300	0.002000	0.000000	0.000000	0.007100	0.000000	0.048900	0.000100	0.000000	1.000000	0.000000	0.000600	0.000000	0.000100
OT 1	0.029300	0.754900	0.194658	0.507000	0.074600	0.159600	0.000000	0.197000	0.000700	0.009100	0.268600	0.196000	0.000000	1.000000	0.078700	0.000070	0.013400
OT 2	0.000200	0.364400	0.000100	0.837400	0.095000	0.003900	0.000000	0.300400	0.000200	0.687100	0.752941	0.000500	0.000600	0.078700	1.000000	0.000000	0.680700
TQ	0.000000	0.000020	0.000000	0.000010	0.000000	0.000797	0.000001	0.000001	0.000000	0.000000	0.000000	0.005500	0.000000	0.000070	0.000000	1.000000	0.000000
ZP	0.000010	0.083100	0.000000	0.441900	0.023400	0.000800	0.000000	0.064300	0.030100	0.561500	0.277300	0.000010	0.000100	0.013400	0.680700	0.680700	1.000000

Los valores que no muestran diferencias estadísticas ($p \geq 0.05$) se presentan en color.

MY1= maya este estudio, MY2= maya Campeche (Sandoval *et al.*, 2009); MY3= maya Yucatán (Pérez Martínez 2013; Garfías Morales 2012; Acuña Alonso 2010); MY4= maya Yucatán (Torrioni *et al.*, 1994); MYC= maya colonial (De la Cruz *et al.*, 2010), MYP= maya prehispánico (González-Oliver *et al.*, 2001), LC= lacandona (González-Oliver *et al.*, 2011), MX1= mixe este estudio, MX2= mixe (Kemp *et al.*, 2010, Torrioni *et al.*, 1994); MT1= mixteco este estudio; MT2= mixteco (Kemp *et al.*, 2010, Sandoval *et al.*, 2009, Peñaloza-Espinoza *et al.*, 2007, Torrioni *et al.*, 1994); MZ= mazahua Edo. de México (Garfías Morales 2012); OT1= otomí Edo. de México (Garfías Morales 2012); OT2= otomí Hidalgo (Sandoval *et al.*, 2009; Peñaloza *et al.*, 2007); TQ= triqui (Sandoval *et al.*, 2009); TZ= tzeltal (Peñaloza *et al.*, 2007); ZP= zapoteco (Kemp *et al.*, 2010; Malhi *et al.*, 2008; Torrioni *et al.*, 1994).

Tabla 21. Valores propios de los factores del ACP

	F1	F2	F3	F4
Valor propio	2.271	1.028	0.701	0.000
Variabilidad (%)	56.774	25.705	17.521	0.000
Porcentaje acumulado	56.774	82.479	100.000	100.000

Tabla 22. Diversidad genética molecular en poblaciones pertenecientes a las familias lingüísticas Maya, Mixe-zoque y Oto-mangue

Población	n	Número de haplotipos totales	Número de sitios polimórficos	Theta S (θS)	Diversidad Nucleotídica (π)	Valor medio de la diferencia de pares
Maya 1	67	28	43	9.006316	0.013540 +/-	5.023414 +/-
				+/- 2.678293	0.007385	2.471317
Maya 2	52	20	29	6.417614	0.016562 +/-	6.144495 +/-
				+/- 2.086226	0.008881	2.969558
Mixe 1	62	22	37	7.655959	0.015694 +/-	5.822330 +/-
				+/- 2.303501	0.008416	2.816835
Mixe 2	49	15	28	6.279720	0.019823 +/-	7.354304 +/-
				+/- 2.068957	0.010470	3.499959
Mixteca 1	70	39	50	10.120800	0.017500 +/-	6.492577 +/-
				+/- 2.888050	0.009272	3.104009
Mixteca 2	76	28	37	7.548932	0.016110 +/-	5.976886 +/-
				+/- 2.250916	0.008608	2.881703

Maya 1, Mixteca 1 y Mixe 1= Este estudio. Maya 2= Sandoval *et al.*, 2009; Mixteca 2= Kemp *et al.*, 2010 y Sandoval *et al.*, 2009; Mixe 2= Kemp *et al.*, 2010.

Tabla 23. Matriz de distancia FST de Tajima y Nei (1984)

	MIXTECA I	MIXTECA 2	MAYA I	MAYA 2	MIXE I	MIXE 2
MIXTECA I	0.00000					
MIXTECA 2	0.01349	0.00000				
MAYA I	0.04557	0.03805	0.00000			
MAYA 2	0.01346	0.02006	0.08473	0.00000		
MIXE I	0.05381	0.10664	0.14182	0.06419	0.00000	
MIXE 2	0.05529	0.09352	0.17874	0.03697	0.04586	0.00000

Este estudio= Maya 1, Mixteca 1 y Mixe 1. Maya 2= Sandoval *et al.*, 2009; Mixteca 2= Kemp *et al.*, 2010 y Sandoval *et al.*, 2009; Mixe 2= Kemp *et al.*, 2010.

El valor de distancia es de 0 a 1, donde 0 = identidad y 1 = mayor diferencia

Tabla 24. Análisis molecular de varianza

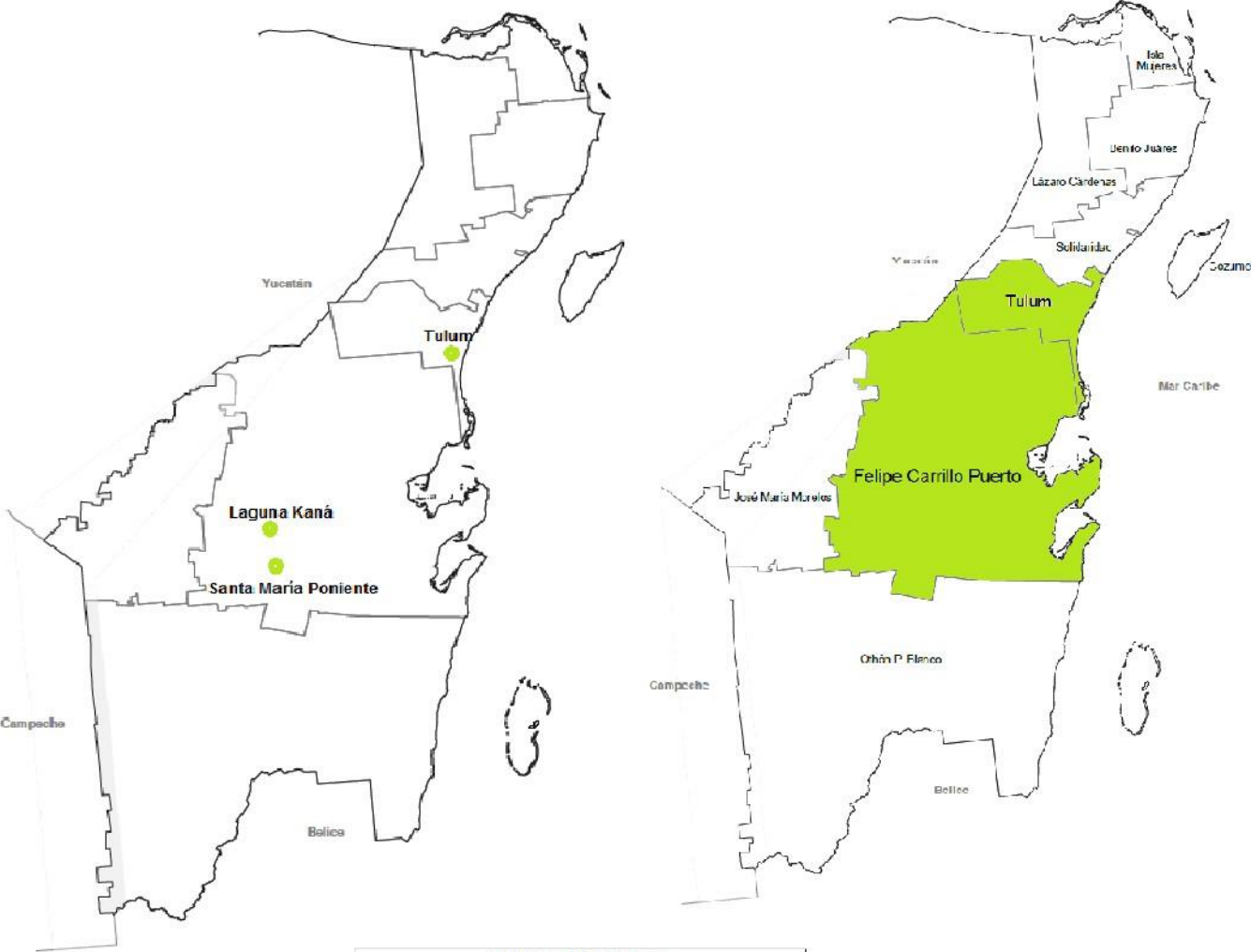
Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación
Intergruppal	2	48.293	0.09079 Va	2.77
Interpoblacional intragruppal	3	36.325	0.14020 Vb	4.28
Intrapoblacional	388	1180.085	3.04146 Vc	92.94
Total	393	1264.703	3.27245	

Índice de Fijación (FSC)	0.04407
Índice de Fijación (FST)	0.07059
Índice de Fijación (FCT)	0.02774

Test de significancia 1023 permutaciones ($p < 0.05$)	Vc y FST: P =	0.00000
	Vb y FSC: P =	0.00000
	Va y FCT: P =	0.30010+/-0.01542

APÉNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de los municipios y localidades muestreadas que habita la población maya de Quintana Roo.



MAYAS QUINTANA ROO		
No. municipio	Municipio	Comunidad
4	Felipe Carrillo Puerto	Laguna Kaná
4	Felipe Carrillo Puerto	Santa María Poniente
8	Tulum	Tulum

Figura 2. Mapa del estado de Oaxaca, en el que se muestran los municipios habitados por la población mixe

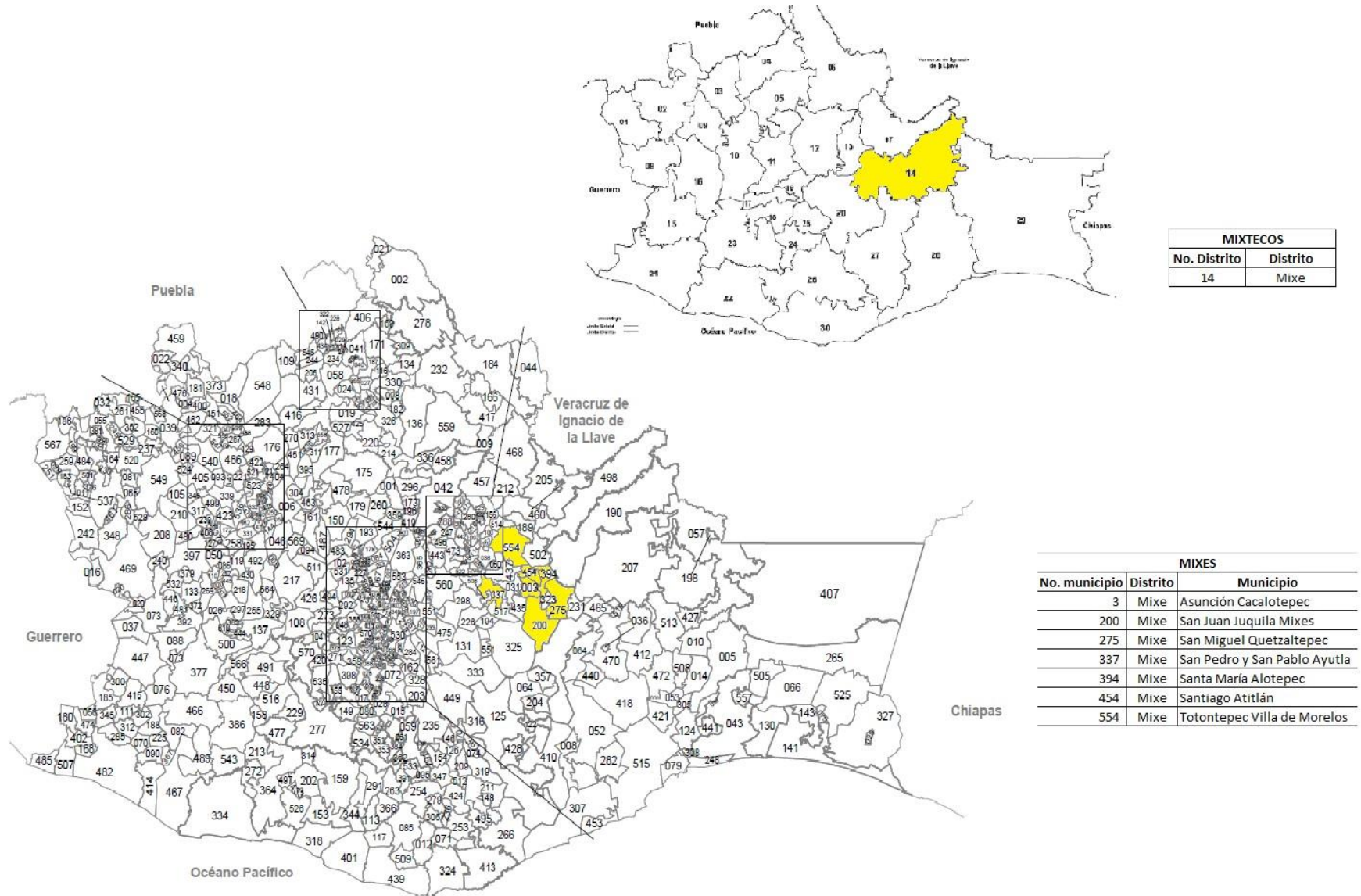
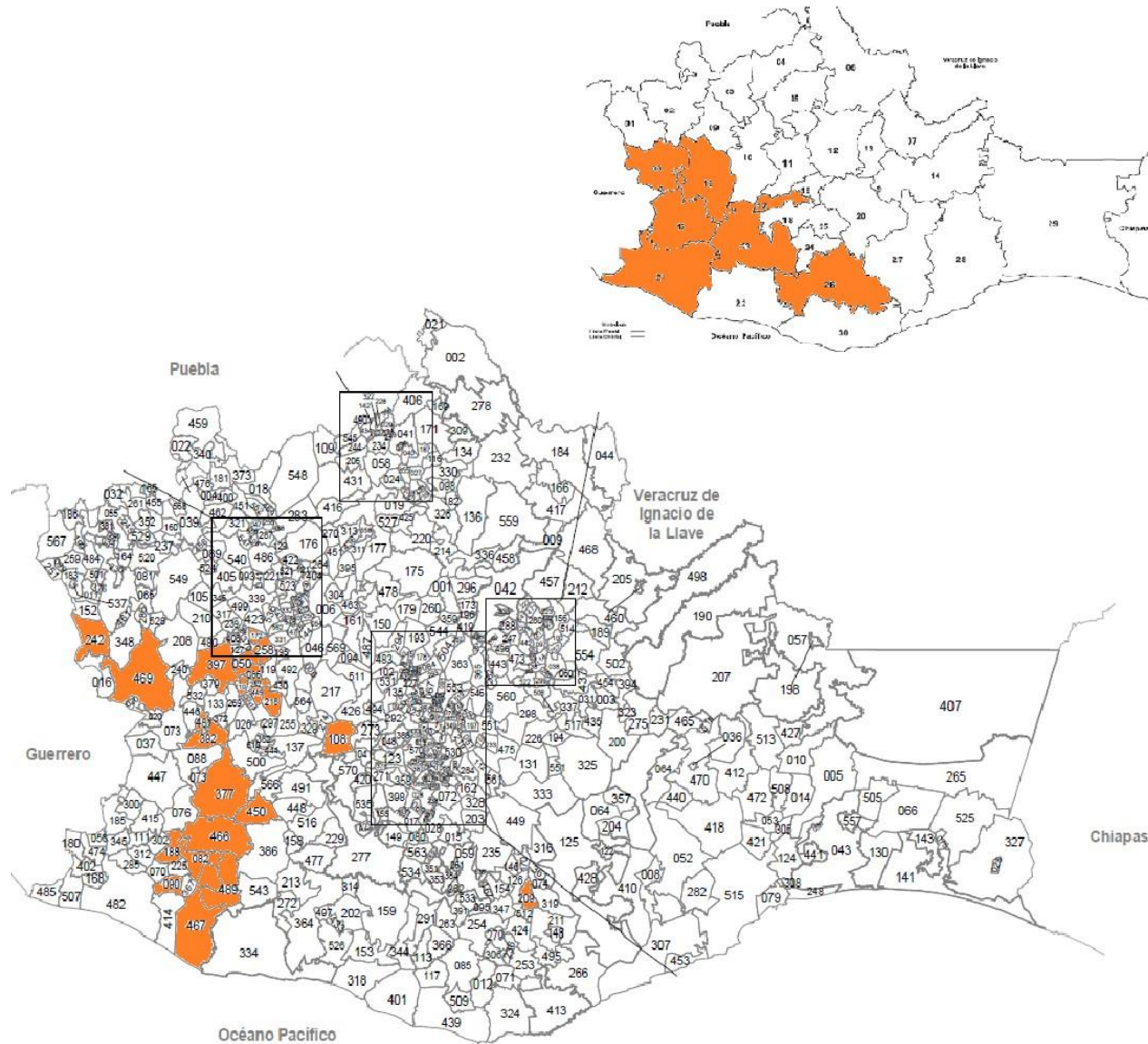


Figura 3. Mapa de los municipios muestreados que habita la población mixteca en Oaxaca



MIXTECOS	
No. Distrito	Distrito
21	Jamiltepec
8	Juxtlahuaca
26	Miahuatlán
15	Putla
23	Sola de Vega
16	Tlaxiaco
17	Zaachila

No. municipio	MIXTECOS Distrito	Municipio
62	Jamiltepec	Natividad
82	Jamiltepec	San Agustín Chayuko
90	Jamiltepec	San Andrés Huaxpaltepec
188	Jamiltepec	San Juan Colorado
466	Jamiltepec	Santiago Ixtlyutla
467	Jamiltepec	Santiago Jamiltepec
489	Jamiltepec	Santiago Tetepec
242	Juxtlahuaca	San Martín Peras
469	Juxtlahuaca	Santiago Juxtlahuaca
209	Miahuatlán	San Juan Mixtepec
377	Putla	Santa Cruz Itundujía
392	Putla	Santa Lucía Monteverde
450	Sola de Vega	Santiago Amoltepec
50	Tlaxiaco	Magdalena Peñasco
86	Tlaxiaco	San Agustín Tlacotepec
110	Tlaxiaco	San Antonio Shinicahua
172	Tlaxiaco	San Juan Achiutla
218	Tlaxiaco	San Juan Teita
252	Tlaxiaco	San Mateo Peñasco
258	Tlaxiaco	San Miguel Achiutla
320	Tlaxiaco	San Pedro Molinos
397	Tlaxiaco	Heróica ciudad de Tlaxiaco
445	Tlaxiaco	Santa María Yosoyva
481	Tlaxiaco	Santiago Nuyoo
108	Zaachila	San Antonio Huitepec

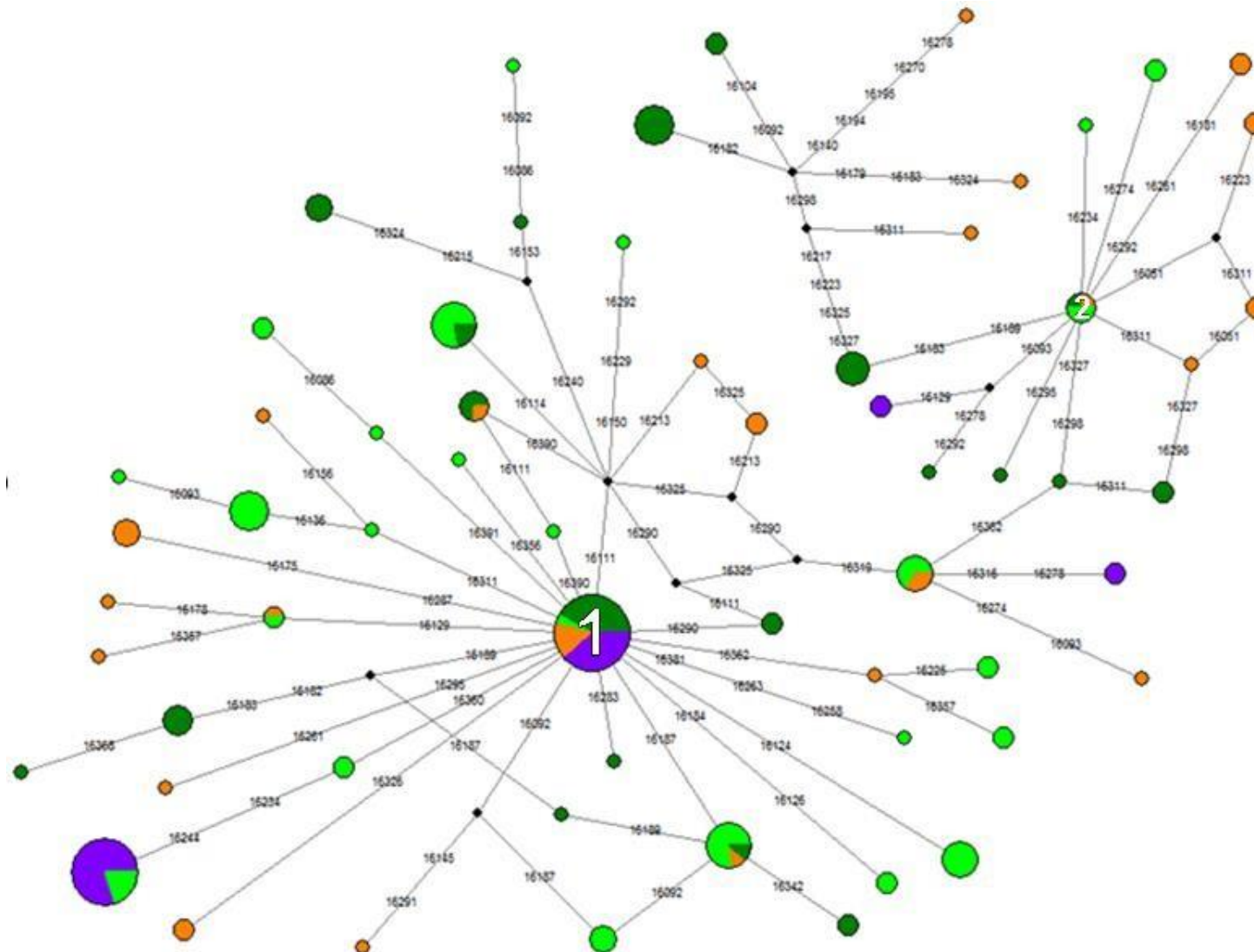


Figura 4. Red del haplogrupo A que incluye 4 poblaciones indígenas contemporáneas de la familia lingüística Maya, con 142 individuos en total. El nodo principal incluye los sitios nucleotídicos 16,111, 16,223, 16,290, 16,319 y 16,362. El tamaño del círculo es proporcional a la frecuencia de cada haplotipo en las poblaciones estudiadas. Los círculos pequeños en negro representan haplotipos hipotéticos. Maya Quintana Roo = verde claro (Presente estudio), Maya Campeche = verde oscuro (Sandoval *et al.*, 2009), Lacandona Chiapas = morado (Pérez Martínez 2013), Purépecha Michoacán = naranja (Sandoval *et al.*, 2009).

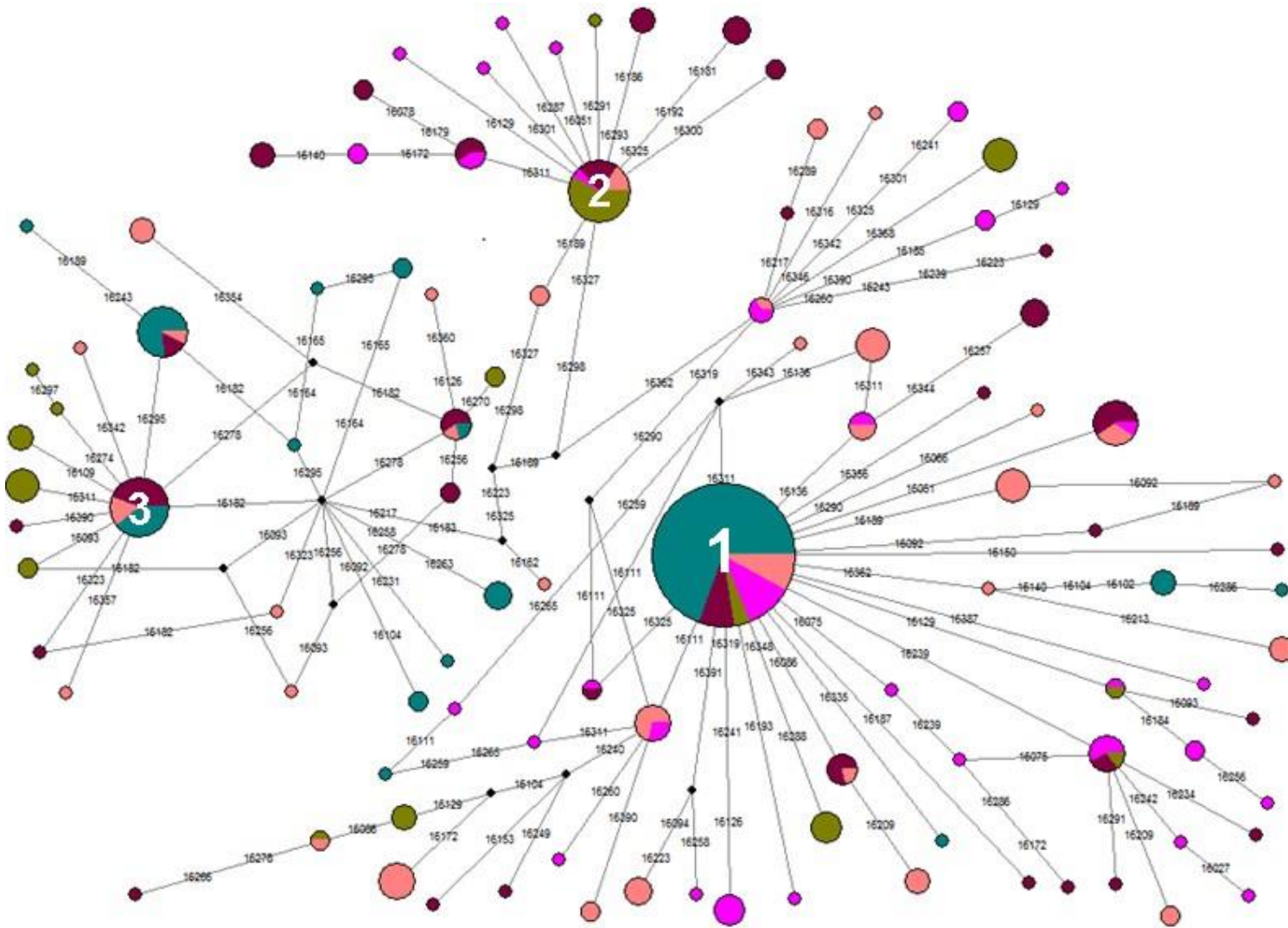


Figura 5. Red del haplogrupo A que incluye que incluye 5 poblaciones indígenas contemporáneas del Estado de Oaxaca que pertenecen a la familia lingüística Oto-mangue. El nodo principal incluye los sitios nucleotídicos 16,111, 16,223, 16,290, 16,319 y 16,362. El tamaño del círculo es proporcional a la frecuencia de cada haplotipo de las poblaciones estudiadas. Los círculos pequeños en negro representan haplotipos hipotéticos. Mixteca Oaxaca = rosa mexicano (Presente estudio), Mixteca Oaxaca = rosa (Kemp *et al.*, 2010, Sandoval *et al.*, 2009), Mixe Oaxaca = verde olivo (Este estudio, Kemp *et al.*, 2010), Triqui Oaxaca = verde azulado (Sandoval *et al.*, 2009), Zapoteca Oaxaca = guinda (Kemp *et al.*, 2010).

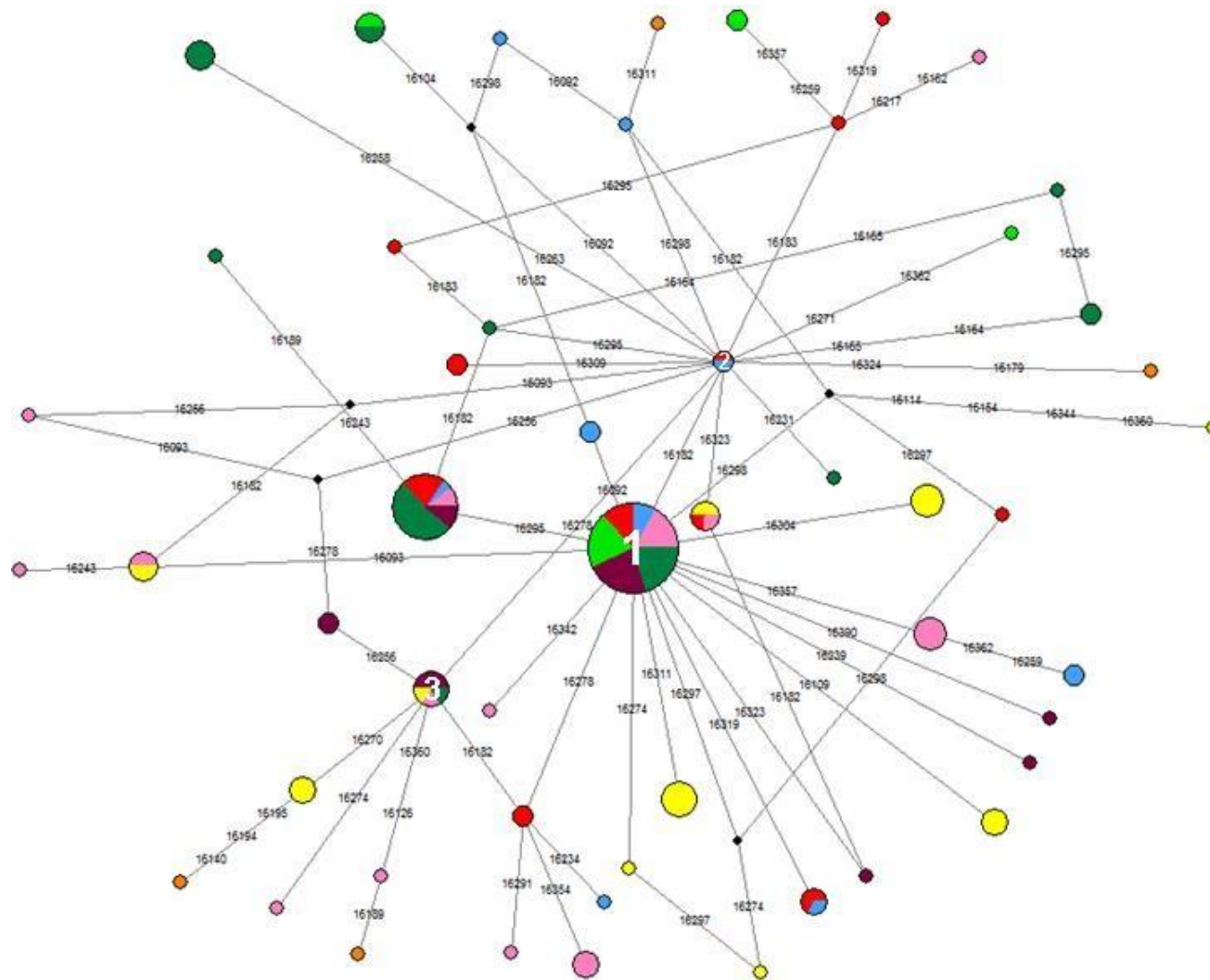


Figura 6. Red del haplogrupo B de 8 poblaciones indígenas modernas de México que pertenecen a las familias lingüísticas Maya, Otomangue y Mixe-zoque. El nodo principal incluye los sitios nucleotídicos 16,183, 16,189 y 16,217. Los círculos pequeños en negro representan haplotipos hipotéticos. Maya Quintana Roo =Verde claro (Presente estudio), Mixe Oaxaca = amarillo (Presente estudio), Mixteca Oaxaca = rosa (Presente estudio), Mazahua Estado de México = azul (Pérez Martínez 2013), Otomí Estado de México e Hidalgo = rojo (Pérez Martínez 2013, Sandoval *et al.*, 2009), Purépecha Michoacán= naranja (Sandoval *et al.*, 2009), Triqui Oaxaca = verde oscuro (Sandoval *et al.*, 2009), Zapoteco Oaxaca = guinda (Kemp *et al.*, 2010).

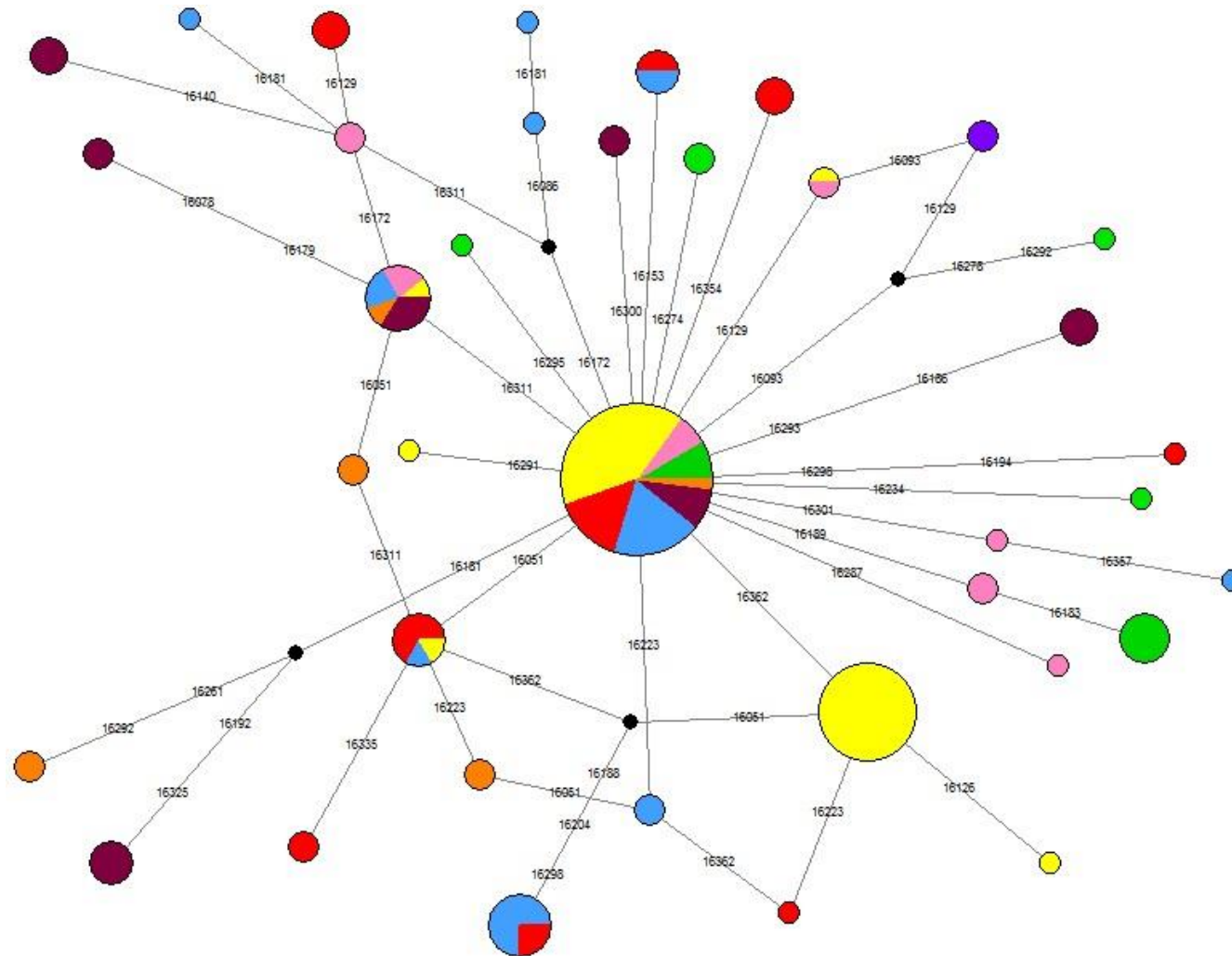


Figura 7. Red del haplogrupo C de 8 poblaciones indígenas modernas de México que pertenecen a las familias lingüísticas Maya, Otomangue y Mixe-zoque. El nodo principal incluye los sitios nucleotídicos 16,223, 16,298 y 16,325 y 16,327. Los círculos pequeños en negro representan haplotipos hipotéticos. Lacandona Chiapas= morado (Pérez Martínez 2013), Maya Quintana Roo = verde claro (Presente estudio), Mixe Oaxaca = amarillo (Presente estudio), Mixteca Oaxaca = rosa (Presente estudio), Mazahua Estado de México = azul (Pérez Martínez 2013), Otomí Estado de México e Hidalgo = rojo (Pérez Martínez 2013, Sandoval *et al.*, 2009), Purépecha Michoacán= naranja (Sandoval *et al.*, 2009), Zapoteca Oaxaca = guinda (Kemp *et al.*, 2010).

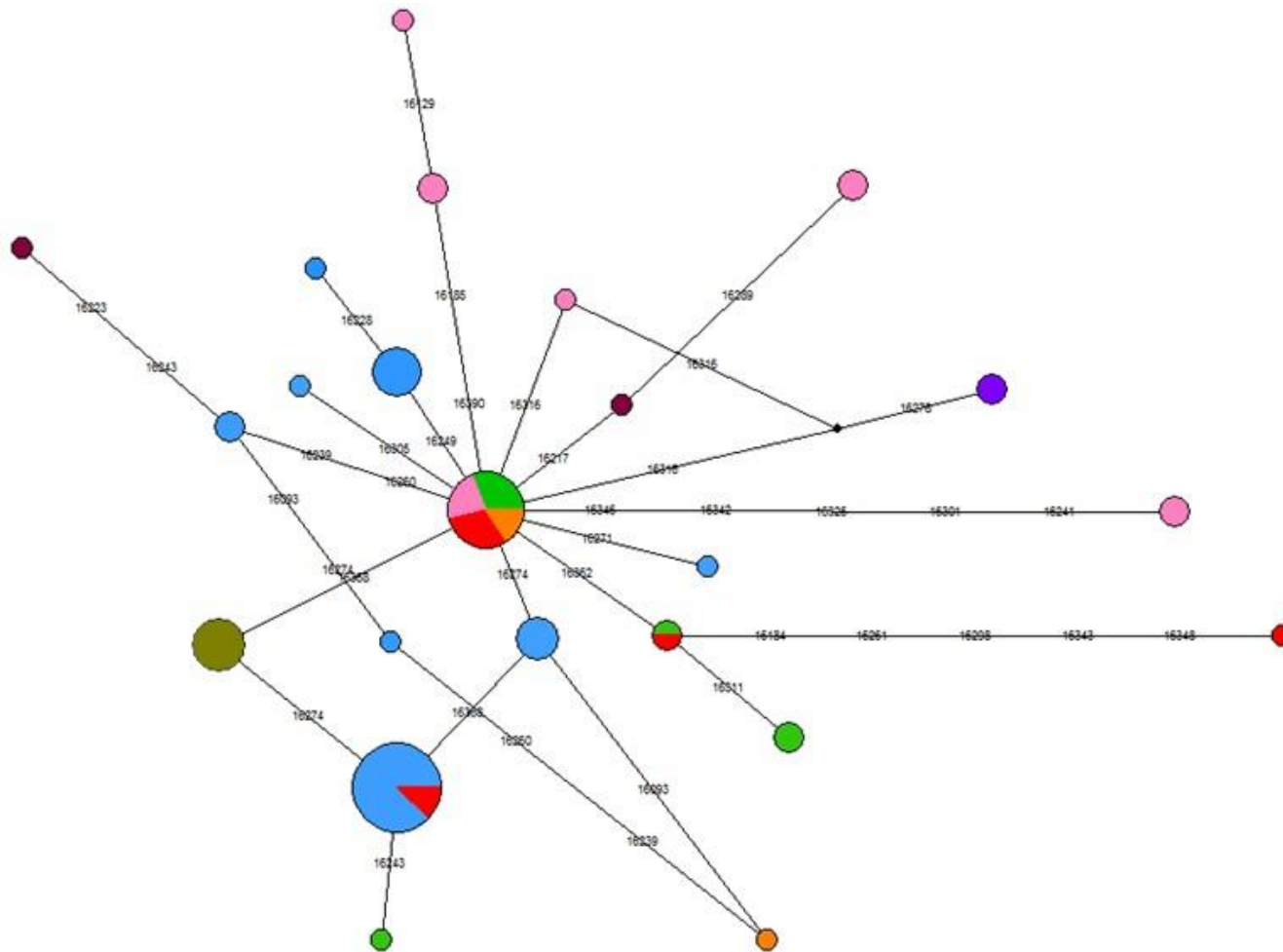


Figura 8. Red del haplogrupo D de 8 poblaciones indígenas modernas de México que pertenecen a las familias lingüísticas Maya, Otomangue y Mixe-zoque. El nodo principal incluye los sitios nucleotídicos 16,223, 16,325 y 16,362. Los círculos pequeños en negro representan haplotipos hipotéticos. Lacandona Chiapas = morado (Pérez Martínez 2013), Maya Quintana Roo = verde (Presente estudio), Mixe Oaxaca = verde olivo (Kemp *et al.*, 2010), Mixteca Oaxaca = rosa (Presente estudio), Mazahua Estado de México = azul (Pérez Martínez 2013), Otomí Estado de México e Hidalgo = rojo (Pérez Martínez 2013, Sandoval *et al.*, 2009), Purépecha =naranja (Sandoval *et al.*, 2009), Zapoteca =guinda (Kemp *et al.*, 2010).

Figura 9. Mapa de la ubicación geográfica de las poblaciones mayas estudiadas y su frecuencia de haplogrupos mitocondriales.

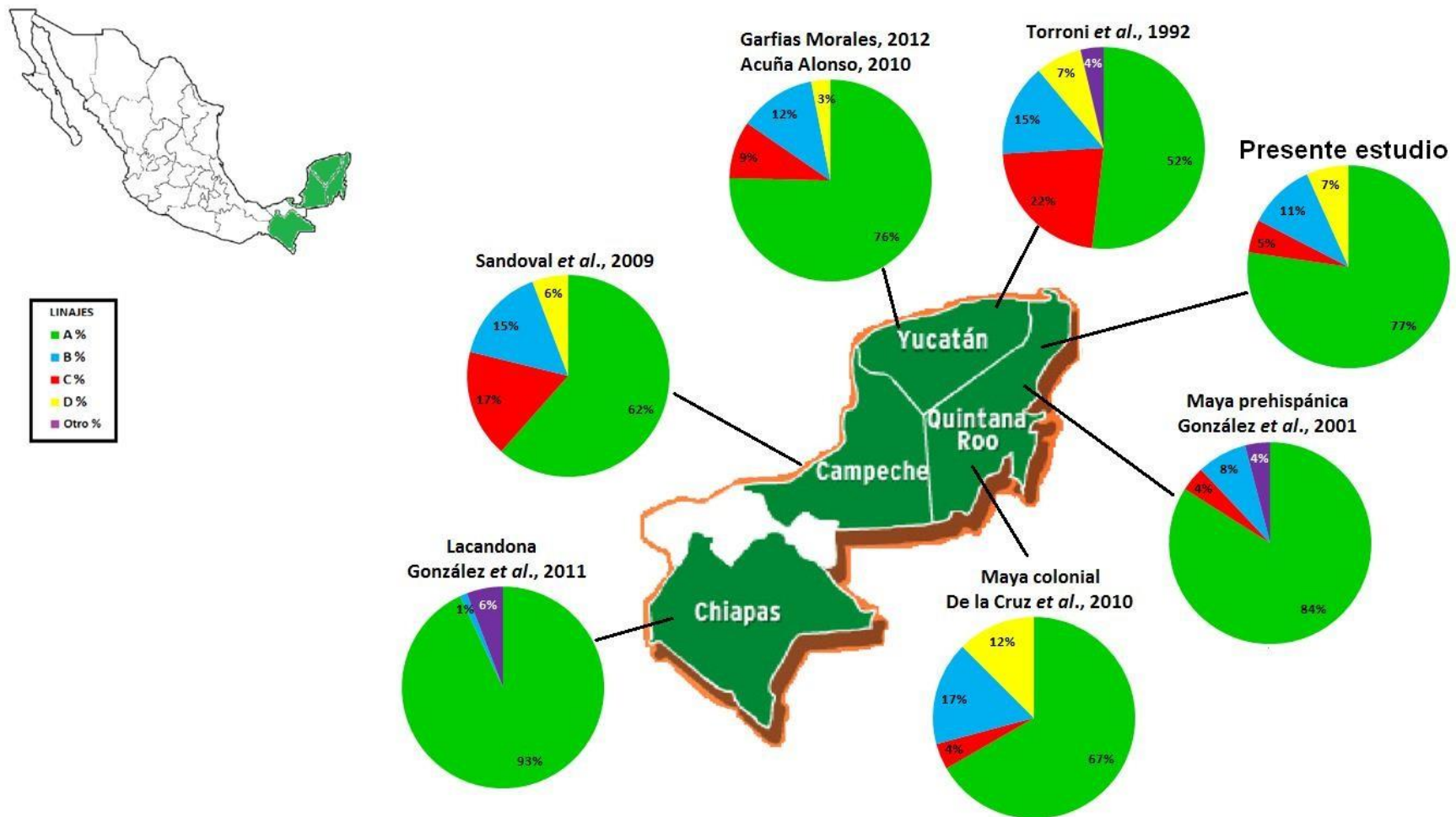


Figura 10. Localización geográfica de las poblaciones indígenas mixes y la frecuencia de haplogrupos fundadores del mtDNA.

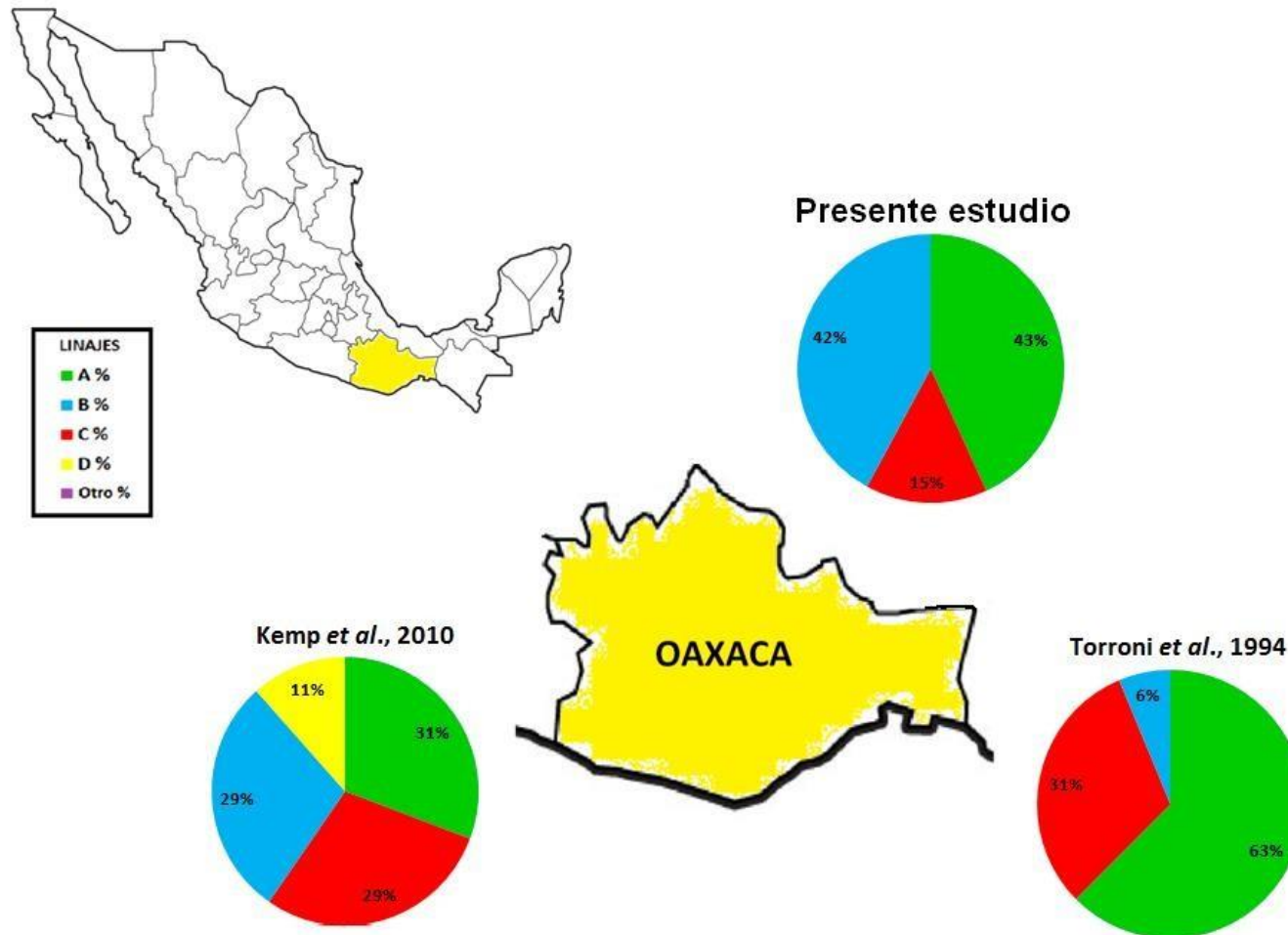


Figura 11. Ubicación geográfica de poblaciones mixtecas y representación gráfica de sus frecuencias de haplogrupos.

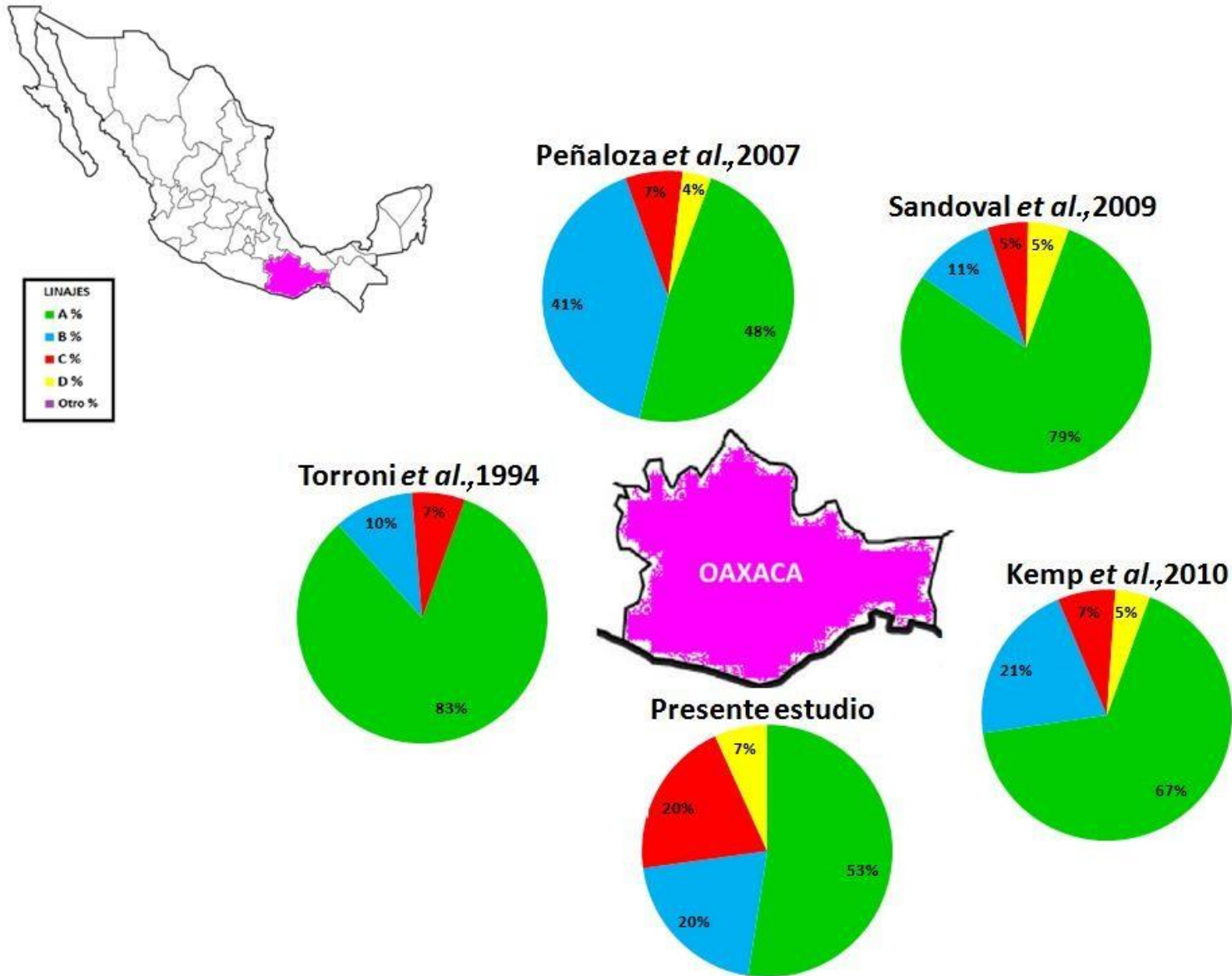
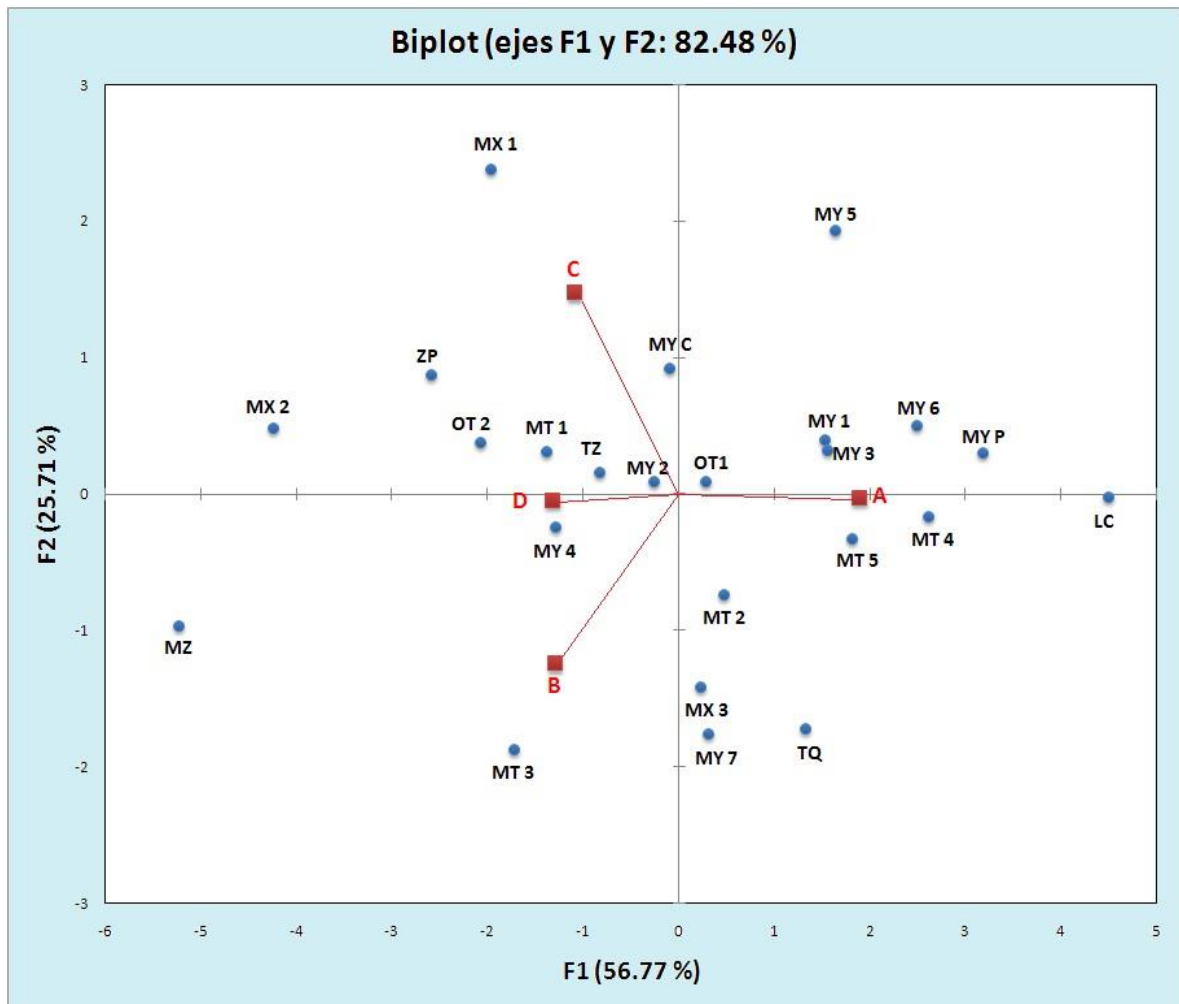


Figura 12. Gráfica de componentes principales de 24 poblaciones indígenas contemporáneas y antiguas.



En negritas, las poblaciones estudiadas en la presente tesis. Nomenclatura de las poblaciones en base a las Tablas 14, 15 y 16.

BIBLIOGRAFÍA

Acuña, Alonso A. P. (2010). Identificación de los haplogrupos mitocondriales en mayas contemporáneos de Yucatán. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.

Alphey, L. (1997). DNA sequencing: from experimental methods to bioinformatics. Bios Scientific Publishers Ltd., 206.

Anderson, S., Bankier, A. T., Barrell, B. G., De Bruijn, M. H. L., Coulson, A. R., Drouin, J. & Young, I. G. (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, Vol 290. 457-465.

Bailliet, G., Rothhammer, F., Carnese, F. R., Bravi, C. M., & Bianchi, N. O. (1994). Founder mitochondrial haplotypes in Amerindian populations. *American Journal of Human Genetics*, 55(1), 27.

Bandelt, H. J., Forster, P., Röhl, A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16(1), 37-48.

Bandelt, H. J., Richards, M., & Macaulay, V. (2006). Human mitochondrial DNA and the evolution of *Homo sapiens*. *Springer Science & Business Media*, 18, 285.

Barrot, C., Sánchez, C., Ortega, M., Gonzalez-Martin, A., Brand-Casadevall, C., Gorostiza, A. & Gene, M. (2005). Characterisation of three Amerindian populations from Hidalgo State (Mexico) by 15 STR-PCR polymorphisms. *International Journal of Legal Medicine*, 119(2), 111-113.

Bendall, K. E., Macaulay, V. A., Baker, J. R. & Sykes, B. C. (1996). Heteroplasmic point mutations in the human mtDNA control region. *American Journal of Human Genetics*, 59(6), 1276-1287.

Bogenhagen, D. & Clayton, D. A. (1977). Mouse L cell mitochondrial DNA molecules are selected randomly for replication throughout the cell cycle. *Cell*, 11(4), 719-727.

Boles, T. C., Snow, C. C., & Stover, E. (1995). Forensic DNA testing on skeletal remains from mass graves: a pilot project in Guatemala. *Journal of Forensic Sciences*, 40(3), 349-355.

Bonatto, S. L., & Salzano, F. M. (1997). Diversity and age of the four major mtDNA haplogroups, and their implications for the peopling of the New World. *The American Journal of Human Genetics*, 61(6), 1413-1423.

Bonilla, C., Gutiérrez, G., Parra, E. J., Kline, C., & Shriver, M. D. (2005). Admixture analysis of a rural population of the state of Guerrero, Mexico. *American Journal of Physical Anthropology*, 128(4), 861-869.

Brown, M. D., Hosseini, S. H., Torroni, A., Bandelt, H. J., Allen, J. C., Schurr, T. G., ... & Wallace, D. C. (1998). mtDNA haplogroup X: an ancient link between Europe/Western Asia and North America?. *The American Journal of Human Genetics*, 63(6), 1852-1861.

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.

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.

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*, 15(1), 23- 28.

Campbell, L. R. & Mithun, M. (1979). *The Languages of Native America: A Historical and Comparative Assessment*. Austin, TX: University of Texas Press.

Campbell, Lyle Richard. 2007. Retos en la clasificación de las lenguas indígenas de México. Páginas 13-68 en Cristina Buenrostro, Samuel Herrera Castro, Yolanda Lastra, Fernando Nava, Juan José Rendón, Otto Schumann, Leopoldo Valiñas y María Haydeé Vargas Monroy (editores), *Clasificación de las lenguas indígenas de México. Memorias del III Coloquio Internacional de Lingüística* Mauricio Swadesh. IIA-UNAM, México.

Cann, R. L., Stoneking, M. y Wilson, A. C. (1987). Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature*, 325(6099), 31-36.

Cavalli-Sforza, L. L., Menozzi, P., & Piazza, A. (1994). *The history and geography of human genes*. Princeton University Press.

Cavalli-Sforza, L. L., & Vivanco, J. (1997). *Genes, pueblos y lenguas*. Crítica. 235.

Ceda-Flores, R. M., Arriaga-Ríos, G., Muñoz-Campos, J., Bautista-Peña, V. A., Angeles, R. A. M., González-Quiróga, G., ... & Garza-Chapa, R. (1989). Frequency of color blindness and glucose-6-phosphate dehydrogenase enzyme deficiency in non- industrialized populations in the state of Nuevo Leon, Mexico. *Archivos de Investigación Médica*, 21(3), 229-234.

Clark-Alfaro, V. (2008). Mixtecos en frontera. Pueblos indígenas del México contemporáneo. México. Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas. 55.

Comas, D., Pääbo, S. & Bertranpetit, J. (1995). Heteroplasmy in the control region of human mitochondrial DNA. *Genome Research*, 5(1), 89-90.

Comas, J. (1996). Características físicas de la familia lingüística Maya. En: Cuadernos del Instituto de Investigaciones Históricas. UNAM. 20:5-95.

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. Páginas 103-109 en Concepción Jiménez, José; Serrano Sánchez, Carlos; González González, Arturo; Aguilar, Felisa J. (editores), III Simposio Internacional El Hombre Temprano en América. IIA-UNAM, México.

Dunn, L. C. & Dobzhansky, T. H. (1949). Herencia, raza y sociedad. Fondo de Cultura Económica. México. 165.

Eguiarte, L., Souza, V. & Aguirre, X. (2007). Ecología molecular. Instituto Nacional de Ecología.

Eshleman, J. A., Malhi, R. S., & Smith, D. G. (2003). Mitochondrial DNA studies of Native Americans: conceptions and misconceptions of the population prehistory of the Americas. *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews*, 12(1), 7-18.

Excoffier, L., Hofer, T., Foll, M. (2009). Detecting loci under selection in a hierarchically structured population. *Heredity*, 103(4), 285-298.

Fagundes, N. J., Kanitz, R., & Bonatto, S. L. (2008). A reevaluation of the Native American mtDNA genome diversity and its bearing on the models of early colonization of Beringia. *PLoS One*, 3(9), 1-5.

Fagundes, N. J., Kanitz, R., Eckert, R., Valls, A. C., Bogó, M. R., Salzano, F. M. & Bonatto, S. L. (2008). Mitochondrial population genomics supports a single pre-Clovis origin with a coastal route for the peopling of the Americas. *The American Journal of Human Genetics*, 82(3), 583-592.

Foster, M. K. (1996). Language and the culture history of North America. *Handbook of North American Indians*, 17, 64-110.

Garfias Morales, 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., 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. Páginas 59-74 en José Concepción Jiménez López, Carlos Serrano Sánchez; Arturo González González; Felisa J. Aguilar Arellano (editores). IV Simposio Internacional El Hombre Temprano en América. IIA-UNAM, 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.

Green, L. D., Derr, J. N., & Knight, A. (2000). mtDNA affinities of the peoples of North-Central Mexico. *The American Journal of Human Genetics*, 66(3), 989-998.

Greenberg, J. H., Turner, C. G., Zegura, S. L., Campbell, L., Fox, J. A., Laughlin, W. S., & Woolford, E. (1986). The settlement of the Americas: A comparison of the linguistic, dental, and genetic evidence. *Current Anthropology*, 477-497.

Hill, J. H. (2001). Proto-Uto-Aztecan: A Community of Cultivators in Central Mexico?. *American Anthropologist*, 103(4), 913-934.

Horai, S., Kondo R., Nakagawa-Hattori Y, Hayashi S, Sonoda S, Tajima K. 1993. Peopling of the Americas founded by four major lineages of mitochondrial DNA. *Mol Biol Evol* 10, 23– 47.

Jurmain, R., Kilgore, L., Trevathan, W., & Ciochon, R. (2011). Introduction to Physical Anthropology. Cengage Learning. 624.

Justice, A. E. (2011). Genetic Structure of the Maya in Guatemala: Perspectives on the Population History of the Maya using mtDNA and Y-chromosome Markers. University of Kansas.174.

Kemp, B. M., González-Oliver, A., Malhi, R. S., Monroe, C., Schroeder, K. B., McDonough, J., Rhett, G., Resendéz, A., Peñalosa-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.

Kitchen, A., Miyamoto, M. M., & Mulligan, C. J. (2008). A three-stage colonization model for the peopling of the Americas. *PLoS One*, 3(2), 1-7.

Laland, K. N., & Brown, G. R. (2002). Sense and nonsense. *Evolutionary Perspectives on Human Behaviour*. Oxford University Press. 270.

Margulis, L. (2004). Serial endosymbiotic theory (SET) and composite individuality. *Microbiology Today*, 31(4), 172-175.

Martin, D. W., Mayes, P. A., Rodwell, V., & Granner, D. (1996). *Bioquímica de Harper*. 14ava edición. Editorial El Manual Moderno, México.

Mastana, S. (2007). *Molecular Anthropology: Population and Forensic Genetic Applications*. 373-383.

Melton, P. E., Briceno, I., Gomez, A., Devor, E. J., Bernal, J. E., & Crawford, M. H. (2007). Biological relationship between Central and South American Chibchan speaking populations: evidence from mtDNA. *American Journal of Physical Anthropology*, 133(1), 753-770.

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.

Messmacher, M., Genovés, S., Villanueva, M., Lisker, R., Lastra, Y., Navarrete, C., Villa-Rojas, A., Cámara-Barbachano, F., Nolasco, M., Melesio, M., Galindo-Blanco, A., Gálvez, E., Maldonado, C. (1986). *Dinámica Maya: Los Refugiados Guatemaltecos*. Fondo de Cultura Económica. México. 358.

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.

Morley, S. G. (1947). *La Civilización Maya*. Fondo de Cultura Económica. México. 575.

Nichols, J. (1997). Modeling ancient population structures and movement in linguistics. *Annual Review of Anthropology* 26: 359-384.

Nunnally, B. K. (Ed.). (2005). *Analytical techniques in DNA sequencing*. CRC Press. 55.

Osellame, L. D., Blacker, T. S., & Duchon, M. R. (2012). Cellular and molecular mechanisms of mitochondrial function. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 26(6), 711-723.

Pääbo, S. (1993). *Molecular applications in biological anthropology*. Cambridge University Press, 272.

Pakendorf, B., & Stoneking, M. (2005). Mitochondrial DNA and human evolution. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genetics*, 6, 165-183.

Pasternak, J. J. (2005). *An introduction to human molecular genetics: mechanisms of inherited diseases*. John Wiley & Sons. 512.

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.

Perego, U. A., Achilli, A., Angerhofer, N., Accetturo, M., Pala, M., Olivieri, A., & Torroni, A. (2009). Distinctive Paleo-Indian migration routes from Beringia marked by two rare mtDNA haplogroups. *Current Biology*, 19(1), 1-8.

Pérez-Martínez, M. (2013). Relaciones genéticas determinadas con DNA mitocondrial en poblaciones mesoamericanas contemporáneas mazahua, otomí, lacandona, y maya antigua. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 101.

Pinker, S. (1994). *The language instinct: The new science of language and mind*. Penguin UK. 576.

Rangel-Villalobos, H., Jaloma-Cruz, A. R., Sandoval-Ramirez, L., Velarde-Félix, J. S., Gallegos-Arreola, M. P., & Figuera, L. E. (2001). Y-chromosome haplotypes for six short tandem repeats (STRs) in a Mexican population. *Archives of medical research*, 32(3), 232-237.

Piñero, D., et al., 2008. La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México, en *Capital natural de México*, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México. 415-435.

Rangel-Villalobos, H., Rivas, F., Sandoval, L., Ibarra, B., Garcia-Carvajal, Z. Y., Cantu, J. M., & Figuera, L. E. (2000). Genetic variation among four Mexican populations (Huichol, Purepecha, Tarahumara, and Mestizo) revealed by two VNTRs and four STRs. *Human Biology*, 983-995.

Rangel-Villalobos, H., Rivas, F., Torres-Rodriguez, M., Jaloma-Cruz, A. R., Gallegos- Arreola, M. P., López-Satow, J., ... & Figuera, L. E. (1999). Allele frequency distributions of six Amp-FLPS (D1S80, APO-B, VWA, TH01, CSF1PO and HPRTB) in a Mexican population. *Forensic Science International*, 105 (2), 125-129.

Reich, D., Patterson, N., Campbell, D., Tandon, A., Mazieres, S., Ray, N., ... & Barrantes, R. (2012). Reconstructing native American population history. *Nature*, 488 (7411), 370-374.

Rodríguez-Sánchez, I. P., & Barrera-Saldaña, H. A. (2004). La reacción en cadena de la polimerasa a dos décadas de su invención. *Ciencia UANL*, 7(3).

Romero García, 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.

Ruz, M. H. (2006). Mayas. Pueblos Indígenas del México Contemporáneo. Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas. México. 91.

Sambrook, J. y Russell, D. W. (2001). Molecular Cloning. A Laboratory Manual. 3a ed, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. 2344.

Samuels, D. C., Li, C., Li, B., Song, Z., Torstenson, E., Clay, H. B., ... & Williams, S. M. (2013). Recurrent tissue-specific mtDNA mutations are common in humans. PLoS Genetics, 9(11), 1-12.

Sánchez Solís, 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 compare 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, I. E. (2011). Mitochondria. John Wiley & Sons. 492.

Scheffler, L. (1992). Los indígenas mexicanos. México: Panorama Editorial. 250.

Schurr, T. G., Ballinger, S. W., Gan, Y. Y., Hodge, J. A., Merriwether, D. A., Lawrence, D. N., ... & 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.

Shields, G. F., Schmiechen, A. M., Frazier, B. L., Redd, A., Voevoda, M. I., Reed, J. K., & Ward, R. H. (1993). mtDNA sequences suggest a recent evolutionary divergence for Beringian and northern North American populations. American Journal of Human Genetics, 53(3), 549.

Silva, W. A., Bonatto, S. L., Holanda, A. J., Ribeiro-dos-Santos, A. K., Paixao, B. M., Goldman, G. H., ... & Zago, M. A. (2002). Mitochondrial genome diversity of Native Americans supports a single early entry of founder populations into America. The American Journal of Human Genetics, 71(1), 187-192.

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. G., 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, 557- 572.

Stone, A. C., & Stoneking, M. (1998). mtDNA analysis of a prehistoric Oneota population: implications for the peopling of the New World. *The American Journal of Human Genetics*, 62(5), 1153-1170.

Stoneking, M. (1997). The Human Genome Project and Molecular Anthropology. *Genome Research*, 7(2), 87-91.

Tamm, E., Kivisild, T., Reidla, M., Metspalu, M., Smith, D. G., Mulligan, C. J., & Malhi, R. S. (2007). Beringian standstill and spread of Native American founders. *PLoS One*, 2(9), 1-6.

Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., & Higgins, D. G. (1997). The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25(24), 4876-4882.

Torres Cisneros, G. (2004). *Mixes. Pueblos indígenas del México contemporáneo*. Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas. 47.

Torrioni, A., Neel, J. V., Barrantes, R., Schurr, T. G., & Wallace, D. C. (1994). Mitochondrial DNA "clock" for the Amerinds and its implications for timing their entry into North America. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(3), 1158-1162.

Torrioni, A., Schurr, T. G., Cabell, M. F., Brown, M. D., Neel, J. V., Larsen, 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.

Torrioni, A., Schurr, T. G., Yang, C. C., Szathmary, E. J., Williams, R. C., Schanfield, M. S., ... & 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.

Torrioni, A., Sukernik, R. I., Schurr, T. G., Starikorskaya, Y. B., Cabell, M. F., Crawford, M. H., ... & Wallace, D. C. (1993). mtDNA variation of aboriginal Siberians reveals distinct genetic affinities with Native Americans. *American Journal of Human Genetics*, 53(3), 591.

Ward, R. H., Frazier, B. L., Dew-Jager, K., & Pääbo, S. (1991). Extensive mitochondrial diversity within a single Amerindian tribe. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(19), 8720-8724.

Weiss DA, Smith DG. (1991). Evidence for a recent mtDNA bottleneck among Native Americans from the Southeastern United States. *American Journal of Physical Anthropology*.

Wilder, J. A., Kingan, S. B., Mobasher, Z., Pilkington, M. M., & Hammer, M. F. (2004). Global patterns of human mitochondrial DNA and Y-chromosome structure are not influenced by higher migration rates of females versus males. *Nature Genetics*, 36 (10), 1122-1125.

Zsurka, G., Hampel, K. G., Kudina, T., Kornblum, C., Kraytsberg, Y., Elger, C. E., ... & Kunz, W. S. (2007). Inheritance of mitochondrial DNA recombinants in double-heteroplasmic families: potential implications for phylogenetic analysis. *The American Journal of Human Genetics*, 80(2), 298-305.