



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**ANÁLISIS DEL DNA MITOCONDRIAL EN MAYAS CONTEMPORÁNEOS Y
ANTIGUOS DE XCARET, QUINTANA ROO**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BRAVO LÓPEZ MIRIAM JETZABEL

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. ANGÉLICA GONZÁLEZ OLIVER
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. ROSENDA I. PEÑALOZA ESPINOSA
FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

DR. LUIS MEDRANO GONZÁLEZ
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

MÉXICO, D.F., ENERO, 2016



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.

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

OFICIO FCIE/DEP/003/16

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 **28 de septiembre 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) **BRAVO LÓPEZ MIRIAM JETZABEL** con número de cuenta **514012410** con la tesis titulada **"ANÁLISIS DEL DNA MITOCONDRIAL EN MAYAS CONTEMPORÁNEOS Y ANTIGUOS DE XCARET, QUINTANA ROO"**, realizada bajo la dirección del (la) **DRA. ANGÉLICA GONZÁLEZ OLIVER**:

Presidente: DR. JULIO GRANADOS ARRIOLA
Vocal: DR. ALLAN ORTEGA MUÑOZ
Secretario: DRA. ROSENDA ISABEL PEÑALOZA ESPINOSA
Suplente: DR. JORGE ALFREDO GÓMEZ VALDÉS
Suplente: DR. SAMUEL CANIZALES QUINTEROS

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 6 de enero de 2016



DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



MCAA/MJFM/ASR/grf*

AGRADECIMIENTOS

Agradezco el apoyo que permitió la realización de esta tesis:

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.

A los apoyos económicos proporcionados:

Beca CONACyT

Apoyo CONACyT No. 101791 y PAPIIT, DGAPA, UNAM. No. IN306014-2.

A los miembros del Comité Tutor:

Dra. Angélica González Oliver

Dra. Rosenda I. Peñaloza Espinosa

Dr. Luis Medrano González

AGRADECIMIENTOS ACÁDEMICOS

A la Dra. Angélica González Oliver y al Dr. Alfonso Torre Blanco, por brindarme la oportunidad de integrarme al grupo de investigación de Antropología Molecular.

Mi sincera gratitud a la directora de este trabajo, Dra. Angélica González Oliver, sin su tutoría, enseñanzas, paciencia e interés, ésta tesis no habría llegado a concluirse.

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

Al Biólogo Ernesto Garfias Morales por proporcionarme asesorías en los procedimientos experimentales así como en los análisis estadísticos y software bioinformáticos.

A la M. en C. María Isabel De la Cruz Laina por sus valiosas sugerencias en la práctica experimental con el DNA antiguo.

A la Dra. Rosenda I. Peñaloza Espinoza y al Dr. Luis Medrano por aceptar ser miembros de mi comité tutorial, por sus comentarios y sugerencias a lo largo de la realización de este trabajo.

Al Dr. Allan Ortega Muñoz, por sus valiosos comentarios y sugerencias bibliográficas sobre el área maya. También agradezco al Dr. Ortega y a la M. en C. Mirna Ethel Canul Montañez, por la colecta de muestras biológicas de individuos mayas actuales de Quintana Roo.

A la Dra. Francisca Zalaquett Rock, por brindarme su asesoría sobre la cultura maya.

A la Dra. Rosenda Peñaloza, al Dr. Julio Granados Arriola, Allan Ortega Muñoz, Jorge Gómez Valdés y Samuel Canizales Quinteros, por aceptar ser miembros del jurado por su disponibilidad y apoyo en la finalización de este trabajo.

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

A la M. en C. Laura M. Márquez Valdelamar del Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Biología de la UNAM por la secuenciación de las muestras mayas antiguas.

A las Dra. Lourdes Márquez Morfín de la Escuela Nacional de Antropología e Historia del Instituto Nacional de Antropología e Historia por los restos óseos de mayas prehispánicos de Xcaret.

A todas las personas que viven en las comunidades indígenas mayas de Quintana Roo y Guatemala, sin su participación este trabajo no hubiera sido posible.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Primero y antes que nada, dar gracias a Dios, por estar conmigo en cada paso que doy y permitirme llegar a este momento.

A mi familia, que sin ellos simplemente esto no hubiera sido posible. A mis padres Luz y Gustavo, por apoyarme de manera incondicional, a mi hermana Eugenia por enseñarme muchas cosas.

A Gerardo, por su amor y apoyo incondicional.

ABREVIACIONES

aDNA	DNA antiguo
AFLP	Polimorfismos de la longitud de fragmentos amplificados
D-loop	Asa de desplazamiento
dNTP	Deoxinucleótido
RFLP	Polimorfismos de la longitud de los fragmentos de restricción
HLA	Antígenos Leucocitarios Humanos
mtDNA	DNA mitocondrial
NGS	Secuenciación de siguiente generación
PCR	Reacción de Cadena de la Polimerasa
qPCR	PCR cuantitativa
RAPD	DNA polimórfico amplificado al azar
RHVI	Región Hipervariable I
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1. ANTECEDENTES	3
1.1. Los Mayas	3
1.1.1. Cronología de la Cultura Maya.	3
1.1.1.1. Preclásico (2500-300 d.C.)	4
1.1.1.2. Clásico (300-1200 d.C.)	6
1.1.1.6. Posclásico (1200-1519 d.C.)	7
1.1.1.7. Época colonial.	9
1.1.2. Los Mayas en la actualidad.	10
1.1.3. La costa oriental de Quintana Roo.	11
1.1.3.1. Sitio arqueológico de Xcaret, Quintana Roo	11
1.1.3.2. Aspectos históricos de Xcaret, Quintana Roo.	11
1.1.3.3. El grupo B, conjunto residencial.	12
1.1.4. Diversidad Étnica en Guatemala.	15
1.1.4.1. Los itzáes	15
1.5. Antecedentes biológicos de las poblaciones mayas antiguas.	17
1.6. Antecedentes biológicos de las poblaciones mayas actuales.	18
1.7. Antropología Molecular: pasado y presente.	19
1.8. Genoma mitocondrial humano.	20
1.8.1. Organización del DNA mitocondrial	21
1.8.2. Análisis del DNA mitocondrial en estudios poblacionales.	24
1.9. Características del DNA antiguo.	26
1.9.1. Retrospectiva del Análisis de DNA antiguo.	26
1.9.2. Propiedades del DNA antiguo.	27
1.9.3. Inestabilidad post-mortem del DNA.	27
1.9.4. Contaminación de DNA.	29
1.9.5. Criterios de Autenticidad	31
2. OBJETIVOS	33
2.1. Objetivo general	33
2.2. Objetivos particulares.	33
3. MATERIALES Y MÉTODOS	34
3.1. Análisis de DNA antiguo.	34
3.1.1. Selección de las muestras	34
3.1.2. Limpieza de las muestras.	34
3.1.3. Control de contaminación.	35
3.1.4. Extracción de DNA antiguo	36
3.1.5. Tipificación de los Haplogrupos del mtDNA.	37
3.1.6. Análisis electroforético en geles de poliacrilamida.	37
3.1.7. Análisis de restricción.	38
3.1.8. Amplificación de la <i>HVRI</i> del mtDNA mediante PCR.	38
3.1.9. Purificación del producto del PCR de la amplificación de la <i>HVRI</i>	39
3.1.10. Reacción de Secuenciación.	40
3.2. Análisis de DNA contemporáneo.	40
3.2.1. Colecta de muestras biológicas	40

3.2.2. Extracción de DNA.	41
3.2.3. Tipificación de los haplogrupos del mtDNA por PCR.	41
3.2.3. Amplificación de la región hipervariable I del mtDNA mediante PCR.	41
3.2.4. Análisis electroforético y reacción de secuenciación de la <i>HVRI</i>	42
3.3. Análisis estadístico de haplogrupos mitocondriales.	42
3.3.1. Prueba estadística Ji Cuadrada (X^2).	42
3.3.2. Análisis de Componentes Principales (ACP).	43
3.4. Análisis de haplotipos de la <i>HVRI</i> del mtDNA.	43
3.4.1. Confirmación de la tipificación de los haplogrupos del mtDNA.	43
3.4.2. Alineamiento múltiple.	44
3.4.3 Análisis estadístico de los haplotipos mitocondriales.	44
4.0. RESULTADOS.	47
4.1. Frecuencias porcentuales de los haplogrupos del mtDNA en poblaciones actuales.	47
4.2. Frecuencias porcentuales de los haplogrupos del mtDNA en la población antigua.	49
4.3. Análisis de haplotipos mitocondriales de la <i>HVRI</i> en poblaciones antiguas y actuales.	50
4.4. Diversidad genética de los haplotipos de cada haplogrupo mitocondrial.	53
5.0. DISCUSIÓN.	55
5.1. Distribución de frecuencias de haplogrupos mitocondriales en poblaciones pertenecientes a la familia lingüística mayence.	55
5.1.1. Distribución de frecuencias de haplogrupos mitocondriales en poblaciones mayas de Quintana Roo.	59
5.2. Distribución de frecuencias de haplogrupos mitocondriales en las poblaciones mayas de Guatemala.	63
5.3. Análisis intrapoblacional de las poblaciones estudiadas.	66
5.4. Diversidad molecular de cada uno de los haplogrupos mitocondriales en base a los haplotipos.	67
5.5. Variabilidad genética intrapoblacional entre siete poblaciones mayas.	68
4.6. Estructura genética en poblaciones mayas.	75
5.7. Componente genético “no nativo” en poblaciones mayas.	77
6.0 CONCLUSIONES.	79
7.0. BIBLIOGRAFÍA.	81
8.0 APÉNDICE.	95

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de la región maya.....	5
Figura 2. Rutas de comerciales durante el periodo Posclásico	8
Figura 3. Zona arqueológica de Xcaret, Quintana Roo	14
Figura 4. Plano arquitectónico del Grupo B, perteneciente al sitio de Xcaret.....	14
Figura 5. Genoma mitocondrial humano	23
Figura 6. Modificación post-mortem del DNA en restos fósiles	30
Figura 7. Conjunto de <i>primers</i> empleados en la amplificación de HVRI del mtDNA en restos antiguos	39
Figura 8. Distribución geográfica de la frecuencia de haplogrupos mitocondriales en poblaciones mayas	57
Figura 9. Gráfico de Componentes Principales de poblaciones mayas antiguas y contemporáneas, en base a la frecuencia de haplogrupos mitocondriales.....	65
Figura 10. Gráfico de Componentes Principales de poblaciones mayas antiguas y contemporáneas, en base a la distancia génica F_{ST} de Tajima y Nei	69

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Frecuencias de los haplogrupos mitocondriales en los individuos mayas analizados en esta tesis	47
Tabla 2. Frecuencias de los haplogrupos mitocondriales en Individuos mayas de Quintana Roo	48
Tabla 3. Valores de ji cuadrada y de probabilidad de las tres localidades de Quintana Roo	49
Tabla 4. Identificación de los haplogrupos mitocondriales en individuos mayas prehispánicos	50
Tabla 5. Número de repeticiones realizadas para la secuenciación de la <i>HVRI</i> en cada individuo prehispánico	51
Tabla 6. Número de haplotipos en las poblaciones mayas	52
Tabla 7. Valores de diversidad genética en las poblaciones mayas	53
Tabla 8. Parámetros moleculares por cada haplogrupo mitocondrial en las poblaciones mayas	54
Tabla 9. Distribución de la frecuencia de haplogrupos mitocondriales en poblaciones mayas	56
Tabla. 10. Valores de Ji cuadrada de poblaciones mayas de la península de Yucatán y Guatemala	61
Tabla 11. Valores de probabilidad de poblaciones mayas de la península de Yucatán y Guatemala	62
Tabla 12. Valores propios y varianza explicada por los componentes resultantes del ACP en base a las frecuencias de los haplogrupos del mtDNA	66
Tabla 13. Valores propios y varianza explicada por los componentes resultantes del ACP en base a distancias F_{ST} de la <i>RHVI</i>	70
Tabla 14. Número de haplotipos en las poblaciones mayas	71
Tabla 15. Número de haplotipos compartidos entre las poblaciones mayas	72
Tabla 16. Índices de diversidad molecular correspondientes a la <i>RHVI</i> (16021-16400) en poblaciones mayas	73
Tabla 17. Matriz de distancias F_{ST} de Tajima y Nei (1984) de la <i>RHVI</i>	74

Tabla 18. AMOVA basado en distribución geográfica de poblaciones mayas en base a la <i>RHVI</i>	76
---	----

RESUMEN

En la presente tesis se determinaron las frecuencias de los cinco haplogrupos A2, B2, C1, D1 y X2 y los haplotipos de la región hipervariable I del DNA mitocondrial en 26 individuos mayas actuales y 15 individuos antiguos de Quintana Roo, México así como de 17 individuos itzáes actuales de Guatemala. En la tesis se incluyeron los datos del DNA mitocondrial de individuos mayas antiguos (González-Oliver et al., 2001) y actuales (Pineda Vázquez, 2015) de Quintana Roo, anteriormente estudiados para evaluar diferencias genéticas de las poblaciones. Los resultados obtenidos se compararon con los publicados para otras poblaciones mayas con la finalidad de identificar la estructura génica de las poblaciones de las tierras bajas y altas mayas. Las poblaciones antigua y actual del estado de Quintana Roo presentaron los principales haplogrupos mitocondriales A2, C1 y B2 de forma similar a otras poblaciones mayas de la península de Yucatán. Los itzáes se caracterizaron por el predominio del haplogrupo A2 igual que los lacandones. Identificamos 50 haplotipos de los cuales 43 (86%) fueron específicos de cada población y 7 (14%) se compartieron entre las poblaciones. La población actual de Quintana Roo aquí estudiada presentó la mayor diversidad genética, mientras que la itzá fue la menos diversa.

Los resultados indican una cercanía genética estrecha entre las poblaciones prehispánica y actual de Quintana Roo, lo que sugiere una continuidad génica por vía materna a lo largo del tiempo y apoya la hipótesis de que la conquista española tuvo un efecto pequeño en la variación del DNA mitocondrial. No se observaron diferencias en la estructura genética entre las poblaciones mayas de las tierras altas y bajas mayas, probablemente debido al flujo génico continuo derivado de la actividad comercial desde el periodo prehispánico.

ABSTRACT

In this thesis the Amerindian mitochondrial DNA haplogroups A2, B2, C1, D1 and X2a and the hypervariable region I haplotypes were identified in 26 contemporary Maya individuals and 15 Maya ancient individuals from Quintana Roo, Mexico and 17 Itzaes individuals from Guatemala. We included the mitochondrial DNA data from ancient (Gonzalez-Oliver *et al.*, 2001) and contemporary (Pineda Vázquez, 2015) Maya from Quintana Roo to evaluate the genetic differences between these populations. We compared our results with data from ancient and contemporary Mayan populations cited on the literature to understand the genetic structure of Mayan lowland and highland populations.

The ancient and contemporary Maya from Quintana Roo showed the main mitochondrial haplogroups A2, C1 y B2 similarly to other Mayan populations from Yucatan Peninsula. The Itza were characterized by a predominance of A2 haplogroup similar to Lacandon population. Fifty haplotype were identified, of which 21 (42%) were specific to a single population and 22 (44%) were found only in a single individual. The contemporary Maya population from Quintana Roo here studied showed the highest genetic diversity, meanwhile the Itza showed the lowest genetic diversity.

The results suggest a mitochondrial DNA genetic continuity between pre-Columbian and Contemporary Mayan and support the hypothesis that the Spanish conquest had a small effect in the mitochondrial genetic variation of these populations. We did not detect a different genetic structure between Mayan populations from the lowlands and the highlands of Mesoamerica, probably due to the continuous genetic flux derived of commercial activity of the region since pre-Columbian period.

1. INTRODUCCIÓN

Los avances tecnológicos de la biología molecular han permitido su utilización en los estudios de la variación genética del DNA mitocondrial (mtDNA) de las poblaciones humanas antiguas y actuales de Mesoamérica a nivel regional (Kemp *et al.*, 2010; Mizuno *et al.*, 2014; Mata-Míguez *et al.*, 2015; González Oliver *et al.*, 2013).

Los SNP's de la región codificante (halogrupos) y no codificante (haplotipos) del mtDNA se han transferido de una generación a la siguiente por lo que son útiles para medir y entender la diversidad génica de las poblaciones humanas ya que permiten rastrear su ancestría materna; su estudio en un área geográfica específica permite reconstruir la historia micro-evolutiva de la región (Gojobori *et al.*, 2015; Mizuno *et al.*, 2015; González-Martín *et al.*, 2015; Kemp *et al.*, 2010; Pakendorf y Stoneking, 2005).

El análisis de la variabilidad genética de las poblaciones indígenas antiguas y actuales permite identificar las relaciones genéticas entre ellas, así como su origen e historia evolutiva considerando los procesos de aislamiento geográfico, movimientos de las poblaciones o mezclas génicas (Álvarez-Sandoval *et al.*, 2015; De la Cruz *et al.*, 2008; González-Oliver *et al.*, 2001; Pérez Martínez, 2013). La información que en su conjunto aportan el registro histórico, la arqueología y la antropología física permite identificar las relaciones genéticas entre las poblaciones y reconstruir sus dinámicas intragrupalas en un periodo determinado de tiempo. Este tipo de estudios son aún escasos en la región cultural de Mesoamérica.

En México existen 6 011 202 personas que hablan alguna lengua indígena. El Instituto Nacional de Lenguas Indígenas (INALI) cataloga la diversidad lingüística de los pueblos indígenas en 11 familias lingüísticas y 68 agrupaciones lingüísticas, las cuales se subdividen en 364 variantes. Éstas involucran del mismo modo una variedad de costumbres, tradiciones, cosmogonía y autodeterminación.

La lengua maya es, numéricamente, la segunda más importante del país después del náhuatl. La población que habla maya asciende a 800 mil personas, las cuales se concentran casi en su totalidad en tres entidades federativas: Yucatán, Quintana Roo y Campeche (INEGI, 2005).

Es relevante el hecho de que en su desarrollo es posible visualizar una amplia multiplicidad de expresiones culturales, tanto en el periodo prehispánico como en el colonial y el contemporáneo, así como también por regiones geográficas, es decir en las tierras mayas altas y bajas. No es posible concebir a los mayas antiguos y contemporáneos como una población homogénea, ya que implicaría sobre-simplificar su diferenciado desarrollo cultural y biológico.

Desde el poblamiento americano las fuerzas evolutivas de selección natural, deriva génica, migración y efecto fundador, determinaron patrones de cambios genéticos en los polimorfismos del mtDNA. Posteriormente, la conquista española representó otro cambio genético-biológico, principalmente en las poblaciones indígenas derivado del mestizaje; la conquista también redujo el tamaño efectivo de las poblaciones indígenas, propició desplazamientos extensos y mezcla entre éstas así como aislamientos. Se desconocen aún muchos aspectos acerca de la manera en que las fuerzas evolutivas y el evento de la conquista han influido en la composición génica del mtDNA de las poblaciones indígenas de Mesoamérica; en especial es de nuestro interés entender lo referente al de las poblaciones mayas. Para ello, en la presente tesis se realizó el estudio de los haplogrupos y haplotipos del mtDNA de individuos antiguos y actuales habitantes del estado de Quintana Roo, México.

1. ANTECEDENTES.

1.1. Los Mayas

En 1950, el arqueólogo Alberto Ruz Lhuillier señaló que los antiguos mayas habían creado un arte universal, singular y plural; pero al mismo tiempo destacando su identidad propia. Es relevante el hecho de que en su desarrollo es posible visualizar una amplia multiplicidad de expresiones culturales, tanto en el periodo prehispánico, colonial y contemporáneo, así como también por regiones geográficas, es decir en las tierras altas y bajas de la península de Yucatán (Martínez, 2011).

Las poblaciones mayas se asentaron en un territorio de casi 400, 000 km² que ahora abarca los estados mexicanos de Quintana Roo, Yucatán, Campeche, partes orientales de Tabasco y Chiapas, así como los países centroamericanos de Guatemala, Belice y porciones occidentales del Salvador y Honduras (Sharer, 1994). La región de las tierras altas se subdivide en: tierras altas volcánicas en el Sur de Chiapas y Guatemala y las tierras altas metamórficas, al norte del eje volcánico. Por otra parte, la región de 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; Figura 1).

1.1.1. Cronología de la Cultura Maya.

Evidencia arqueológica, así como fechamiento de restos óseos y artefactos líticos de las regiones culturales de Mesoamérica y del Suroeste Americano indican la presencia humana en estas regiones por miles de años (Torróni *et al.*, 1992; Kemp *et al.*, 2005, 2010). El territorio que actualmente ocupan las poblaciones de habla maya ya estaba habitado hace 12,000 a 13,000 años, con base en el fechamiento con isótopos radiactivos realizado en el esqueleto de una mujer que tenía la edad de 15 o 16 años al momento de morir, que se recuperó del cenote Hoyo Negro en la península de Yucatán (Chatters *et al.*, 2014). Aunque es muy probable que no represente un ancestro de las poblaciones mayas prehispánicas de la península de Yucatán.

Tradicionalmente la arqueología ha dividido cronológicamente el desarrollo de la cultura maya en tres periodos; Preclásico, Clásico y Posclásico, con sus respectivas subdivisiones. La definición temporal correspondiente a cada periodo varía dependiendo de la fuente consultada, en este caso se basó en Robles, 1990 de acuerdo a la zona norte de la península de Yucatán.

1.1.1.1. Preclásico (2500-300 d.C.).

La mayoría de los asentamientos fechados en este periodo se ubican en las regiones costeras, se basaban en una economía mixta de cazadores-recolectores y usaban plantas domesticadas como el maíz y frijol. Hacia el año 1000 a.C., la agricultura se convierte en la práctica principal de obtención de alimentos.

Durante este periodo, dada la amplia calidad y cantidad de materiales depositados en las tumbas y los estilos arquitectónicos presentes, permiten suponer el surgimiento de importantes diferencias sociales entre los individuos y por lo tanto, una sociedad jerarquizada (Martínez y Vega, 2011).

El intercambio comercial se intensifica, especialmente el de objetos suntuarios (jade, pigmentos, obsidiana, entre otros). Asimismo, surgen un gran número de asentamientos de tamaño considerable; en el Norte de Guatemala y el Sur de Campeche se presentan la mayor concentración de éstos como son: Calakmul, El Mirador, Nakbé, Tikal, entre otros (Simon y Grube, 2008).

El fin del periodo Preclásico y el comienzo del Clásico han sido definidos con base en ciertos indicadores materiales y el registro arqueológico como son: la aparición de la arquitectura abovedada, surgimiento de monumentos con un sistema de escritura plenamente desarrollado y la elaboración de cerámica policroma. Sin embargo, en la actualidad se tiene conocimiento que estos elementos estuvieron presentes en algunos sitios de la región durante el Preclásico Tardío (Valverde *et al.*, 2010).



Figura 1. Mapa de la región maya. Consta de tres zonas geográficas principales; el área sur de tierras altas y una zona adjunta de la costa del Pacífico; el área central de tierras bajas y selva tropical húmeda, y la seca área norte. Tomado de Simon y Grube, 2008.

1.1.1.2. Clásico (300-1200 d.C.).

Comúnmente, la época Clásica de la historia maya se ha considerado como un periodo de florecimiento. Sin embargo, muchos de los desarrollos importantes del Clásico son el producto de cambios en el área, por lo menos desde el Preclásico Tardío; como fueron el surgimiento de un poder político centralizado, el desarrollo de centros urbanos, la presencia de textos escritos, entre otros. En el Clásico los elementos distintivos de la cultura maya alcanzan su mayor desarrollo como; los logros artísticos, arquitectónicos y científicos (Martínez y Vega, 2011).

Por otra parte, ocurrió un incremento demográfico importante, que ha sido asociado al mejoramiento de las condiciones climáticas, especialmente en su fase tardía (Ortega, 2013). La densidad poblacional para esta época pudo haber alcanzado los 150-200 personas por kilómetro cuadrado, que provocó una amplia jerarquización social de distintos asentamientos como fueron las aldeas, villas, pueblos y ciudades, con infraestructura urbana y con una amplia variedad de edificios de mampostería, templos, palacios, acrópolis, entre otros (Ortega, 2013; Valverde *et al.*, 2010).

La estratificación social se caracterizó por una clase pequeña en la que se concentró el poder y la riqueza y otra clase mayoritaria que trabajaba para obtener los alimentos que mantenían a la población de los grandes centros urbanos como Tikal, Palenque o Calakmul.

Hacia finales del siglo VIII d.C., tras un proceso de florecimiento de la sociedad maya, un gran número de centros importantes de las tierras bajas del Sur decae en población y en poder político. El conjunto de causas responsables pudieron ser disminución demográfica, sequías, guerras, interrupción de rutas comerciales entre otras. De acuerdo con la evidencia paleoclimática, una grave sequía coincidió con su abandono (Richardson, 2008).

Sin embargo, en la actualidad se ve al colapso maya como un proceso más localizado. Algunas áreas de las tierras bajas fueron afectadas más que otras y hubo centros, como los ubicados a lo largo de rutas comerciales importantes, que lograron sobrevivir e incluso prosperar. Como es el caso de ciudades de la Costa del Golfo, el altiplano

mexicano, la región de Oaxaca, los altos de Guatemala, Chiapas, el Petén guatemalteco y la península de Yucatán (Manzanilla y López, 2014) .

Durante el Clásico Terminal algunas ciudades de las tierras bajas del Sur y Norte, diversos sitios de Yucatán, las ciudades de la región Puuc vivieron un florecimiento, así como Chichen Itzá que fue el centro más importante de la región (Martínez y Vega, 2011).

1.1.1.6. Posclásico (1200-1519 d.C.).

En este periodo la civilización maya se caracterizó por un gran énfasis en el comercio, cambios en el diseño urbano de las ciudades y la introducción de nuevas formas de organización política. Este último punto queda muy claro con la fundación de la confederación de ciudades encabezadas por la ciudad amurallada de Mayapán en el norte de Yucatán, que resultó un poderoso centro comercial de la región a la caída de Chichen Itzá. El comercio marítimo de larga distancia por la costa de Yucatán y Belice propició el surgimiento de centros importantes a lo largo de la costa norte y oriental, como Cozumel y Tulum, que funcionaron como enclaves comerciales para el intercambio de productos, especialmente sal, miel y algodón (Figura 2) (Martínez y Vega, 2011).

En las tierras altas de Guatemala, diversos sitios fundados en el Clásico adquieren mayor importancia política y comercial. Utatlán, capital de los mayas quichés, e Iximché, capital de los cakchiqueles, funcionaban como importantes centros de la región hasta la conquista española en el siglo XVI, cuando Mayapán ya había caído en decadencia a mediados del siglo XV (Valverde *et al.*, 2010).

El área maya es un ejemplo de desarrollo de una organización social compleja localizada en centros políticamente independientes, en regiones de recursos limitados (Manzanilla y López, 2014).

Los dos acontecimientos de importancia durante el Posclásico fueron la fundación y la elevación de Mayapán y el crecimiento de una línea de comunidades mercantes costeras, con sus puertos asociados que se extendían desde la Chontalpa hasta cerca de Honduras. Chichén Itzá probablemente no fue una capital imperial, pero es probable que estuviera devastada como Cobá, con poblaciones reducidas que siguieron habitando el sitio (Richardson, 2008).

1.1.1.7. Época colonial.

A la llegada de los españoles, a las costas de Yucatán en 1519, encontraron un escenario político fragmentado en 16 entidades independientes y rivales. La conquista española del área maya empezó con los primeros contactos entre nativos y los expedicionarios de Hernández de Córdova, Grijalva y Cortés entre 1517 y 1519, y no concluye hasta la derrota del último señorío maya independiente en 1697 y a su vez con la caída de su capital, Tayasal. Sin embargo, a pesar de las crueldades de la conquista militar, de la esclavización y de las enfermedades transmitidas que redujeron drásticamente la población nativa, los mayas sobrevivieron y conservaron múltiples aspectos de su cultura (Valverde *et al.*, 2010).

La sociedad colonial en Yucatán suele analizarse desde la perspectiva española o indígena, dejando de lado a grupos intermedios que jugaron un papel importante como los afrodescendientes, mestizos, entre otros. Los mestizos surgieron como una consecuencia lógica del proceso de conquista y colonización.

Por otra parte, el elemento africano no fue muy numeroso en Yucatán, ya que la falta de minas, obrajes y plantaciones hacía innecesaria su presencia como mano de obra. La tasa proporcionalmente baja de migración española y afrodescendiente en la península de Yucatán y el número más alto de población mestiza sugiere que estos grupos tuvieron un significativo componente maya (Caso, 2002).

Al parecer, tras la conquista española la movilidad tuvo mayor desarrollo entre los indígenas de Yucatán. Después de la sangrienta conquista de las provincias de Uaymil-Chetumal (1542-1543), muchos indígenas se refugiaron en el Petén (Simon y Grube, 2008).

El siglo XVII fue crítico para los movimientos poblacionales indígenas, pues los mayas se movían en distintas direcciones. Muchos se dirigían a zonas de refugio, otros se movían hacia distintos pueblos y otros formaban nuevos asentamientos.

En el Yucatán colonial el índice de exogamia llegó a alcanzar más del 65%, lo que parece mostrar que se trataba de una estrategia que permitía escapar de la imposición española y mejorar la vida de los fugitivos y emigrantes (Caso, 2002).

1.1.2. Los Mayas en la actualidad.

La población indígena en el país es de 9 millones 854 mil 301, alrededor de 9.5% de la población total de México (INEGI, 2005). De los cuáles, 759 000 son hablantes de la lengua maya, 388 505 son hombres y 370 495 mujeres. La mayor parte de la población hablante de maya reside en los estados de Yucatán (69.5%), Quintana Roo (20.6%) y Campeche (9.2%). Principalmente en los municipios de: Mérida y Valladolid en Yucatán, Benito Juárez y Felipe Carrillo Puerto en Quintana Roo (INEGI, 2005).

Las poblaciones mayas no permanecen ajenos al cambio y a la compleja problemática de la región donde habitan. Actualmente, los territorios reconocidos como característicos de los mayas ha variado de manera significativa, dada la situación económica derivada de la presión demográfica cada vez mayor, el deterioro generalizado en el ámbito rural y los procesos de globalización provocan una movilidad creciente a Estados Unidos y Canadá (Informe sobre Desarrollo Humano de los Pueblos Indígenas en México, 2010).

Actualmente, los mayas conviven tanto con indígenas pertenecientes a otras familias lingüísticas como con individuos mestizos, inmersos en gran medida dentro de la compleja dinámica que muestra en la actualidad el proceso global de modernización del mundo occidental. Las poblaciones mayas son una cultura viva, que siguen manifestándose de maneras muy diversas, y son hoy un referente de la etnicidad nacional (Simon y Grube, 2008).

1.1.3. La costa oriental de Quintana Roo.

La costa oriental comprende la región delimitada por la franja costera del estado de Quintana Roo, la cual se extiende por más de 900 km. desde Cabo Catoche en la esquina noreste de la península de Yucatán hasta el canal del Bacalar Chico en la frontera con Belice (Martos, 2002; Figura 1).

Se ha destacado la importancia económica de esta región, particularmente para el periodo Posclásico Tardío. Dicha relevancia estuvo relacionada con la diversidad ecológica, que permitió la explotación de recursos variados, así como la posición geográfica estratégica que facilitó actividades de intercambio de productos en el ámbito local y de larga distancia por vía marítima (Vargas, 1997; Okoshi, 2006).

1.1.3.1. Sitio arqueológico de Xcaret, Quintana Roo.

En tiempos prehispánicos y coloniales, a Xcaret se le conocía como *Polé*, que deriva de la raíz *p'ol*, que implica mercadería, trato y contrato con comerciantes. El nombre actual parece corresponder a una degeneración de la palabra “caleta” (Con 1991a; Caso, 2002).

En 1926 se tuvo conocimiento del sitio por la expedición de Herbert Spinden y Gregory Mason. En los cuarenta, el explorador y fotógrafo Loring M. Hewen visitó Xcaret acompañado por el arqueólogo E. W. Andrews IV. Este último regresó en 1956 para realizar exploraciones. En los setenta Anthony P. Andrews continúa y complementa los trabajos iniciados por su padre. El sitio de Xcaret es analizado nuevamente por un equipo dirigido por María José Con Uribe del INAH en las décadas de los ochenta y noventa, con el propósito de delimitar, excavar y consolidar los edificios del sitio (Con, 1986; 1989;1990;1991). Actualmente, Xcaret se ha transformado en un parque de carácter recreativo del cual la zona arqueológica forma parte (Valverde *et al.*, 2010).

1.1.3.2. Aspectos históricos de Xcaret, Quintana Roo.

El *Chilam Balam de Chumayel* alude a Polé como el primer punto de llegada de los itzáes en su camino a Chichén Itzá. También se le refiere como el puerto donde partían

peregrinaciones que se dirigían a honrar a la diosa Ixchel a isla de Cozumel (Benavides *et al.*, 2004).

A su vez, la presencia de tipos policromos y objetos de jade, obsidiana, cristal de roca, entre otros, supone una estrecha comunicación con sitios contemporáneos del área maya central como las tierras altas de Guatemala (Valverde *et al.*, 2010).

El asentamiento está dispuesto de manera lineal, que se extiende en dirección Norte, Sur y Oeste, está compuesta por numerosos cimientos habitacionales de forma cuadrada, redonda y absidal que se encuentran generalmente dentro de una red de albarradas. Las plataformas son de poca altura, esquinas redondeadas y salvo en un caso, carecían de construcciones de mampostería en su parte superior. Algunas de las plataformas funcionaron como habitación y sepultura de personajes de alto rango (Valverde *et al.*, 2010).

El sitio de Xcaret está compuesto por nueve grupos constructivos – A, B, C, D, E, F, G, H y K- distribuidos paralelamente hacia al noroeste de la costa (Figura 3). Cuentan con un total de 34 estructuras que cubren un área aproximada de 500 x 800 m (Con, 1991a).

En las exploraciones llevadas a cabo en los grupos principales del sitio, los restos humanos prehispánicos fueron encontrados exclusivamente en los grupos B, C y en dos sascaberas contiguas al grupo E. Por otra parte, numerosos restos humanos se encontraron bajo la nave y en el atrio de una pequeña iglesia del periodo colonial, que no serán tratados aquí. Un total de 57 entierros prehispánicos fueron explorados en Xcaret; de ellos, 37 pertenecen al grupo B, 14 al grupo C y 6 a las dos sascaberas (Benavides *et al.*, 2004).

1.1.3.3. El grupo B, conjunto residencial.

El grupo B se caracteriza por un conjunto estructural que forma tres pequeñas plazas a diferentes niveles. Sobresale la estructura B-3, única con tres crujiás abovedadas comunicadas entre sí, formando una “U” cuadrada alrededor de un basamento rectangular con escalinatas y muros en talud. La entrada Oeste fue cerrada, aprovechando el espacio como nicho para depositar dos entierros. Una vez cerrada la

entrada Este, se construyó una banquetta bajo la cual colocaron un entierro secundario. Antes de sellar el edificio introdujeron restos de otros entierros, ya que las crujiás contenían gran cantidad de huesos dispersos cubiertos por el derrumbe de las bóvedas. En el grupo B, los entierros colocados fuera de las estructuras se encontraron: a) alrededor de las plataformas y paralelos a los muros, b) apoyados contra los muros, c) en cista, d) en plazas, e) bajo el piso de la plaza (Benavides *et al.*, 2004) (Figura 4). En su mayoría los entierros pertenecen al periodo Clásico y usualmente se hicieron en forma directa, los cuerpos de los individuos se colocaron en un agujero hecho en la tierra para este fin, fuera de las plataformas y paralelos a los muros.

Predominó la posición decúbito dorsal extendida con un “plato invertido” cubriéndoles la cara, al interior del cual ponían pescado; en algunos casos otros objetos contemplaban el ajuar funerario. Incluir pescado en el plato le daba al difunto sustento para el largo viaje, que equivaldría a colocar una cuenta de jade en la boca, con el mismo propósito. El tipo de cerámica utilizada para este propósito no fue manufacturada con fines funerarios, si no que se trata de las vajillas comúnmente utilizadas (Benavides *et al.*, 2004).

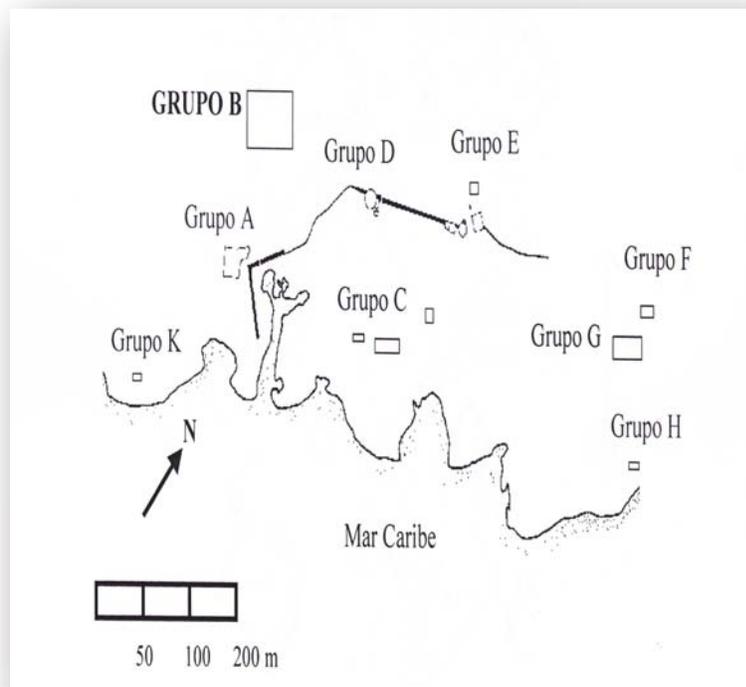


Figura 3. Zona arqueológica de Xcaret, Quintana Roo.
Tomado de Con, 1991; González Oliver, 2001b.

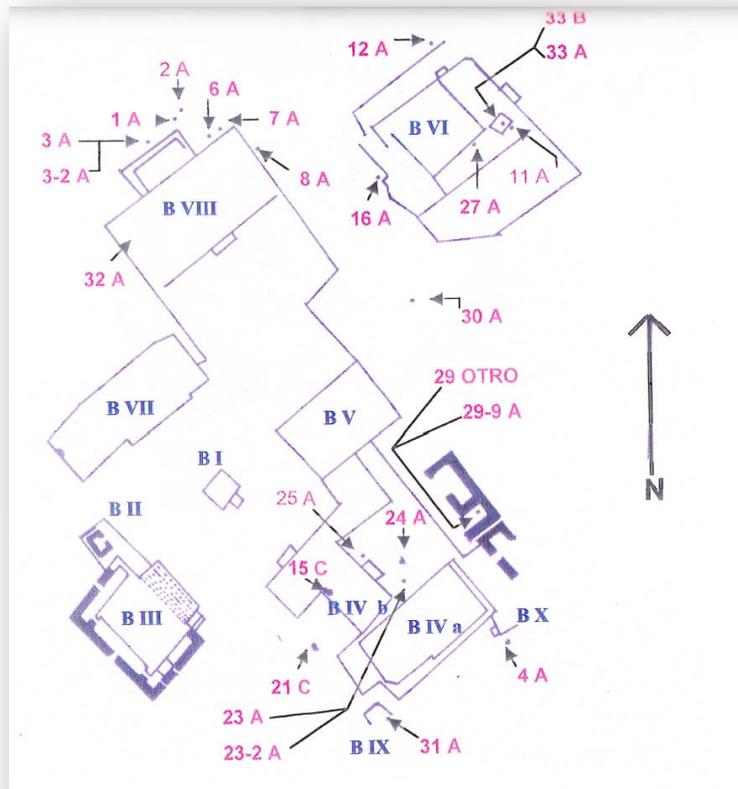


Figura 4. Plano arquitectónico del Grupo B, perteneciente al sitio de Xcaret. Se indican las estructuras que lo conforman con número romano en color azul. Los individuos encontrados se indican con números arábigos, de acuerdo a la numeración establecida para cada entierro. Tomado de González Oliver 2001b.

1.1.4. Diversidad Étnica en Guatemala.

Con una extensión territorial de 108,890 Km², Guatemala es un país multiétnico, multilingüe y pluricultural, en el que cohabitan tres pueblos indígenas: maya, xinca, garífunas y el pueblo ladino (mestizo). El país cuenta con 11,183,388 habitantes de los cuales el 41.3% son indígenas (INE, 2005).

Actualmente, Guatemala reconoce la existencia de 25 lenguas, 22 son lenguas Mayencas; Achí, Akateko, Awakateko, Ch'orti', Chuj, Itz'a, Ixil, Jakalteko, Kaqchikel, K'iche', Mam, Mopan, Poqomam, Poqomchi', Q'anjob'al, Q'eqchi, Sakapulteko, Sipakapense, Tektiteko, Tz'utujil, Chalchiteko, Uspanteko, el Garífuna, el Xinca y el Español.

En este estudio se analizaron individuos itzáes, por lo que a continuación se describirán antecedentes históricos de esta población.

1.1.4.1. Los itzáes.

Se ha considerado a los itzáes una etnia en situación "especial", debido a la pérdida de la lengua y al grado de aculturación, de manera que suelen ser considerados, al igual que su lengua, como un grupo en extinción (Alejos, 2009).

Los itzáes (en maya; *Itzá*, "brujo del agua") desempeñaron un papel sumamente importante en la historia de Yucatán, desde su establecimiento en el Posclásico. El origen de este grupo ha sido muy debatido, pero investigaciones recientes demuestran que este grupo emigró del interior de El Petén hacia Yucatán, debido a los conflictos internos que se desataron entre las principales ciudades-Estado de la región (Caso, 2002).

Roys (1962) propuso que los itzáes tenían afinidades culturales tanto mayas como del Centro de México, y su origen lo ubicó en la costa del Golfo de México. Al seguir la narrativa de eventos en los documentos escritos, Roys identificó tres grandes episodios en la historia itzá. El primer episodio corresponde entre 950 y 1200 d.C., y reconoció que los itzáes -quienes parecen haber tenido un origen Chontal- estaban asentados en Chakanputún, posiblemente el actual sitio de Champotón. El segundo episodio

corresponde entre 1200 y 1461 d.C. y lo caracterizó por el abandono de los itzáes de Chakanputún, su migración hacia el lago Petén, la llegada de ellos a la costa Este de Yucatán, su entrada por el Oriente al centro de Yucatán y el descubrimiento de Chichen Itzá entre 1224 y 1244 d.C. Roys (1966), reconoció que la invasión de los itzáes a Chichen Itzá ocurrió por el lado Este de la península de Yucatán, es decir, desde el área de Cozumel, Playa del Carmen (*Polé*), la laguna de Bacalar y la Bahía de Chetumal.

El tercer episodio, que corresponde entre 1461 y 1697 d.C., lo relacionó con la salida de los itzá de Chichen Itzá, su migración y establecimiento en el Lago Petén de Guatemala (Pollock, 1962). La reconstrucción histórica de los itzáes, fue realizada con base en narrativas históricas y la interpretación que él mismo hizo de las profecías del katún.

De acuerdo con Robles y Andrews (1986), los itzáes fueron una nueva élite poderosa que se estableció en Chichén Itzá debido al debilitamiento sociopolítico de la esfera occidental de Yucatán, el control que tuvieron de las costas consecuencia de las redes comerciales que establecieron y a las habilidades militares de grupos itzáes que invadieron Yucatán.

Los gobernantes y administradores de Chichen Itzá establecieron una eficiente infraestructura portuaria que funcionó durante los siglos X y XI a lo largo de las costas del mar Caribe y Golfo de México y con ella mantuvieron el control de redes comerciales, o bien, se aprovecharon de ellas. Sin embargo se ha sugerido que los itzáes no participaron en el establecimiento, funcionamiento o incluso de los beneficios de dicha infraestructura portuaria-marítima (Cucina, 2013).

Hoy en día, los itzáes habitan principalmente en el pueblo de San José, en la ribera Norte de lago Petén Itzá, así como en los otros pueblos de la cuenca, sobre todo en San Andrés y San Miguel. Muchos otros viven esparcidos en la selva del Norte del departamento. Una migración ocurrida a inicios del siglo XX, motivada por las condiciones opresivas en el Petén, los condujo a Belice, donde formaron un poblado llamado San José Socotz (Cucina, 2013).

Los itzáes hablantes mayas se reduce a algunos ancianos del pueblo de San José, así como a algunos jóvenes que buscan rescatar la lengua. En tiempos recientes se ha

cuestionado la identidad de los itzáes peteneros, argumentando que los itzáes históricos desaparecieron luego de su conquista militar a finales del siglo XVI, y que los contemporáneos son descendientes de una migración posterior de mayas yucatecos. Otro cuestionamiento proviene de discusiones antropológicas y lingüísticas, donde se pone en duda la existencia misma de los itzáes debido a la pérdida de sus rasgos culturales distintivos, la lengua entre los principales (Alejos, 2009).

1.5. Antecedentes biológicos de las poblaciones mayas antiguas.

El estudio métrico dental de 827 individuos de 12 sitios del periodo Clásico de 7 zonas arqueológicas de la región maya, sugirió que un extenso flujo génico caracteriza a las poblaciones mayas de este periodo de tiempo. Los resultados sugieren que el flujo genético no solamente ocurrió entre vecinos de las zonas aledañas, sino que involucró flujo génico a gran distancia. Las excepciones fueron los sitios de Seibal (Zona Pasión) y Kaminaljuyú (Tierras Altas), que quizá recibieron inmigrantes de sitios que no son del área maya (Scherer, 2007). Otro estudio de variación métrica dental de mayas de Calakmul, mayas del sureste del Petén y de Yucatán sugirió que los mayas de Calakmul son más cercanos al sitio del Petén de la zona central maya (Cucina y Tiesler 2004; González-Oliver *et al.*, 2015).

El poder discriminatorio de los rasgos dentales deriva de la reducida tasa de cambio evolutivo y por su alta heredabilidad (Cucina *et al.*, 2009). Distintos análisis de morfología dental, efectuados en poblaciones mayas prehispánicas han demostrado baja variabilidad genética y continuidad genética desde los periodos culturales del Clásico (300-900 d.C.) al Postclásico (1000-1521 d.C.) (Cucina, 2015; Cucina y Ortega 2014), lo cual es reflejo del continuo e intenso intercambio de bienes, productos y genes, a través de corredores entre las ciudades centrales y secundarias de las Tierras Bajas con ciertas localidades de la costa norte de la península de Yucatán (Cucina, 2015; Cucina y Tiesler 2004).

Por otra parte, la proporción de isótopos de estroncio en dientes y huesos antiguos, ha permitido estudiar la movilidad entre los antiguos mayas ya que permite detectar individuos foráneos en sitios prehispánicos (Price *et al.*, 2015).

1.6. Antecedentes biológicos de las poblaciones mayas actuales.

Por otra parte, existen muy pocos estudios genéticos con marcadores moleculares que analicen la variación génica de las poblaciones mayas. El estudio de 10 *loci* polimórficos de inserción *Alu* (*PAI*) en 4 poblaciones mayas actuales de: Buctzotz y Campeche de la península de Yucatán, México; y Cakchiquel y Quiché de Guatemala mostró que las 4 poblaciones exhibían diferencias genéticas significativas. Aunque los autores detectaron que las poblaciones de Buctzotz y Campeche fueron más similares entre sí que con las poblaciones de Guatemala, las cuales a su vez estuvieron más relacionadas. En este trabajo también se sugirió que los mayas de Guatemala han experimentado menor flujo génico que los mayas de la Península de Yucatán (Herrera *et al.*, 2007). Por lo tanto, estos resultados no apoyan una homogeneidad genética entre las poblaciones mayas (González-Oliver *et al.*, 2015).

Otro estudio de 15 *loci* autosómicos *STRs* en K'iche y Kakchikel de Guatemala, y mayas de Campeche y Yucatán de México (aparentemente las mismas 4 poblaciones mayas antes mencionadas), sugirió que las poblaciones mayas eran genéticamente muy similares; aunque algo de variabilidad genética entre las poblaciones mayas del norte y del Sur fue detectada. La comparación con otras poblaciones mesoamericanas indicó un alto grado de homogeneidad génica entre las poblaciones mayas, sugiriendo que los distintos asentamientos no se desarrollaron aislados unos de otros (Ibarra-Rivera *et al.*, 2008; González-Oliver *et al.*, 2015).

Adicionalmente, de acuerdo con estudios del mtDNA se ha sugerido una cercanía génica entre los mayas de Guatemala y Mesoamérica (Justice, 2011), así como una continuidad génica entre poblaciones mayas antiguas y contemporáneas de las tierras bajas (González-Oliver-Oliver *et al.*, 2001, 2011, 2013). Por otra parte, se ha mostrado que los mayas presentan un ancestro génica común y proceso de flujo genético reciente, diferenciándose del resto de las poblaciones indígenas de Mesoamérica (Garfias Morales 2012; Pérez Martínez, 2013; Gorostiza *et al.*, 2012; Pineda Vázquez 2015).

Un estudio a una escala macro-regional sugiere una homogeneidad genética en grupos mayas, en donde el comercio, principalmente en el periodo Posclásico, estimuló la

migración y contacto entre individuos dentro y entre áreas culturales (González-Martín *et al.*, 2015).

Adicionalmente, en poblaciones achi, kaqchikel, k'iche', ladino', poqomchi' y q'eqchi', se ha identificado un escenario demográfico caracterizado por endogamia local y aislamiento combinado con episodios de intercambio genético entre grupos étnicos (Söchting *et al.*, 2015).

1.7. Antropología Molecular: pasado y presente.

Los primeros intentos para entender la historia de la población humana, movimientos migratorios, cambios demográficos e intercambio génico, fue a través del uso de marcadores proteicos, como grupos sanguíneos y HLA (Cavalli-Sforza *et al.*, 1994). Sin embargo, en las últimas décadas ha aumentado la tendencia del uso de marcadores genéticos basados en el DNA como son los SNPs, tanto del DNA mitocondrial como del cromosoma Y. Éstos marcadores uniparentales no son influenciados por diversos mecanismos evolutivos, por lo que son transmitidos de manera intacta a la siguiente generación (Kundu y Ghosh , 2015).

Por otra parte, los estudios de movimientos poblacionales en humanos se han basado en el análisis de RAPD (McComb, 1999;), AFLP (Caballero *et al.*, 2008) y marcadores PCR-RFLP, actualmente la detección de SNPs mitocondriales se ha asociado con la evolución y migración de humanos modernos (Quintana-Murci *et al.*, 1999; Hernández *et al.*, 2014; Kundu y Ghosh, 2015).

Las innovaciones tecnológicas han permitido secuenciar genomas completos de especies humanas extintas (Briggs *et al.*, 2009; Lalueza-Fox *et al.*, 2011; Reich *et al.*, 2010). La información arqueológica en combinación con el análisis de DNA antiguo ha permitido proponer y entender diversos modelos de la evolución humana así como migraciones y afinidades de poblaciones humanas.

La colaboración entre genetistas, arqueólogos, paleontólogos, entre otros y junto con

un profundo entendimiento de las limitaciones y ventajas de cada disciplina, permitirán juzgar las diferentes hipótesis planteadas a partir de la evidencia disponible. Por lo tanto hay aspectos de la evolución humana, que gracias a la antropología molecular ha permitido la formulación de inferencias, que finalmente no explican totalmente la dinámica en poblaciones antiguas y contemporáneas pero contribuyen en el estudio de diversos aspectos en la evolución humana (Horsburgh *et al.*, 2015).

1.8. Genoma mitocondrial humano.

La mitocondria es un organelo citoplasmático de doble membrana involucrado en diversos procesos celulares, cuya función principal es producir la energía necesaria para el funcionamiento y mantenimiento celular (Wallace, 2005).

La mitocondria se originó a partir de una relación simbiótica entre una bacteria aerobia y un organismo anaerobio heterótrofo (Margulis, 1976), el cuál se desarrollo en un organelo altamente especializado con un papel central en el metabolismo de células eucariontes (Wallace, 2005).

En mamíferos, la mitocondria contiene el único DNA extracromosomal y se encuentra bajo un control genético dual, una cooperación entre genes endógenos mitocondriales y genes codificados por el genoma nuclear (Kundu y Ghosh, 2015). En una célula humana sana puede contener cientos de mitocondrias y alrededor de 10^3 - 10^4 copias del genoma mitocondrial. Sin embargo el número de copias del mtDNA varía con el tipo de célula, de tejido, y es alterado durante la diferenciación celular (Lee y Wei, 2005). El genoma mitocondrial humano fue secuenciado por primera vez en 1981 por Anderson y colaboradores a partir de material placentario. Una segunda secuencia fue obtenida a partir de la misma muestra analizada originalmente y se identificaron once errores en la secuencia y siete polimorfismos considerados como raros (Andrews *et al.*, 1999).

Actualmente se emplea dicha secuencia como comparación estándar en la investigación del mtDNA (*Revised Cambridge Reference Sequence, rCRS*, GeneBank NC_012920).

El mtDNA se caracteriza por presentar (i) una alta tasa de mutación; (ii) falta de recombinación; (iii) una transmisión materna y alto número de copias (Kundu y Ghosh, 2015). La falta de recombinación en el mtDNA significa que cada genoma tiene una sola historia genealógica, por lo que cuando una fuerza evolutiva actúa, afecta de igual manera a toda la molécula. Por lo tanto la fijación de una mutación ventajosa, por ejemplo por selección, causará la fijación de otros polimorfismos por medio de un proceso llamado “*hitch-hiking*” (Maynard y Haigh 1974).

La exposición del mtDNA a especies reactivas de oxígeno que son producidas por la oxidación fosforilativa, junto con la falta de histonas protectoras y la ausencia de un sistema de reparación eficiente, promueven eventos mutagénicos a una tasa que excede diez veces a lo observado en el genoma nuclear (MacFarland *et al.*, 2007).

Un gran número de mutaciones patogénicas en el genoma mitocondrial han sido identificadas y frecuentemente estas mutaciones coexisten con las copias normales del mtDNA dentro de una misma célula o tejido, estado conocido como heteroplasmia. Adicionalmente, algunos individuos pueden poseer moléculas de mtDNA que difieren en longitud (heteroplasmia de longitud; *LHP*), o en ciertas posiciones nucleotídicas (heteroplasmia puntual, *PHP*) (Just, *et al.*, 2015). Desde la perspectiva de genética de poblaciones, la presencia de heteroplasmia implica un evento reciente de mutación, y se ha mostrado que puede ocurrir en una frecuencia considerable dentro de la población en general (Irwin *et al.*, 2009).

1.8.1. Organización del DNA mitocondrial.

El mtDNA humano es una molécula circular de doble cadena, con una longitud de 16,569 pares de bases y contiene el código genético para 37 genes (Figura 5). De los cuáles, 13 genes codifican para subunidades proteicas del sistema de oxidación fosforilativa (complejo I, III, IV y V);, 2 RNA ribosomales (rRNAs), 22 de transferencia (tRNA), y finalmente una región no codificante, llamada D-loop o región control (Anderson *et al.*, 1981; MacFarland *et al.*, 2007; Figura 5). Una distribución asimétrica

de nucleótidos da lugar a una cadena pesada (H, *heavy*), rica en guaninas y una cadena ligera (L, *light*) rica en citosinas (Lee y Wei, 2005). La región control del mtDNA (D-loop) es una región no codificante de una longitud de 1122 bp, contiene un origen de replicación de la cadena pesada (H) y los promotores de la transcripción tanto de la cadena ligera y pesada. La región control se extiende de la posición 16024 a 574, contiene tres regiones cortas altamente variables a nivel poblacional (Butler, 2011). La región hipervariable I (*HVRI*) que incluye las posiciones nucleotídicas 16024-16365 (342 pb), la región hipervariable II (*HVRII*) de 73-340 (268 pb), y la región hipervariable III (*HVRIII*) que corresponde a la posición nucleotídica 438-574 (137 pb) (Butler, 2012). Se ha estimado que la región control de mtDNA muestra en promedio, 5 veces más variación que la región codificante. Esta variación esta distribuida entre la *HVRI* y *HVRII*, y el análisis de la *HVRIII* puede ser útil para diferenciar individuos que presentan el mismo haplotipo en las primeras dos regiones hipervariables (Lutz *et al.*, 2000).

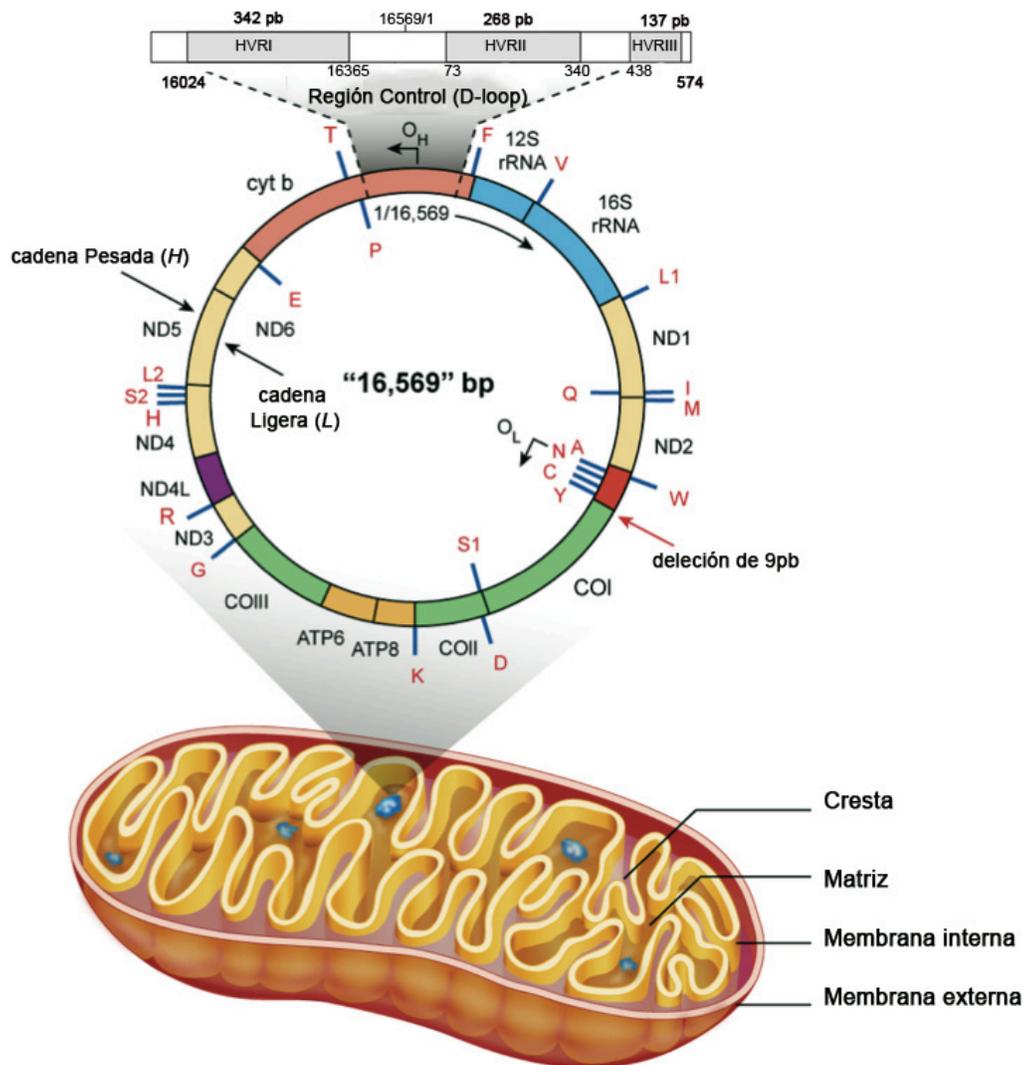


Figura 5. Genoma mitocondrial humano. Se muestran los 37 genes codificados por genoma mitocondrial, que incluye; siete subunidades del sistema de fosforilación oxidativa, complejo I (ND1, 2, 3, 4, 4L, 5 y 6); una subunidad del complejo III (citocromo b (Cyt b)); tres subunidades del complejo IV (Cyt c oxidadasa (COI, II y III)); dos subunidades del complejo V (ATP6 y ATP8), 2 rRNA (12S y 16S) y 22 tRNAs (código de una letra). También se muestra el origen de replicación de la cadena pesada (O_H) y cadena ligera (O_L), así como la Región Control, incluyendo los tres segmentos altamente variables (HVRI, HVRII, HVRIII). Modificado de Lembring, 2013.

1.8.2. Análisis del DNA mitocondrial en estudios poblacionales.

La rápida evolución y el modo característico de herencia del mtDNA, proveen nuevas perspectivas en el estudio de los patrones evolutivos de humanos modernos y la historia demográfica de las poblaciones humanas (Ingman y Gyllesten, 2003).

El tamaño efectivo poblacional del genoma mitocondrial es solo una cuarta parte del genoma nuclear, ocasionando una mayor diferenciación local del mtDNA por medio de la deriva génica y cuellos de botella (Kundu y Ghosh, 2015). El mtDNA contiene miles de copias, por lo que aumenta la posibilidad de recuperar la mayor cantidad de mtDNA cuando la muestra biológica contiene cantidades limitadas de DNA o se encuentra degradado (Holland *et al.*, 1993).

Asimismo, tanto el mtDNA y el cromosoma Y se transfieren de manera uniparenteral. Sin embargo el mtDNA tiene una tasa de mutación mucho más rápida, una tasa estimada de sustitución por sitio por año para todo el genoma 0.017×10^{-6} , excluyendo la región control. Los patrones de polimorfismos (SNP) en la región codificante y no codificante del mtDNA pueden permitir rastrear la ancestría materna por medio de la determinación de haplogrupos (Pakendorf y Stoneking, 2005).

Un haplogrupo es un conjunto de secuencias mitocondriales relacionadas filogenéticamente definidas por determinadas mutaciones en la región codificante; un subhaplogrupo es un clado derivado dentro de un haplogrupo; y un haplotipo es una secuencia del mtDNA que es distinta a otra por una o más mutaciones (Kemp y Schurr, 2010). Existe distintos patrones de diversidad en la secuencia del mtDNA entre individuos y poblaciones humanas, estos polimorfismos se han acumulado a lo largo de linajes maternos, al migrar fuera de África y colonizar diversas zonas. Al surgir nuevas mutaciones en el mtDNA, han generado la aparición de nuevas ramificaciones en el árbol filogenético mitocondrial, si una mutación fundadora afecta la fisiología mitocondrial de una manera benéfica para los individuos dentro una localidad ésta se fijará (Kundu y Ghosh, 2015). Por lo tanto cada región geográfica se encuentra asociada con una patrón característico de distintos haplogrupos de mtDNA (Wallace *et al.*, 2013).

Inicialmente en América la distribución de los haplogrupos se caracteriza por una alta frecuencia del haplogrupo A2 en el Norte y decrece hacia el Sur. Por el contrario, los haplogrupos C1 y D1 presentan un patrón inverso a éste, una alta frecuencia en el Sur disminuyendo hacia el Norte (Merriwether *et al.*, 1995). En el caso del haplogrupo B, recientemente se reportó una frecuencia más alta en la región cultural del Suroeste Americano con respecto a Mesoamérica (Kemp *et al.*, 2010).

Por otra parte, el haplogrupo X2 se encuentra en baja frecuencia en euroasiáticos del Oeste y en algunos grupos de nativos americanos del Norte (Brown *et al.*, 1998; Malhi *et al.*, 2001). Sin embargo se encuentra ausente en poblaciones contemporáneas del Norte de Siberia y el Este de Asia que son genéticamente cercanos a los Nativos Americanos (Brown *et al.*, 1998). Adicionalmente, en un estudio en donde se llevó a cabo un análisis de restricción del mtDNA en 3065 individuos a partir de 62 regiones geográficas, se estimó la heterogeneidad interpoblacional de las secuencias nucleotídicas por medio del cálculo de G_{ST} (Merriwether *et al.*, 1991). Se determinó que el valor de G_{ST} fue de 0.35 ± 0.025 , por lo tanto alrededor del 35% de la variación del mtDNA fue específica de cada continente. En contraste, el valor de G_{ST} para el genoma nuclear fue 0.12. A partir de este resultado se concluyó que el mtDNA comprende mayor diversidad genética específica de cada continente que el genoma nuclear (Merriwether *et al.*, 1991).

La genotipificación de haplogrupos del mtDNA generalmente se lleva a cabo por medio de PCR-RFLP, secuenciación de alto rendimiento, en algunos casos combinando ambas técnicas, e incluso por medio de mini-secuenciación SNaPshot multiplex (Endicott *et al.*, 2006).

Sin embargo, aunque el mtDNA es solo una pequeña fracción de todo nuestro genoma, *“el desciframiento de su evolución está cambiando profundamente la percepción de cómo los humanos modernos se dispersaron a lo largo de nuestro planeta”* (Torroni *et al.*, 2006).

1.9. Características del DNA antiguo.

1.9.1. Retrospectiva del Análisis de DNA antiguo.

La investigación del aDNA humano representa un campo único en la biología evolutiva, cuyo objetivo principal es la recuperación de información génica a partir de una gran diversidad de restos arqueológicos como: huesos (Hagelberg *et al.*, 1989), tejidos (Pääbo *et al.*, 1985), dientes (Drancourt *et al.*, 1998), cabellos (Gilbert *et al.*, 2004a), coprolitos (Poinar *et al.* 1998) e incluso de sedimentos vegetativos (Willerslev *et al.*, 2003).

El análisis de DNA antiguo ha permitido analizar los linajes evolutivos de los humanos modernos (Ermini *et al.*, 2015; Marciniak *et al.*, 2015), reconstrucción de mapas génicos a partir de especies domesticadas (Teasdale *et al.*, 2015), como la de plantas (Zeder *et al.*, 2006), relaciones filogenéticas entre diferentes mamíferos (Krajewski *et al.*, 1997; Cooper *et al.*, 2010), reconstrucción de características fenotípicas de grupos prehistóricos (Krause *et al.*, 2007a; Lalueza-Fox *et al.*, 2007), arqueopatología (Ubaldi *et al.*, 1998), entre otros.

Los primeros estudios de DNA antiguo fueron publicados hace aproximadamente tres décadas, el primero fue reportado por Higuchi *et al.*, 1984, dónde obtuvo una secuencia de DNA mitocondrial de 228 pb a partir de músculo seco de una subespecie extinta de cebra (*Equus quagga quagga*). En el segundo estudio se llevó a cabo la secuenciación parcial de un fragmento de DNA clonado de 3.4kb, a partir del músculo de una momia egipcia pre-Dinástica (Pääbo *et al.*, 1985).

La autenticidad del primer estudio ha sido corroborada (Leonard *et al.*, 2005), por otra parte el resultado del segundo estudio es producto de una contaminación con DNA contemporáneo (Pääbo *et al.*, 1988).

Después de la publicación de los primeros estudios de DNA antiguo, han existido grandes avances en el diseño y optimización de tecnologías de genotipificación del DNA antiguo, como la secuenciación de genomas completos (Ermini *et al.*, 2015).

A no más de una década de que el genoma humano fuera secuenciado, se obtuvo la secuencia del primer genoma humano antiguo en el 2010 (Rasmussen *et al.*, 2010).

La obtención del genoma nuclear de un caballo antiguo con 560-780,000 años de antigüedad (Orlando *et al.*, 2013) y el genoma mitocondrial casi completo de *Homo heidelbergensis* con una antigüedad de 300,000 años (Meyer *et al.*, 2014), son los especímenes más antiguos de los cuales se han recuperado material génico hasta el momento.

1.9.2. Propiedades del DNA antiguo.

Las condiciones deposicionales en las cuáles los especímenes arqueológicos han sido expuestos se desconocen en su mayoría, sin embargo estas condiciones afectan la fracción de DNA endógeno preservado de manera impredecible. Adicionalmente, una preservación diferencial de acuerdo al tipo de tejido empleado puede existir (Marciniak *et al.*, 2015).

El DNA en muestras antiguas se caracteriza principalmente por la baja cantidad y calidad del DNA endógeno con una preservación variable, siendo el resultado de procesos de degradación molecular post-mortem debido a la ruptura de cadenas del DNA, sitios sin bases nitrogenadas, errores de codificación, entrecruzamiento, entre otros (Lindahl, 1993; Willerslev, 2005).

Diversos factores como; I) fluctuaciones ambientales, humedad elevada, acción de endonucleasas endógenas, II) alta temperatura, III) pH bajo, IV) ambientes salinos y secos (Hoss *et al.*, 1996; Gilbert *et al.*, 2005; Shapiro, 2013) entre otros, contribuyen a la degradación post-mortem del DNA a través de reacciones como la hidrólisis, oxidación, desaminación, despurinación y despirimidinación de bases (Marciniak *et al.*, 2015).

1.9.3. Inestabilidad post-mortem del DNA.

La inestabilidad post-mortem de los ácidos nucleicos es central en los problemas metodológicos inherentes en la investigación de aDNA.

El daño en el DNA se acumula sobre el tiempo en células inactivas debido a procesos hidrolíticos, como desaminación (pérdida de un grupo amino $-NH_2$) y despurinación

(pérdida de bases púricas). Por lo tanto, se genera la fragmentación del DNA a un tamaño de 100-500 pb y a su vez una disminución del DNA endógeno (Pääbo 1989; Handt *et al.*, 1994).

La hidrólisis ocurre en los enlace fosfodiéster y glicosídico ocasionando una ruptura de cadena simple en el DNA. La ruptura del enlace β -N-glicosídico produce un sitio sin base y eventualmente será susceptible a un rearrreglo químico, originando la ruptura de cadenas (Willerslev y Cooper, 2005). Por lo tanto, el DNA recuperado de una muestra antigua estará conformado por fragmentos pequeños (Figura 6).

Uno de los principales problemas en el análisis de DNA antiguo, son los errores de codificación. Existen dos tipos de lesiones de codificación, tipo 1 (A→G / T→C) y tipo 2 (C→T / G→A), en la que existe una preferencia hacia transiciones del tipo 1. Los errores de codificación introducirán desviaciones en la secuencia durante la PCR, ocasionando dificultades en su análisis e interpretación de los resultados obtenidos (Hofreiter *et al.*, 2001a). Se ha observado un incremento en desaminaciones de citosina cerca de los extremos de las moléculas molde de DNA antiguo (Sawyer *et al.*, 2012).

En algunos casos, puede ocurrir “*jumping PCR*”, el cual consiste en la imposibilidad de la amplificación de la longitud total de la molécula del DNA molde, al presentar una ruptura en la cadena nucleotídica. Por lo que en los ciclos subsecuentes de la PCR, se amplificarán productos derivados de la unión de los fragmentos cortos del DNA endógeno y fragmentos de otros templados, actuando como *primers* para la extensión de la cadena. Por lo tanto, se produce una secuencia quimérica entre el DNA antiguo y contaminado (Pääbo *et al.*, 1990). Adicionalmente, los productos de Maillard, formados por reacciones de condensación entre azúcares y grupos amino primarios en proteínas y ácidos nucleicos (Pääbo *et al.*, 2004) inhiben la PCR, así como el ácido húmico, ácido fúlvico y taninos (Kemp *et al.*, 2006).

Por lo tanto, la degradación post-mortem del DNA puede ocasionar artefactos en la secuenciación, una amplificación preferencial del DNA contaminante (Pääbo, 1989; Lindahl, 1993) y a su vez una interpretación sesgada de las secuencias de aDNA obtenidas.

Se ha sugerido que los patrones de degradación del aDNA pueden permitir distinguir las secuencias endógenas de las contaminadas (Sawyer *et al.*, 2012).

Diversos métodos han sido empleados para corregir las modificaciones post-mortem e incrementar la calidad del DNA antiguo y la confiabilidad de la secuencia obtenida. La Uracil-N-glicosilasa (UNG) remueve los productos de la desaminación de citosina (Hofreiter *et al.* 2001a).

1.9.4. Contaminación de DNA.

El problema más crítico que se enfrenta el análisis de aDNA es la contaminación de DNA de fuentes exógenas ,es decir, no derivadas de la muestra. La presencia de una fuente moderna de DNA es amplificada preferencialmente durante la PCR en comparación con el DNA endógeno degradado (Handt *et al.*, 1994).

Existen diversas fuentes de donde surge la contaminación en la muestra antigua: I) de los contaminantes que están sobre la superficie del resto óseo, II) o de los que se encuentran en los reactivos, vestimenta del laboratorio, suplementos desechables, entre otros y III) en el acarreo de aerosoles de productos de PCR (Pääbo *et al.*, 1990).

Una gran diversidad de métodos han sido empleados para remover la contaminación de la superficie de la muestra; lavado de la superficie, remoción física de la superficie, radiación con UV, exposición de la muestra a una solución de hipoclorito de sodio (NaOCl), o incluso la combinación de estas técnicas (Kemp y Smith, 2005).

Se propuso que el DNA moderno puede permearse a través de los túbulos de la dentina, en el caso de órganos dentarios y en el sistema Harvesiano de los huesos. Sin embargo, es poco probable que el DNA contaminante penetre a nivel de los osteocitos (Gilbert *et al.*, 2005).

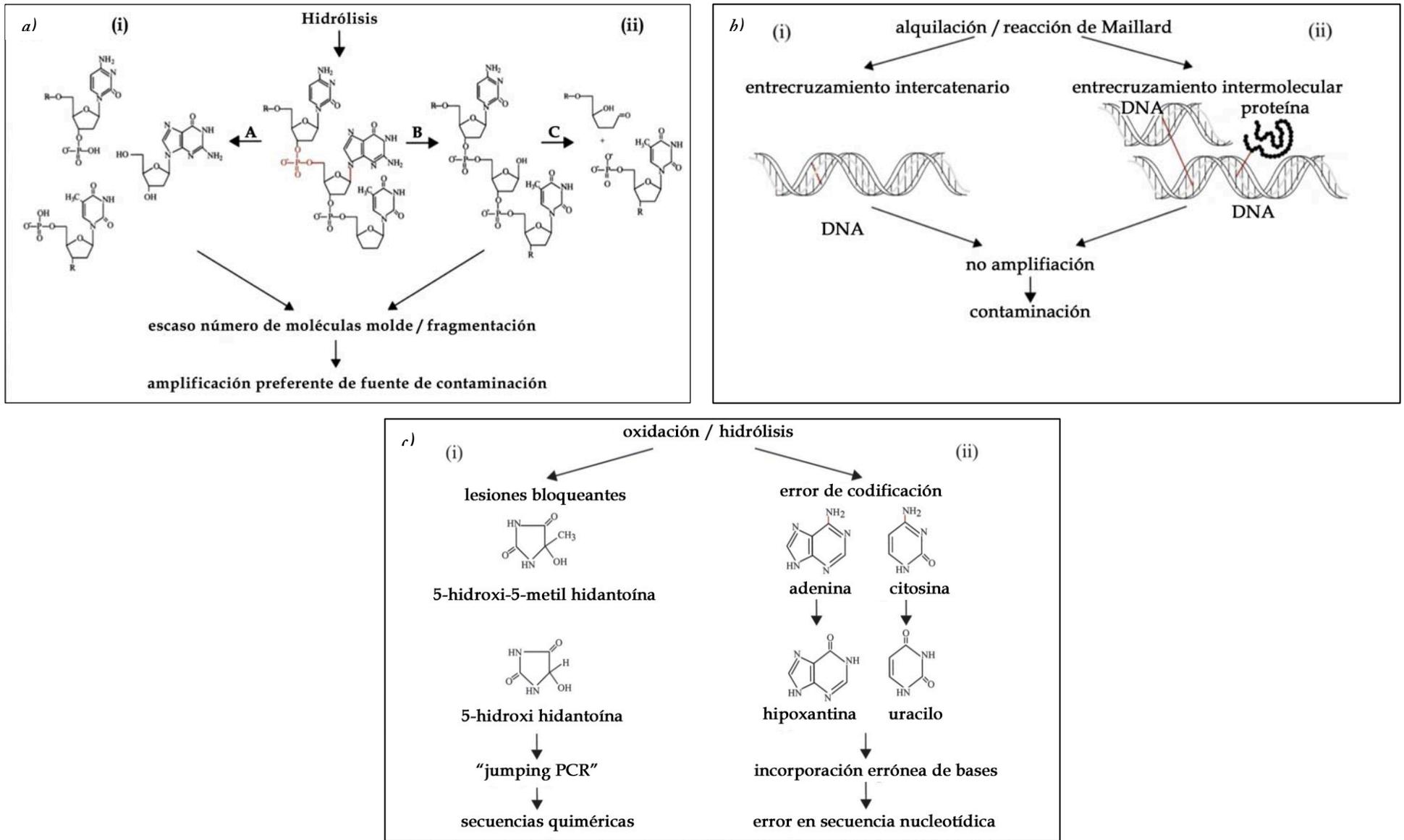


Figura 6. Modificación post-mortem del DNA en restos fósiles. **a)** Formación de rupturas de cadena sencilla por daño hidrolítico. (i) Ruptura directa del enlace fosfodiéster (A). (ii) Depurinación, ocasionando un sitio sin base nucleotídica (sitio AP), (B) seguido de ruptura del azúcar por medio de β -eliminación, (C) ruptura de cadena ocasiona una fragmentación y alta tasa de pérdida del DNA. **b)** Modificación oxidativa e hidrolítica resultando en (i) lesiones bloqueantes para la enzima polimerasa, y provocando secuencias quiméricas a través de "jumping PCR" o (ii) errores de codificación, como la deaminación de citosina y adenina a uracilo e hipoxantina, respectivamente. Estas lesiones ocasionan la incorporación errónea de bases durante la amplificación. **c)** Diferentes tipos de entrecruzamiento, i) Entrecruzamiento inter-catenario ocasionado por la alquilación, ii) entrecruzamiento intermolecular ocasionado por reacción de Maillard, evitando la amplificación de moléculas molde endógenas, e incrementando el riesgo de contaminación. Modificado de Willerslev y Cooper, 2005.

Adicionalmente, se ha sugerido que la contaminación de un resto arqueológico se correlaciona con la preservación estructural de la muestra y particularmente con la porosidad de ésta (Knapp *et al.*, 2015)

El uso de una vestimenta exclusiva dentro del laboratorio de DNA antiguo como: guantes estériles, máscaras, cubrebocas, cofia, calzado exclusivo, cubrezapatos, bata de laboratorio, entre otros, y junto con el acceso restringido al laboratorio, disminuyen la probabilidad de que surja una contaminación por quienes son responsables de realizar la parte experimental (Mata-Míguez *et al.*, 2012).

Por otra parte, una fuente importante de contaminación es el acarreo de productos de PCR. Una reacción exitosa de PCR produce aproximadamente 10^{12} - 10^{19} moléculas. Por lo que la concentración de DNA en un aerosol es más alta que la concentración en la mayoría de las muestras antiguas procesadas (p.ej. $\sim 10^5$ - 10^6 moléculas de DNA molde por cada gramo de polvo de hueso antiguo) (Willerslev *et al.*, 2005).

Por lo tanto sin las precauciones indicadas, se generará el esparcimiento de aerosoles de amplicones dentro del laboratorio, y posiblemente se obtengan resultados falsos-positivos (Hebsgaard *et al.*, 2005).

Otra forma de contaminación más difícil de controlar es durante la excavación de restos arqueológicos, ya que son manipulados y expuestos a la contaminación directa de arqueólogos y antropólogos (Hebsgaard *et al.*, 2005).

En un diente de oso cavernario se identificaron 20 secuencias nucleotídicas humanas (Hofreiter *et al.*, 2001), e incluso después de una extensiva descontaminación con NaOCl y radiación UV (Gilbert *et al.*, 2005).

1.9.5. Criterios de Autenticidad.

En el campo de investigación de DNA antiguo, se ha tratado de implementar determinados criterios para autenticar los resultados obtenidos. Algunos de los criterios establecidos, conocidos como “los nueve estándares clásicos” son; 1) áreas de los laboratorios físicamente aisladas, 2) controles negativos de amplificación, 3) experimentos de reproducibilidad (extractos diferentes de la misma muestra), 4) clonación de productos de PCR, 5) replicación de resultados en un laboratorio

independiente, 6) la evaluación bioquímica de la preservación del espécimen, 7) cuantificación del número de moléculas del templado, 8) evaluación de la amplificación de la longitud de los fragmentos del DNA endógeno, denominada “comportamiento apropiado molecular”, en el cual el DNA amplificado debe tener una longitud corta dado el alto índice de degradación de la muestra y 9) un análisis paralelo de restos no humanos asociados al sitio en dónde la muestra fue encontrada, con la finalidad de evaluar la preservación del DNA (Cooper *et al.*, 2000; Knapp *et al.*, 2015).

Sin embargo diversos factores como el tipo de muestra, la antigüedad y preservación de ésta, así como fluctuaciones en el medio ambiente, requieren distintos estándares para probar la autenticidad de los resultados obtenidos. Con seguir cada uno de los “criterios estándares” no se puede garantizar el éxito en el análisis del DNA antiguo o su autenticidad (Kemp y Smith, 2005).

Todos los criterios son limitados al analizar muestras que fueron contaminadas durante la excavación o manipulación antes del procesamiento en el laboratorio, el cuál es un problema común (Gilbert *et al.*, 2006).

2. OBJETIVOS.

2.1. Objetivo general.

Determinar la variación genética del mtDNA entre los actuales y antiguos habitantes mayas del estado de Quintana Roo, y realizar un análisis comparativo con los datos existentes de otras poblaciones mayas con la finalidad de identificar las relaciones génicas entre las poblaciones mayas anteriores y posteriores a la conquista española.

2.2. Objetivos particulares.

1. Identificar las frecuencias de los haplogrupos A2, B2, C1, D1 y X2 del mtDNA en individuos indígenas mayas de Quintana Roo e itzáes de Guatemala.
2. Identificar los haplotipos del mtDNA de la *HVRI* en poblaciones mayas modernas y antiguas de Quintana Roo para analizar la cercanía genética entre ellas.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. Análisis de DNA antiguo.

3.1.1. Selección de las muestras.

Los restos óseos analizados en esta tesis pertenecen a la colección del material osteológico recuperado del grupo B del sitio arqueológico de Xcaret, Quintana Roo. Ésta se encontraba almacenada en cajas de cartón bajo el resguardo de la Dra. Lourdes Márquez Morfín en la Escuela Nacional de Antropología e Historia. Un total de 15 individuos prehispánicos fueron proporcionados por la Dra. Márquez a la Dra. Angélica González, los individuos se seleccionaron de manera aleatoria y a partir de los resultados obtenidos de los haplogrupos del mtDNA en 28 individuos estudiados anteriormente en González-Oliver, *et al.*, 2001a; 2001b.

De cada individuo se seleccionaron dos costillas que no mostraran una reconstrucción con consolidantes (comunicación personal González Oliver). Los 15 individuos fueron tanto del sexo femenino como del masculino, de diversas edades, desde recién nacidos hasta adultos. Los individuos seleccionados provienen de 13 entierros; de éstos 7 fueron primarios directos, 1 primario indirecto, 1 indirecto secundario, 2 secundarios directos, 2 secundarios indirectos osarios; algunos de estos entierros están conformados por más de un individuo (APÉNDICE, Tabla 1). Cabe mencionar que las tablas de esta sección se encuentran en el Apéndice de la tesis.

3.1.2. Limpieza de las muestras.

Tanto la limpieza y molienda de los restos óseos se llevó a cabo por la Dra. Angélica González Oliver, a excepción del individuo que corresponde al entierro 15-2 que fue procesado en esta tesis.

El método de limpieza básicamente consistió en eliminar la capa superficial del hueso, con una navaja estéril nueva. Posteriormente, el hueso se irradió con UV a 254 nm por 10 minutos en un Ultraviolet Crosslinker (González Oliver *et al.*, 2001a).

La muestra se molió en un mortero estéril hasta ser reducido a polvo fino, a partir del cuál se llevó a cabo la extracción de DNA. Todo el procedimiento se realizó en una campana de flujo laminar horizontal provista de un filtro HEPA 0.3µm, que proporciona un flujo constante de aire libre de partículas (González Oliver, 2001b).

3.1.3. Control de contaminación.

Todos los procedimientos experimentales relacionados con la extracción de DNA y preparación de reacciones de PCR se llevaron a cabo en un laboratorio exclusivo para el análisis de DNA antiguo, físicamente aislado del laboratorio de DNA contemporáneo y del laboratorio de post-PCR. De tal manera que el flujo de trabajo fue llevado a cabo de forma “unidireccional”, es decir, del laboratorio de DNA antiguo hacia el de post-PCR o de DNA contemporáneo como fue descrito en Mata-Míguez *et al.*, 2012. Estas condiciones evitan una contaminación cruzada de las muestras analizadas durante los procedimientos de limpieza, extracción y amplificación en el laboratorio de DNA antiguo o en el de contemporáneo; y evitan el acarreo de los productos de amplificación por PCR al espacio de trabajo asignado para realizar las extracciones del DNA y reacciones de PCR (Sampietro, 2006; Gilbert *et al.*, 2005).

Adicionalmente, se establecieron y siguieron normas estrictas para el acceso del personal autorizado a trabajar en el laboratorio de DNA antiguo con la finalidad de monitorear y reducir el riesgo de contaminación con DNA actual. Se realizó un cambio de calzado de uso exclusivo para el área de trabajo dentro del laboratorio y se utilizaron cubrezapatos nuevos estériles. Siempre se ingresó con el cabello debidamente recogido. Fue obligatorio usar bata limpia, cofia, cubrebocas y guantes nuevos estériles, éstos últimos fueron cambiados frecuentemente.

El acceso al laboratorio de DNA antiguo siempre fue restringido, el número máximo de individuos autorizados para ingresar fue de dos y siempre se trabajó de manera individual. Adicionalmente se analizaron los haplogrupos con análisis de restricción y la *HVRI* del mtDNA con secuenciación directa de los investigadores y estudiantes con acceso al laboratorio de DNA antiguo, para descartar que alguno de los resultados

obtenidos fuera producto de una contaminación generada por el personal del laboratorio.

Se llevó a cabo una descontaminación rutinaria de las superficies del área de trabajo en el laboratorio así como de los instrumentos empleados, por medio de la exposición a radiación UV y limpieza con hipoclorito de sodio al 15%.

En todos los procedimientos realizados siempre se emplearon tubos y puntas con filtro nuevos y estériles. Todo el material de cristalería fue lavado con hipoclorito de sodio (NaClO) al 15%, enjuagado con agua ultrapura y se esterilizó a 132°C durante 30 minutos.

En la preparación de amortiguadores y otros reactivos, se utilizó agua ultrapura que se obtuvo del desionizador Milli-Q Plus que se esterilizó a 132°C por 30 minutos. Después de la elaboración de los reactivos se esterilizaron, excepto aquellos que contenían alguna sustancia desnaturalizable.

Los reactivos utilizados en la extracción de DNA antiguo fueron de la marca *Sigma* e *Invitrogen* grado biología molecular. Los reactivos usados para la realización de la PCR y la reacción de secuenciación fueron de marca *Applied Biosystems* o *Invitrogen*.

Todos los procedimientos experimentales descritos a continuación se realizaron en una campana de flujo laminar equipada con un filtro absoluto de 0.3 µm, integrada con UV. Se utilizaron micropipetas y puntas exclusivas para cada procedimiento. En la realización de la PCR, se empleó un termociclador *Eppendorf Master Cycler Gradient Personal* modelo AG22331, exclusivo para el análisis de DNA antiguo.

En la realización de la extracción de DNA y en la PCR se incluyeron controles negativos conteniendo todos los reactivos, excepto la muestra, con el objetivo de monitorear alguna fuente de contaminación.

3.1.4. Extracción de DNA antiguo.

El DNA antiguo fue extraído de acuerdo con la técnica reportada en Krings *et al.*, 1997, la cuál se basa en la purificación de DNA por medio de fenol-cloroformo y sílica.

Dicho método ha sido utilizado exitosamente en otros estudios del mismo grupo de investigación (González Oliver, 2001b; De la Cruz Laina, 2008; 2010).

Durante la realización de la extracción de DNA se incluyó un control negativo, que fue analizado en paralelo con las muestras.

Se realizaron 2 o 3 extracciones de un mismo individuo utilizando la misma técnica para recuperar el DNA antiguo.

3.1.5. Tipificación de los haplogrupos del mtDNA.

La identificación de los haplogrupos mitocondriales de 14 individuos analizados para la *HVRI* del mtDNA en esta tesis, se realizó previamente en González Oliver, *et al.*, 2001a. El individuo 15-2 fue por primera vez analizado aquí para los haplogrupos del mtDNA.

En este individuo se llevó a cabo la identificación de los cinco haplogrupos principales A2, B2, C1, D1 y X2 del mtDNA mediante la amplificación de los segmentos específicos de cada haplogrupo (Tabla 2).

Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en un volumen final de 50 μL que contenía los reactivos indicados en Tabla 3. También se utilizó albúmina sérica bovina (BSA) en una concentración final de 2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, ya que disminuye el efecto de los inhibidores de PCR frecuentemente co-extraídos con el DNA antiguo (Kreader,1996). Las condiciones de la PCR fueron las siguientes: desnaturalización inicial de 94°C por 2 min., 40 ciclos de amplificación a partir de desnaturalización a 94°C durante 1 min., la temperatura de alineación varía de acuerdo a los *primers* empleados para cada haplogrupo, durante 1 min., extensión a 72°C por 1 min. Finalmente una fase de extensión final a 72°C por 7 min. y un descenso de la temperatura a 4°C. En cada reacción de PCR, se incluyeron controles negativos.

3.1.6. Análisis electroforético en geles de poliacrilamida.

Un volumen de 6 μL de los productos de amplificación por PCR de los haplogrupos A2, C1, D1 y X2, se analizaron en geles de poliacrilamida al 12% y en el caso de los

amplicones del haplogrupo B2 en geles de poliacrilamida al 14%, utilizando el amortiguador Tris-Borato-EDTA (TBE 1X) (Sambrook y Russell 2001).

Para determinar el tamaño del producto amplificado, se usó 1.5 μL del marcador de tamaño molecular ϕX174 digerido con la endonucleasa de restricción *Hae III*.

La electroforesis se corrió a 170 volts durante una hora, en el caso del haplogrupo B2 a 120 volts durante dos horas. El gel se tiñó en solución de bromuro de etidio 0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, en agitación constante durante 5 minutos. Se visualizó en un transiluminador de UV. El registro fotográfico de los geles teñidos se llevó a cabo con una cámara digital CANON PC1089 Powershot G6, específica para el análisis de DNA antiguo.

3.1.7. Análisis de restricción.

Se incubaron 6 μL del producto amplificado por PCR con cinco unidades de la enzima de restricción específica de cada haplogrupo A2, C1, D1 y X1 (*Hae III*, *Hinc II*, *Alu I* y *Dde I* respectivamente) (Tabla 4), durante toda la noche a 37°C.

Los productos de la digestión se analizaron en geles de poliacrilamida al 12% de acuerdo al método descrito anteriormente. Los tamaños de los fragmentos de restricción se indican en la Tabla 4.

3.1.8. Amplificación de la HVRI del mtDNA mediante PCR.

En cada individuo la amplificación de la región hipervariable I se llevó a cabo en dos fragmentos superpuestos, el primer fragmento fue amplificado entre la posición nucleotídica de 15975 a 16209 y el segundo fragmento de 16192 a 16429 (Figura 7, Tabla 5).

La mezcla de reacción para la PCR fue en un volumen de 50 μL que contenía las concentraciones de los reactivos de la Tabla 6.

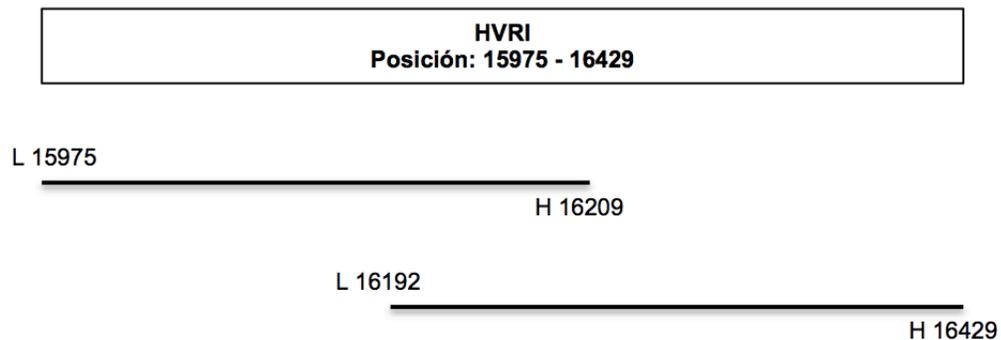


Figura 7. Conjunto de *primers* empleados en la amplificación de *HVRI* del mtDNA en restos antiguos. La posición nucleotídica se basa en la secuencia estándar del mtDNA, (Anderson *et al.*, 1981; Andrews *et al.*, 1999)

El programa de amplificación de la PCR consistió en: desnaturalización inicial de 94°C durante 3 min., 55 ciclos de amplificación a partir de desnaturalización a 94°C por 30 seg., alineación de 59°C para el primer fragmento y de 51°C para el segundo fragmento, durante 30 seg., extensión a 72°C por 30 seg. Finalmente una fase de extensión final a 72°C por 7 min., y un descenso en la temperatura a 4°C.

Los productos de PCR se analizaron en geles de poliacrilamida al 12% colocando un volumen de 10 μ L, de acuerdo al método antes descrito.

3.1.9. Purificación del producto del PCR de la amplificación de la *HVRI*.

El volumen restante del producto de la amplificación se purificó por medio del kit *EZ10 Spin Column PCR Bio Basic Inc.* El cuál se basa en la absorción selectiva del DNA sobre una membrana de sílica gel, en la presencia de buffers de unión especializados. Se siguió el procedimiento sugerido por el fabricante.

3.1.10. Reacción de Secuenciación.

El producto de PCR de la *HVRI* purificado se secuenció con el kit *Cycle Sequencing (Applied Biosystems)*. Los reactivos contenidos en la mezcla de reacción se muestran en la Tabla 7.

Antes de llevar a cabo la secuenciación directa, el producto de la reacción de secuenciación se purificó utilizando columnas *Centri-Sep* de *Princeton Separations, Inc.*, con la finalidad de remover el exceso de terminadores fluorescentes.

La secuenciación automatizada fue realizada en el Instituto de Biología de la UNAM por la M. en C. Laura M. Márquez Valdelamar, utilizando el secuenciador ABI Prism 310 (*Applied Biosystem*).

3.2. Análisis de DNA contemporáneo.

Se analizaron muestras de frotis bucal de 43 individuos mayas. Veintiséis mayas del estado de Quintana Roo, de los cuales 12 individuos pertenecen a la comunidad de Laguna Kaná, 6 a Santa María Poniente, y 8 a Tulum. Diecisiete individuos itzáes son originarios de Guatemala, de la localidad de San José.

3.2.1. Colecta de muestras biológicas.

La toma de las muestras biológicas fue llevada a cabo por el Dr. Allan Ortega Muñoz del Instituto Nacional de Antropología e Historia de Quintana Roo y la M. en C. Mirna Ethel Canul Montañez, de El Colegio de la Frontera Sur-Unidad Campeche.

La colecta de las muestras biológicas se realizó 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. Se obtuvo el consentimiento previo, informado y voluntario de los individuos para participar en el proyecto de investigación científica del DNA mitocondrial del Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la UNAM (Garfias Morales, 2013).

En este estudio 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 a cada individuo así como a las autoridades municipales, civiles y religiosas de las comunidades visitadas (Pérez Martínez, 2014).

Los individuos fueron seleccionados al azar considerando los siguientes criterios de inclusión: reconocerse pertenecientes al grupo indígena maya o itzá, hablar y/o entender la lengua maya peninsular o itzá, ser endémicos de la localidad, con padres y abuelos originarios del mismo lugar, practicar las costumbres y tradiciones culturales del grupo, no estar relacionados por vía materna.

3.2.2. Extracción de DNA.

La extracción de DNA contemporáneo se llevó a cabo por medio del kit comercial *QIAamp DNA Blood Mini* de Qiagen, el cual se basa en la purificación del DNA a través de columnas de sílica gel. Se siguió el procedimiento recomendado por el fabricante.

3.2.3. Tipificación de los haplogrupos del mtDNA por PCR.

Se identificaron los cinco principales haplogrupos del mtDNA como se describió anteriormente para el DNA antiguo. El volumen final de la reacción de amplificación fue de 25 μ L (Tabla 3).

3.2.3. Amplificación de la región hipervariable I del mtDNA mediante PCR.

Se amplificó la *HVRI* en sólo un fragmento de 446 bp, que corresponde a las posiciones nucleotídicas 15,975 a 16,410 (Tabla 8).

La reacción de amplificación se llevó a cabo en un termociclador *Eppendorf Master Cycler Gradient* modelo AG22331. Las condiciones de la PCR son las siguientes: desnaturalización inicial de 94°C por 2 min., 40 ciclos de amplificación a partir de desnaturalización a 94°C durante 1 min., alineación de 55°C por 1 min., extensión a 72°C por 1 min. Finalmente una fase de extensión final a 72°C durante 7 min., y un descenso en la temperatura a 4°C.

La mezcla de reacción para la PCR contenía los mismos de reactivos empleados para el análisis de DNA antiguo, a excepción del BSA. La concentración de los reactivos no se modificó.

3.2.4. Análisis electroforético y reacción de secuenciación de la *HVRI*.

Se llevó a cabo el mismo procedimiento metodológico antes descrito para el DNA antiguo. El registro fotográfico de los geles teñidos se llevó a cabo por medio del fotodocumentador *MicroBIS*, específico para el análisis de DNA contemporáneo.

3.3. Análisis estadístico de haplogrupos mitocondriales.

Los individuos que no presentaron los haplogrupos A2, B2, C1 o D1 fueron excluidos del análisis estadístico ya que pueden representar mezcla de origen europeo o africana.

3.3.1. Prueba estadística Ji Cuadrada (X^2).

La frecuencia de los haplogrupos del mtDNA (A2, B2, C1 y D1) obtenida de las poblaciones analizadas en este estudio y de otras poblaciones citadas en la bibliografía, fueron comparadas por medio de la prueba estadística Ji cuadrada.

Las variables consideradas en la realización de la prueba de Ji cuadrada fueron: un valor crítico de 7.815, 3 grados de libertad, con un nivel de confianza de 95% y nivel de significación de 0.05. Cabe aclarar que en algunos casos, cuando se comparó la frecuencia de 3 haplogrupos del mtDNA el valor de los grados de libertad fue de 2.

Por otra parte, con la finalidad de incrementar el número de individuos que representa la población maya se utilizaron los resultados de individuos mayas de Q.R. reportados en Pineda Vázquez, 2015, puesto que estas dos tesis forman parte de un proyecto de investigación que analiza poblaciones indígenas del sureste de México.

3.3.2. Análisis de Componentes Principales (ACP).

Se realizó un análisis de componentes principales (ACP), método multivariado que por medio de un algoritmo matemático reduce la dimensionalidad en un conjunto de datos al identificar los componentes principales (Zuur *et al.*, 2007).

El ACP fue basado en una matriz de valores de F_{ST} (Índice de fijación de Wright) calculada a partir del número de individuos que presentaron los haplogrupos del mtDNA en las poblaciones antes mencionadas, así como a partir de los haplotipos del mtDNA obtenidos, se utilizó el software *Arlequin* 3.5.1.2. (Excoffier *et al.*, 2005).

La representación gráfica del ACP se realizó con el programa *XLSTAT* versión 2011 del programa Microsoft Office Excel 2010.

3.4. Análisis de haplotipos de la HVRI del mtDNA.

Se secuenció la *HVRI* del mtDNA en 58 individuos mayas que incluyen 15 individuos prehispánicos de Quintana Roo, 26 individuos mayas contemporáneos de Q. R. y 17 itzáes de Guatemala. Se secuenciaron las dos cadenas del mtDNA.

Los electroferogramas fueron editados manualmente por medio del software *CodonCode* 3.0.1. y se obtuvo la secuencia final de cada uno de los individuos antiguos y actuales. Estas secuencias se compararon con la región hipervariable I de la secuencia estándar del mtDNA humano (Anderson *et al.*, 1981; Andrews *et al.*, 1999) y con la secuencia de quienes realizaron el análisis molecular por medio del software *DNA Aligment* (versión 1.3.3.2).

3.4.1. Confirmación de la tipificación de los haplogrupos del mtDNA.

El resultado de la tipificación por análisis de restricción de los cinco haplogrupos del mtDNA analizados, se confirmó con la identificación de las mutaciones puntuales en la *HVRI* que son asociadas específicamente a cada haplogrupo (Tabla 9), de acuerdo con lo reportado por Tamm *et al.*, 2007.

3.4.2. Alineamiento múltiple.

Se obtuvieron los haplotipos de 63 individuos mayas actuales de las mismas localidades del estado de Q.R. estudiados en Pineda Vázquez, 2015 con la finalidad de tener un número de individuos representativo de esta población.

Se realizó el alineamiento múltiple del fragmento de la *HVRI* entre las posiciones nucleotídicas 16,021 a 16,400 utilizando el programa *MacClade* versión 4.08. para determinar los haplotipos mitocondriales en las tres poblaciones estudiadas aquí.

Se obtuvieron los haplotipos de otras poblaciones mayas actuales que están disponibles en la literatura: del estado de Q.R. 2 (Gorostiza *et al.*, 2012), de Campeche (Sandoval *et al.*, 2009), ch'orti y poqomchi' de Guatemala (Justice, 2011).

Se determinó el número total de haplotipos de cada población, haplotipos únicos y compartidos entre las poblaciones con el mismo software *MacClade*.

3.4.3 Análisis estadístico de los haplotipos mitocondriales.

Para analizar la distribución de la variación dentro y entre las poblaciones a partir de los haplotipos mitocondriales de la *HVRI*, se determinaron diversos parámetros, tales como valores *Fst* para todos los pares de poblaciones (Tajima y Nei, 1984), la diversidad haplotípica (*Hd*), diversidad nucleotídica (π) (Nei 1987) y número de sitios segregantes, que fueron obtenidos por medio del software Arlequin 3.5.1.2.

Un análisis de componente principal (ACP) fue realizado con las distancias *Fst* pareadas.

A continuación se describen brevemente los parámetros determinados:

Diversidad nucleotídica (π), proporción de diferencias nucleotídicas entre todos los pares de secuencias tomadas al azar, ponderadas por la frecuencia de las secuencias (Nei, 1987), con base en la fórmula:

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

Donde L es el número de loci, p_i y p_j son las frecuencias de la secuencias i y j , y d_{ij} es la proporción de nucleótidos diferentes entre i y j (Excoffier *et al.*, 2005).

Sitios segregantes Theta S de Watterson (θ_S), permite estimar la variación genética basada en el número de sitios nucleotídicos polimórficos en grupo de secuencias (Watterson, 1975) y se determina con base en la siguiente fórmula:

$$\theta = \frac{S}{a_1} \quad \text{Donde:} \quad a_1 = \sum_{i=1}^{n-1} \frac{1}{i}.$$

Donde S es el número de sitios segregantes y n es el tamaño de muestra (Excoffier *et al.*, 2005).

La diversidad haplotípica (Hd), se refiere a la probabilidad de que dos haplotipos elegidos al azar sean diferentes en una muestra (Nei, 1987) y estimada con base en la fórmula:

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

Donde n es el número de copias génicas en la muestra, k es el número de haplotipos y p_i la frecuencia del haplotipo en la muestra (Excoffier *et al.*, 2005).

Valor medio de la diferencia de pares (Tajima, 1993), se refiere el número de diferencias entre todos los pares de haplotipos en una muestra, está dada por :

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

Donde d_{ij} es un estimado del número de mutaciones que han ocurrido a partir de la divergencia de haplotipos i y j , k es el número de haplotipos, π es la frecuencia del haplotipo l , y n es el tamaño de muestra.

Adicionalmente se llevó a cabo un Análisis Molecular de Varianza (AMOVA), considerando la variable de agrupación geográfica: en tierras altas se incluyeron mayas de Q.R. 1 y 2, mayas de Yucatán 1 y 2, mayas de Campeche; y en tierras bajas ch'orti, poqomchi' e itzá de Guatemala (Excoffier *et al.*, 2005).

4.0. RESULTADOS.

4.1. Frecuencias porcentuales de los haplogrupos del mtDNA en poblaciones actuales.

Se analizaron los haplogrupos mitocondriales A2, B2, C1, D1 y X2 en 43 individuos mayas contemporáneos, 26 individuos de Q.R. y 17 de Guatemala. En las poblaciones mayas actuales del estado de Quintana Roo e Itz'á de Guatemala, se identificó una alta frecuencia del haplogrupo A2 (73.07% y 94.12%, respectivamente).

Los haplogrupos B2 y C1 se presentaron en una frecuencia baja del 15.38% y 11.53% respectivamente, en mayas de Quintana Roo. Mientras que el haplogrupo B2 mostró una frecuencia menor del 5.88% en Itz'á. Ninguna de las dos poblaciones mostró los haplogrupos D1 y X2 (Tabla 1).

Con la finalidad de incrementar el número de individuos en la población maya de esta tesis, se sumaron los resultados de 72 de los 75 individuos mayas de Q. R. reportados en Pineda Vázquez, 2015.

La Tabla 2 muestra los 96 individuos mayas considerados en esta tesis, 39 fueron de Laguna Kaná, 38 de Santa María Poniente y 19 de Tulum. Se observó que la frecuencia del haplogrupo A2 fue considerablemente alta, en un rango de 71.05% a 84.61% para las tres localidades. El haplogrupo B2 presentó una frecuencia baja, la frecuencia más alta fue de 15.79% en Tulum y la menor de 5.13% en Laguna Kaná.

Tabla 1. Frecuencias de los haplogrupos mitocondriales en los individuos mayas analizados en esta tesis.

Población	n	A2		B2		C1		D1		X2		Localización
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
maya	26	19	73.07	4	15.38	3	11.53	0	0.00	0	0.00	Quintana Roo
itzá	17	16	94.12	1	5.88	0	0.00	0	0.00	0	0.00	Guatemala

El haplogrupo C1 presentó la misma frecuencia de 10.53% en Santa María Poniente y Laguna Kaná. Mientras que D1 estuvo ausente en Tulum y presentó la mayor frecuencia de 10.53% en Santa María Poniente. Cabe resaltar que los haplogrupos C1 y D1 presentaron la misma frecuencia de 10.53% en la localidad de Santa María Poniente. Tulum fue importante en el desarrollo del comercio a lo largo de la costa de la península de Yucatán en la época prehispánica. Por lo tanto, consideramos que la ausencia de D1 se debe a que el número de individuos analizados fue pequeño y no representativo. El haplogrupo X2 estuvo ausente en las 3 localidades.

Los resultados del análisis de Ji cuadrada de los individuos mayas de las tres localidades de Quintana Roo, se muestran en la Tabla 3.

Debido a que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los individuos mayas de las tres localidades, los 96 individuos se agruparon y se compararon con los individuos itzá. El valor de ji cuadrada fue de 3.11 y el de probabilidad de 0.21, lo que indicó que no son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).

Tabla 2. Frecuencias de los haplogrupos mitocondriales en individuos mayas de Quintana Roo.

Localidad	TOTAL	A2		B2		C1		D1	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Laguna Kaná	39	33	84.61	2	5.13	3	7.69	1	2.56
Santa María Poniente	38	27	71.05	3	7.89	4	10.53	4	10.53
Tulum	19	14	73.68	3	15.79	2	10.53	0	0.00
TOTAL	96	74		8		9		5	

Tabla 3. Valores de ji cuadrada y de probabilidad de las tres localidades de Quintana Roo.

	Laguna Kaná	Santa María Poniente	Tulum
Laguna Kaná	$\chi^2 = 0.00$ $p=1$	$\chi^2 = 2.73$ $p = 0.43$	$\chi^2 = 2.47$ $p = 0.47$
Santa María Poniente	$\chi^2 = 2.73$ $p = 0.43$	$\chi^2 = 0.00$ $p=1$	$\chi^2 = 2.76$ $p = 0.43$
Tulum	$\chi^2 = 2.47$ $p = 0.479$	$\chi^2 = 2.76$ $p= 0.43$	$\chi^2 = 00.0$ $p=1$

Los valores que presentan diferencias estadísticas $p \leq 0.05$

4.2. Frecuencias porcentuales de los haplogrupos del mtDNA en la población antigua.

El individuo maya prehispánico denominado entierro 15-2, se caracterizó por la presencia del haplogrupo A2. En la tabla 4 se muestran los resultados de 15 individuos antiguos de los cuáles 14 fueron analizados en González Oliver *et al.*, 2001a,b.

Tabla 4. Identificación de los haplogrupos mitocondriales en individuos mayas prehispánicos.

Entierro	Cronología ¹	Sexo ²	Edad	Haplogrupo
1	Po-Ta	F	ADULTO	A2
3	Po-Ta	NI	ADULTO	A2
8	Cl-Ta	F	ADULTO	A2
12	Cl-Ta	M	ADULTO	A2
15-2	Po-Ta	NI	ADULTO	A2
21	NI	M	ADULTO	A2/D1
23	Po-Ta	M	ADULTO	A2
24	Po-Ta	NI	NI	A2
27	Cl-Ta	NI	NI	A2
29	Po	NI	NI	NI
29-9	Po	NI	NI	A2
31	Cl-Ta	M	ADULTO	A2
32	NI	F	ADULTO	A2
33	Po-Ta	NI	NI	B2
33-2	Po-Ta	NI	ADULTO	A2

¹ En base a Con, 2004. NI = no identificado. Postclásico Tardío = Po-Ta, Clásico Tardío = Cl-Ta, Po = Postclásico.

² Sexo. F = femenino, M = masculino.

4.3. Análisis de haplotipos mitocondriales de la *HVRI* en poblaciones antiguas y actuales.

Se obtuvieron las secuencias nucleotídicas de la *HVRI* de 26 individuos mayas y de 17 itzáes, previamente analizados para los haplogrupos mitocondriales.

Dos individuos mostraron resultados confusos, en la secuencia del entierro 21 se identificaron las mutaciones características del haplogrupo D1 pero también del haplogrupo A2, lo que sugirió una contaminación de al menos dos diversas fuentes

Tabla 5. Número de repeticiones realizadas para la secuenciación de la *HVRI* en cada individuo prehispánico.

Entierro	Secuenciación 238 pb	Secuenciación 235 pb	Haplotipo
1	E1+2, E2+2	E1+2,	A2
3	E1+1, E2+2	E1+2-, E2+2	A2
8	E1+1, E2+2	E1+2, E3+1	A2
12	E1+1, E2+1	E1+1, E2+1	A2
15-2	E1+1	E1+1, E2+1	A2
21	E1+1, E2+1	E1+1	A2-D1
23	E1+2	E1+2	A2
24	E1+2	E1+2	A2
27	E1+2	E2+2	A2
29	E1-	E1+2	NI
29-9	E1+2, E2+1	E1+1, E2+1	A2
31	E1+2	E1+2	A2
32	E1+2	E2+2	A2
33	E1+2, E2+1	E3+1, E2+1	B2
33-2	E1+2	E1+2	A2

Cada extracción individual se indica con **E** y el número corresponde a las repeticiones realizadas.

El signo **+** y el número indican las amplificaciones exitosas del DNA antiguo.

modernas. Del entierro 29 sólo se logró amplificar el fragmento de 235 pb de la *HVRI*.

Por lo tanto, ambos individuos se excluyeron del análisis.

Se analizaron 119 secuencias y se identificaron 50 haplotipos que corresponden a la *HVRI* (16021-16470) de las poblaciones analizadas en este estudio (Tabla 6). Se obtuvieron los haplotipos de 63 individuos mayas de Q.R. antes analizados para los haplogrupos del mtDNA en Pineda Vázquez, 2015. La Tabla 6 indica el número total de haplotipos únicos identificados en los 89 individuos de Q.R., 17 itzáes y 13 mayas prehispánicos. También se muestran los haplotipos compartidos dentro de cada

población estudiada y entre las tres poblaciones. Por lo que 86% de los haplotipos son específicos de la población y el 14% se comparten entre las poblaciones.

La población prehispánica de Xcaret mostró un número menor de haplotipos únicos en comparación con Quintana Roo 1, así como de haplotipos compartidos dentro y entre la población.

La población actual de Quintana Roo 1 mostró el mayor número de haplotipos mientras que Itzá presentó el menor número de haplotipos. La población maya actual presentó el mayor porcentaje de haplotipos únicos por lo que sugiere que genéticamente es la más diversa, cabe aclarar que el número de individuos analizados fue mayor.

Por otra parte, los Itzáes mostraron el mayor porcentaje de haplotipos compartidos entre las poblaciones lo que indica que es la menos diversa de las poblaciones (Tabla 6).

Tabla 6. Número de haplotipos en las poblaciones mayas.

Poblaciones mayas antiguas y actuales	n	Número de haplotipos	Haplotipos únicos	Haplotipos compartidos dentro de la población	Haplotipos compartidos entre las poblaciones
Prehispánica	13	9	55.5% (5)	22.2%(2)	22.2% (2)
Actual	89	34	35.3% (14)	41.1% (18)	23.5% (2)
Itzá	17	7	42.8% (3)	14.3% (1)	42.8% (3)
Total	119	50	44% (22)	42% (21)	14% (7)

Se determinaron diversos parámetros de diversidad genética de las tres poblaciones analizadas (Tabla 7).

Tabla 7. Valores de diversidad genética en las poblaciones mayas.

Población	n	K	S	$\hat{H} \pm sd$	$\pi \pm sd$	Theta S $\theta S \pm sd$	Valor medio de las diferencias de pares $\pm sd$
Prehispánica	13	9	16	0.95 \pm 0.050	0.010 \pm 0.00	5.15 \pm 2.26	3.80 \pm 2.04
Actual	89	34	45	0.95 \pm 0.008	0.014 \pm 0.00	8.89 \pm 2.52	5.62 \pm 2.72
Itzá	17	7	19	0.79 \pm 0.017	0.01 \pm 0.00	5.62 \pm 2.30	4.95 \pm 2.53

n= tamaño de la muestra, **K**= número de haplotipos, **S**= número de sitios polimórficos; \hat{H} =diversidad haplotípica ; π = diversidad nucleotídica; **sd**= desviación estándar

4.4. Diversidad genética de los haplotipos de cada haplogrupo mitocondrial.

Se determinó la diversidad genética de los haplotipos de cada haplogrupo por separado en las tres poblaciones mayas.

En la Tabla 8 se muestran los valores de diversidad haplotípica (\hat{H}), diversidad nucleotídica (π) y valor Theta S de Watterson (θ).

Tabla 8. Parámetros moleculares por cada haplogrupo mitocondrial en las poblaciones mayas.

Población	Haplogrupo	$\hat{H} \pm sd$	$\pi \pm sd$	Theta S (θS)
prehispánica	A2	0.924±0.057	0.009±0.005	4.304±1.980
	B2	1.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000
	C1	----	----	----
	D1	----	----	----
actual	A2	0.937±0.120	0.009±0.005	6.828±2.088
	B2	0.892±0.085	0.009±0.006	3.856±1.986
	C1	0.800±0.172	0.004±0.003	1.751±1.127
	D1	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000
itzá	A2	0.766±0.083	0.009±0.005	3.616±1.610
	B2	1.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000
	C1	----	----	----
	D1	----	----	----

---- No aplica

5.0. DISCUSIÓN.

5.1. Distribución de frecuencias de haplogrupos mitocondriales en poblaciones pertenecientes a la familia lingüística mayence.

Las frecuencias de los haplogrupos mitocondriales de las poblaciones analizadas en esta tesis, se compararon con los resultados de diez poblaciones mayas de la bibliografía (Tabla 9 y Figura 8).

Las trece poblaciones indígenas incluyen 668 individuos. El haplogrupo más frecuente fue A2 (n=501, 75.00%), seguido de C1 (n= 83, 12.43%) y B2 (n= 50, 7.5%), excepto en las poblaciones prehispánica de Copán, actual de Yucatán 2, itzá, ch'orti y lacandona. Este patrón de distribución de las frecuencias de los haplogrupos A2, C1 y B2 para las poblaciones mayas, se ha reportado anteriormente en Pérez Martínez, 2013 y Pineda Vázquez, 2015.

El haplogrupo D1 es el menos frecuente en las 13 poblaciones y el X2 está ausente. Este último haplogrupo se ha identificado específicamente en Norteamérica con una distribución más frecuente en el noreste (Brown *et al.*, 1998; Bolnick *et al.*, 2003).

Las poblaciones mayas actuales y prehispánicas del sureste de México presentan los cuatro principales haplogrupos mitocondriales A2, B2, C1 y D1, a excepción de las poblaciones prehispánica de Xcaret y lacandona actual. La población lacandona se caracterizó principalmente por una alta frecuencia del haplogrupo A2 (93.02%), muy baja de C1 (1.16%) y el restante 5.86% no presentó alguno de los haplogrupos analizados A2, B2, C1, D1 y X2. Se ha propuesto que el aislamiento geográfico y la práctica endogámica de los lacandones incrementaron los efectos de la deriva génica en la distribución de los haplogrupos mitocondriales (González Oliver *et al.*, 2011).

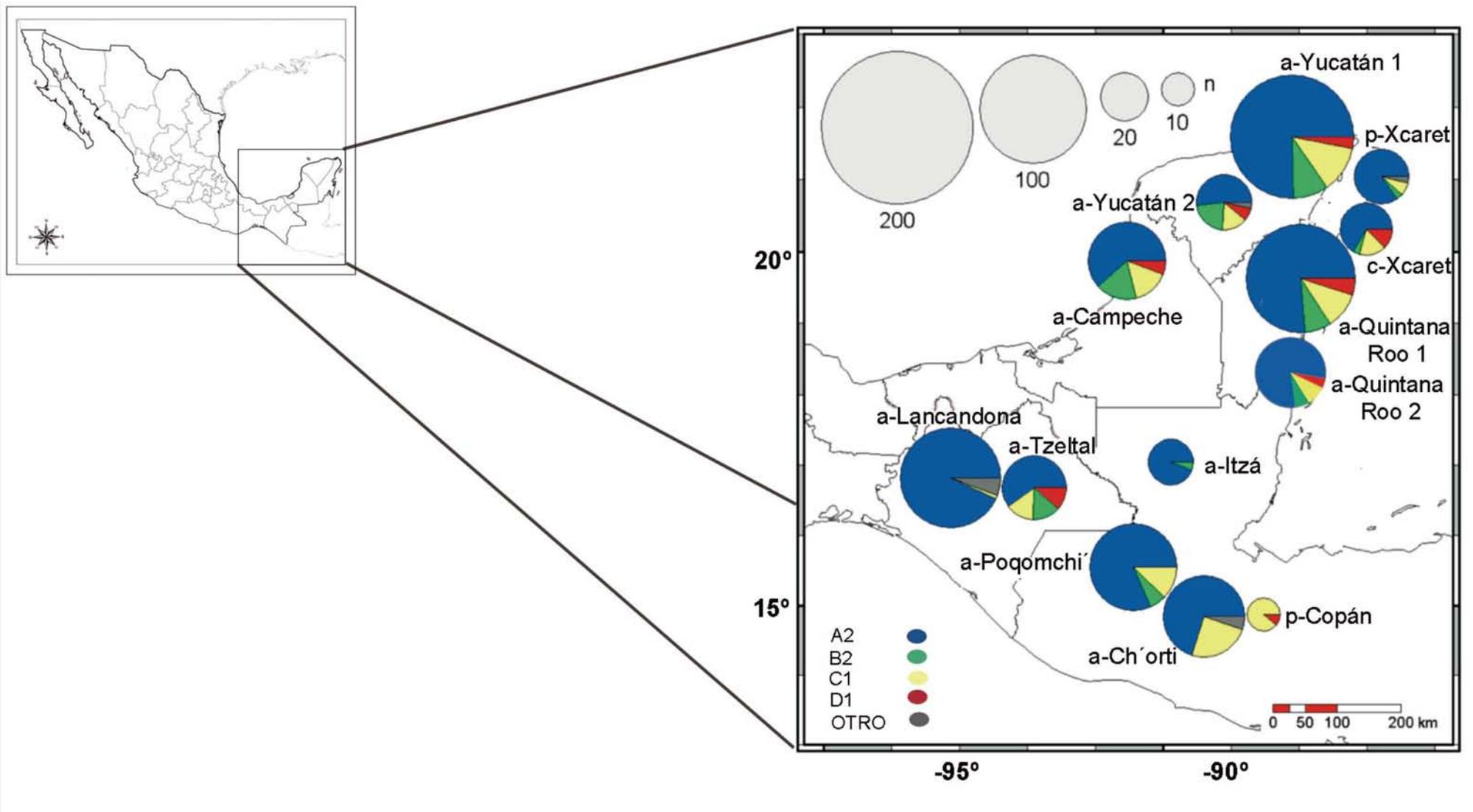
De acuerdo con la prueba de Ji cuadrada, la población lacandona muestra diferencia significativa ($p \leq 0.005$) con todas las poblaciones mayas incluidas en el análisis, a excepción de los itzáes (Tabla 10 y 11).

Tabla 9. Distribución de la frecuencia de haplogrupos mitocondriales en poblaciones mayas.

Población	Clave	n	A2	B2	C1	D1	X2	OTRO	Localización	Referencia
prehispánica	p-Xcaret	26	84.62	3.85	7.69	0.00	0.00	3.85	Xcaret, Quintana Roo	González-Oliver <i>et al.</i>, 2001a; Este estudio
maya Prehispánica	p-Copán	9	0.00	0.00	88.89	11.11	0.00	0.00	Copán, Honduras	Merriwether <i>et al.</i> , 1997
maya Colonial	c-Xcaret	24	66.67	4.1	16.67	12.50	0.00	0.00	Xcaret, Quintana Roo	De la Cruz <i>et al.</i> , 2010
maya Contemporánea-1	a-Quintana Roo 1	96	77.08	8.33	9.38	5.21	0.00	0.00	Quintana Roo	Este estudio; Pineda Vázquez , 2015
maya Contemporánea-2	a-Quintana Roo 2	44	79.55	6.82	9.09	4.55	0.00	0.00	Quintana Roo	Gorostiza, <i>et al.</i> , 2012
maya	a-Yucatán 1	130	75.38	9.23	12.31	3.08	0.00	0.00	Yucatán	Garfias Morales, 2012; Pérez Martínez, 2013
maya	a- Yucatán 2	27	51.85	22.22	14.81	7.41	0.00	3.70	Yucatán	Schurr <i>et al.</i> ,1990; Torroni <i>et al.</i> , 1992
maya	a-Campeche	52	61.54	17.31	15.38	5.77	0.00	0.00	Campeche	Sandoval <i>et al.</i> , 2009
lacandona	a-Lacandona	86	93.02	0.00	1.16	0.00	0.00	5.81	Chiapas	González Oliver <i>et al.</i> , 2011
tzeltal	a-Tzeltal	35	60.00	14.29	14.29	11.43	0.00	0.00	Chiapas	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
itzá	a-Itzá	17	94.12	5.88	0.00	0.00	0.00	0.00	Guatemala	Este estudio
maya-Ch'orti	a-Ch'orti	57	70.18	0.00	24.56	0.00	0.00	5.26	Guatemala	Justice, 2011
maya- Poqomchi'	a-Poqomchi'	65	81.54	6.15	12.31	0.00	0.00	0.00	Guatemala	Justice, 2011

Las poblaciones en negritas representan las que se analizaron en este estudio.

Figura 8. Distribución geográfica de la frecuencia de haplogrupos mitocondriales en poblaciones mayas.



Datos tomados de la Tabla 9. El número de individuos de cada población es proporcional a la circunferencia del gráfico representado (n= 200, 100, 20 10).

Este resultado concuerda con el ACP obtenido en base a las frecuencias de los haplogrupos de mtDNA, en el cuál la lejanía de los lacandones de las otras poblaciones es evidente.

El ACP de dos dimensiones muestra el 99.37% de la variación, en dónde el factor 1 (eje de las X) corresponde el 82.45% y el factor 2 (eje de las Y) el 16.92% (Figura 9). En la Tabla 12 se muestran valores propios y varianza explicada por los componentes resultantes del ACP.

Un estudio de SNPs autosómicos en 22 individuos lacandones identificó un valor alto de diferenciación de la población, con un valor F_{ST} de 0.136, los autores argumentan que este alto grado de diferenciación se debe a un largo proceso de aislamiento (Moreno-Estrada *et al.*, 2014). Sin embargo, la población tzeltal que habita en el mismo estado (Chiapas) que la lacandona, muestra una distribución de frecuencias de los haplogrupos del mtDNA muy distinto, en mayor frecuencia el A2 (60%), el B2 y C1 con la misma frecuencia (14.29%) y D1 (11.43%). Cabe resaltar que el número de individuos tzeltales analizados es mucho menor.

La población Yucatán 1, muestra un patrón de distribución de frecuencias de los haplogrupos A2, C1, B2, D1 que es distinta de Yucatán 2, A2, B2, C1, D1. El número de individuos analizados en Yucatán 1 es mayor, lo que puede influir en este resultado. En el ACP se observa que no hay proximidad génica entre éstas (Figura 9). Sin embargo, la prueba de Ji cuadrada indica que no hay diferencia significativa entre ambas poblaciones ($p=0.095$) (Tabla 11).

Por otra parte, distintas poblaciones mesoamericanas presentan un patrón de distribución de los haplogrupos mitocondriales similar al antes mencionado para Yucatán 2, en donde A2 se presenta en altas frecuencias seguido de B2 (Pérez Martínez 2013; Kemp *et al.*, 2010).

Otro estudio de poblaciones indígenas de México (mayas, mazatecos, purépechas y huicholes), coincide que el A2 y B2 son los más frecuentes y C1 y D1 los menos frecuentes (González-Martín *et al.*, 2015). Los autores mencionan que al realizar un análisis a una escala micro-regional no se observa este patrón de distribución de los haplogrupos mitocondriales, sin embargo en ese estudio no se mostraron datos del análisis realizado a nivel regional. Lo anterior puede estar directamente

relacionado con un fenómeno descrito en poblaciones humanas, como es la movilidad femenina, que está limitada a pequeñas y medianas distancias (Lippold *et al.*, 2014; González-Martín *et al.*, 2015).

5.1.1. Distribución de frecuencias de haplogrupos mitocondriales en poblaciones mayas de Quintana Roo.

Una comparación de las frecuencias mitocondriales de cada uno de los haplogrupos por separado entre tres poblaciones mayas de Quintana Roo que representan distintas temporalidades (prehispánica, colonial y actual), estudiadas en nuestro grupo de trabajo, detectó que la frecuencia del haplogrupo B2 se incrementó en cada una de las poblaciones a lo largo del tiempo. El patrón anterior no es similar para el resto de los haplogrupos.

Al comparar las frecuencias de las poblaciones prehispanicas y colonial, identificamos que la frecuencia del haplogrupo A2 disminuyó del 84.62% a 66.77%. Mientras que las frecuencias de B2, C1 y D1 aumentaron (3.85% a 4.1%), (7.69% a 16.67%), (0.00% a 12.50%) respectivamente. Cabe mencionar que el número de individuos analizados en las dos poblaciones fue muy similar, 26 individuos del periodo prehispanico y 24 del colonial. Por otra parte, al comparar las poblaciones del periodo prehispanico y actual, en términos generales identificamos que las frecuencias de los haplogrupos C1 y D1 aumentaron (7.69% a 9.38%), (0.00% a 5.21%) respectivamente. Mientras que A2 disminuyó de 84.62% a 77.08%. En general podríamos decir que existe una tendencia de incremento de los haplogrupos B2, C1, y D1, a lo largo del tiempo y por consecuencia la disminución del haplogrupo A2. Este patrón de incremento de los haplogrupos B2, C1 y D1 y de disminución de A2 se mantiene al considerar la población actual de Quintana Roo 2 de Gorostiza *et al.*, 2012 en la que se analizó un número mucho menor de individuos en comparación a la actual estudiada aquí. La comparación por Ji cuadrada de las frecuencias de los haplogrupos mitocondriales considerados en conjunto mostró que no existen diferencias

estadísticamente significativas entre las 3 poblaciones de Quintana Roo analizadas por nosotros.

El gráfico ACP de dos dimensiones de la Figura 9 mostró la cercanía genética entre la población prehispánica de Xcaret y actual de Quintana Roo 1, sin embargo la población colonial no estuvo tan cercana a éstas poblaciones. Lo anterior sugiere diferencias moderadas en el patrón de distribución de estos marcadores en el tiempo sin cambios drásticos en la constitución genética mitocondrial de la población de Xcaret durante el primer siglo posterior a la conquista española (González-Oliver *et al.*, 2011).

La población actual de Quintana Roo 2 presenta cercanía con las otras poblaciones de Quintana Roo en el gráfico (Figura 10) aún cuando incluye un número menor de individuos, pero en ambas poblaciones se analizaron individuos del municipio Felipe Carrillo Puerto. Cabe mencionar que la población Quintana Roo 1 está más relacionada con poqomchi', mientras que Quintana Roo 2 con ch'orti y ambas con Yucatán 1.

Tabla. 10. Valores de Ji cuadrada de poblaciones mayas de la península de Yucatán y Guatemala.

	p-Xcaret	p-Copán	c-Xcaret	a- Quintana Roo 1	a- Quintana Roo 2	a-Yucatán 1	a-Yucatán 2	a- Campeche	Lacandona	a- Tzeltal	a-Itzá	a- Ch'orti	a- Poqomchi'
p-Xcaret	0.000	27.780	4.596	2.673	0.378	2.219	7.999	5.747	6.560	6.489	1.477	5.294	0.543
p-Copán	27.780	0.000	15.774	39.591	29.355	37.716	17.550	23.233	80.123	20.172	26.000	21.424	36.557
c-Xcaret	4.596	15.774	0.000	3.334	2.623	5.078	3.831	3.183	24.846	1.601	5.979	9.744	8.995
a-Quintana Roo 1	2.673	39.591	3.334	0.000	0.141	1.130	6.320	75.177	18.495	4.377	3.319	13.435	4.046
a-Quintana Roo 2	0.378	29.355	2.623	0.141	0.000	0.798	5.752	4.029	14.749	3.802	2.646	9.972	2.278
a-Yucatán 1	2.219	37.716	5.078	1.130	0.798	0.000	6.360	4.064	20.798	5.641	3.486	10.995	2.712
a-Yucatán 2	7.999	17.550	3.831	6.320	5.752	6.360	0.000	0.574	37.877	0.962	8.179	18.546	11.908
a-Campeche	5.747	23.233	3.183	75.177	4.029	4.064	0.574	0.000	33.275	0.976	6.705	14.493	8.775
Lacandona	6.560	80.123	24.846	18.495	14.749	20.798	37.877	33.275	0.000	33.095	5.006	20.000	13.332
a-Tzeltal	6.489	20.172	1.601	4.377	3.802	5.641	0.962	0.976	33.095	0.000	6.944	16.104	10.595
a-Itzá	1.477	26.000	5.979	3.11	2.646	3.486	8.179	6.705	5.006	6.944	0.000	8.242	2.347
a-Ch'orti	5.294	21.424	9.744	13.435	9.972	10.995	18.546	14.493	20.000	16.104	8.242	0.000	6.492
a-Poqomchi'	0.543	36.557	8.995	4.046	2.278	2.712	11.908	8.775	13.332	10.595	2.347	6.492	0.000

Se muestran en sombreado las poblaciones analizadas en este estudio.

Tabla 11. Valores de probabilidad de poblaciones mayas de la península de Yucatán y Guatemala.

	p-Xcaret	p-Copán	c-Xcaret	a-Quintana Roo 1	a-Quintana Roo 2	a-Yucatán 1	a-Yucatán 2	a-Campeche	Lacandona	a-Tzeltal	a-Itzá	a-Ch'orti	a-Poqomchi'
p-Xcaret	1.000	0.000	0.204	0.445	0.945	0.528	0.046	0.105	0.038	0.090	0.478	0.071	0.762
p-Copán	0.000	1.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
c-Xcaret	0.204	0.001	1.000	0.410	0.453	0.166	0.280	0.364	0.000	0.659	0.113	0.021	0.029
a-Quintana Roo 1	0.445	0.000	0.410	1.000	0.987	0.770	0.097	0.000	0.000	0.224	0.190	0.004	0.257
a-Quintana Roo 2	0.945	0.000	0.453	0.987	1.000	0.850	0.124	0.258	0.002	0.284	0.449	0.019	0.964
a-Yucatán 1	0.528	0.000	0.166	0.770	0.850	1.000	0.095	0.255	0.000	0.130	0.323	0.012	0.342
a-Yucatán 2	0.046	0.001	0.280	0.097	0.124	0.095	1.000	0.902	0.000	0.811	0.042	0.000	0.008
a-Campeche	0.105	0.000	0.364	0.000	0.258	0.255	0.902	1.000	0.000	0.807	0.082	0.002	0.032
Lacandona	0.038	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.171	0.000	0.001
a-Tzeltal	0.090	0.000	0.659	0.224	0.284	0.130	0.811	0.807	0.000	1.000	0.074	0.001	0.014
a-Itzá	0.478	0.000	0.113	0.190	0.449	0.323	0.042	0.082	0.171	0.074	1.000	0.016	0.309
a-Ch'orti	0.071	0.000	0.021	0.004	0.019	0.012	0.000	0.002	0.000	0.001	0.016	1.000	0.039
a-Poqomchi'	0.762	0.000	0.029	0.257	0.964	0.438	0.008	0.032	0.001	0.014	0.309	0.039	1

Se muestran en sombreado color azul las poblaciones analizadas en este estudio. Se muestra en sombreado color verde los valores que presentan diferencias estadísticas $p \leq 0.05$

5.2. Distribución de frecuencias de haplogrupos mitocondriales en las poblaciones mayas de Guatemala.

Es claro que el haplogrupo A2 presenta la mayor frecuencia en las poblaciones del sureste de México y en la mayoría de Centroamérica (Söchtig *et al.*, 2015). Por otra parte, se ha identificado que el haplogrupo C1 está ausente en la mayor parte de Centroamérica y el haplogrupo D1 muestra una fijación en el extremo Sur del continente americano (Melton, 2008).

De acuerdo con la distribución de las poblaciones en el ACP de la Figura 9, se observa una proximidad génica entre las poblaciones de origen maya del sureste de México y de Guatemala a excepción de la población lacandona y prehispánica de Copán que solo presenta el haplogrupo C1 (88.89%) y D1 (11.11%). Probablemente esta distribución de las frecuencias se ve influenciada por el número reducido de individuos analizados ($n=9$) (Gonzalez-Oliver *et al.*, 2001). De acuerdo con la prueba de ji cuadrada, la población prehispánica de Copán es significativamente diferente a todas las poblaciones mayas incluidas en el análisis ($p \leq 0.05$) (Tabla 11). Cabe mencionar que de acuerdo a las características del sistema de enterramiento de los individuos analizados de Copán, se ha sugerido que éstos pertenecen a un estatus social alto, por lo que se cuestionó si presentan una composición génica distinta de los individuos que no son de la élite (Merriwether *et al.*, 1997).

La población maya moderna poqomchi' está caracterizada por las frecuencias de los haplogrupos A2 (81.64%), C1 (12.31%) y B2 (6.15%). Mientras que ch'orti solo por los haplogrupos A2 (70.18%) y C1 (24.56%). La ausencia del haplogrupo B2 en ch'orti y de D1 en ambas probablemente se debe a un extenso aislamiento y el efecto de la deriva génica (Justice, 2011).

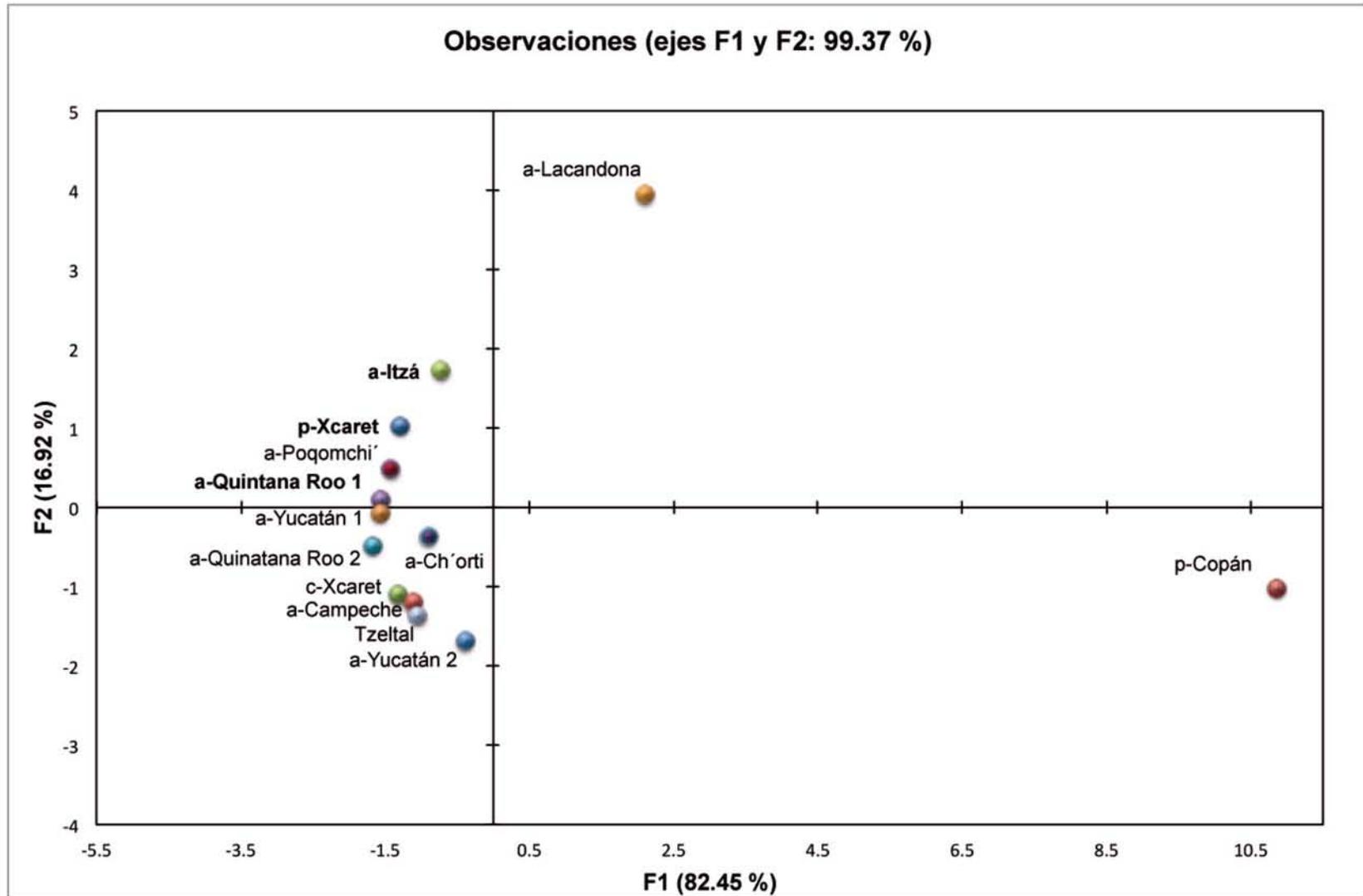
Específicamente la población ch'orti fue estadísticamente diferente de todas las poblaciones ($p \leq 0.05$) con la prueba de Ji cuadrada (Tabla 11). Los hablantes ch'orti principalmente se encuentran en la parte Este de Guatemala y en la parte Occidental de Honduras, cerca de las ruinas de Copán (Hull, 2003 citado en Justice, 2011). Los individuos ch'orti actualmente habitan en las ciudades de

Jocotán, Camotán, Olopa, San Juan Ermita, La Unión, Quetzaltepeque y Esquipulas en Guatemala. La ciudad de Jocotán fue fundada por la reubicación forzada de indios, provenientes de la región de Copán. Por lo que se sugirió que la presencia del haplogrupo C1 en la población actual ch'orti, probablemente se debe a que es descendiente de la clase prominente de Copán. Como bien se mencionó anteriormente, la población prehispánica de Copán presentaba altas frecuencias del haplogrupo C1 (Justice, 2011; Merriwether *et al.*, 1997).

El ACP (Figura 9) muestra que las poblaciones de Guatemala no están tan cercanas en el gráfico pero están genéticamente relacionadas, no así con la población de Copán.

Los itzáes presentaron una frecuencia alta del haplogrupo A2 (94.12%), en menor frecuencia el B2 (5.88%) y no mostraron C1 y D1. La presencia exclusiva de los haplogrupos A2 y B2 en los itzáes de San José puede deberse a que es una comunidad pequeña y endógama. Por lo tanto, para tener mayor claridad de su composición génica se requiere analizar un número mayor de individuos, lo que sin duda permitirá profundizar en el entendimiento del origen de este grupo que se ha sugerido esta en el Petén Guatemalteco (Caso, 2002; Hofling, 2004). La población itzá mostró más afinidad con poqomchi' que con ch'orti.

Figura 9. Gráfico de Componentes Principales de poblaciones mayas antiguas y contemporáneas, en base a la frecuencia de haplogrupos mitocondriales.



Las poblaciones analizadas en este estudio se muestran en negritas.

5.3. Análisis intrapoblacional de las poblaciones estudiadas.

Los valores de diversidad génica y el ACP basado en las distancias genéticas calculadas como valores F_{ST} de los 50 haplotipos identificados en las poblaciones estudiadas indican que la población itzá es la que muestra la menor variación genética de las poblaciones actuales y la que presenta la menor cercanía génica con las otras poblaciones mayas. Esto probablemente se explica por el aislamiento geográfico, la práctica de la endogamia y el tamaño pequeño de la población hablante de itzá que actualmente es de 70 individuos (INE, 2015), lo cual ha promovido la pérdida de los haplogrupos mitocondriales por deriva génica.

Por otra parte, se muestra que las poblaciones actual Q.R. 1 y la prehispánica están genéticamente cercanas (Figura 10, Tabla 13). Lo anterior se confirma con en las comparaciones pareadas de los valores de F_{ST} , entre las poblaciones de Xcaret y Q.R.1 que muestran el valor más bajo de F_{ST} , lo que indica una cercanía génica entre éstas poblaciones (Tabla 16). Esto sugiere una continuidad genética entre estos dos periodos de tiempo. Sin embargo, es necesario realizar el análisis de los haplotipos de la *HVRI* de la población colonial de Xcaret para tener mayor certeza del planteamiento anterior.

La extensa movilidad y el comercio a larga distancia dentro de la cultura maya y con las poblaciones de los alrededores (especialmente con los Olmecas) durante el pre-Clásico, Clásico y Posclásico promovieron un elevado flujo génico (Scherer, 2007; Ibarra-Rivera *et al.*, 2008; Regueiro *et al.*, 2013), el cual, junto con un incremento en el tamaño efectivo de la población, pudo haber ocasionado una

Tabla 12. Valores propios y varianza explicada por los componentes resultantes del ACP en base a las frecuencias de los haplogrupos del mtDNA.

	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12
Valor propio	10.718	2.200	0.048	0.020	0.009	0.003	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000
Variabilidad (%)	82.449	16.921	0.373	0.151	0.070	0.020	0.006	0.004	0.002	0.002	0.001	0.000
% acumulado	82.449	99.370	99.743	99.894	99.964	99.984	99.990	99.994	99.997	99.999	100.000	100.000

diversidad haplotípica mayor en los mayas en comparación con otros nativos americanos (Schöting *et al.*, 2015).

La población actual de Q.R.1 presentó los valores más altos de diversidad nucleotídica y de Theta S. Mientras que la prehispánica mostró el valor más bajo de Theta S y la itzá de diversidad haplotípica (Tabla 7). Las dos poblaciones de Quintana Roo presentaron una mayor diversidad génica que la itzá. Cabe mencionar que se estudió un número menor de individuos antiguos que de los actuales itzáes.

En esta tesis se detecta que las tres poblaciones estudiadas presentaron relaciones genéticas cercanas y una diversidad genética pequeña. Esta variación genética de las poblaciones mayas también ha sido observada en otros estudios con marcadores autosómicos STRs, en donde la poca variación de las poblaciones se atribuyó a la extensa actividad comercial que han mantenido entre ellas lo que ha propiciado intercambio genético entre éstas (Ibarra-Rivera *et al.*, 2008).

5.4. Diversidad molecular de cada uno de los haplogrupos mitocondriales en base a los haplotipos.

El haplogrupo A2 fue el más frecuente en las poblaciones analizadas en esta tesis. Sin embargo, al considerar los haplotipos de cada haplogrupo por separado encontramos que el haplogrupo B2 es el más diverso en la prehispánica y en la actual de itzá, cabe mencionar que solamente se estudiaron 15 de los 25 individuos prehispánicos de Xcaret anteriormente analizados en González Oliver, 2001. En la población Quintana Roo 1, el haplogrupo A2 mostró la mayor diversidad haplotípica (\hat{H}) con el valor mas alto de theta S (θS). Por otra parte, en términos generales la diversidad nucleotídica (π) no presentó diferencias considerables entre los haplogrupos A2 y B2 entre las tres poblaciones.

Las estimaciones de diversidad genética en los haplogrupos puede variar cuando se analice un mayor número de individuos de las poblaciones. La diversidad génica también puede afectarse por los eventos demográficos e históricos de cada

población. En otro estudio se reportó que el haplogrupo A presentaba la mayor diversidad genética, mientras que D mostraba la menor variación (Pineda Vázquez, 2015).

5.5. Variabilidad genética intrapoblacional entre siete poblaciones mayas.

En el análisis de la *HVRI* se incluyeron siete poblaciones citadas en la bibliografía. En las 334 secuencias analizadas que pertenecen a alguno de los haplogrupos del mtDNA (A2, B2, C1 y D1) se identificaron 147 haplotipos en las 7 poblaciones. El 41.5% de todos los haplotipos son únicos, mientras que el 26.5% son compartidos por los individuos dentro de las poblaciones (Tabla 14). Por lo tanto, el 68% de los haplotipos son específicos de cada población y el 27.2% son compartidos entre las poblaciones.

La población que comparte el mayor número de haplotipos dentro de la población es Quintana Roo 1 (41.1.%), mientras que la menor es Quintana Roo 2 (11%).

Sin embargo, ésta población presenta el mayor porcentaje de haplotipos compartidos entre las poblaciones (50%).

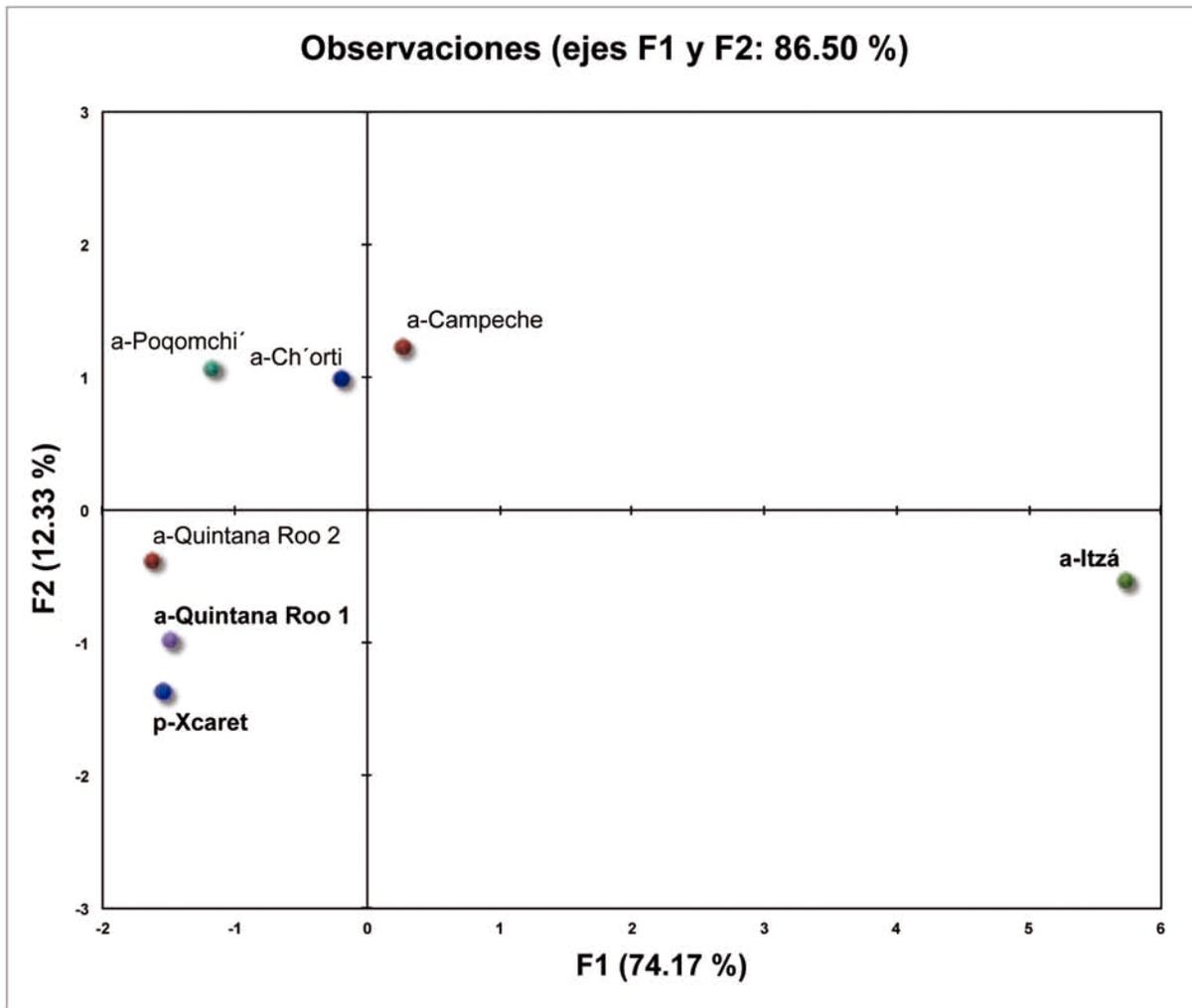
En la Tabla 15 se muestra el número de haplotipos compartidos entre las poblaciones mayas. Se observa que todas las poblaciones mayas comparten haplotipos, algunas en mayor proporción que otras. De acuerdo con un estudio reciente de la historia demográfica de poblaciones mayas, se sugirió que la intensa red de comercio estimuló la migración y el contacto entre grupos humanos dentro y entre áreas culturales; esto es un factor que puede explicar mayormente la estructura génica en Mesoamérica expresada en una homogeneidad genética en el área Maya (González-Martín *et al.*, 2015).

De acuerdo con el ACP (Figura 10), las poblaciones actuales de Quintana Roo (Q.R.1 y Q.R.2) y la prehispánica de Xcaret muestran una esperada cercanía génica, así como las poblaciones ch'orti y poqomchi'. Basado en un estudio de mtDNA, se reportó flujo génico entre estas poblaciones. Sin embargo estudios del

cromosoma Y indican una mayor variabilidad en la composición de la población ch'orti ya que presentó mezcla europea y africana (Justice, 2011).

En el ACP la población itzá se ubicó lejana a todas ellas lo que se explica por el pequeño número de individuos y la práctica de endogamia. En la Tabla 13 se muestran los valores propios y varianza explicada por los componentes resultantes del ACP.

Figura 10. Gráfico de Componentes Principales de poblaciones mayas antiguas y contemporáneas, en base a la distancia génica F_{ST} de Tajima y Nei.



Por otra parte, la población de Campeche está más relacionada con las poblaciones de Guatemala. Esta cercanía puede deberse a una ancestría común y/o un proceso de flujo génico reciente (Gorostiza *et al.*, 2012). De acuerdo con evidencia demográfica, en 1984 se registró una migración de población guatemalteca hacia el estado de Campeche; posteriormente, en 1998 una gran parte de esta población regresó a su país de origen. Esto es congruente con los datos de las principales lenguas, donde las de origen guatemalteco registraron crecimientos bajos o negativos (INEGI, 2005).

De acuerdo con los valores de diversidad molecular, los de diversidad haplotípica fueron altos y similares entre las poblaciones mayas (Tabla 16). El valor más alto de diversidad haplotípica lo presentó Quintana Roo 1 ($\hat{H} = 0.95 \pm 0.008$) y el más bajo a-Itzá ($\hat{H} = 0.79 \pm 0.078$), lo que sugiere que la población actual de Quintana Roo 1 es la más diversa. Por otra parte, los valores de diversidad nucleotídica (π) fueron parecidos entre las poblaciones. Las poblaciones actuales de Campeche ($\pi = 0.0160 \pm 0.008$) y ch'orti ($\pi = 0.0155 \pm 0.008$) mostraron los valores más altos de π y la población prehispánica de Xcaret el más bajo ($\pi = 0.0100 \pm 0.006$). El valor de Theta S (θ_S) más alto lo presentó la población a-Poqomchi' ($\theta_S = 9.27 \pm 2.762$) y Quintana Roo 1 ($\theta_S = 8.89 \pm 2.5289$) y el más bajo p-Xcaret ($\theta_S = 5.15 \pm 2.268$).

Tabla 13. Valores propios y varianza explicada por los componentes resultantes del ACP en base a distancias F_{ST} de la *RHVI*.

	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Valor propio	5.934	0.986	0.784	0.284	0.012	0.001
Variabilidad (%)	74.171	12.326	9.798	3.545	0.146	0.014
% acumulado	74.171	86.498	96.295	99.841	99.986	100.000

En base a lo anterior la población actual de Quintana Roo 1 es la más diversa de México mientras que la población antigua de Xcaret la menos diversa, al igual que la población itzá es la menos diversa de Guatemala, aunque es necesario aclarar que de ambas poblaciones se estudiaron pocos individuos y la diversidad puede cambiar al incrementar el número.

En términos generales las poblaciones mayas aquí estudiadas presentan una diversidad génica similar. Lo anterior coincide con los valores bajos de distancias génicas de Tajima y Nei (1987) en la mayoría de las poblaciones mayas (Tabla 17). A excepción de los itzáes, quienes presentan los valores más elevados de F_{ST} en comparación con las otras poblaciones, sugiriendo menor flujo génico entre éstas.

Tabla 14. Número de haplotipos en las poblaciones mayas.

Poblaciones mayas antiguas y actuales	n	Número de haplotipos	Haplotipos únicos	Haplotipos compartidos dentro de la población	Haplotipos compartidos entre las poblaciones
p-Xcaret	13	9	44.44% (4)	11.11%(1)	44.44% (4)
a- Qunitana Roo 1	89	34	35.3% (12)	41.1% (14)	23.5% (8)
a- Quintana Roo 2	44	18	39% (7)	11% (2)	50% (9)
a-Campeche	52	19	21% (4)	42.1%(8)	37% (7)
a-Ch'orti	54	26	54%(14)	19.2%(5)	27% (7)
a-Poqomchi'	65	34	50%(17)	23.5% (8)	26.5% (9)
a-Itzá	17	7	42.8%(3)	14.3%(1)	42.8% (3)
Total	334	147	41.5%(61)	26.5% (39)	27.2% (47)

Tabla 15. Número de haplotipos compartidos entre las poblaciones mayas.

	p-Xcaret	a-Quintana Roo 1	a-Quintana Roo 2	a-Campeche	a-Ch'orti	a-Itzá	a-Poqomchi
p-Xcaret	--	1	2	1	1	2	2
a-Quintana Roo 1	1	--	7	4	3	2	4
a-Quintana Roo 2	2	7	--	4	3	2	3
a-Campeche	1	4	4	--	3	2	4
a-Ch'orti	1	3	3	3	--	2	5
a-Itzá	2	2	2	2	2	--	2
a-Poqomchi'	2	4	3	4	5	2	--

Las poblaciones analizadas en este estudio se muestran en negritas.

Tabla 16. Índices de diversidad molecular correspondientes a la *RHVI* (16021-16400) en poblaciones mayas.

Población	n	K	S	$\hat{H} \pm sd$	$\pi \pm sd$	Theta S (θS)	Valor medio de las diferencias de pares
p-Xcaret	13	9	16	0.93±0.050	0.0100±0.006	5.15±2.268	3.80±2.045
a- Quintana Roo 1	89	34	45	0.95±0.008	0.0147±0.007	8.89±2.528	5.62±2.723
a- Quintana Roo 2	44	18	28	0.90±0.028	0.0115±0.006	6.43±2.152	4.37±2.200
a-Campeche	52	19	28	0.92±0.020	0.0160±0.008	6.19±2.025	6.10±2.950
a-Ch'orti	54	26	35	0.93±0.018	0.0155±0.008	7.68±2.418	5.89±2.859
a-Poqomchi'	65	34	44	0.94±0.017	0.0132±0.007	9.27±2.762	5.04±2.481
a-Itzá	17	7	19	0.79±0.078	0.0130±0.007	5.62±2.303	4.95±2.536

n=número de muestra, K= número de haplotipos, S=número de sitios polimórficos, \hat{H} = diversidad haplotípica, π =diversidad nucleotídica, θS = número promedio de diferencias pareadas entre secuencias, sd= desviación estándar

Tabla 17. Matriz de distancias F_{ST} de Tajima y Nei (1984) de la *RHVI*.

	p-Xcaret	a-Quintana Roo 1	a-Quintana Roo 2	a-Campeche	a-Ch'orti	a-Itzá	a-Poqomchi
p-Xcaret	0						
a-Quintana Roo 1	0.0011	0					
a-Quintana Roo 2	0.0054	0.0020	0				
a-Campeche	0.0692	0.0689	0.0699	0			
a-Ch'orti	0.0681	0.0446	0.0377	0.0963	0		
a-Itzá	0.1408	0.1317	0.1585	0.2048	0.1707	0	
a-Poqomchi'	0.0029	0.0134	0.0025	0.0581	0.0350	0.1486	0

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

4.6. Estructura genética en poblaciones mayas.

Se llevó a cabo un AMOVA para identificar una estructura poblacional, en base a su ubicación geográfica en Tierras Altas (itzá, ch'orti y Poqomchi') y Tierras Bajas (p-Xcaret, Q.R.1, Q.R.2 y a-Campeche).

El análisis sugiere poca variación dentro de grupos (-0.44%) y entre poblaciones dentro de grupos (5.98%). La mayor variación observada fue dentro de poblaciones (94.46%). El valor negativo del porcentaje de variación dentro de grupos y los valores bajos de los índices de fijación de $F_{sc} = 0.05952$ dentro de grupos, $F_{st} = 0.05540$ entre poblaciones dentro de grupos y $F_{CT} = -0.00438$ dentro de poblaciones, (Tabla 18) indican la ausencia de una estructura poblacional entre los dos grupos. El valor del porcentaje de variación dentro de las poblaciones obtenido aquí es más bajo que el reportado para otras poblaciones de México utilizando un criterio similar geográfico-cultural en el AMOVA (Justice, 2011; Pérez Martínez, 2014; Pineda Vázquez, 2015).

El AMOVA muestra que no existen diferencias genéticas significativas entre las poblaciones mayas de las tierras bajas y altas, lo que puede deberse al elevado flujo génico por vía materna entre grupos de la región. Otro estudio basado en características dentales morfológicas, también propuso que no hay distinciones entre los mayas de las tierras altas (Chicoasen) y bajas (Cobá, Playa del Carmen, San Gervasio-Cozumel y Tulum) (Ragsdale, 2015).

Se ha propuesto que el intenso intercambio comercial, principalmente entre el periodo Clásico y Posclásico tuvo un papel imprescindible en la movilidad de la población, generando afinidades biológicas entre éstas poblaciones (Ortega, 2013)

Tabla 18. AMOVA basado en distribución geográfica de poblaciones mayas en base a la *RHVI*.

Grupo	Poblaciones		Componentes de la varianza	Porcentaje de variación	Indices de fijación	<i>p</i>
Tierras bajas	p-Xcaret	Entre grupos	-0.01	-0.44	$F_{Sc} = 0.05952$	0.0000*
	a-Quintana Roo 1 a-Quintana Roo 2 a-Campeche	Entre poblaciones dentro grupos	0.16	5.98	$F_{St} = 0.05540$	0.0000*
Tierras altas	a-Itzá a-Ch'orti a-Poqomchi'	Dentro poblaciones	2.68	94.46	$F_{CT} = -0.00438$	0.36755

En negritas se muestran las poblaciones analizadas en este estudio. *Nivel de significación $p < 0.05$.

5.7. Componente genético “no nativo” en poblaciones mayas.

En las poblaciones mayas actuales de Yucatán 2, lacandona, ch'orti y en la población maya antigua de Xcaret existen individuos que están reportados con el nombre de otro en la Tabla 9. Los 5 individuos lacandonos, 1 de Yucatán 2 y el individuo maya prehispánico deben explorarse para el haplogrupo X2 con la finalidad de completar el análisis de los haplogrupos mitocondriales. Por otra parte, los 3 individuos ch'orti no presentaron ninguno de los cinco haplogrupos del mtDNA y estos representan mezcla no nativa americana.

Los españoles invadieron el área ch'orti en 1524 y la región estaba habitada por aproximadamente 120,000 mayas. Eventualmente, los españoles derrotaron a los indígenas, los despojaron de sus tierras y los esclavizaron. La guerra y las enfermedades que trajeron los españoles ocasionaron un drástico descenso de la población que disminuyó hasta un 90% en algunos lugares de la región ch'orti. Los individuos que sobrevivieron fueron reubicados en Guatemala, Honduras y El Salvador. Los europeos y ladinos (hablantes de español antiguo) fueron principalmente ubicados en las ciudades y a lo largo de las rutas de comercio.

La región ch'orti estuvo relacionada con dos principales rutas de comercio y por ende fue importante para los españoles. La cosecha de indigo, azúcar tabaco entre otras, así como la minería atrajo a colonos al área. Las mejores tierras de cultivo fueron otorgadas a ladinos y europeos en lugar de los indígenas. Debido a la rápida disminución de la población indígena y al establecimiento de los españoles comenzaron a traer esclavos africanos a Mesoamérica en las primeras décadas del periodo de la conquista. Los indios encontraron refugio en las haciendas y pueblos del proceso de ladinización, de la explotación, del abuso sexual del hombre ladino con la mujer ch'orti, en esos lugares hubo un mestizaje biológico y cultural entre indios, africanos y europeos. La población ch'orti exhibe mezcla de origen africano y europeo tanto por vía materna como paterna pero es más significativo el mestizaje por vía paterna, ya que la mayoría de los europeos que llegaron fueron hombres. La población ch'orti presentó los haplogrupos europeos I, J y E, este último está presente en el Mediterráneo como en la parte oriental de África (Justice, 2011).

En un estudio reciente del análisis del mtDNA en una población maya de 40 individuos del estado de Yucatán (González-Martín *et al.*, 2015) se identificó que el 2.44% de la población

presentaba haplogrupos africanos. La pequeña fracción de mezcla africana encontrada indicó flujo génico materno posterior a la conquista de América que involucró mujeres de origen africano y hombres indígenas.

El registro histórico menciona que los españoles reorganizaron las comunidades indígenas nativas en congregaciones, propiciando flujo génico entre los indígenas de distintos grupos culturales. Los españoles interactuaron con diferente intensidad en distintas comunidades indígenas, con algunas tuvieron un menor contacto. El flujo génico que mantuvieron los españoles y los esclavos africanos con las poblaciones indígenas nativas de México introdujo nuevas variantes génicas y la magnitud del impacto varió de acuerdo a las poblaciones y su ubicación (Mata-Míguez *et al.*, 2015).

6.0 CONCLUSIONES.

Las poblaciones antigua y actual del estado de Quintana Roo presentan tres de los haplogrupos mitocondriales con el siguiente patrón de distribución A2, C1 y B2, similar al de otras poblaciones de origen maya de México y Guatemala.

La población itzá está caracterizada principalmente por el haplogrupo A2, de manera similar a la población lacandona. Este haplogrupo es el más frecuente en las poblaciones de México.

El haplogrupo A2 es el más frecuente en las tres poblaciones mayas analizadas y presenta la mayor diversidad genética de los cuatro haplogrupos mitocondriales.

Los haplogrupos A2, B2, C1 y D1 fueron identificados en mayas actuales de las localidades de Laguna Kaná y Santa María Poniente del estado de Quintana Roo.

El haplogrupo X2 estuvo ausente en mayas actuales de Quintana Roo e itzá de Guatemala.

Los resultados de los ACPs basados en las distancias genéticas (F_{ST}) de los haplotipos y haplogrupos y los valores de diversidad genética sugieren que la población itzá es la menos diversa de las poblaciones actuales y la que menor relación genética presenta con otras poblaciones mayas probablemente debido a que se encuentra geográficamente aislada, practica endogamia y es una población muy pequeña.

La población actual de Quintana Roo estudiada aquí es la más diversa genéticamente y presenta una cercanía genética estrecha con la población prehispánica de Xcaret, Quintana Roo lo que apoya una continuidad genética por vía materna a lo largo del tiempo y que la conquista española no tuvo un impacto considerable en estos marcadores mitocondriales. Esta hipótesis debe considerarse con precaución debido a que se analizaron solamente 15 individuos prehispánicos.

Los resultados de los ACPs de los haplotipos y haplogrupos, de Ji cuadrada y AMOVA indican que no existen diferencias genéticas significativas entre las poblaciones mayas de las Tierras bajas y altas, lo que se debe al elevado flujo génico entre grupos de la región.

Los resultados de diversidad genética indican que existe poca variación génica entre las poblaciones mayas de la península de Yucatán y que estas son un grupo cultural homogéneo en comparación con otras poblaciones de Mesoamérica como son las nahuas.

Las poblaciones indígenas del continente americano han atravesado por diversos eventos históricos y demográficos que han influido en la composición genética de las poblaciones a nivel regional.

7.0. BIBLIOGRAFÍA.

- Alejos García, J. (2009). Los itzáes y el discurso conservacionista. *Estudios de La Cultura Maya*, vol. 33, pp.161–77, Centro de Estudios Mayas, México
- Anderson, S., Bankier, A., Barrell, B., De Bruijn, M., Coulson, A., Drouin, J., Eperon, I., Nierlich, D., Roe, B., Sanger, F., Schreier, P., Smith, A., Staden, R., Young, I. G. (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 290(1), pp. 457–461.
- Andrews IV, E. (1965). Archeology and Prehistory in the Northern Maya Lowlands, en *Archeology of Southern Mesoamerica: Handbook of Middle American Indias*, Columen 2, pp. 288-330, University of Texas Press, Austin.
- Chatters J C., Kennett J., Asmerom Y., Kemp B., Polyak V., Nava B., Beddows A., Reinhardt E., Arroyo- Cabrales J., Bolnick A., Malhi S., Culleton J., Luna E., Rissolo D., Morell-Hart S., Stafford W. (2014). Late Pleistocene Human Skeleton and mtDNA Link Paleoamericans and Modern Native Americans *Science*, 344 (6185), pp. 750-754.
- Andrews, R., Kubacka, I., Chinnery, P., Lightowers, R., Turnbull, D., Howell, N. (1999). Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nature Genetics*, 23(2), pp.147.
- Benavides Antonio, Manzanilla Linda, Mirambell Lorena, Livtak King Jaime, (2004) Costumbres funerarias en Xcaret, Quintana Roo, En Homenaje a Jaime Livtak, Instituto Nacional de Antropología e Historia/ Instituto de Investigaciones Antropológicas-UNAM.
- Bolnick, D., y Smith, D. G. (2003). Unexpected Patterns of Mitochondrial DNA Variation among Native Americans from the Southeastern United States. *American Journal of Physical Anthropology*, 122(January), 336–354.
- Briggs, A., Good, J., Green, R., Krause, J., Stenzel, U., Lalueza-fox, C., Rudan, P., Brajković, D., Kučan, Ž., Rasilla, M., Fordea, J., Rosas, A., Pääbo, S. (2009). Five Neandertal mtDNA Genomes. *Science*, 325 (July), pp. 318–321.
- Brown, M. D., Hosseini, S., Torroni, A., Bandelt, H., Allen, J., Schurr, T., Scozzari, R Cruciani, F., Wallace, D. (1998). mtDNA haplogroup X: An ancient link between Europe/Western Asia and North America? *American Journal of Human Genetics*, 63(6), pp. 1852–61.
- Butler, J. (2012). *Advanced Topics in Forensic DNA typing*. Maryland, USA: National Institute of Standards and Technology.
- Caballero, A., Quesada, H., Rolán-Alvarez E. (2008). Impact of Amplified Fragment Length Polymorphism Size Homoplasmy on the Estimation of Population Genetic Diversity and he Detection of Selective Loci. *Genetics*, 179(1), 539–554.

- Caso Barrera, L. (2002). *Caminos en la selva: migración, comercio y resistencia, mayas yucatecos e itzáes, siglos XVII-XIX*. El Colegio de México.
- Cavalli-Sforza, L. L., Menozzi, P., Piazza, A. (1994). *The History and Geography of Human Genes. The History and Geography of Human Genes* (1ed ed.). Reino Unido: Princenton University Press.
- Cooper, A., Poinar, H. (2000). Ancient DNA: do it right or not at all. *Science*, 289(5482), 1139–1139.
- Con María José, (1986) Proyecto Xcaret. Informe de la Primera Temporada, agosto-diciembre. Archivo del Consejo de Arqueología, INAH, México.
- Con María José, (1989) Proyecto Xcaret. Informe de la Primera Temporada, septiembre-diciembre. Archivo del Consejo de Arqueología, INAH, México.
- Con María José, (1991) Proyecto Xcaret, Informe de la Cuarta y Quinta Temporadas, julio-diciembre, y febrero y abril. Archivo del Consejo de Arqueología, INAH, México.
- Con María José, (1994) Proyecto Xcaret, Informe de la Sexta Temporada, junio-diciembre. Archivo del Consejo de Arqueología, INAH, México.
- Cooper, A., Lalueza-fox, C., Anderson, S., Rambaut, A., Austin, J., Ward, R. (2001). Complete mitochondrial genome sequences of two extinct moas clarify ratite evolution. *Nature*, 409, 704–707.
- Cucina, A., Price, T. D., Magaña Peralta, E., & Sierra Sosa, T. (2015). Crossing the peninsula: The role of Noh Bec, Yucatán, in ancient Maya Classic Period population dynamics from an analysis of dental morphology and Sr isotopes. *American Journal of Human Biology*, (27), 767–778.
- Cucina, Andrea (2015), "Population Dynamics During the Classic and Postclassic Period Maya in the Northern Maya Lowlands: the Analysis of Dental Morphological Traits", en: Cucina, Andrea, *Archaeology and Bioarchaeology of Population Movement Among the Prehispanic Maya*, Springer, New York, pp. 71-83.
- Cucina Andrea, (2013), Afinidades biológicas y dinámicas poblacionales entre los antuos mayas. Una visión multidisciplinaria, Universidad Autónoma de Yucatán Mérida, Yucatán, México 2013, pp. 155-165.
- Cucina, Andrea y Allan Ortega Muñoz (2014), "Afinidades biológicas de la población de Oxtankah en el ámbito regional de la península de Yucatán durante el periodo Clásico", *Estudios de Cultura Maya*, XLIV(otoño-invierno): 59-84

- De la Cruz, I., González-Oliver, A., Kemp, B., Román, J., Smith, D., & Torre-Blanco, A. (2008). Sex identification of children sacrificed to the ancient Aztec rain gods in Tlatelolco. *American Journal of Physical Anthropology*, 49(3), 519–526.
- De la Cruz Laina, I., González Oliver, A., Márquez Morfón, 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. In J. C. Jiménez López, C. Serrano Sánchez, A. González González, & F. J. Aguilar Arellano (Eds.), *III Simposio Internacional El hombre temprano en América* (pp. 103–109). México, D.F.: Instituto Nacional de Antropología e Historia, Instituto de Investigaciones Antropológicas, UNAM, Museo del Desierto.
- Drancourt, M., Aboudharam, G., Signoli, M., Dutour, O., & Raoult, D. (1998). Detection of 400-year-old *Yersinia pestis* DNA in human dental pulp: An approach to the diagnosis of ancient septicemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 95(21), pp. 12637–12640.
- Endicott, P., Metspalu, M., Stringer, C., Macaulay, V., Cooper, A., & Sanchez, J. J. (2006). Multiplexed SNP Typing of Ancient DNA Clarifies the Origin of Andaman mtDNA Haplogroups amongst South Asian Tribal Populations. *PLoS ONE*, 1(1), pp. 1–8.
- Ermini, L., Der Sarkissian, C., Willerslev, E., & Orlando, L. (2014). Major transitions in human evolution revisited: A tribute to ancient DNA. *Journal of Human Evolution*, 79, 4–20. doi:10.1016/j.jhevol.2014.06.015
- Excoffier, L., Laval, G., & Schneider, S. (2005). Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1, 47–50.
- Garfias Morales, E. (2012). *Análisis de los Linajes Fundadores del DNA mitocondrial en cuatro poblaciones indígenas de México*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Gilbert, T., Bandelt, H. J., Hofreiter, M., & Barnes, I. (2005). Assessing ancient DNA studies. *Trends in Ecology and Evolution*, 20(10), 541–544. doi:10.1016/j.tree.2005.07.005
- Gilbert, T., Wilson, A. S., Bunce, M., Hansen, A. J., Willerslev, E., Shapiro, B., Higham, T., Richards, M., O'Connell, T., Tobin, D., Janaway, R., Cooper, A. (2004). Ancient mitochondrial DNA from hair. *Current Biology*, 14, 463–464. doi:10.1016/j.cub.2004.06.008.
- González-Martín, A., Gorostiza, A., Rangel-Villalobos, H., Acuña, V., Barrot, C., Sánchez, C., Calderón, R. (2008). Analyzing the genetic structure of the Tepehua in relation to other neighbouring Mesoamerican populations. A study based on allele frequencies of STR markers. *American Journal of Human Biology: The Official Journal of the Human Biology Council*, 20(5), pp. 605–13.

- González-Martín, A., Gorostiza, A., Regalado-Liu, L., Arroyo-Peña, S., Tirado, S., Nuño-Arana, I., Rangel-Villalobos, H. (2015). Demographic History of Indigenous Populations in Mesoamerica Based on mtDNA Sequence Data. *Plos One*, 10(8), pp. 1-24.
- González-Oliver, A., Márquez-Morfín, L., Jiménez, J. C., & Torre-Blanco, A. (2001a). Founding Amerindian mitochondrial DNA lineages in ancient Maya from Xcaret, Quintana Roo. *American Journal of Physical Anthropology*, 116(3), 230–235.
- González Oliver, A. (2001b). *Análisis de los linajes Fundadores del DNA Mitocondrial en los restos óseos de Pobladores prehispánicos del sitio maya de Xcaret, Quintana Roo*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- González-Oliver, A., Bravo López, M., Pineda Vázquez, D., Ortega Muñoz, A., Márquez morfín, L., Torre-Blanco, A. (2015). Panorama genético de las poblaciones mayas: un estudio del ADN mitocondrial. *Revista Argentina de Antropología Biológica*. Enviado.
- Gorostiza, A., Acunha-Alonzo, V., Regalado-Liu, L., Tirado, S., Granados, J., Sámano, D., Rangel-Villalobos, H., González-Martín, A. (2012). Reconstructing the History of Mesoamerican Populations through the Study of the Mitochondrial DNA Control Region. *PLoS ONE*, 7(9), e44666. doi:10.1371/journal.pone.0044666.
- Guardado-Estrada, M., Juárez-Torres, E., Medina-Martínez, I., Wegier, A., Macías, A., Gomez, G., Cruz-Talonia, F., Roman-Bassaure, E., Piñero, D., Kofman-Alfaro, S., Berumen, J. (2009). A great diversity of Amerindian mitochondrial DNA ancestry is present in the Mexican mestizo population. *Journal of Human Genetics*, 54(12), pp. 695–705.
- Hagelberg, E., Sykes, B., & Hedges, R. (1989). Ancient bone DNA amplified. *Nature*, 342 no. 62, pp. 485.
- Hammond Norman, (1982). *Ancient Maya Civilization*. Cambridge University Press, Londres
- Handt, O., Höss, M., Krings, M., & Svante, P. (1994). Ancient DNA: methodological challenges. *Experientia*, 50(6), pp. 524–529.
- Hebsgaard, M., Phillips, M. J., & Willerslev, E. (2005). Geologically ancient DNA: Fact or artefact? *Trends in Microbiology*, 13(5), pp. 212–220.
- Hernández, C., Reales, G., Dugoujon, J., Novelletto, A., Rodríguez, J., Cuesta, P., & Calderón, R. (2014). Human maternal heritage in Andalusia (Spain): its composition reveals high internal complexity and distinctive influences of mtDNA haplogroups U6 and L in the western and eastern side of region. *BMC Genet*, 15(1), pp. 1–16.
- Herrera, R., Rojas, D., & Terreros, M. (2007). Polymorphic Alu Insertions and Genetic Diversity Among African Populations. *Journal of Human Genetics*, 52(2), pp. 129–142.

- Hofling, C. (2004). Language and cultural contacts among Yukatekan Mayans. *Collegium Antropologicum*, 28 Suppl 1, pp. 241–248.
- Hofreiter, M., Jaenicke, V., Serre, D., Haeseler Av, a, & Pääbo, S. (2001). DNA sequences from multiple amplifications reveal artifacts induced by cytosine deamination in ancient DNA. *Nucleic Acids Research*, 29(23), pp. 4793–4799.
- Holland, M., Fisher, D., Mitchell, L., Rodriguez, W., Canik, J., Merril, C., & Weedn, V. (1993). Mitochondrial DNA sequence analysis of human skeletal remains: identification of remains from the Vietnam War. *Journal of Forensic Sciences*, 38(3), pp. 542–553.
- Horsburgh, K. (2015). Molecular anthropology: the judicial use of genetic data in archaeology. *Journal of Archaeological Science*, 56, pp. 141–145.
- Ibarra-Rivera, L., Mirabal, S., Regueiro, M. & Herrera, R. (2008). Delineating Genetic Relationships Among the Maya. *American Journal of Physical Anthropology*, 135, pp. 329–347.
- Informe sobre Desarrollo Humano de los Pueblos Indígenas en México. El reto de la desigualdad de oportunidades. (2010). Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo.
- Ingman, M., & Gyllensten, U. (2003). Mitochondrial genome variation and evolutionary history of Australian and New Guinean aborigines. *Genome Research*, 13(7), pp. 1600–6.
- Irwin, J., Saunier, J., Niederstätter, H., Strouss, K., Sturk, K., Diegoli, T., Parsons, T. (2009). Investigation of heteroplasmy in the human mitochondrial DNA control region: A synthesis of observations from more than 5000 global population samples. *Journal of Molecular Evolution*, 68(5), pp. 516–527.
- Just, R. S., Irwin, J. A., & Parson, W. (2015). Mitochondrial DNA heteroplasmy in the emerging field of massively parallel sequencing. *Forensic Science International: Genetics*, 18, pp. 131–139.
- Justice, A. (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.
- Kemp, B., González-Oliver, A., Malhi, R., Monroe, C., Schroeder, K., McDonough, J., Rhatt, G., Resendéz, A., Peñaloza-Espinosa, R., Buentello-Malo, L., Gorodesky, C., Smith, D. (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), pp. 6759–6764.

- Kemp, B., Monroe, C., & Smith, D. (2006). Repeat silica extraction: a simple technique for the removal of PCR inhibitors from DNA extracts. *Journal of Archaeological Science*, 33(12), pp. 1680–1689.
- Kemp, B. & Schurr, T. (2010). Ancient and Modern Genetic Variation in the Americas. In B. Auerbach (Ed.), *Human Variation in the Americas*. Center for Archaeological Investigations, pp. 12–50.
- Kemp, B. & Smith, D. (2005). Use of bleach to eliminate contaminating DNA from the surface of bones and teeth. *Forensic Science International*, 154(1), pp. 53–61.
- Knapp, M., Lalueza-Fox, C., & Hofreiter, M. (2015). Re-inventing ancient human DNA. *Investigative Genetics*, 6(1), pp. 1–11.
- Krajewski, C., Buckley, L., & Westerman, M. (1997). DNA phylogeny of the marsupial wolf resolved. *Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society*, 264(1383), pp. 911–917.
- Krause, J., Orlando, L., Serre, D., Viola, B., Prüfer, K., Richards, M., Hublin, J., Hänni, C., Derevianko, A., Pääbo, S. (2007). Neanderthals in central Asia and Siberia. *Nature*, 449(7164), pp. 902–904.
- Kundu, S., & Ghosh, S. K. (2015). Trend of different molecular markers in the last decades for studying human migrations. *Gene*, 556(2), pp. 81–90.
- Lalueza-Fox, C., & Gilbert, M. T. (2011). Paleogenomics of Archaic Hominins. *Current Biology*, 21(24), pp. 1002–1009.
- Lalueza-Fox, C., Rompler, H., Caramelli, D., Staubert, C., Catalano, G., Hughes, D., Rohland, N., Pilli, E., Longo, L., Condemi, S., de la Rasilla, M., Fortea, J., Rosas, A., Stoneking, M., Schöneberg, T., Bertranpetit, J., Hofreiter, M. (2007). A Melanocortin 1 Receptor Allele Suggests Varying Pigmentation Among Neanderthals. *Science*, 318(5855), pp. 1453–1455.
- Laporte, Juan Pedro y Marco Tulio Alvarado 1999 El periodo Preclásico en el Sureste de Petén: Asentamiento, arquitectura, cerámica. En XII Simposio de Investigaciones Arqueológicas en Guatemala, 1998 (editado por J.P. Laporte y H. L. Escobedo), pp.75-95. Museo Nacional de Arqueología y Etnología, Guatemala.
- Lee, H., & Wei, Y. (2005). Mitochondrial biogenesis and mitochondrial DNA maintenance of mammalian cells under oxidative stress. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 37(4), pp. 822–834.
- Lembring, M. (2013). *Application of Mitochondrial DNA Analysis in Contemporary and Historical Samples*. Uppsala University.

- Leonard, J., Rohland, N., Glaberman, S., Fleischer, R., Caccione, A. & Hofreiter, M. (2005). A rapid loss of stripes: the evolutionary history of the extinct quagga. *Biology Letters*, 1(3), pp. 291–295.
- Lindahl, T. (1993). Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature*, 362(6422), pp. 709–715.
- Lippold, S., Xu, H., Ko, A., Li, M., Renaud, G., Butthof, A., Schröder, R., Stoneking, M. (2014). Human paternal and maternal demographic histories: insights from high-resolution Y chromosome and mtDNA sequences. *Investigative Genetics*, 5(1), pp.1-17.
- Lutz, S., Wittig, H., Weisser, H., Heizmann, J., Junge, A., Dimo-Simonin, N., Parson, W., Edelmann, J., Anslinger, K., Jung, S., Augustin, C. (2000). Is it possible to differentiate mtDNA by means of HVIII in samples that cannot be distinguished by sequencing the HVI and HVII regions? *Forensic Science International*, 113(1-3), pp. 97–101.
- Malhi, R., Schultz, B., & Smith, D. (2001). Distribution of mitochondrial DNA lineages among Native American tribes of northeastern North America. *Human Biology*, 73, pp. 17–55.
- Malhi, R., Cybulski, J., Tito, R., Johnson, J., Harry, H., & Dan, C. (2010). Brief communication: mitochondrial haplotype C4c confirmed as a founding genome in the Americas. *American Journal of Physical Anthropology*, 141(3), pp. 494–7.
- Malhi R., Eshleman J., Greenberg J., Weiss D., Schultz B., Kemp B., Kaestle F., Lorenz J., Johnson J. (2002). The structure and diversity within New World mtDNA haplogroups: implications for the prehistory of North America. *American Journal of Human Genetics*, 70, pp. 905–919.
- Manzanilla Linda y López Lujan Leopoldo (2014). Historia antigua de México. El horizonte Posclásico. Tercera edición. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Investigaciones Antropológicas.
- Marciniak, S., Klunk, J., Devault, A., Enk, J., & Poinar, H. N. (2015). Ancient human genomics: the methodology behind reconstructing evolutionary pathways. *Journal of Human Evolution*, 79, pp. 21–34.
- Margulis, L. (1976). Genetic and evolutionary consequences of symbiosis. *Experimental Parasitology*, 39(2), pp. 277–349.
- Martínez-Cortés, G., Gusmão, L., Pereira, R., Salcido, V. H., Favela-Mendoza, A. F., Muñoz-Valle, J., Inclán-Sánchez, A. López-Hernández, L., Rangel-Villalobos, H. (2015). Genetic structure and forensic parameters of 38 Indels for human identification purposes in eight Mexican populations. *Forensic Science International: Genetics*, 17, pp. 149–152.

- Martínez , de Velasco, A. y Vega, M., (2011), *Los Mayas voces de piedra, Ámbar diseño*, México, pp. 73-82.
- Martos López, L., (2002). *Por las tierras mayas de oriente: Arqueología en el área de Calica, Quintana Roo*, Instituto Nacional de Antropología e Historia.
- Mata-Míguez, J., Overholtzer, L., Rodríguez-Alegría, E., Kemp, B., & Bolnick, D. (2012). The genetic impact of aztec imperialism: Ancient mitochondrial DNA evidence from Xaltocan, Mexico. *American Journal of Physical Anthropology*, 149(4), pp. 504–516.
- Mata-Míguez, J., Samms, K., Vandever, R., Rodríguez-Alegría, E., Overholtzer, L., & Bolnick, D. (2015). Investigating the Genetic Effects of Spanish Colonialism: A Comparison of Ancient and Modern Mitochondrial DNA from Xaltocan, Mexico. The 84th Annual Meeting of the American Association of Physical Anthropologists.
- Matthias, H., Jaruga, P., Zastawny, T., Dizdaroglu, M., & Pääbo, S. (1996). DNA Damage and DNA Sequence Retrieval from Ancient Tissues. *Nucleic Acids Research*, 24(7), pp. 1304–1307.
- Maynard, S., & Haigh, J. (1974). The hitch-hiking effect of a favourable gene. *Genetical Research*, 23(1), pp. 23–25.
- McComb, J. (1999). The development of dual-primer randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) and the application to the study of anthropological genetics. University of Kansas.
- McFarland, R., Taylor, R. W., & Turnbull, D. (2007). Mitochondrial Disease--Its Impact, Etiology, and Pathology. *Current Topics in Developmental Biology The Mitochondrion in the Germline and Early Development, Volume 77*(06), pp. 113–155.
- Melton, E. (2008). Genetic history and pre-Columbian Diaspora of Chibchan speaking populations: Molecular genetic evidence. University of Kansas.
- Merriwether, D., Clark, A., Ballinger, S., Schurr, T., Soodyall, H., Jenkins, T., Sherry, S., Wallace, D. C. (1991). The structure of human mitochondrial DNA variation. *Journal of Molecular Evolution*, 33(6), pp. 543–555.
- Merriwether, A., Rothhammer, F., & Ferrell, R. (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, pp. 411–430.
- Merriwether, A., Reed, D., & Ferrel, R. (1997). *Bones of the Maya, Studies of ancient skeletons*. S. L. Whittington & D. M. Reed Eds ,pp. 208–217. Washington.

- Meyer, M., Fu, Q., Aximu-Petri, A., Glocke, I., Nickel, B., Arsuaga, J., Martínez, I., Bermúdez de Castro A., Carbonell, E., Svante, P. (2014). A mitochondrial genome sequence of a hominin from Sima de los Huesos. *Nature*, 505, pp. 403–406.
- Moreno-Estrada, A., Gignoux, R., Fernández-López, C., Zakharia, F., Sikora, M., Contreras, A., Acuña-Alonzo, V., Sandoval, K., Eng, C., Romero-Hidalgo, S., Ortiz-Tello, P., Robles, V., Kenny, E., Nuño-Arana, I., Barquera-Lozano, R., Macín-Pérez, G., Granados-Arriola, J., Huntsman, S., Galanter, J., Via, M., Ford, J., Chapela, R., Rodríguez-Cintron, W., Rodríguez-Santana, J., Romieu, I., Sienna-Monge, J., del Rio Navarro, B., London, S., Ruiz-Linares, A., Garcia-Herrera, R., Estrada, K., Hidalgo-Miranda, A., Jimenez-Sanchez, G., Carnevale, A., Soberón, X., Canizales-Quinteros, S., Rangel-Villalobos, H., Silva-Zolezzi, I., Burchard, E., Bustamante, C. (2014). The genetics of Mexico recapitulates Native American substructure and affects biomedical traits. *Science*, 344(6189), pp. 1280–5.
- Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. Estados Unidos: Columbia University Press.
- Okoshi Harada, Tzubasa. (2006) "Kax (monte) y Luum (tierra): la transformación de los espacios mayas en el siglo XVI". En *El mundo maya: miradas japonesas*. México: UNAM.
- Orlando, L., Ginolhac, A., Zhang, G., Froese, D., Albrechtsen, A., Stiller, M., Schubert, M., Cappellini, E., Petersen, B., Moltke, I., Johnson, P., Fumagalli, M., Vilstrup, J., Raghavan, M., Korneliusen, T., Malaspina, A., Vogt, J., Szklarczyk, D., Kelstrup, C., Vinther, J., Dolocan, A., Stenderup, J., Velázquez, A., Cahill, J., Rasmussen, M., Wang, X., Min, J., Zazula, G., Seguin-Orlando, A., Mortensen, C., Magnussen, K., Mads F., Willerslev, E. (2013). Recalibrating Equus evolution using the genome sequence of an early Middle Pleistocene horse. *Nature*, 499(7456), pp. 74–78.
- Ortega Muñoz, A. (2013). Bases Teórico-Methodológicas para estudiar los movimientos poblacionales desde la paleo y arqueología demográfica. En Cucina A. (Ed.), *Afinidades biológicas y dinámicas poblacionales entre los antiguos mayas. Una visión multidisciplinaria* (pp. 129–146). Mérida, Yucatán, México: Universidad Nacional Autónoma de Yucatán.
- Pääbo, S. (1985). Molecular cloning of ancient Egyptian mummy DNA. *Nature*, 314, pp. 644–645.
- Pääbo, S. (1989). Ancient DNA: extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(6), pp. 1939–1943.
- Pääbo, S., Gifford, J., & Wilson, A. (1988). Mitochondrial DNA sequences from a 7000-year old brain. *Nucleic Acids Research*, 16(20), pp. 9775–9787.

- Pääbo, S. (1990). Amplifying ancient DNA. En *PCR-Protocols and Applications-A laboratory Manual*. Innis, D., Gelfand, J., Sninsky, & T. J. White (Eds.), pp. 159–166, San Diego: Academic.
- Pääbo, S., Poinar, H., Serre, D., Jaenicke-Després, V., Hebler, J., Rohland, N., Kuch, M., Krause, J., Vigilant, L., Hofreiter, M. (2004). Genetic Analyses from Ancient DNA. *Annual Review of Genetics*, 38(1), pp. 645–679.
- Pakendorf, B., & Stoneking, M. (2005). Mitochondrial DNA and Human Evolution. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 6, pp.165–183.
- Peñaloza-Espinosa R., Arenas-Aranda D, Cerda-Flores R. , Buentello-Malo, L. (2007). Characterization of mtDNA haplogroups in 14 Mexican indigenous populations. *Human Biology*, 79(3), pp. 313–320.
- Pérez Martínez, M. (2013). Relaciones genéticas determinadas con DNA mitocondrial en poblaciones mesoamericanas contemporáneas mazahua, otomí, lacandona, y maya antigua. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Pineda Vázquez, D. (2015). Estudio del DNA mitocondrial en poblaciones indígenas contemporáneas: mixe, mixteca y maya del sureste de México. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Poinar, H.(1998). Molecular Coproscopy: Dung and Diet of the Extinct Ground Sloth *Nothrotheriops shastensis*. *Science*, 281(5375), 402–406.
- Price, T., Burton H., Fullagar D., Wright E., Buikstra E. y Tiesler V. (2015), "Strontium Isotopes and the Study of Human Mobility Among the Ancient Maya", en: Cucina, Andrea, *Archaeology and Bioarchaeology of Population Movement Among the Prehispanic Maya*, Springer, New York, pp. 119-132.
- Programa de Revitalización, Fortalecimiento y Desarrollo de las Lenguas Indígenas Nacionales 2008-2012, PINALI.
- Quintana-Murci, L., Semino, O., Bandelt, H., Passarino, G., McElreavey, K., & Santachiara-Benerecetti, A. S. (1999). Genetic evidence of an early exit of *Homo sapiens sapiens* from Africa through eastern Africa. *Nature Genetics*, 23(4), pp. 437–441.
- Quinto-Cortés, D., Arriola, L., García-Hughes, G., García-López, R., Molina, D., Flores, M., Palacios, R., Piñero, D.,(2010). Genetic Characterization of Indigenous Peoples from Oaxaca , Mexico , and Its Relation to Linguistic and Geographic Isolation Genetic Characterization of Indigenous Peoples from Oaxaca , Mexico , and Its Relation to Linguistic and Geographic Isolation. *Human Biology*, 82(4). pp. 409–432.
- Ragsdale, C. (2015). Cultural Interaction and Biological distance among Postclassic Mexican Populations. California State University.

- Rasmussen, M., Li, Y., Stinus, L., Pedersen, J., Albrechtsen, A., Moltke, I., Metspalu, E., Kivisild, T., Gupta, R., Bertalan, M., Nielsen, K., Gilbert, T., Wang, Y., Raghavan, M., Campos, P., Munkholm Kamp, H., Wilson, A., Gledhill, A., Tridico, S., Bunce, M., Lorenzen, E., Binladen, J., Guo, X., Zhao, J., Zhang, X., Zhang, H., Li, Z., Chen, M., Orlando, L., Kristiansen, K., Bak, M., Tommerup, N., Bendixen, C., Pierre, T., Grønnow, B., Meldgaard, M., Andreasen, C., Willerslev, E. (2010). Ancient human genome sequence of an extinct Paleo-Ekimo. *Nature*, *463*, pp. 757–762.
- Richardson B. Gill, (2008). Las grandes sequías mayas. Agua, Vida y Muerte. Fondo de Cultura Económica, México.
- Regueiro, M., Alvarez, J., Rowold, D., & Herrera, R. (2013). On the origins, rapid expansion and genetic diversity of native Americans from hunting-gatherers to agriculturalists. *American Journal of Physical Anthropology*, *150*(November 2012), pp. 333–348.
- Reich, D., Green, R. E., Kircher, M., Krause, J., Patterson, N., Durand, E. Y., Stenzel, U., Johnson, P., Maricic, T., Good, J., Marques-Bonet, T., Alkan, C., Fu, Q., Mallick, S., Li, H., Meyer, M., Eichler, E., Stoneking, M., Richards, M., Talamo, S., Shunkov, M., Derevianko, A., Hublin, J., Kelso, J., Slatkin, M., Pääbo, S., (2010). Genetic history of an archaic hominin group from Denisova Cave in Siberia. *Nature*, *468*(7327), pp. 1053–1060.
- Robles Castellanos, F. y. Andrews, A. (1986). A review and synthesis of recent Postclassic archaeology in northern Yucatan. Late Lowland Maya Civilization: Classic to Postclassic, editado por J.A. Sabloff y E. W. Andrews V, pp. 53-98. University of New Mexico Press, Albuquerque.
- Roys, R. (1962). Literary sources for the history of Mayapan. Mayapan, Yucatan, Mexico, editado por H.E.D. Pollock, R., Roys, T. Proskouriakoff , y Smith, A. pp. 25-86. Carnegie Institution of Washington, Publication 619, Washington D.C.
- Roys, R. (1966). Native empires in Yucatan, the Maya-Toltec Empire. *Revista Mexicana de Estudios Antropológicos* XX:153-177.
- Sandoval, K., Buentello-Malo, L., Peñaloza-Espinosa, R., Avelino, H., Salas, A., Calafell, F., & Comas, D. (2009). Linguistic and maternal genetic diversity are not correlated in Native Mexicans. *Human Genetics*, *126*(4), pp. 521–531.
- Sandoval, K., Moreno-Estrada, A., Mendizabal, I., Underhill, P. a, Lopez-Valenzuela, M., Peñaloza-Espinosa, R., Lopez-Lopez, M., Buentello-Malo, L., Avelino, H., Calafell, F., Comas, D. (2012). Y-chromosome diversity in Native Mexicans reveals continental transition of genetic structure in the Americas. *American Journal of Physical Anthropology*, *148*(3), pp. 395–405.

- Sawyer, S., Krause, J., Guschanski, K., Savolainen, V. & Pääbo, S. (2012). Temporal patterns of nucleotide misincorporations and DNA fragmentation in ancient DNA. *PLoS One*, 7(3), pp. 1–7.
- Sharer, R. (1994). *The ancient Maya*, Quinta edición, Standford University Press.
- Scherer, A. K. (2007). Population structure of the classic period Maya. *American Journal of Physical Anthropology*, 132(3), pp. 367–380.
- Schurr, T., Ballinger, S., Gan, Y., Hodge, J., Merriwether, D., Lawrence, D., Knowler, Weiss, K., Wallace, D. (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, pp. 613–623.
- Simon Martin y Grube Nikolai (2008). *Chronicle of the Maya Kings and Queens, Deciphering the Dynasties of the ancient Maya*. Segunda edición, Thames & Hudson, Londres, pp.6-10.
- Söchtig, J., Álvarez-Iglesias, V., Mosquera-Miguel, A., Gelabert-Besada, M., Gómez-Carballa, A., & Salas, A. (2015). Genomic insights on the ethno-history of the Maya and the “Ladinos” from Guatemala. *BMC Genomics*, 16(1), pp. 1-17
- Tajima, F., & Nei, M. (1984). Estimation of evolutionary distance between nucleotide sequences. *Molecular Biology and Evolution*, 1(3), pp. 269–285.
- Tamm, E., Kivisild, T., Reidla, M., Metspalu, M., Smith, D., Mulligan, C., Bravi, C., Rickards, O., Martínez-Labarga, C., Khusnutdinova, E., Fedorova, S., Golubenko, M., Gubina, M., Zhadanov, S., Ossipova, L., Damba, L., Voevoda, M., Dipierri, J., Villems, R., Malhi, R. (2007). Beringian standstill and spread of Native American founders. *PLoS One*, 2(9),
- Teasdale, M., Van Doorn, N., Fiddyment, S., Webb, C., O'Connor, T., Hofreiter, M., Collins, M., Bradley, D. (2015). Paging through history: parchment as a reservoir of ancient DNA for next generation sequencing. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 370(1660),pp. 1-7.
- Thompson, J.(1970). *Maya History and Religion*. University of Oklahoma Press, Norman.
- Gilbert, T., Rudbeck, L., Willerslev, E., Hansen, A., Smith, C., Penkman, K., Prangenberg, K., Nielsen-Marsh, C., Jans, M., Arthur, P., Lynnerup, N., Turner-Walker, G., Biddle, M., Kjølbye-Biddle, B., Collins, M. (2005). Biochemical and physical correlates of DNA contamination in archaeological human bones and teeth excavated at Matera, Italy. *Journal of Archaeological Science*, 32(5), pp. 785–793.
- Torrioni, A., Schurr, T., Yang, C., Szathmary, E., Williams, R., Schanfield, M., Troup, G., Knowler, W., Lawrence, D., Weiss, K., Wallace, D. (1992). Native American

mitochondrial DNA analysis indicates that the Amerind and the Nadene populations were founded by two independent migrations. *Genetics*, 130, pp. 153–162.

Ubaldi, M., Luciani, S., Marota, I., Formaciari, G., Cano, R. , & Rollo, F. (1998). Sequence analysis of bacterial DNA in the colon of an Andean mummy. *American Journal of Physical Anthropology*, 107(3), pp. 285–295.

Valverde, M., Liendo, S., Gutiérrez, L.(2010) Guía de Arquitectura y Paisaje, The Maya: an Architectural and Landscape Guide, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Investigaciones Filológicas Centro de Estudios Mayas, Ciudad de México-Sevilla.

Velásquez, J.(1993), Aspectos constructivos durante el Preclásico en Nakbe y su cerámica asociada. En VI Simposio de Investigaciones Arqueológicas en Guatemala, 1992 (editado por J.P. Laporte y H. Escobedo):123-130. Museo Nacional de Arqueología y Etnología, Guatemala.

Vargas, E. (1997). Tulum. Organización político territorial de la costa oriental de Quintana Roo. Instituto de Investigaciones Antropológicas, México.

Wallace, D. (2010). A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annual Review of Genetics*, 461(3),pp. 95–109.

Wallace, D., & Chalkia, D. (2013). Mitochondrial DNA genetics and the heteroplasmy conundrum in evolution and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(11), pp. 1-47.

Willerslev, E. (2003). Diverse Plant and Animal Genetic Records from Holocene and Pleistocene Sediments. *Science*, 300(5620), pp. 791–795.

Willerslev, E., & Cooper, A. (2005). Review Paper. Ancient DNA. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1558),pp. 3–16.

Winters, C. (2015). Inference of Ancient Black Mexican Tribes and DNA. *Webmed Central*, pp. 1–9.

8.0 APÉNDICE

Tabla 1. Contexto arqueológico de las entierros analizados del grupo B del sitio arqueológico Xcaret, Quintana Roo

No. Entierro	Tipo de Entierro	Individuos analizados	Cronología	Localización Estructura	Sexo	Edad	Deformación craneana	Ofrenda o material asociado
1	Directo primario de 1 individuo	1	Po	B-8	F	30-35	Tabular erecta	Navajilla de obsidiana
3	Directo primario de 1 individuo ¹	1	Cl-Ta	B-8	NI	20-25	Tabular erecta	Una vasija invertida cubriéndole la cara ² , 4 cuentas y 2 pendientes de concha.
8	Directo primario de 1 individuo	1	Cl-Ta	B-8	F	25-30	-----	Plato trípode, un fragmento de aguja de hueso y una pesa de red hecha en piedra. Alrededor del cráneo se encontraron diversos huesos de pescado.
12	Directo primario de 1 individuo	1	Cl-Ta	B-6	M	35-45	-----	Un plato trípode invertido le cubría el rostro y un cuchillo de pedernal en la mano derecha.
15	Indirecto secundario osario. 5 individuos	1	Po-Ta	B-4	4 M	Adulto	Tabular erecta	Mano de metate de coral, una cuenta de concha y un brazo de incensario Chen Mul modelado.

21	Directo primario de 1 individuo	1	Proablemente del Clásico	B-4	M	Adulto	-----	Ninguna
23	Directo secundario múltiple	1	Po-Ta	Plaza B-4-5	M	Adulto	-----	Dos platos trípodes, 15 caracoles estucados con pigmento rojo, 3 navajillas y una lasca de obsidiana.
24	Directo primario de 1 individuo	1	Po-Ta	Plaza B-4-5	NI	2-3a	Tabular erecta	Un cajete y una cuenta de jade en la boca (único con esta particularidad)
27	Directo secundario 1 individuo	1	CI-Ta	B-6	NI	25-40	-----	Sobre el pecho tenía un cuenco, un hacha de caracol y abundantes espinas de pescado
29	Indirecto secundario osario. 9 individuos	2	Po-Ta	B-5	2M/ 1F	Adulto	Tabular erecta (6 individuos)	Cráneo de perro (<i>Canis familiaris</i>), medio malacate, dos caracoles pequeños y una lasca de sílex.
31	Indirecto primario. 1 individuo	1	CI-Ta	B-9	M	Adulto	Tabular oblicua	Cajete trípode invertido sobre la cara y un disco en hueso de animal.
32	Directo primario de 1 individuo	1	CI-Ta	B-8	F	30-35	Tabular mimética	Un bezote de caracol (<i>Strombus gigas</i>)

33	Indirecto secundario 2 individuos	2	Probablemente Cl-Ta con reúso en el Posclásico	B-6	NI M	30-35 Infantil	-----	Cabecita de piedra verde, una cuenta de jadeíta, una de barro, una punta de flecha y una navaja de obsidiana
-----------	--	----------	---	------------	-----------------	---------------------------	--------------	---

Datos tomados de Con, 2004.

Abreviaturas de la cronología: Cl: Clásico, Cl-Ta: Clásico Tardío, Po: Posclásico, Po-Ta: Posclásico Tardío, NI: no identificado. El periodo de tiempo propuesto para Clásico es del 250-909 d.C., para Clásico Tardío es del 600 al 909 d. C.

para el Posclásico del 909-1697 d.C., y Posclásico Tardío de 900 a 1697 d. C. de acuerdo a Simon y Grube, 2008.

Claves del sexo: F: femenino, M: masculino

¹De acuerdo a Tiesler 1999, era un entierro colectivo de 3 individuos.

² Tipo de cerámica Teabo rojo.

Tabla 2. Conjunto de *primers* empleados para la amplificación de los haplogrupos del mtDNA.

Haplogrupo	Coordenadas ¹	Secuencia (5´ a 3´)	Temperatura de alineamiento (°C)	Tamaño del producto (pb)	Referencia
A2	L 590 – 611 H 743-765	ACCTCCTCAAAGCAATACACTG GTGCTTGATGCTTGTTCCCTTTTG	63	176	Stone y Stoneking, 1993
B2	L 8196-8215 H 8295-8316	ACAGTTTCATGCCCATCGTC ATGCTAAGTTAGCTTTACAGTG	52	112 o 121	González-Oliver <i>et al.</i> , 2001a
C1	L 13209-13232 H 13393-13416	CGCTATCACC ACTCTGTTTCGC CAGATGTGCAGGAATGCTAGG	60	147	González-Oliver <i>et al.</i> , 2001a
D1	L 13179-13199 H 13305-13325	TAACTACTACCGCATTCTACT AAAGCCGGTTAGCGGGGGCA	55	149	González-Oliver <i>et al.</i> , 2001a
X2	L 1651-1670 H 1793-1776	GGATTTAGCAGTAAACTAAG CTTGGACGAACCAGAGTGTAGC	49	125	Kaestle, 2001

¹La posición de los *primers* se basa en la secuencia estándar del mtDNA (Anderson, 1981, Andrews *et al.*, 1999). **L:** cadena ligera, **H:** cadena pesada

Tabla 3. Reactivos y concentraciones utilizadas para la reacción de amplificación por PCR de haplogrupos mitocondriales en un individuo antiguo y los contemporáneos.

Reactivos	Concentración final	Volumen final en 25 μ L (μ L)
Amortiguador 10X	1X	2.5
dNTP's 1.25 mM c/u	100 μ M c/u	2.0
MgCl ₂ 50 Mm	1.5 mM	0.75
Primer forward 10 μ M	0.1 μ M	0.25
Primer reverse 10 μ M	0.1 μ M	0.25
Platinum-Taq 5 U/ μ L	0.02 U/ μ L	0.1
H ₂ O	-----	17.15
DNA	-----	2.0

μ L = microlitros, mM = milimolar, μ M = micromolar, U = unidades de enzima.

Tabla 4. Sitio de reconocimiento de las enzimas de restricción características en la tipificación de haplogrupos mitocondriales.

Haplogrupo y sitio de restricción	Secuencia estándar 5' a 3'	Secuencia mutada 5' a 3'	Tamaño del producto de restricción (pb)
A2 +Hae III-663	TAGCCT	TGCCT	101 / 175
B2 8272-8289 -9pb delección	CCCCCTCTACCCCTCTA	CCCCCTCTA ¹	-----
C1 -Hinc II-13259	GTCAACT	GTCAGCT	83 / 64
D1 -Alu I-5176	AAGCTA	AAGATA	72 / 77
X2 -DdeI-1715	CTTAG	TTTAG	65/60

¹Secuencia reconocida por el tamaño del producto amplificado. Modificado de Garfias Morales, 2014

Tabla 5. Secuencia nucleotídica de los *primers* empleados para la amplificación de la *HVRI* del mtDNA en individuos prehispánicos.

Coordenadas ¹	Secuencia 5' a 3'	Temperatura de alineamiento (°C)	Tamaño del producto (pb)	Referencia
L 15975 – 15996 H 16192 – 16209	CTCCACCATTAGCACCCAAAGC GGTACGAATGTTTCGTTCA	59	235	Vigilant <i>et al.</i> , 1989; Modificado de Hand, <i>et al.</i> , 1996
L 16192 – 16209 H 16410 – 16429	CCATGCTTACAAGCAAGT GGCACTTTAGTTATAGGGCGT	51	238	Hand, <i>et al.</i> , 1996

¹Basada en la secuencia estándar del mtDNA (Anderson, 1981).

Tabla 6. Reactivos utilizados para la amplificación de la *HVRI* del mtDNA de individuos prehispánicos.

Reactivos	Concentración final	Volumen final en 50 μ L (μ L)
Amortiguador 10X	1X	5.0
dNTP's 1.25 mM c/u	100 μ M c/u	4.0
MgCl ₂ 50 mM	1.5 mM	1.5
Primer forward 10 μ M	0.1 μ M	0.5
Primer reverse 10 μ M	0.1 μ M	0.5
BSA 5 mg/mL	0.1 μ g/ μ L	1
Platinum-Taq 5 U/ μ L	0.02 U/ μ L	0.2
H ₂ O ^a	-----	-----
DNA ^a	-----	-----

^a El volumen de DNA adicionado fue variable (1 a 9 μ L), y de H₂O fue ajustado de acuerdo al volumen final de la reacción. μ L = microlitros, mM = milimolar, μ M = micromolar, U = unidades de enzima.

Tabla 7. Reactivos y concentraciones utilizadas para la reacción de secuenciación de la *HVRI* por PCR.

Reactivos	Concentración final	Volumen final en 10 μ L (μ L)
DNA	-----	2
H ₂ O	-----	2.5
Primer 3 μ M	0.3 μ M	1
Amortiguador 2.5X	0.75 X	3
Big Dye	-----	1.5

Tabla 8. *Primers* empleados para la reacción de amplificación de la *HVRI* del mtDNA en individuos contemporáneos.

Coordenadas ¹	Secuencia 5' a 3'	Temperatura de alineamiento (°C)	Tamaño del producto (pb)	Referencia
L 15,975-15,996	CTCCACCATTAGCACCCAAAGC	55	446	Vigilant <i>et al.</i> , 1989 Hand, <i>et al.</i> , 1996
H 16,401-16,410	GTGGTAGGAGGCACTTTAGT			

¹La posición de los *primers* se basa en la secuencia estándar del mtDNA (Anderson, 1981).

L= Cadena ligera, H= Cadena pesada

Tabla 9. Sitios polimórficos específicos asociados a cada haplogrupo del mtDNA.

Haplogrupo	Sitios polimórficos de <i>HVRI</i>
A2	16,111; 16, 290; 16, 319
B2	16,189; 16, 217
C1	16, 298; 16, 325; 16, 327
D1	16, 223; 16, 325; 16, 362
X2	16, 213; 16, 278