



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍAS

ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA

LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

**CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE LA POBLACIÓN MAYA DE
XPUHIL, CAMPECHE, A PARTIR DE DNA MITOCONDRIAL.**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA PRESENTA:**

ERENDIRA YAÑEZ SOLIS

**DIRECTOR DE TESIS:
DR. ANTONIO GONZÁLEZ-MARTÍN**

**CO DIRECTOR DE TESIS:
A. F. VÍCTOR ACUÑA ALONZO**

MINERAL DE LA REFORMA, HIDALGO.

2010

A los pueblos étnicos, en especial a las personas orgullosas de su identidad, de sus costumbres y conocimiento, a todos los que hacen un esfuerzo, por no dejar morir su historia.

A las personas que donaron parte de su material biológico y de su historia, que también es la nuestra.

¡Gracias por ser pregunta y respuesta!



Esta tesis ha requerido de mucho esfuerzo y dedicación personal, pero no hubiese sido posible sin el aporte directo o indirecto de muchas personas, algunas de las cuales han sido un soporte muy fuerte en momentos difíciles. A todos ellos quiero agradecer.

Deseo dejar constancia de mi más profundo y sincero agradecimiento al Dr. Antonio González-Martín, porque en sus aulas aprendí a ver el mundo desde la óptica de la evolución, visión que consolidó mi percepción del mundo. Si hay que seguir un orden cronológico, gracias también por que de él aprendí a darle un valor más amplio a la riqueza que tiene nuestro país, gracias porque con mi integración al proyecto Historia biológica del hombre en América, pude conocer más de cerca lo que nombramos pueblos étnicos. Gracias por dirigir esta tesis, que cualquiera en su lugar hubiera abandonado con tantos contratiempos, gracias por permanecer hasta el final, y por su valiosa amistad.

Al Colegio de la Frontera Sur Unidad Campeche; por todas las facilidades y el apoyo en la toma de muestras para esta tesis.

A la Dra. Irene Goyenechea Mayer-Goyenechea, titular del Laboratorio de Sistemática molecular- Centro de Investigaciones Biológicas del Área Académica de Biología de la UAEM por todas las facilidades otorgadas para realizar la extracción de DNA en el laboratorio.

Al A. F. Víctor Acuña Alonzo, por su apoyo en la toma de muestras para esta tesis, así como todas las facilidades y hospitalidad para continuar el trabajo de laboratorio en el Laboratorio de Genética molecular de la ENAH, del que es titular. Muchas gracias, además, por aceptar ser co director de esta tesis. Mil gracias.

Al Q.F.B. Rodrigo Barquera, quien fue un respaldo esencial durante mi estancia en el laboratorio de Genética molecular de la ENAH. Gracias por compartir tu conocimiento y por la hospitalidad.

A mis sinodales: Dra. María del Consuelo Cuevas Cardona, al M. en C. Miguel Ángel Cabral Perdomo, al Biol. Ulises Iturbe Acosta, Biol. Ricardo León Rico, Dra. Norma Leticia Manríquez Morán y a M. en C. Ma. del Carmen López Ramírez. He aprendiendo mucho de todas sus correcciones, gracias porque sin sus revisiones este momento no sería posible. Gracias por su disposición y su calidad humana. Gracias a los que, sin conocer, ya siento cercanos. Consuelo, gracias por ser guía y por todo lo que aprendí de ti en las aulas, tu conocimiento no solo me hace una mejor profesionista sino también una mejor persona. Miguel Gracias por las clases tan amenas y tan fructíferas, Ulises, a quien agradezco en el alma, toda la disposición que ha tenido para que culmine este proyecto.

A Carmen López Ramírez, especiales gracias por su apoyo para culminar ésta tesis y por su amistad. De ti he aprendido mucho, muchas son lecciones de vida.

A mis grandes amigos Gloria Cuevas Ruíz, Rosana López García, Mirsha Quinto Sánchez, personas excepcionales con las que comparto no solo el amor por la biología sino también muchas ideologías. A Ross y a Mirsha gracias porque nuestro compromiso con la biología comenzó hace varios años, es un gusto que hayamos andado juntos por esos caminos. A Mirsha, por todo el apoyo y tiempo que dedicó para ver luz en los apartados de estadística de esta tesis, ayudando con ello, a que los temas fueran más claros.

A Jorge A. Gómez Valdés, infinitas gracias por todo el tiempo que dedico a enseñarme a analizar mis datos, le agradezco además que tomara como propio un compromiso ajeno; siendo de esas personas excepcionales que es un gusto encontrar en el camino.

Al Dr. Víctor Ballesteros García, por creer en ese proyecto y apoyarlo incondicionalmente; por no ver barreras entre la historia del hombre y la biología. A la Dra. Laura Sótelo Santos, por brindar apoyo a una alumna de otra carrera.

Al Dr. David Lagunas Arias, por su amistad y por todo el apoyo que brindo a esta tesis, sin tener ninguna obligación para ello.

A Francisco Hernández Camacho, María de Jesús Vergara Pérez y Luis Moreno Centeno, gracias por allanar el camino en los estudios de biología molecular, sin su trabajo en laboratorio, el camino hubiera sido más complicado. Gracias por su cariño y amistad.

A Antonio Álvarez, por todo su apoyo con los programas Phylip y STATITICA, gracias por su amistad.

A Araceli Melo Reséndiz y a Selene Balderas Arrieta, por su amistad, cariño y enseñanzas. Su esencia permanece por siempre a mi lado.

A Nidia Montaña Quiroz, Alejandra Ortiz Hernández y Helena García, infinitas gracias por su amistad y por toda la luz que han sido en momentos de oscuridad; su cariño y sabiduría lograron ser la luz que necesitaba. Sin ustedes no estaría escribiendo esto. Nidia, muchísimas gracias por todo el apoyo para finalizar ésta tesis.

A Mary Tenorio Rodríguez, por ser casi una hermana, y estar siempre y a cualquier hora, a pesar de las múltiples ocupaciones.

A mis hermanos Lety y Julio, gracias por su cariño, por su amistad, por la magia que hemos vivido, por su compañía en todo momento. Gracias por todo lo que han hecho y hacen por mí. Somos una misma esencia.

A mis papas: Margarita Solís Leyva y Celso Yañez Azpeitia. Gracias infinitas por todo lo que me han dado, por su cariño, por la formación que nos han brindado, por los genes amerindios que están allí en cada una de mis células, gracias por haber y seguir siendo unos padres excelentes.

A Mi abuelita Rosa, por ser un ejemplo, por su cariño, por la vitalidad que brinda a su familia y por sus genes otomíes de los que estoy profundamente orgullosa.

Al Dr. Raymundo Monroy Serrano, Al Dr. Alberto Morales Damián y al Dr. Javier Ortega Morel, por todo el apoyo que me brindaron en mi estancia en el Área académica de Historia y Antropología de la UAEH.

A esa Energía positiva, que no se que es, pero siempre me abrigo en los momentos de frío y me impulso, entre otras cosas a terminar esta tesis.

A todos nuevamente, gracias.

ÍNDICE

DEDICATORIAS	2
AGRADECIMIENTOS	3
RESUMEN	8
1.- INTRODUCCIÓN	9
2.- ANTECEDENTES	15
2.1 Antecedentes de genética molecular	15
2.2 DNA mitocondrial humano	18
3.- JUSTIFICACIÓN	25
4.- OBJETIVOS	26
5.- HIPÓTESIS	26
6- MATERIAL Y MÉTODO	28
6.1 Área de muestreo	28
6.2 Toma de muestras	29
6.3 Extracción de DNA a partir de saliva	30
6.4 Amplificación mediante PCR	30
6.5 Tratamiento con enzimas de restricción	32
6.6 Electroforesis	33
6.7 Tipificación	34
6.8 Tratamiento estadístico	34
6.8.1 Software utilizado en los análisis.	35
6.8.2 Descripción de análisis empleados	36
6.8.2.1 Análisis Discriminante	36
6.8.2.2 Análisis de Componentes Principales	37
6.8.2.3 BARRIER versión 22.c.	39
6.8.2.4 Análisis Molecular de la Varianza (AMOVA)	41
7.- RESULTADOS	42

7.1 Resultados de laboratorio	42
7.2 Resultados estadísticos	42
7.2.1 Análisis de Componentes Principales (ACP) de la variación escala continental.	42
7.2.2 Análisis de Componentes Principales (ACP) de la variación escala mesoamericana	47
7.2.3 Análisis de Escalamiento Multidimensional (MDS) escala continental.	53
7.2.4 Análisis de Escalamiento Multidimensional (MDS) escala mesoamérica.	59
7.2.5 Análisis Molecular de la Varianza (AMOVA) y análisis de barreras genéticas (Barrier)	62
8.- DISCUSIÓN	64
9.- CONCLUSIONES	67
10.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
11.- ANEXOS	78
11.1 Resultados de la tipificación población de Xpuhil	79
11.2 Poblaciones integradas al trabajo de tesis	80
11.3 Lista de siglas y acrónimos	81
11.4 Glosario	82

LISTA DE FIGURAS	
Figura 1. Mapa migraciones humanas de haplogrupos mtDNA	12
Figura 2. Esquema de Eva genética	16
Figura 3. Representación región D-lopp	19
Figura 4. Genoma mitocondrial humano	21
Figura 5. Herencia autosómica mtDNA y cromosoma Y	25
Figura 6. Mapa de Xpuhil	28
Figura 7. Pasos del termociclador	32
Figura 8. Oligonucleotidos y enzimas de restricción utilizados en la amplificación y tipificación del mtDNA	32
Figura 9. Electroforesis con la enzima <i>Hae III</i> en la tipificación del haplogrupo A	31

Figura 10. Neighbour joinig clusterind distancias producto MDS México	60
Figura 11. Mapa generado por Barrier.	62
Figura 12. Mapa poblaciones nativo americanas	90
LISTA DE GRÁFICAS	
Grafica 1. ACP Dispersión grupos mayas	44
Grafica 2. ACP Dispersión grupos mayas	45
Grafica 3. Grafica de dispersión poblaciones mayas	48
Grafica 4. Grafica de dispersión poblaciones de México	49
Grafica 5. Contribución de cada población mesoamericana a la varianza explicada por cada PC	50
Grafica 6. Contribución de cada haplogrupo a la varianza explicada por cada PC de las poblaciones mesoamericanas	51
Grafica 7. Diagrama de Shepard para el estrés de Kruskal del MDS	52
Grafica 8. Dispersión MDS	54
Grafica 9. Dispersión MDS México	58
LISTA DE TABLAS	
Tabla 1. Nomenclatura de haplogrupos mtDNA, en el mundo	13
Tabla 2. Valores propios ACP escala continental	41
Tabla 3. Valores propios ACP escala mesoamérica	46
Tabla 4. Stress después de la minimización	52
Tabla 5. Distancias euclideas Maya Xpuhil con resto de poblaciones	55
Tabla 6. Distancias mínima euclideas de Maya Xpuhil al resto de poblaciones mexicanas	59
Tabla 7. Análisis Molecular de la Varianza (AMOVA)	61

RESUMEN

En el presente trabajo se analiza la estructura genética de Xpuhil, Campeche, México, a partir de 88 individuos pertenecientes a esta población con base en cuatro haplogrupos encontrados en el DNA mitocondrial y que son característicos de poblaciones nativas americanas: A, B, C y D. La tipificación se llevó a cabo de acuerdo al protocolo propuesto por Walsh, *et. al.* 1991 y Baillet, *et. al.* 1994, que involucra amplificación de las regiones no codificantes donde se hayan las variantes que distinguen a los haplogrupos mencionados, seguida de una digestión enzimática por medio de las endonucleasas *Hae III*, *Hae III*, *Alu I*, *Hinc II* y *Alu I*. Las frecuencias obtenidas para estos marcadores fueron como se detalla a continuación: A 47 (0.53); B: 12 (0.14); C: 10 (0.11) y D: 9 (0.10) Una proporción de 0,2128 no pudo ser tipificada para ninguno de los marcadores mencionados. Se realizó la comparación de estos datos con 58 poblaciones nativas americanas de todo el continente por medio de análisis de componentes principales, discriminante, escalamiento multidimensional y de varianza molecular. Los resultados muestran que la población maya de Xpuhil tiene una composición genética acorde con su ubicación geográfica, que tiene una mayor afinidad a las poblaciones mayas de Chiapas que a las poblaciones mayas de Yucatán y que la diversidad del DNA mitocondrial en México sigue un patrón que consistente con el modelo de aislamiento por distancia.

1.- INTRODUCCIÓN

.....documentar y confirmar que las culturas indígenas no solo tienen peculiaridades sociales, culturales y lingüísticas, sino que su carácter se remonta mucho más allá de las expresiones culturales, su esencia, su diferencia, su identidad, su particularidad está escrita en la misma base de la vida: esta anotada en nuestros genes, en sus genes (González–Martín 2003a)

Hasta hace relativamente pocas décadas las indagaciones en torno a la evolución humana, privilegiaban el estudio de restos fósiles desde la perspectiva Paleoantropológica. Desde sus inicios éstos han sido la base de varias disciplinas, o el punto de comparación de diversos estudios, como los arqueológicos y lingüísticos. Los fósiles de los homínidos más antiguos, incluyendo al *Homo sapiens* moderno se localizan en África. Estudios pioneros como los de Donald Johanson, Tim White, Louis y Mary Leakey, Phillip Tobias, John Napier, Richard Leakey (Lewin, 1994; Tattersall, 1997; Leakey y Walter, 1997), sentaron las bases y fueron el punto de comparación en el descubrimiento de restos esqueléticos de homínido modernos. Ya desde entonces África era llamada la cuna de la humanidad. (Stringer y Andrews, 1988; Stringer, 1993, Lewin, 1994, Passarino *et al.*, 1998).

El origen de los humanos se sitúa en África, hace aproximadamente 150 000 años. (Cann *et al.*, 1987b; Lewin, 1994; Cavalli-Sforza; 1995; Foster, 2004; Oppenheimer, 2004). La evidencia científica nos sugiere que a partir de ese momento, comenzó una o varias aventuras, a través de lo que el humano

tuviera por camino: ya sea desiertos, montañas, ríos y océanos, con calor abrasador o fríos que seguramente dejaron a muchos en el camino. Con glorias y vicisitudes los humanos llegaron a cada continente y fueron dejando un rastro biológico (el DNA) de su presencia por cada sendero que tomaron. En la década de los años ochenta, que los avances en ciencia y en tecnología; el genio y esfuerzo de varios científicos y la construcción de instrumentos óptimos hicieron posible indagar en lo más íntimo de nuestro cuerpo y de nuestra historia, el DNA. Talento unido en tiempo y espacio, que tenido como resultado uno de los avances mas significativos en la historia de la evolución humana. A partir de entonces; estos estudios comenzaron a tomar forma de manera irrevocable. La fisiología, inmunología, genética y actualmente la biología molecular dan sustento a los estudios de variabilidad en poblaciones humanas, a la vez que ratifican el origen común de todos los humanos. Sin lugar a dudas el origen del *Homo sapiens* es africano, todos llevamos un poco de África bajo la piel.

La dinámica de la estructura genética incrementa por las mutaciones y se diferencia de una población a otra mediante selección natural y deriva génica, lo que nos permite ahora, diferenciar claramente cómo se han ido moldeando las poblaciones. Actualmente se pueden hacer estudios más finos sobre éstos temas y cada individuo o población puede ser identificado a nivel de su material genético, por medio de marcadores; éstos pueden ser microsatélites, minisatélites, haplogrupos y haplotipos de DNA mitocondrial; haplogrupos y haplotipos del Cromosoma Y, entre otros. (White 1985, Berumen 1998).

Los análisis de genética molecular y su comparación mediante estadística multivariada permiten obtener información sobre el origen y la dinámica

poblacional, así como las afinidades genéticas entre grupos indígenas, los procesos de migración y dispersión de poblaciones y el grado de mestizaje de las comunidades (González-Martín. 2003), lo que la convierte en una gran herramienta en el estudio del humano y de los demás seres vivos.

Recordando que la molécula responsable de la herencia biológica es el DNA, es ahí donde hurgaremos para rescatar parte de una historia incompleta en el poblamiento de América. Será a través del DNA mitocondrial que esta historia tomará forma y, poco a poco se irá hilando nuestro pasado, utilizando los elementos del presente: el mtDNA de los pueblos amerindios de hoy. En este caso los mayas que habitan en Xpuhil, Calakmul, Campeche; México y los datos que se han publicado de cincuenta y ocho poblaciones étnicas del continente americano que abarcan desde los inuit en Canadá y los eskimos en el Ártico de Alaska, a los mapuche, en Chile.

En la década de los años 80, Rebeca Cann empezó a trazar los patrones de migración de los humanos modernos por medio del mtDNA, sus estudios pioneros e innovadores fueron la pauta para todos los estudios de biología humana en que se empleaba DNA mitocondrial. El empleo de este DNA tan particular y la característica de que es heredado únicamente de forma matrilineal, hizo que permeara su postulado como la teoría de la Eva mitocondrial (Cann *et al.*, 1987). Es una clara alusión a la tradición judeo-cristiana, pero en el contexto de la hipótesis científica de que todas las poblaciones humanas provienen de una única población ancestral africana.

El mtDNA, posee varias características que nos sirven para estos estudios: la tasa de mutación es 10 veces mayor que en el DNA nuclear, lo que nos permite acercarnos a la historia de las poblaciones humanas, no sufre recombinación por lo que no está sometido a presiones selectivas, solo se hereda por vía materna, cuenta con 16 569 pares de bases, (Torroni, *et. al.* 1992), de los cuales se trabaja con las regiones no codificantes, que se encuentran en la región de control, también llamada D-Loop.

Este trabajo analizará la frecuencia de haplogrupos presentes en la población maya de estudio. Los haplogrupos son conjuntos de mutaciones en el mtDNA, que caracterizan a los individuos tanto de distintos continentes, como dentro de los mismos. Sus frecuencias oscilan y difieren para grandes grupos continentales: Europa, África, Asia y América (Torroni *et al.*, 1998) (Ver figura1)

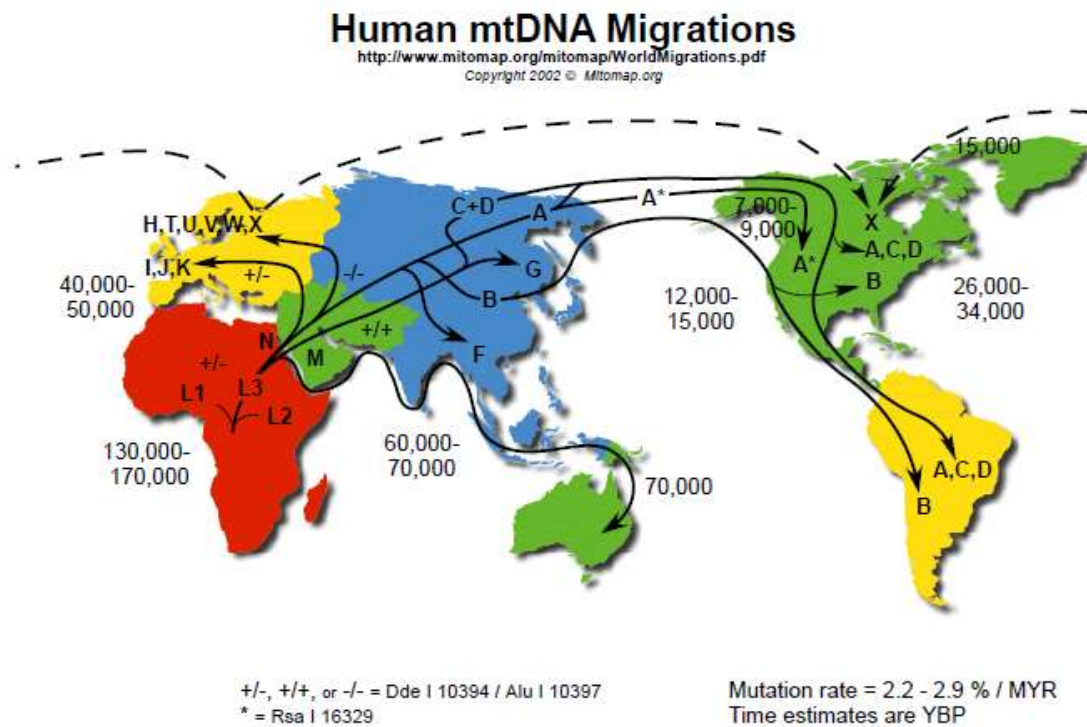


Figura 1. Mapa en que se reconstruyen migraciones del *Homo sapiens* empleando mtDNA. Los marcadores utilizados son Haplogrupos mitocondriales. Se hacen estimaciones del tiempo de establecimiento de cada haplogrupo en base al reloj molecular.

En América los haplogrupos que se presentan son el A, B, C, D y X, aunque éste último se encuentra presente en la costa este de los Estados Unidos de Norteamérica, pero con una frecuencia baja.

Para Greenberg y colaboradores (1986), la distribución de estos cuatro haplogrupos se relaciona con los tres tipos de lenguaje en el continente (amerindio, na-dene y eskimo-aleutiano) y con el número de supuestas migraciones desde Asia.

Región / continente	Haplogrupos
África	L, L1, L2, L3
Europa	H, I, J, N, T, U, V, W, X
Asia	A, B, C, D, G, Y, Z
América	A, B, C, D,

Tabla 1. Nomenclatura designada para cada haplogrupo del mtDNA presente en los grupos humanos de diferentes regiones geográficas.

Diferentes estudios han establecido que la tasa de mutación del mtDNA humano es, por término medio, de 10 000 años, cinco o diez veces más rápida que el segmento promedio del DNA nuclear. Esta característica hace que el mtDNA sea una molécula extremadamente útil en el estudio de procesos evolutivos como, por ejemplo, el origen del hombre (Brown *et al.*, 1979).

Las fechas acerca del poblamiento de América son variadas: más de 40 000 años (Eshleman, 2003), hasta 12 000 años (Cavalli-Sforza, 1994; González, 2004). Todos concuerdan en que la puerta de entrada a nuestro continente, por los primeros humanos fue el estrecho de Bering (Schurr, 1990; Shields *et al.*, 1992; Torroni *et al.*, 1992 Torroni *et al.*, 1993; Bonatto y Salzano, 1997a, 1997b; Arnaiz-Villena *et al.*, 2000; Green *et al.*, 2000; Mastache, 2001; Fix, 2002; Olea *et al.*, 2002). Se tienen aproximaciones de las posibles fechas de entrada, entre hace unos 30 000 y 12 000 años A. P. El acuerdo sobre el número de oleadas migratorias aún esta en discusión, aunque muchos coinciden en tres eventos migratorios que tuvieron éxito (Schurr, 1990; Bailliet *et al.*, 1994; Lalueza *et al.*, 1997; Smith *et al.*, 1999; Rickards *et al.*, 1999; Arnaiz-Villena *et al.*, 2000; Rodas *et al.*, 2003). Con base en datos lingüísticos, de morfología dental y genéticos, algunos investigadores asocian en estos movimientos a un tronco lingüístico diferente: amerindios, na-dene y esquimo-

aleutianos. (Greenberg *et al.* 1986), aunque intentar poner como unidad a las lenguas amerindias ahora es muy cuestionado. Una fortaleza de esta hipótesis lingüística es la presencia entre los pueblos amerindios, de tres grandes grupos dentales (Greenberg *et al.*, 1986; Schurr, 1990; Torroni *et al.*, 1994). Asimismo, existe una estrecha relación en la morfología dental de los pobladores de Asia y los habitantes nativos del continente americano. Es una relación que no existe con el resto de los pobladores de los demás continentes. (Greenberg *et al.*, 1986).

Las últimas teorías se basan en datos moleculares que confirman el origen asiático de los primeros pobladores de América (Schurr, 1990; Horai *et al.*, 1993; Torroni *et al.*, 1994; Derbeneva *et al.*, 2002; Eshleman *et al.*, 2003), aunque la respuesta a la duda sobre el número de migraciones implicadas en el poblamiento de este continente requiere de más investigación. (Baillet *et al.*, 1994; Bonnato y Salzano, 1997a; Cavalli-Sforza, 1997; González *et al.*, 2003).

En este estudio se emplean marcadores moleculares del DNA Mitocondrial frecuentemente encontrado en grupos nativos americanos, que son los haplogrupos A, B, C y D y se analiza su frecuencia en la población y se compara con datos publicados en otros trabajos en otras poblaciones indígenas del continente. Se realiza un análisis estadístico empleando los datos de las 59 poblaciones que se incluyen en este trabajo. Cuando fue necesario se agruparon las poblaciones en Norte América, Centro América, Sudamérica; en algunos análisis se hace un apartado para ver la composición de las poblaciones de nuestro país.

2.- ANTECEDENTES

2.1.- Antecedentes de genética molecular

Una población es un grupo de individuos que comparten un conjunto de genes, que viven en la misma área geográfica y que real o potencialmente se cruzan entre si. Todos los alelos compartidos por estos individuos constituyen el acervo genético (conjunto de genes) de la población. A menudo, cuando examinamos un locus dada en esta población, encontramos que la distribución de los alelos de dicho locus da lugar a individuos con genotipos distintos. Un elemento clave de la genética de poblaciones es el cálculo de las frecuencias de los distintos genotipos de la población y cómo cambian estas frecuencias de una generación a la siguiente. Los genéticos de poblaciones utilizan estos cálculos para plantearse cuestiones como: ¿Cuánta variación genética hay en una población? ¿Se distribuyen aleatoriamente en el tiempo y en el espacio hay patrones perceptibles? ¿Qué procesos afectan a la composición del conjunto de genes de una población? ¿Producen esos procesos divergencia genética entre poblaciones?

Las poblaciones son dinámicas; pueden expansionarse y contraerse mediante cambios en las tasas de nacimientos o fallecimientos, por migración o por contactos con otras poblaciones. A menudo algunos individuos de una población tienen más descendientes que otros, contribuyendo con una cantidad desproporcionada de sus alelos a la siguiente generación. Así, la naturaleza dinámica de una población puede, con el tiempo, dar lugar a cambio en la estructura genética de la población. (Klug, 2006)

Tras abandonar África, para colonizar el resto del mundo, solo sobrevivió una pequeña derivación (la Eva extra africana) de lo que pudo ser una docena de clanes maternos vigentes. De ese pequeño grupo surgió toda la población humana moderna fuera de África. Todos los no africanos procedemos de una sola línea africana. (Haplogrupo L3) Los genes confirman que un solo clan materno logro salir de África y poblar el resto del mundo. Incluso utilizando marcadores genéticos distintos al mtDNA se comprueba la misma hipótesis: una sola migración extra africana con éxito (Oppenheimer, 2004). Por tanto, la Eva genética no tiene porque corresponder con el primer clan materno de *Homo sapiens*. Esto se explica mediante la deriva genética. En una población aislada de tamaño constante (entre 100 y 400 individuos), la variación natural del proceso

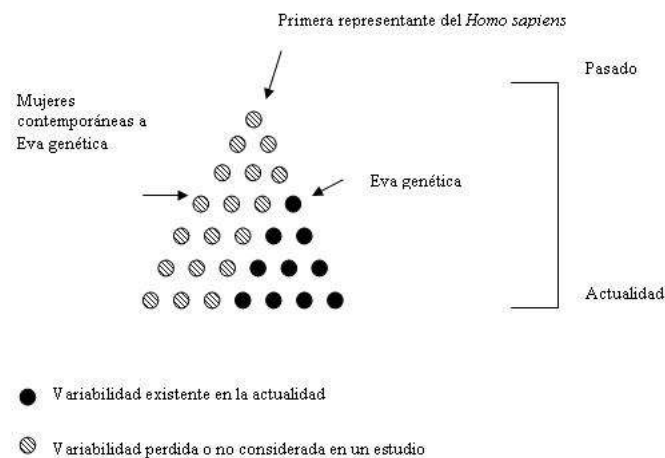


Figura 2. Esquema que representa el porqué Eva genética no tiene que coincidir con la hipotética primera mujer representante del *Homo sapiens*.

reproductivo experimenta una tendencia a reducir la diversidad.

Una de las técnicas básicas en la genética molecular es la denominada Reacción en Cadena de la Polimerasa (*Polymerase Chain Reaction, PCR*). Esta técnica fue descrita por Mullis y Faloona en 1987 y galardonada con el Premio Nobel de Química en 1993. Gracias a ésta técnica fue posible tener avances en los estudios moleculares, como nunca antes se había dado, ya que

permitió duplicar de manera exponencial las cantidades de DNA, a partir de cantidades pequeñas de material genético *in vitro*, lo que permite obtener billones de copias de un determinado fragmento de DNA, a través de un proceso de copiado, llamado amplificación, en el que el número de copias aumenta de forma exponencial en cada ciclo (Saiki *et al.*, 1988). El número de copias se calcula con la fórmula:

$$(2^n)x$$

Donde x es el número de moléculas iniciales de DNA y n es el número de ciclos realizados. Esta fórmula supone una eficacia del 100% en cada ciclo, sin embargo esto no se consigue nunca. La eficiencia de la PCR varía enormemente de reacción a reacción, dependiendo de los componentes, calidad y concentración del molde, perfiles de temperatura, *primers*, etc. Todos estos parámetros deben optimizarse para cada PCR, consiguiéndose una alta eficacia de la reacción. La enzima utilizada es la *Taq* DNA polimerasa., que es una enzima aislada de la bacteria termófila *Thermus aquaticus*. Una de las ventajas que presenta es su termoestabilidad, óptima para llevar a cabo la amplificación del DNA, que requiere temperaturas superiores a 90° C para la desnaturalización y temperaturas de 72° C en la etapa final de reacción. Por otro lado, llega un punto en que la amplificación deja de ser exponencial, a este fenómeno se lo conoce como *Efecto Plateau*. Es inherente a la PCR y está causado fundamentalmente por una reducción de la disponibilidad de polimerasa, lo que conlleva una menor eficacia por ciclo de desnaturalización y alineamiento de los *primers*. (Moreno-Centeno, 2006).

Fases de PCR

- 1) Desnaturalización: se separa la doble cadena de DNA molde a una temperatura de entre 92-94°C.
- 2) Alineación: fase crítica, es donde los *primers* se acoplan y alinean con una hebra de la cadena molde a una temperatura de 42-60°C.
- 3) Extensión: es donde actúa la DNA polimerasa para colocar las bases complementarias a una temperatura de 60-72°C.

2.2- DNA mitocondrial humano

CARACTERÍSTICAS DEL DNA MITOCONDRIAL HUMANO

El mtDNA humano se secuenció por primera vez en el año de 1981 (Anderson *et al.*, 1981), es esta primera secuencia la que se utiliza como referencia para compararla con el resto de secuencias obtenidas en la actualidad.

El mtDNA humano es un tipo de genoma circular de doble cadena de 16.569 pares de bases (pb) de longitud (Anderson *et al.*, 1981), rasgo que le confiere mayor estabilidad frente a fenómenos degradativos respecto al genoma nuclear. Los genes del mtDNA también son conocidos como genes extracromosómicos, genes citoplasmáticos, genes no-mendelianos, genes organulares o genes extranucleares.

Su tamaño es aproximadamente 200 000 veces más pequeño que el DNA nuclear (Martínez-Cruzado, 2002) y 8 000 veces menor que un cromosoma nuclear. Pese a la gran diferencia de tamaño, cada mitocondria contiene un promedio de 10 moléculas de DNA y cada célula contiene un número variable

de mitocondrias, entre 10 y 10,000 copias, siendo un elemento celular muy abundante.

El mtDNA humano se divide en dos regiones, una región larga de 15Kb que codifica para algunas proteínas necesarias en la fosforilación oxidativa y una región polimórfica, no codificante, de 680pb conocida como región *D-loop* (conocido así por la abreviatura en ingles de “*displacement loop*”). En esta última región se encuentra el sitio de origen de la transcripción y replicación del MtDNA (Crews *et al.*, 1979). Estas dos subregiones que se localizan entre la posición 16,168-16,280 de la molécula de mtDNA, a las que se ha denominado región hipervariable I (HVI) y región hipervariable II (HVII) (Figura 3) (Horai *et al.*, 1990).

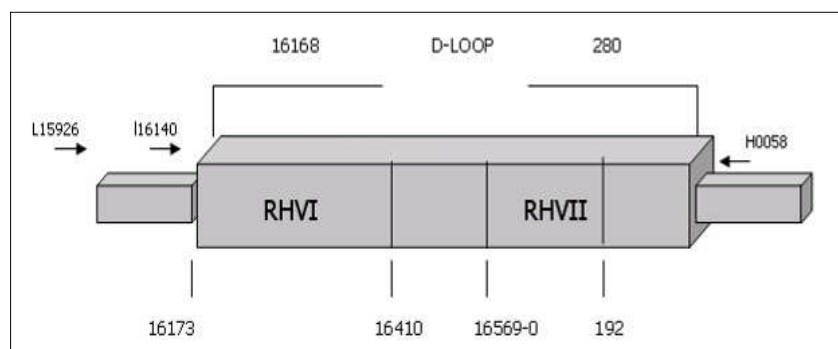


Figura 3. Representación de la región *D-Loop* del mtDNA de células HeLa, donde se muestran las dos subregiones en las que se divide (Jeffreys *et al.*, 1985)

En total consta de 16 569 pares de bases (Anderson *et al.*, 1981; Andrews *et al.*, 1999) y su contenido en Guanina+Citosina (G+C) es del 41%. La composición de bases de las dos cadenas del mtDNA es significativamente distinta: hay una cadena pesada (H, del inglés *heavy*), rica en guaninas y una cadena ligera (L, del inglés *light*) que es rica en citosinas. Las purinas (adenina,

A, y guanina, G), tienen un peso molecular mayor que las pirimidinas (citosina, C, y timina, T) de ahí que exista una cadena más pesada que la otra.

a) Región codificante. Contiene 37 genes, 28 de ellos están codificados por la cadena *H* y 9 por la cadena *L*; otros 13 codifican para polipéptidos implicados en la fosforilación oxidativa. Estos genes no están interrumpidos por intrones y se encuentran muy compactados en la región codificante. El resto de los genes codifican para 22 tipos de moléculas de RNA de transferencia (tRNA) y 2 de RNA ribosómica (rRNA: 12S y 16S), que forman parte de la maquinaria de síntesis proteica de la mitocondria. (Vigilant *et. al.*, 1989)

b) Región no codificante. Representa aproximadamente el 10% y es una región de 1.2Kb, conocida como región control o D-loop. Contiene las secuencias de control de la transcripción y la replicación de la cadena pesada del mtDNA. Hallamos también puntos de unión de diferentes factores de transcripción y secuencias relacionadas con el inicio y finalización de la replicación. Esta región es muy polimórfica y es la que contiene las regiones HVI y HVII, de unos 400 pb cada una. Esta región del mtDNA es selectivamente neutra. (Vigilant y cols. 1989)

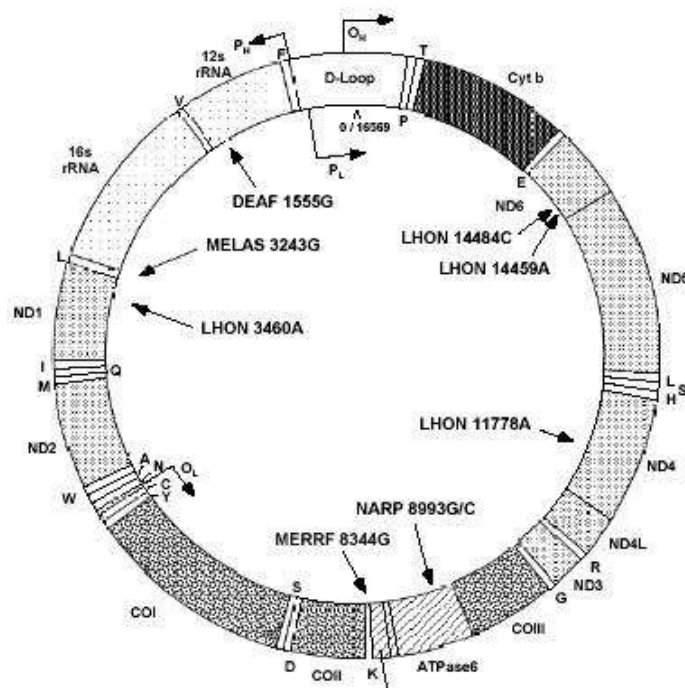


Figura 4: Genoma mitocondrial humano

Cada célula humana contiene gran cantidad de mitocondrias que, a su vez, contienen miles de copias de la molécula bicatenaria de DNA mitocondrial (mtDNA), de modo que pese a que representa únicamente 1/8000 del tamaño medio de un cromosoma nuclear, el contenido de mtDNA en una célula somática puede representar hasta el 0.5% del contenido de DNA total. Aunque la información contenida en el genoma mitocondrial, considerando el número de genes, es muy pequeña en comparación con el genoma nuclear, la cantidad de mtDNA es relativamente grande. (Stoneking, 1993).

El DNA mitocondrial presenta, además, características de suma importancia en los estudios moleculares y en sus aplicaciones filogenéticas. Una de ellas es la herencia por linaje matrilineal (López, 2006), como tradicionalmente se ha conocido. A diferencia del DNA nuclear que se hereda por ambos progenitores, el DNA de la mitocondria se hereda como un bloque de madre a hijos (mujeres o varones). Sin embargo únicamente las hijas podrán transmitir su DNA mitocondrial. Esta circunstancia se debe a que las mitocondrias contenidas en los espermatozoides no intervienen directamente en el proceso de fecundación. Una analogía sencilla, que ejemplifica perfectamente ésta forma de herencia,

es la transmisión del apellido paterno en nuestra cultura, aunque en este caso son los hombres los que transmiten su primer apellido a la descendencia.

A la herencia uniparental de ésta molécula hay que sumarle otro aspecto relevante, no presenta recombinación. La recombinación es un proceso por el cual dos cromosomas homólogos pueden intercambiar material genético. Este proceso, de suma importancia en la generación de variabilidad y de nuevas combinaciones genéticas en la descendencia, puede ser problemático a la hora de rastrear el origen de una porción de material genético. La reflexión es simple, si ha habido recombinación, intercambio de información entre los cromosomas procedentes del progenitor masculino y femenino, no se podrá determinar de qué progenitor se ha heredado un gen en concreto (López, 2006). Si por el contrario no existe recombinación, como es en el caso del mtDNA y la herencia es materna, es obvio que todo el material genético procede de la madre y, de esta manera, se puede reconstruir fidedignamente la genealogía femenina de un individuo y de una especie. Es así como el DNA mitocondrial se transmite intacto, por vía femenina, y de generación en generación. El único sistema posible por el que se pueden introducir variaciones serán, por lo tanto, las mutaciones.

Otra de las cualidades del mtDNA es una alta tasa mutacional, en comparación con la del DNA nuclear, la tasa de mutación es la frecuencia con la que ocurren cambios en la secuencia nucleotídica del DNA. La tasa de mutación, en principio, se produce de forma constante a lo largo del tiempo aunque puede variar de un tipo de material genético a otro e incluso de una región a otra. De esta forma, conociendo cada cuanto tiempo se produce una de estas alteraciones, y cuantas diferencias hay entre dos individuos que se quieran

comparar, se puede determinar hace cuanto tiempo estos dos individuos tuvieron un antepasado común. La misma reflexión es válida para realizar comparaciones entre poblaciones, aunque en este caso se utilizaría el número medio de diferencias que hay entre ambas poblaciones. (López, 2006).

Existen otras diferencias entre el mtDNA y el DNA nuclear, por ejemplo, el genoma mitocondrial es extremadamente compacto y ninguno de sus genes tiene intrones: existe, en promedio, un gen por cada 0,45 Kb. Además, las secuencias codificantes de algunos genes presentan solapamientos y, en la mayoría de los casos, las secuencias codificantes de los genes adyacentes o bien son contiguas o están separadas por una o dos bases no codificantes. Algunos genes llegan incluso a carecer de codones de terminación.

Desde los primeros trabajos de Brown, se ha observado que el MtDNA evoluciona de 5 a 10 veces más rápido que el segmento promedio del DNA nuclear. Esta característica lo hace muy útil para estudios de análisis de alta resolución del proceso evolutivo (Brown *et al.*, 1979).

Para explicar por qué el mtDNA evoluciona rápido, hay que tomar en cuenta dos procesos, la tasa a la que las mutaciones surgen, *tasa de mutación*, y la probabilidad de que una mutación recién surgida sea fijada en la población, *tasa de fijación*. El mtDNA presenta una alta tasa de mutación debido, quizá en parte, a que el mtDNA carece de histonas protectoras, que posee sistemas de ineficientes de reparación y/o a que está expuesto a los efectos mutagénicos de radicales de oxígeno generados continuamente por la fosforilación oxidativa (Richter *et al.*, 1988; Morten *et al.*, 1993). También presenta una elevada tasa de fijación posiblemente por un cuello de botella durante lo que favorece una

alta segregación de los alelos y la rápida deriva genética del MtDNA en la población generada (Wallace, 1994). No obstante, los cálculos que se han hecho para estimar la tasa de mutación en humanos sugieren que aproximadamente cada 10 000 años se produce una mutación, desde la aparición del primer ser humano, que vivió hace aproximadamente 150 000 años en África (Cann *et al.*, 1987b).

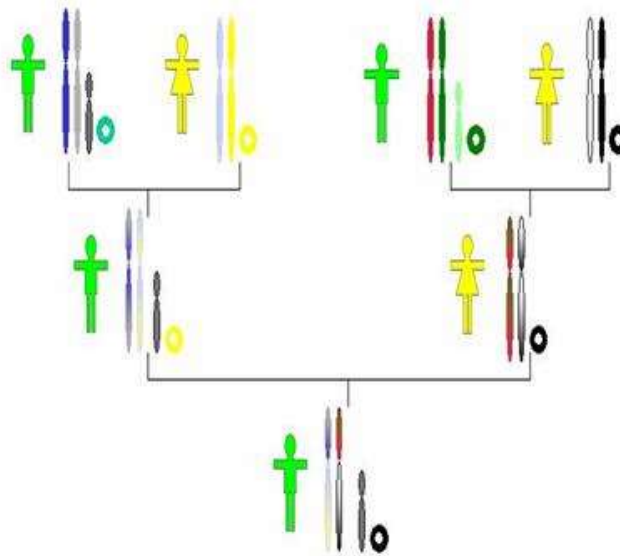


Figura 5. Herencia autosómica, mtDNA y del cromosoma Y. En la herencia autosómica cada individuo recibe una mezcla de cada uno de sus padres. El mtDNA (representado por un círculo) se hereda vía materna y el cromosoma Y sólo se hereda de padres a hijos varones, escapando los dos últimos del proceso de recombinación

3.- JUSTIFICACIÓN

El gran mosaico cultural de México se debe en gran medida a la existencia de una población indígena calculada en la actualidad en 12 millones de personas (INEGI, 2000), quienes aportan sus tradiciones, creencias, cosmovisión, y su historia, que también es la nuestra. Existen 12 grupos lingüísticos, 62 lenguas y más de 120 dialectos, lo que coloca a México como el país más megadiverso en cultura. Para estudios de genética de poblaciones, nuestro país es

sumamente atractivo, por la gran diversidad étnica que posee y que aún no es estudiada.

América y la Polinesia fueron los últimos territorios en ser colonizados por los humanos (Schurr et al 2004; Shery , 2004; Wang, 2007, Achilli, 2008); ambos han sido escasamente estudiados en términos de genética humana, y se debe tener en mente que la continuidad y permanencia de los grupos étnicos de nuestro país, esta en riesgo permanente. La tierra de los mayas cubre toda la península de Yucatán, su territorio que se extiende desde el océano Pacífico hacia el norte. La zona contiene dos tipos básicos de paisaje, el de tierras altas y el de tierras bajas, y una asombrosa variedad de ecosistemas dentro de cada uno de ellos. Las cordilleras y los volcanes activos que definen las tierras altas se extiende desde México hasta el sur de Guatemala, y una parte del oeste de Honduras y de El Salvador, Cubre el norte de Guatemala, Belice y sudeste de México., en específico los estados de Campeche, Quintana Roo y Yucatán, y parte de Chiapas y Tabasco. (Stuart, G. 2003)

Es prioritario aportar datos que nos permitan hilar parte la historia biológica de nuestro continente y de nuestro país. Así como reiterar la importancia que estas poblaciones tienen, como un acervo único, invaluable e irreparable de nuestra historia. Este trabajo aporta información biológica sobre este grupo estudiado fundamentalmente bajo la perspectiva de las ciencias sociales y las humanidades.

4.- OBJETIVOS

Objetivo general.

Caracterizar genéticamente a la población maya de Xpuhil, Campeche, México, mediante el empleo de haplogrupos mitocondriales para establecer relaciones

de distancias genéticas con respecto a otros grupos étnicos de México y del continente americano, determinado así su filiación genética.

Objetivos particulares:

- Describir la estructura genética intrapoblacional de la muestra de Xpuhil, Campeche, utilizando las frecuencias de los cuatro haplogrupos mitocondriales amerindios.
- Comparar las frecuencias de haplogrupos encontrados, con datos publicados de otras poblaciones étnicas para discernir las posibles relaciones interpoblacionales.
- Determinar si hay una correlación entre las distancias geográficas y las distancias genéticas entre grupos indígenas.

5.- HIPÓTESIS

1.- La frecuencia de los cuatro haplogrupos mitocondriales entre las poblaciones mayas, sigue el patrón de gradación norte-sur que se presenta en el continente. En el norte del continente es mas frecuente el haplogrupo A y menos frecuente en el sur; el haplogrupo C es menos frecuente en el norte y mas frecuente en el sur. Por lo que se espera, en la localidad de Xpuhil una frecuencia alta del haplogrupo A, menor frecuencia de haplogrupo B y una disminución significativa de los haplogrupos C y D.

2.- Se espera encontrar una correlación lineal positiva entre las poblaciones integradas a este estudio. Tomando en cuenta las variables: distancia geográfica y distancia genética.

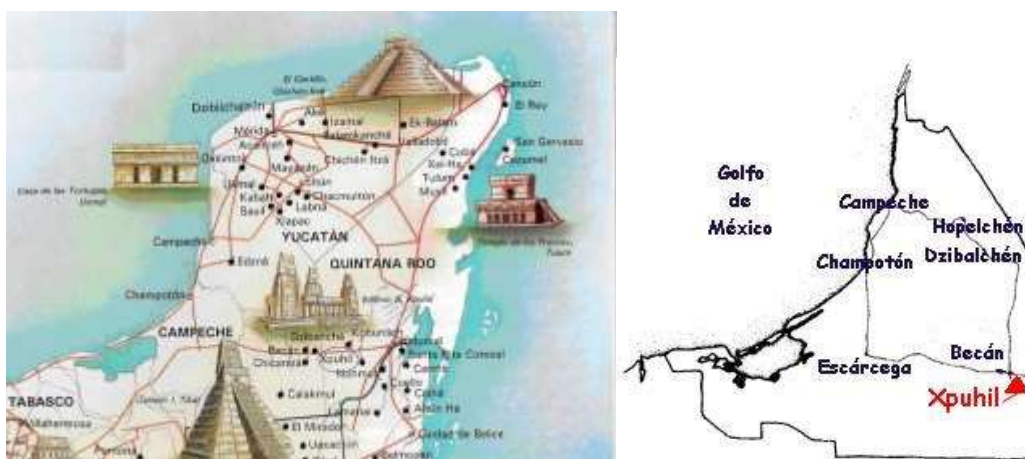
3.- No hay cambios significativos en las distancias genéticas entre la población de estudio y los resultados de poblaciones mayas de otras publicaciones.

6.- MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Área de muestreo

La zona en que se llevo a cabo el trabajo de campo, es Xpuhil, Cabecera del municipio de Calakmul, en el Estado de Campeche, México. Se localiza a 302 Km. de la capital del Estado, hay que tomar la carretera Federal 186. Las coordenadas son: Latitud 18.50833, Longitud -89.4. (Geonames.org. 2009)

El municipio de Calakmul limita al Norte con los Municipios de Champotón y Hopelchén; al Sur Guatemala; al Este con el Estado de Quintana Roo y con Belice; y al Oeste con los Municipios de Escárcega y Candelaria (<http://www.calakmul.gob.mx>).



6. Mapa Xpuhil. .Tomado de Magdalena Juárez 2003.

En la actualidad la población maya, sobrepasa los 2 millones de personas, y se ubica en más de 400 000 kilómetros cuadrados en áreas que forman parte

del Sureste de México, Guatemala, Belice, oeste de Honduras y El Salvador. (Stuart, 2003).

6.2 Toma de muestras

Las muestras biológicas se tomaron de la población maya de Xpuhil, en el municipio de Calakmul, Campeche y consistieron en cabello –con bulbo piloso– y muestras de saliva de ochenta y ocho estudiantes voluntarios de la única escuela secundaria que hay en la comunidad. Previo a la toma de muestras, se hizo una explicación grupal, de qué es el DNA, generalidades del DNA mitocondrial y los alcances que éste puede tener en estudios la historia biológica de las especies, en específico del *Homo sapiens*. Asimismo, se comentaron las características y objetivos del proyecto: Historia biológica de las poblaciones humanas: aproximación al poblamiento de América, que dirigió el Dr. Antonio González Martín y del que forma parte esta tesis.

Mediante un cuestionario se constató que no existiera parentesco matrilineal entre los donantes, en al menos tres generaciones, que es lo que la tradición oral permite recordar.

Las muestras de cabello fueron colectadas en tubos para microcentrífuga de 1,5 mL de capacidad debidamente rotulados. Las muestras de saliva se obtuvieron mediante un enjuague bucal con solución salina, que fue vertido en un tubo para centrífuga de 15 mL de capacidad. Las muestras fueron correctamente conservadas desde el momento de su colecta hasta la llegada al Laboratorio de Sistemática Molecular de la UAEH, en el que se contaba con el

equipo necesario para su preservación. Fueron congeladas a -20°C hasta el momento de la extracción de DNA.

6.3 Extracción de DNA a partir de saliva

Para la extracción del DNA a partir de saliva se siguió el protocolo de Walsh *et al.*, 1991 y Vigilant, 1999, mismo que fue reestandarizado para este proyecto por Hernández-Camacho., Vergara-Pérez., López-Ramírez y Moreno-Centeno (2005). La extracción de DNA se realizó mediante el empleo de resina Chelex[®] al 5%. Una vez descongeladas las muestras, se centrifugaron a 4 500 RPM y se decantó el sobrenadante procurando no resuspender el botón que se formó en el fondo de los tubos, se colocaron durante un minuto en hielo y se agregaron 500 μL de Chelex[®] al 10%. Para resuspender la solución se pipeteó vigorosamente y se transfirieron 500 μL a un tubo para microcentrífuga de 1,5 mL de capacidad. Se incubó en una incubadora húmeda a una temperatura de 85°C durante 10 minutos y se colocaron en hielo durante 1 minuto, tras lo cual se centrifugaron a 11 000 RPM durante 1 minuto. Del sobrenadante se transfirieron 200 μL a un tubo para microcentrífuga de 1,5 mL de capacidad. Finalmente, las muestras fueron congeladas a -80°C .

6.4 Amplificación mediante PCR

La verificación de extracción exitosa de ADN, la amplificación de ADN y tipificación de los haplogrupos amerindios se realizó en el Laboratorio de Genética Molecular de la Escuela Nacional de Antropología e Historia. El laboratorio cuenta con condiciones óptimas, dentro de las más importantes es la separación física de las áreas de Pre-PCR, PCR y Post-PCR.

El DNA fue amplificado mediante la técnica PCR con el empleo del protocolo establecido por Baillet y colaboradores (1994). La fórmula comúnmente empleada de los componentes de amplificación para una muestra consiste en 11,37 μL de agua desionizada, 3,9 μL de Buffer 10X, 1,54 μL MgCl_2 , 1,0 μL dNTP's, 1,0 μL de cada *primer*, 0,85 U/reacción de *Taq* DNA polimerasa contenida en 0,19 μL , y 4,0 μL de DNA. El volumen total para cada muestra fue de 24,8 μL . Al preparar la mezcla para PCR se toma en consideración una muestra más, por cada 10 muestras por pérdidas por evaporación. Se incluyeron controles positivo y negativo para detectar posibles contaminaciones. Las secuencias exactas de los *primers* se obtuvieron del trabajo publicado por Baillet y colaboradores (1994). El termociclador utilizado fue *Applied Biosystems*[®] *GeneAmp 9700*.

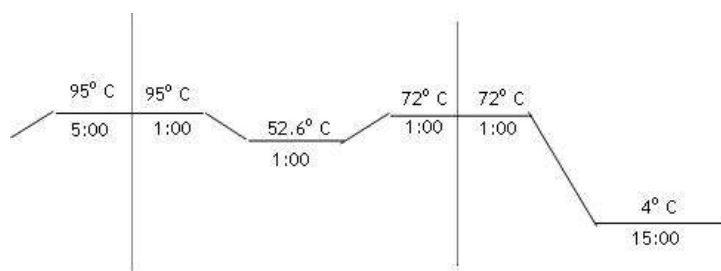


Figura 7. Muestra los pasos del termociclador: desnaturalización, apareamiento y alargamiento.

Los resultados se verificaron mediante electroforesis, utilizando geles de agarosa al 2%, y visualizándolos en un transiluminador de rayos UV.

Se emplearon agarosa de la marca Invitrogen® y buffer TBE 0.5 X y bromuro de etidio de la marca BioRad® .

6.5 Tratamiento con enzimas de restricción

Una vez constatada la amplificación de la región del mtDNA a analizar mediante PCR, el paso siguiente consistió en la de identificación de sitios de mutación que se determinan mediante el uso de endonucleasas, también conocidas como enzimas de restricción, identificando sitios de polimorfismos (Torrioni *et al.*, 1998).

Para el tratamiento con enzimas de restricción se emplearon 0,4 µL de agua desionizada, 0,4 µL de amortiguador y 1 U de la enzima correspondiente por cada muestra (Ver cuadro 6). Esto fue vertido en los tubos conteniendo la mezcla de reacción resultante de la amplificación por PCR e incubados durante 19 horas a 37°C.

Haplo-grupo.	Oligonucleótidos <i>Primers</i>	Enzima	Loci	Transición	Fragmento de digestión	Referencia
A	MIL582 5' TG TAGCTTACCTCCTCAAAGC3'	<i>Hae III</i>	663	T...C T...C C...T	82+105	Bailliet, <i>et al.</i> , 1994
	MiH745 5' TTGATCGTGGTGATTTAGAGG3'					
B	MIL16475 5' TAGCTAAAGTGAAGTGTATCC 3'	<i>Hae III</i>	16517	T...C C...T	78+42	Bailliet, <i>et al.</i> , 1994
	MIL16475 5' TAGCTAAAGTGAAGTGTATCC 3'					
C	MiL13209 5' CGCCCTTACACAAAATGACATCAA 3'	<i>Alu I</i> <i>Hinc II</i>	13262 13259	T...C T...C	178+50	Bailliet, <i>et al.</i> , 1994
	MiH13437 5' TAATACACCAGTCTTGTAACC 3'					
D	MIL5150 5' CCTACTACTATCTCGCACCTG3'	<i>Alu I</i>	-5176	C...T	26+105	Bailliet, <i>et al.</i> , 1994
	MiH52815'GTGAATTCTTCGATAATGGCC3'					

Figura 8. Oligonucleótidos relacionados con la amplificación de DNA, enzimas utilizadas en la tipificación. Se muestra su posición en el genoma mitocondrial, según la secuencia de Anderson (Bailliet *et al.*, 1994; Green *et al.*, 2000; Rodríguez-Delfin *et al.*, 2001).

6. 6 Electroforesis

Los resultados de la digestión enzimática se analizaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 3%.

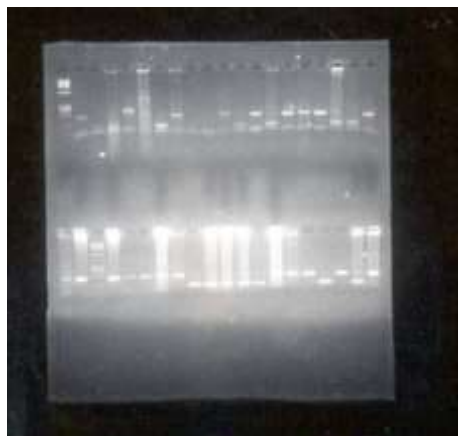


Figura 9. Corrimiento de geles de agarosa al 3%, empleando la enzima Hae III, utilizada para tipificar haplogrupo A

6.7 Tipificación

El haplogrupo A está definido por la presencia de un sitio de restricción *Hae III* en la posición 663; el haplogrupo B por una delección de 9 pb en la región intergénica V; el haplogrupo C por la ausencia de un sitio *Hinc II* en la posición 13,259; y el haplogrupo D, por la ausencia de un sitio de restricción *Alu I* en la posición 5.176. (García F. 2004).

6.8 Tratamiento estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron mediante la utilización de programas clasificados en dos tipos: generales y específicos. Entre los primeros está Excel, que se utilizó, para manipular los formatos de entrada de programas filogenéticos. De igual modo fue necesario utilizar WordPad y Bloc de Notas. Los datos de frecuencias genotípicas se realizaron mediante Excel introduciendo la fórmula para cálculos de frecuencias.

$$\left(Fh = \frac{Nh}{Ni} \right)$$

Dónde Fh es la frecuencia de cada haplogrupo, Nh es el número de individuos catalogado en los distintos haplogrupos y Ni es el número total de individuos tipificados sometidos a los análisis. Con este cálculo se obtuvieron las frecuencias genéticas, indispensables para realizar el resto de los análisis.

6.8.1 Software utilizado en los análisis

XLSTAT. Este programa funciona como complemento de Excel y está compuesto de diferentes módulos que permiten análisis estadísticos multivariantes independientes. Los análisis que se realizaron fueron: Análisis de Componentes principales , análisis discriminante, análisis de escalamiento multidimensional y análisis factorial de correspondencias (www.xlstat.com).

POPGENE Se utilizó para los cálculos intrapoblacionales de la muestra de población de Xpuhil.

ARLEQUIN Se realizaron cálculos intrapoblacionales de diversidad genética en la población de Xpuhil.

PHYLIP (Versión 3.6). Es un programa específico que permite el cálculo de distancias genéticas así como realizar *bootstrap* y representaciones gráficas. Programa de libre distribución (<http://evolution.gs.washington.edu/phylip.html>) que incluye herramientas para cálculos de parsimonia, matrices de datos, máxima verosimilitud y análisis de datos de DNA y RNA. Las matrices de datos que se realizaron en Excel se importaron a un formato de texto mediante *WordPad* y *Bloc de Notas* y se analizaron utilizando diferentes herramientas. Estos módulos, y siempre dentro del programa Phylip, fueron:

GENDIST. Este módulo realiza el cálculo de distancias genéticas a partir de frecuencias originales. En este caso se calcularon dos distancias, la distancia genética de Nei, que se basa en un modelo sin mutación y con sólo deriva genética, y la distancia de Reynolds, muy apropiada para datos en los que las nuevas mutaciones suceden en un modelo neutral.

SEQBOOT. Se utilizó para cálculos de nuevas matrices de frecuencias. El modelo tiene como objetivo crear, mediante combinaciones aleatorias, tantas

matrices de frecuencias como *bootstraps* o re-muestreos se quieran emplear en el análisis.

NEIGHBOR. Este programa genera tantos árboles como número de *bootstrap* se apliquen al trabajo. En el trabajo se representaron árboles del vecino más cercano (Neighbor Joining).

CONSENSE. Se utilizó para generar un árbol consenso de los mil generados en el paso anterior.

TREEVIEW. Este programa específico se utilizó para observar, editar e imprimir los árboles y cladogramas generados por Phylip.

STATISTICA: Programa que se utilizó para realizar análisis multivariados

BARRIER: programa que permite compaginar datos geográficos y genéticos.

Origina un mapa con barreras geográficas y barreras genéticas

6.8.2 Descripción de análisis empleados

6.8.2.1 Análisis Discriminante.

A partir de AD, se hicieron los Análisis de Escalamiento Multidimensional. Técnica estadística multivariada cuya finalidad es analizar si existen diferencias significativas entre grupos de objetos respecto a un conjunto de variables medidas sobre los mismos.

Se partió de una muestra de N sujetos en los que se han medido X variables cuantitativas independientes, que son las que ayudarán a tomar la decisión sobre el grupo en que se clasifica mejor cada sujeto, mediante el modelo matemático estimado a partir de los datos. En este caso las variables empleadas han sido las frecuencias de los haplogrupos de las diferentes poblaciones. Dentro del análisis discriminante se puede encontrar, a su vez,

con dos enfoques diferentes, uno que se denomina *predictivo* y otro *explicativo*. El método predictivo consiste en generar ecuaciones que permitan, al agregar más individuos, una clasificación lo más cercana a la realidad. En el análisis discriminante predictivo es importante cuantificar con qué precisión se clasificará a un nuevo sujeto. En el análisis discriminante explicativo lo que más interesa son las variables empleadas para diferenciar los grupos, las mejores variables explicativas. Lo que se desea es determinar cuáles de esas variables son las que más diferencian a los grupos, cuáles son importantes y cuáles no, a efectos de clasificar los sujetos. En Hernández-Camacho F. 2005

Este análisis se acompaña de un valor llamado *Lambda de Wilks* que indica el ajuste de los modelos: cuanto más se acerque a cero, más ajustado es el análisis. También se da la *tasa de error aparente* que indica el tanto por ciento de poblaciones clasificadas erróneamente *a priori*. Además, cada población está acompañada de dos valores probabilísticos: la probabilidad de estar bien clasificada *a priori* y la probabilidad de ser reclasificada en otra agrupación (Dillon y Goldstein, 1984; Jobson, 1992).

6.8.2.2 Análisis de Componentes Principales (ACP).

El análisis de componentes principales (ACP) es una técnica estadística que fue propuesta a principios del siglo pasado por Karl Pearson como parte del análisis de factores. Sin embargo la complejidad de los cálculos retrasó su desarrollo hasta la aparición de las computadoras y su utilización a la segunda mitad del siglo XX.

El ACP tiene como objetivo evaluar la semejanza de los individuos a través de los atributos considerados. La semejanza de cada uno de los

individuos es analizada con la distancia euclídea clásica atribuyendo la misma importancia a todas las variables. Quizá una de las bondades del ACP es la representación de las medidas numéricas de diversas variables en un espacio de pocas dimensiones, es decir, una simplificación de los datos, donde se pueden percibir relaciones que de otra manera permanecerían ocultas en dimensiones superiores. Dicha representación debe ser tal que al desechar dimensiones superiores (generalmente de la tercera o cuarta en adelante) la pérdida de información sea mínima. Algunos piensan que el ACP es una técnica descriptiva, pero actualmente se ha utilizado con fines de inferencia, y hoy en día son numerosos los estudios realizados para este fin. El objetivo del análisis es construir variables que sean una combinación lineal de los datos originales. (Dillon y Goldstein, 1984; Johnson, 1992).

Es un análisis que se utiliza para encontrar similitudes; opera en una matriz de similitud o disimilitud (Shepard, 1962) y está diseñado para encontrar, en cada dimensión especificada, la mejor representación geométrica de los datos en el espacio (Borg y Groenen, 1997). El escalamiento multidimensional es parecido al análisis factorial. Por ejemplo, se pueden especificar conglomerados de variables, se puede definir el número de dimensiones de los datos y algunas veces se pueden interpretar estas dimensiones. Este análisis está acompañado por indicadores estadísticos que informan sobre el ajuste del método. El *stress* es un índice indicativo sobre el ajuste de los datos representados (disimilaridad) con los datos iniciales (distancias genéticas). Cuanto menos coinciden más dispersos están y más *stress* poseen; y viceversa a mayor ajuste menos *stress* (Kruskal y Wish, 1978).

6.8.2.3 BARRIER versión 2.2.c.

Creado por Etienne Guérard y Franz Manni del Museo del Hombre en Paris. Este software fue desarrollado para visualizar los efectos de cualquier parámetro de cambio en tiempo real, permite de manera gráfica observar la asociación entre las distancias génicas y la distancia geográfica de cualquier población, dándole, por así decirlo forma a la matriz de distancia.(Gómez-Valdés, 2005) Una de las grandes ventajas de este software es que ofrece una representación real sobreexpuesta en un mapa de las principales agrupaciones naturales obtenidas a partir del cálculo de las distancias génicas, *al incluir os datos de longitud y latitud de la población o poblaciones referidas.* pero además permite que los datos entren en forma de BOOTSTRAPS, es decir, permite la entrada de matrices iteradas con el fin de poder eliminar el ruido asociado en las marcas genéticas que pueden ser visualizadas en un mapa geográfico y las áreas donde las barreras genéticas son más robustas (Guérard y Manni, 2004). Este software implementa el algoritmo de máximas diferencias, desarrollado por Manmomier para crear un espacio geométrico definido por coordenadas originales X/Y. Primero crea una teselación (tessellation) de un espacio alrededor del punto espacial original y luego otra que intersecta a cada punto original. La primer teselación llamada de Voronoï, representa un vecindario (neighborhood) poligonal de cada ejemplo (población), esta teselación determina cuales poblaciones son las más próximas. Como consecuencia, dos poblaciones son adyacentes si los límites de los polígonos de la teselación de Voronoï están unidos. El espacio definido por la teselación de Voronoï implica que todos los puntos posibles que inciden en el polígono están ubicados exactamente distantes al punto original, de tal manera que éste,

represente el centroide. Además el polígono de Voronoï está localizado en la intersección de tres bordes, en otras palabras, sus vértices son equidistantes por tres poblaciones o puntos originales, representando el centroide de los polígonos de alrededor, es decir, el vértice de Voronoï está en el centro del círculo que circunscribe el triángulo formado por tres puntos originales (Guérard y Manni, 2004).

La triangulación de Delaunay es un método para conectar un set de puntos originales (poblaciones) por un set de triángulos. Esta triangulación se forma mediante el camino más inmediato para conectar los puntos adyacentes en el mapa, para que la triangulación de Delaunay sea posible es necesario que satisfaga la propiedad de que el círculo circunscrito en el límite de la triangulación no contenga ningún punto del triángulo excepto sus vértices, ésta propiedad geométrica es necesaria para que se formen los árboles de Voronoï y que el triángulo pueda estar ubicado en el centroide, dado que, la teselación de Voronoï es obtenida por la intersección de las medianas de los triángulos definidos por la teselación de Delaunay (Guérard y Manni, 2004).

La definición del espacio de Manmomiér a partir de la teselación de Voronoï y Delaunay, es lo que permite crear una ruta por la cual van a correr las barreras basadas en la matriz de distancias genéticas, en el caso más extremo, una barrera representa que no hay flujo de genes en una u otra dirección, sin embargo, dada la dinámica de las poblaciones humanas esto ha ocurrido en contadas ocasiones, a pesar de ello, el software permite valorar la

intensidad o robustez de las barreras, este procedimiento es semejante al del BOOTSTRAPS, que indica la probabilidad del sistema de agrupamientos.

El uso de este programa es realmente sencillo, por un lado, se obtienen un archivo con una matriz de coordenadas de cada uno de los sitios y por otro las matrices de distancias (sean con BOOTSTRAP o no), es importante que las coordenadas estén definidas en un plano y sean del tipo cartesiano, es decir, X/Y.

Todos los datos de entrada de este programa entran con formato .txt, y para ello se puede utilizar el bloc de notas o el Word Pad de Windows. (Gómez-Valdez, 2005)

6.8.2.4 Análisis Molecular de la Varianza (AMOVA)

(Excoffier *et al.*, 1992) utiliza el hecho de que una suma de cuadrados convencional (SS) puede escribirse como la suma de las diferencias al cuadrado entre todos los pares de observaciones (Li, 1976). Se puede construir un análisis jerárquico de la varianza (molecular) directamente a partir de las diferencias al cuadrado entre todos los pares de haplotipos. La partición de la varianza se realiza según el modelo lineal (Long, 1986)

$$p_{jig} = p + a_g + b_{ig} + c_{jig}$$

donde $j=1\dots N_{ig}$ es el número de individuos, $i=1\dots I_g$ son las poblaciones y $g=1\dots G$ son las regiones. Los efectos son: 'a' para grupos, 'b' para poblaciones dentro de grupos y 'c' para individuos dentro de poblaciones.

7.- RESULTADOS

7.1 Resultados de laboratorio

De las 88 muestras colectadas, 78 corresponden a haplogrupos amerindios, 10 (0,2128) no tipificaron para ningún haplogrupo amerindio por lo que fueron agrupadas en la categoría “otros”. Las frecuencias obtenidas para estos marcadores fue como se detalla a continuación: A: 0,5341; B: 0,1364; C: 0,2128 y D: 0,1915.

7.2 Resultados estadísticos

7.2.1 Análisis de Componentes Principales de la variación escala continental (PCA).

El PCA, a través de la matriz de correlación, generó 5 valores propios que explican el 100% de la variación de los datos (Tabla A). El primer componente principal explica el 37.98 % de la variación de los datos y al tercer componente se explica el 86.15%.

	eigenvalor	% total	% acumulado
1	1.90	37.98	37.98
2	1.30	25.98	63.96
3	1.11	22.19	86.15
4	0.69	13.85	100.00
5	0.00	0.00	100.00

Tabla 2. Valores propios (eigenvalor), porcentaje explicado y acumulado resultado del ACP sobre las frecuencias de los haplogrupos.

En el gráfico de dispersión (Gráfica 1A) del PC1-2 se puede observar que la primera componente de la variación la explican los individuos asociados a poblaciones de Norteamérica (Savooga Eskimo, Dogrib, Washo, Ouzinkie Eskimo, Taono Oòdham (papago), Haida, Inuit) en ambas direcciones del eigenvector y algunas poblaciones sudamericanas hacia valores extremos

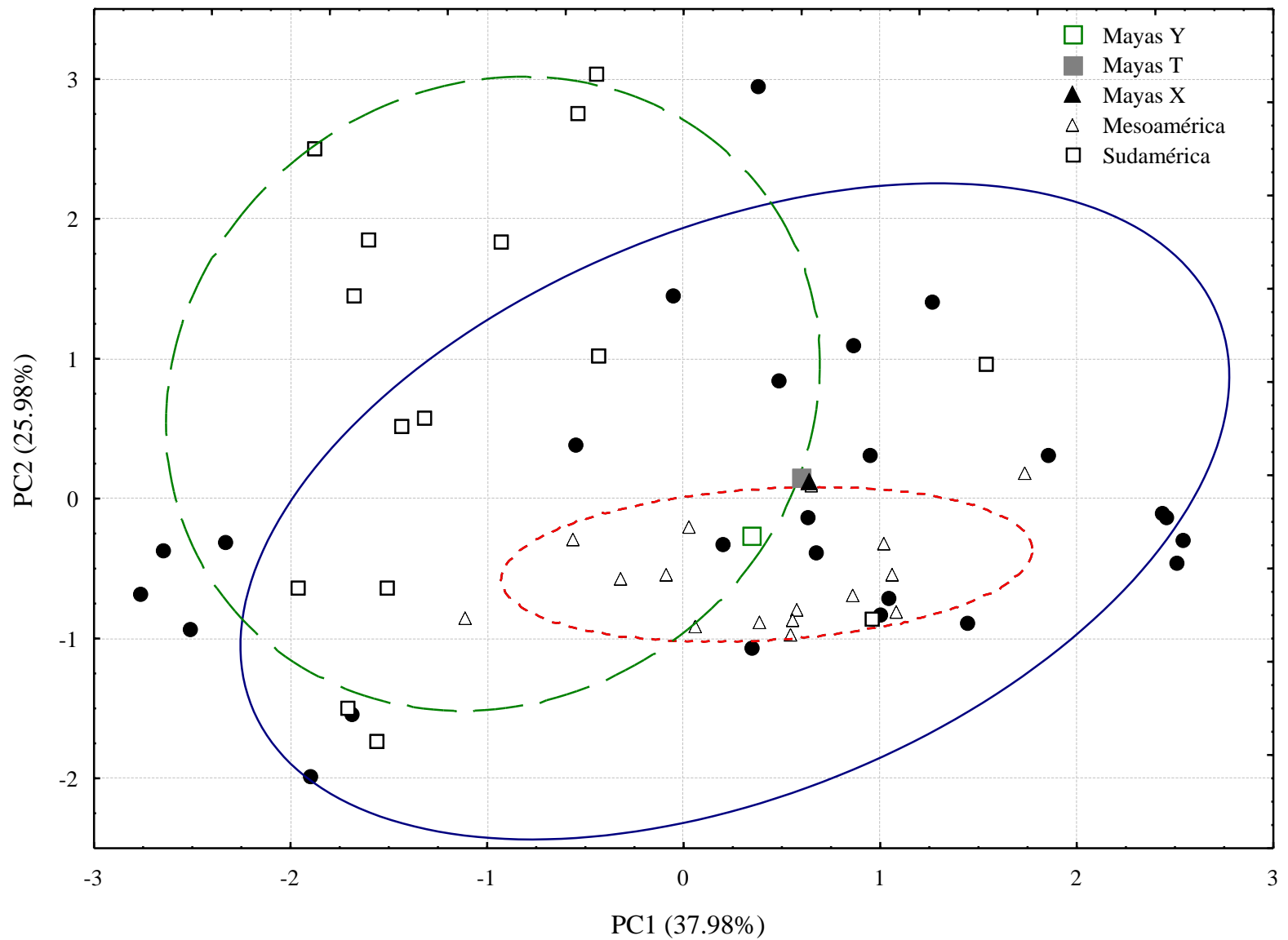
negativos (Mapuche-Chile, Aymara, Huetar). El PC2 es explicado principalmente por poblaciones sudamericanas (Zoros, Gavião, Pehuenche) y poblaciones Norteamericanas (St. Paul Aleut, Muskoke). El PC3 nuevamente por norteamericanas (Ojibwa, Chipewa), mesoamericanas (Tarahumaras, Purepechas) y sudamericanas (Xavante). El PC4 lo explican, nuevamente poblaciones norteamericanas (Jemez, Ojibwa, St. Paul Aleut, Mohawk), mesoamericanas (Tarahumaras) y sudamericanas (Mataco, Xavante, Gavião). Finalmente, el PC5 resume la variación de poblaciones sudamericanas (Huilliche), mesoamericanas (Nahua-Necoxtla) y los residuales del resto de las poblaciones.

Dentro de esta distribución se observa que la población en estudio está ubicada espacialmente hacia valores positivos del primer y segundo componente principal, extremadamente cercana a la población maya de Tzeltal y afín a la población Maya T. Asimismo en la gráfica de dispersión (Gráfica A2) del PC1-3, se observa la misma relación, únicamente que para el PC3 la población Maya X se localiza al inicio de los valores negativos de ese eje de variación quedando dentro del rango del 95% de variación de las poblaciones mesoamericanas. La población de Maya Y se localiza en valores positivos de este PC (Gráfica A2). Al generar elipses con un rango de distribución del 95% para poblaciones clasificadas como norteamericanas, mesoamericanas y sudamericanas. La población Maya X queda en el límite de la distribución únicamente para el PC2; ya que el PC1 y 3 la agrupan dentro de la variación de las poblaciones mesoamericanas analizadas en este estudio.

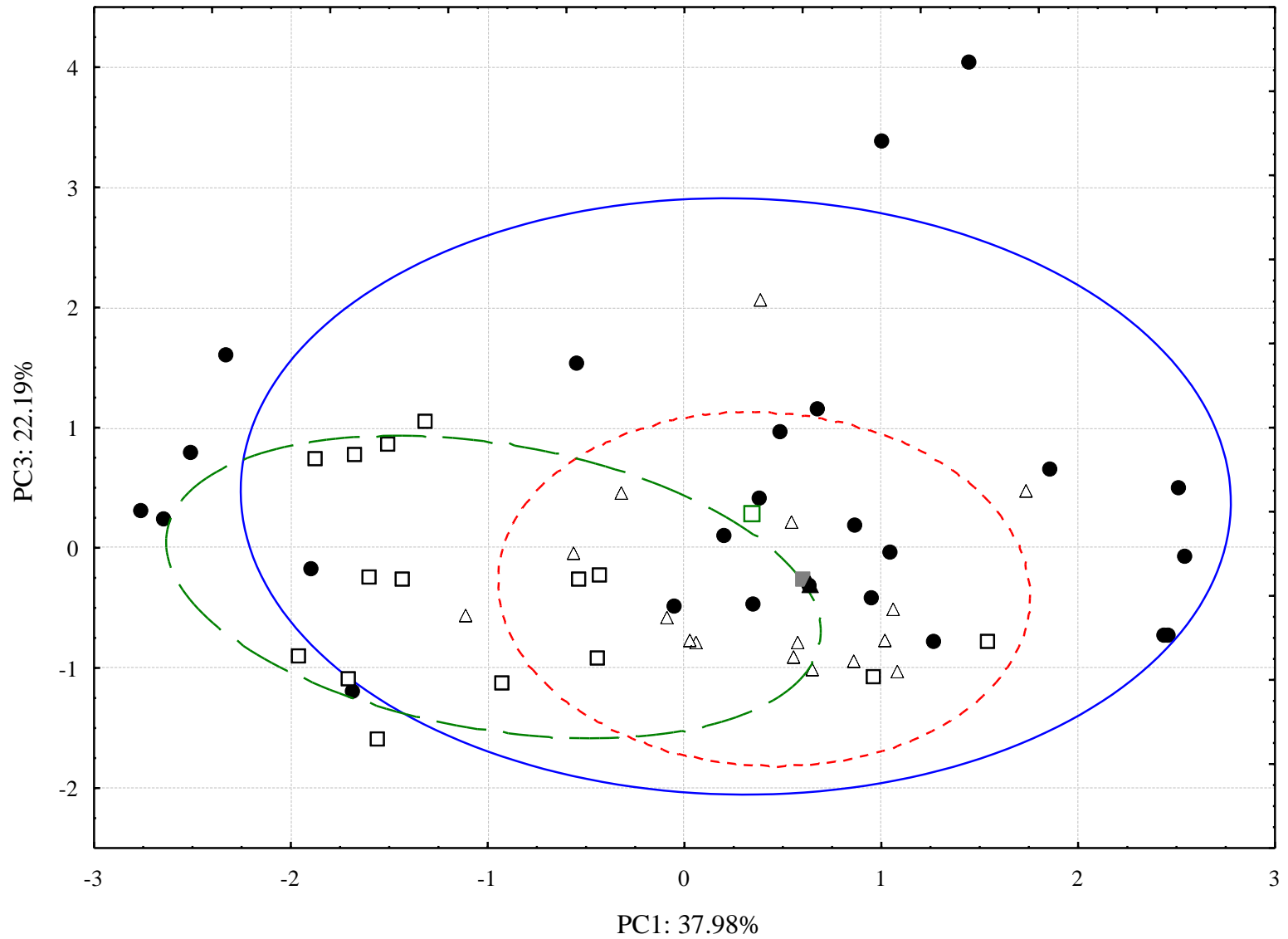
En adición a lo anterior, podemos observar que existe una compleja relación de la distribución de las poblaciones norte, meso y sudamericanas

(elipses). Igualmente, podemos ver que la contribución de cada población a la varianza explicada en por cada PC es diversa y se transpone (Gráfica 2). Sabemos que para el PC1, 2 y 3 se ha explicado el 86.15% de la varianza. Por ende, los resultados muestran que las poblaciones norteamericanas son las que más contribuyen a la varianza registrada por el eigenvector del PCA. Es tal su variación que las poblaciones mesoamericanas quedan dentro del rango de variación media para el PC1, 2 y 3. No así la sudamericana que representa una distribución más ajustada aunque no tan variable como la mesoamericana.

La distribución que tiene los rangos más conservadores es la mesoamericana, se puede observar que la elipse se encuentra hacia valores positivos del PC1, principalmente, y negativos del segundo. Explicando su mayor variación hacia el PC3 y 4, aunque siempre contribuyendo en el resto de los PC aunque de forma mínima. La distribución de las poblaciones esta dentro de la elipse del 95% de las poblaciones norteamericanas y un 50% dentro de la sudamericana para el PC1.



Gráfica 1. Dispersión que muestra la relación espacial del PC1 y PC2 (69.96%). La población Maya X (triángulo negro) se ubica cercana a la población Maya T y afín a la población Maya Y. Asimismo, se encuentra dentro de los límites de la distribución de las poblaciones mesoamericanas (elipse línea punteada roja). Los elipses engloban el rango de 95% de la variación.



Gráfica 2. Dispersión que muestra la relación espacial del PC1 y PC3 (60.17%). La población Maya X (triángulo negro) nuevamente cercana a Maya T y afín Maya Y. Únicamente cambia la relación espacial de valores positivos a negativos misma que puede relacionarse con la contribución de cada individuo a la varianza explicada por cada componente (ver Gráfica B). Hacia el PC3 las tres poblaciones mayas se incluyen dentro del rango de variación al 95% de las poblaciones mesoamericanas.

En cuanto a la contribución de las poblaciones mayas a los PCs tenemos que la población Maya Y se centra al PC4, PC3 y PC1, la población Maya T PC4, PC1 y PC3; y la población Maya X, similar a la anterior, PC4, PC1, PC3, aunque este último en menor medida al PC4 y mayor al PC1.

7.2.2 Análisis de Componentes Principales de la variación escala mesoamericana (PCA).

El PCA aplicado únicamente a las poblaciones clasificadas como mesoamericanas (n=19) generó 5 ejes de variación para explicar el 100% de la variación de los datos. Los tres primeros PCs resumen el 87.32% de la varianza (Tabla B).

	eigenvalor	% total	% acumulado
1	2.051666	41.03333	41.0333
2	1.329822	26.59643	67.6298
3	0.984738	19.69475	87.3245
4	0.633774	12.67549	100.0000
5	0.000000	0.00000	100.0000

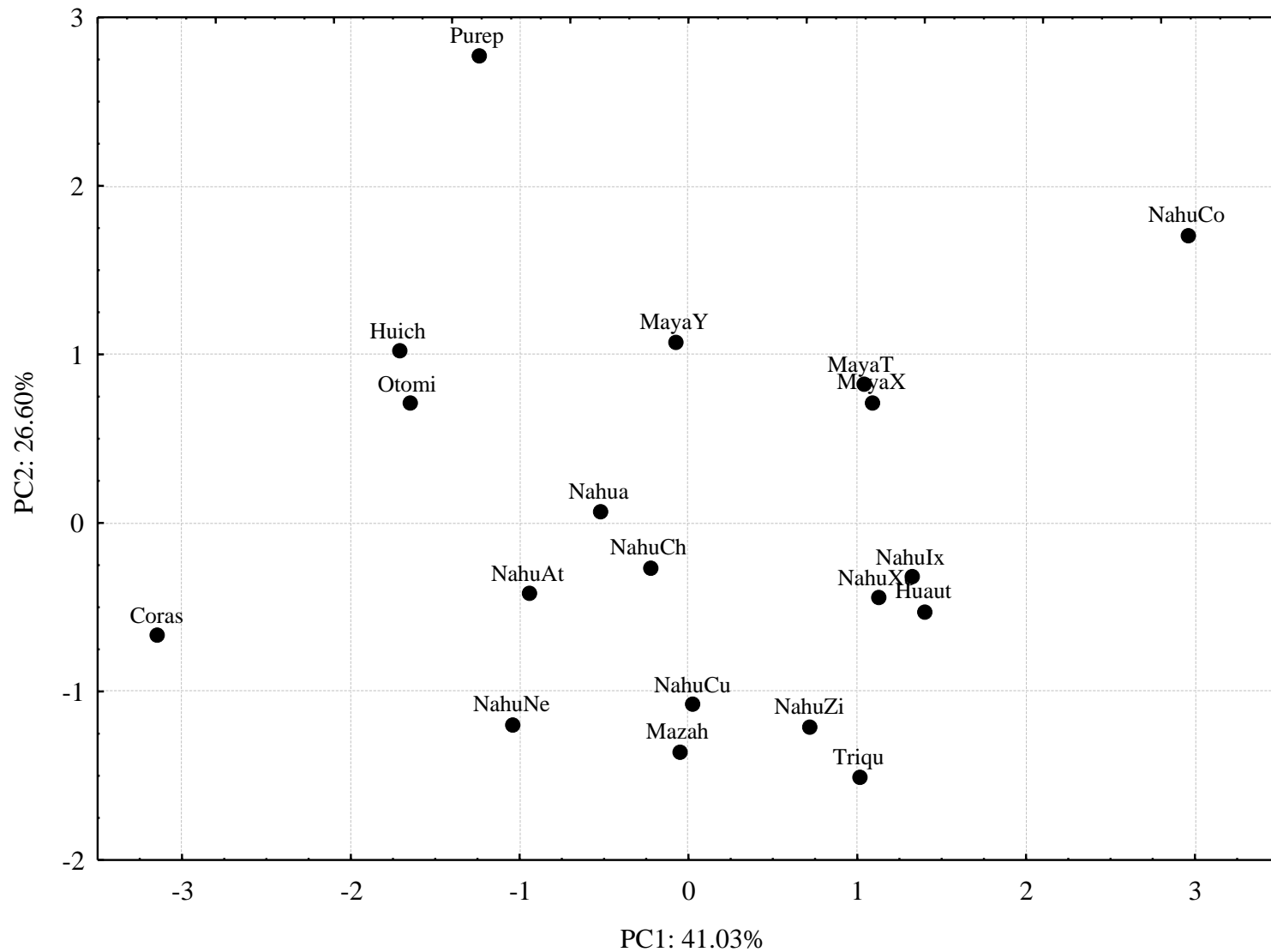
Tabla 3. Valores propios (eigenvalor), porcentaje explicado y acumulado resultado del PCA sobre las frecuencias de los haplogrupos.

El gráfico de dispersión (Gráfica D1) nos delimita que la orientación espacial de la población Maya X es hacia valores positivos del PC1, 2 y 3, cambiando a valores negativos en el PC4 y 5. Como ya se había mencionado en el análisis a escala continental la población Maya X se asocia a Maya T y es afín a Mata Y.

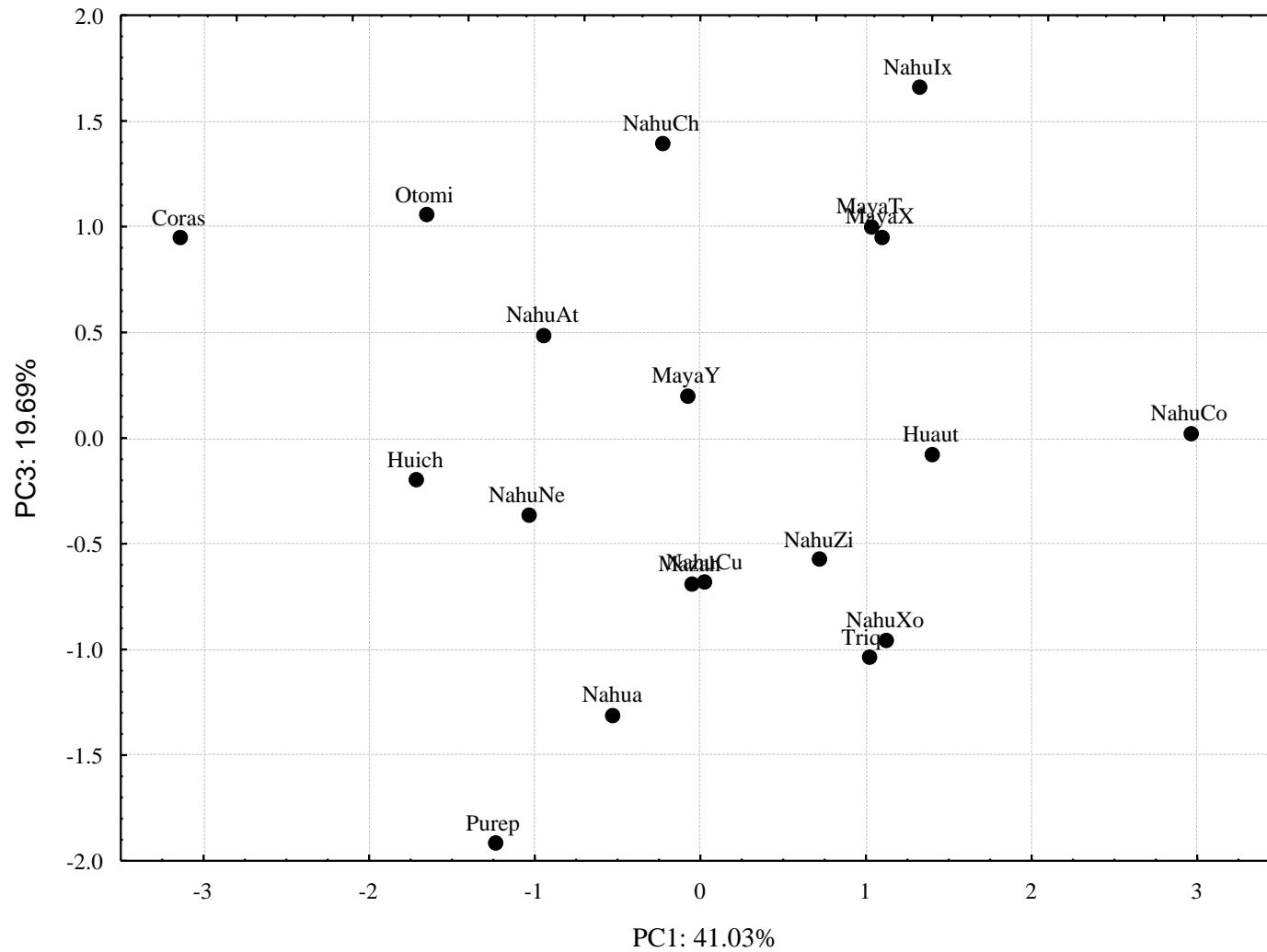
Para el primer componente principal estaría explicado por Coras, NahuCo, Huich, Otomi, principalmente. El PC2 se asocia a Purep, NahuCo, Triqu, Mazah, NahuZi, principalmente. El PC3 lo explican primariamente,

Purep, Nahulx, NahuCh, Nahua, Otomi. El PC4 explica su varianza en las poblaciones Huich, Nahulx, NahuCo, MayaT, como datos más sobresalientes. Finalmente, el PC5 responde a su variación las poblaciones NahuNe (que es un outlier), Coras, Mazah, junto con la respuestas residuales de el resto de las poblaciones (Gráfica E).

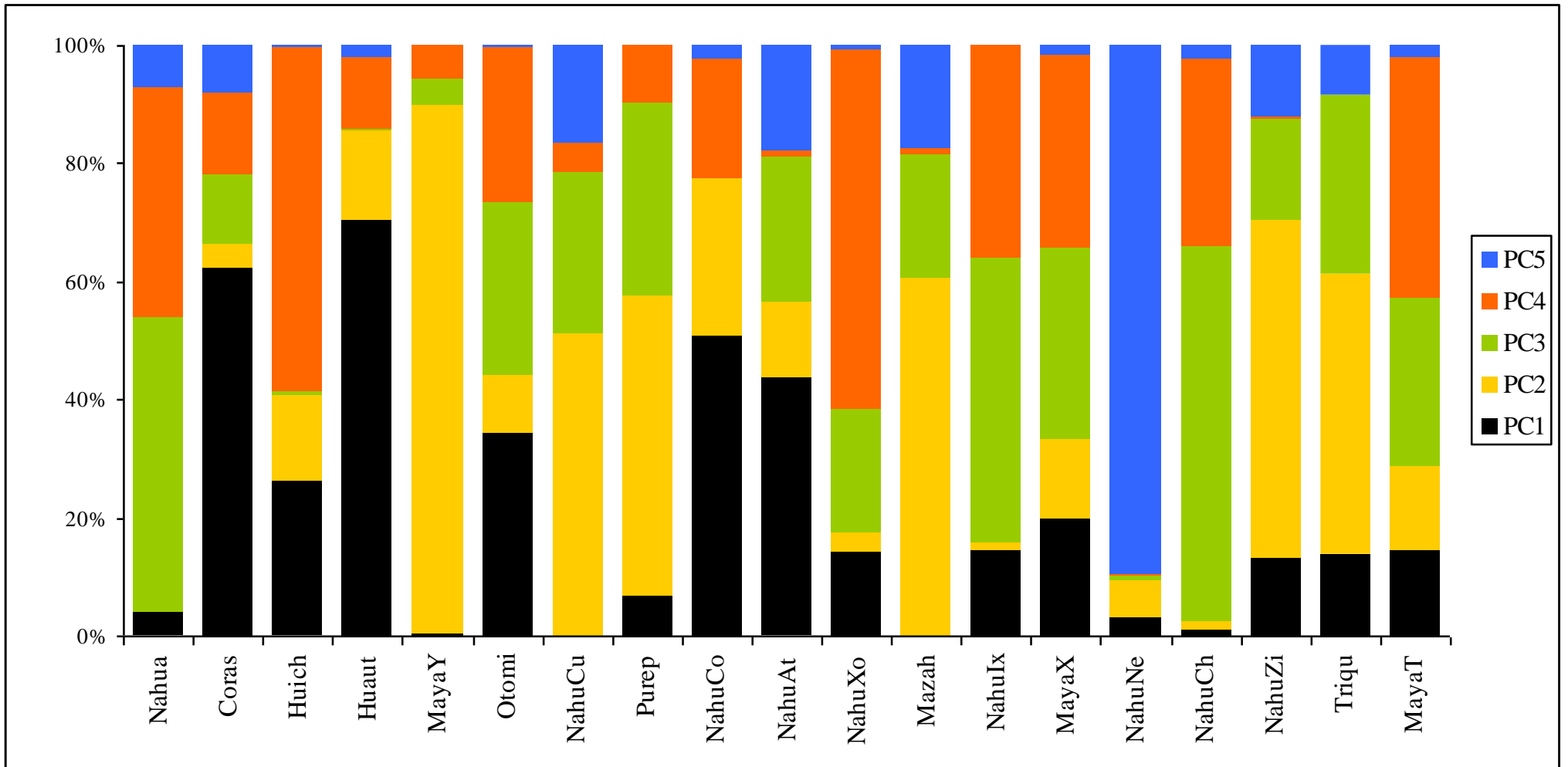
Aunque en el caso de este segundo análisis no se generaron elipses de distribución es evidente que las poblaciones Mayas son afines a poblaciones de Nahuas y más distantes a los Otomís, Huicholes, Coras y Purépechas. El grupo Nahua se asocia a Mazahuas, Triquis y Huautla formando un complejo consistente a lo largo de los PCs. Como grupos externos aparece Coras, Purépechas, NahuCo (Gráfica D1 y 2).



Gráfica 3. Dispersión que muestra la relación espacial del PC1 y PC2 (67.62%). La población Maya X se ubica cercana a la población Maya T y afín a la población Maya Y. Se denota la agrupación de las colecciones Nahuas con Mazahuas y Triques; y la dispersión de NahuCo, Coras y Purépechas. Como otra agrupación Huicholes y Otomi se agrupan al grupo Nahua-Mazahua-Triquis.

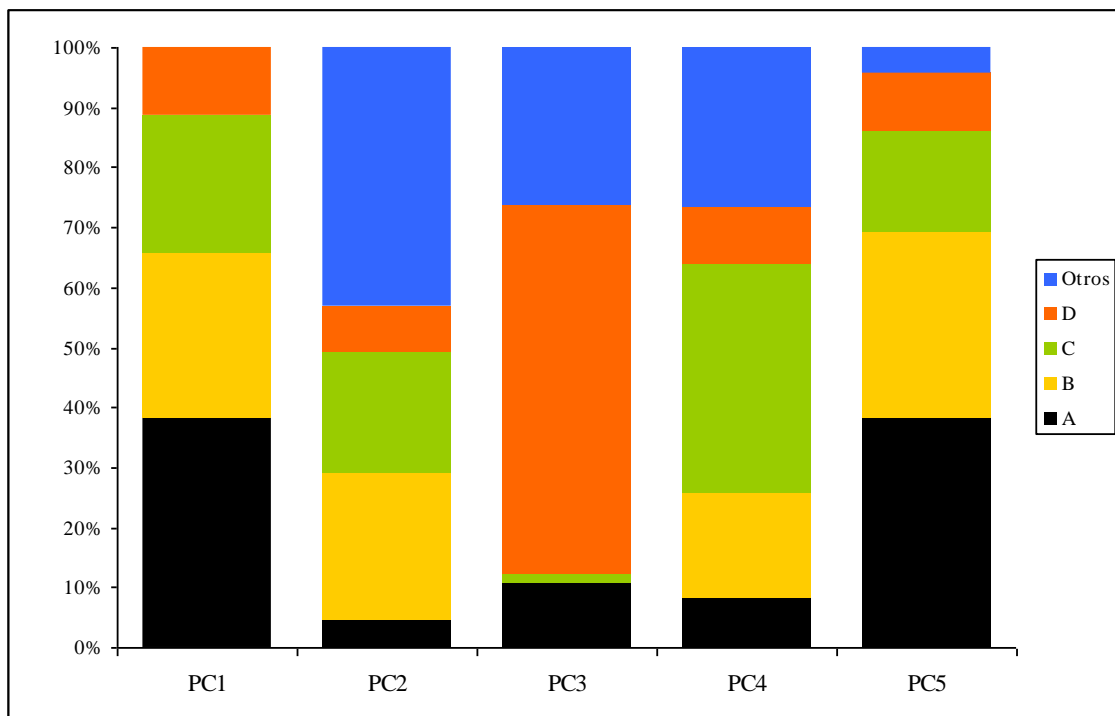


Gráfica 4 Dispersión que muestra la relación espacial del PC1 y PC3 (60.72%). Se mantiene la misma relación espacial que en la gráfica anterior. Únicamente, la población Maya Y cambia su relación espacial para el PC3 ubicándose más cercana a las poblaciones Nahuas, Triques y Mazahuas. La dispersión de los individuos extremos se mantiene y la agrupación Huicholes y Otomí se dispersa para el PC3 aunque se mantienen tendientes al grupo Nahuas-Mazahua-Triquis.



Gráfica 5. Contribución de cada población mesoamericana a la varianza explicada por cada PC.

En cuanto a la contribución de cada haplogrupo a la variación explicada en cada PC (Gráfica 6), se puede observar que en el PC1 contribuyen principalmente el haplogrupo A-D hacia valores positivos y B-C hacia negativos. En el PC2 Otros-C-D explicarían la variación hacia el componente positivo y B-A hacia extremos negativos. En el caso del PC3 D-C explican la variación hacia extremos positivos del eigenvector y Otros y A hacia valores negativos. El PC4 explica su varianza, para los valores positivos, por medio de los haplogrupos Otros-B-D y C-A hacia negativos. Finalmente, el PC5 explica su variación con el resto de los haplogrupos no identificados: Otros.



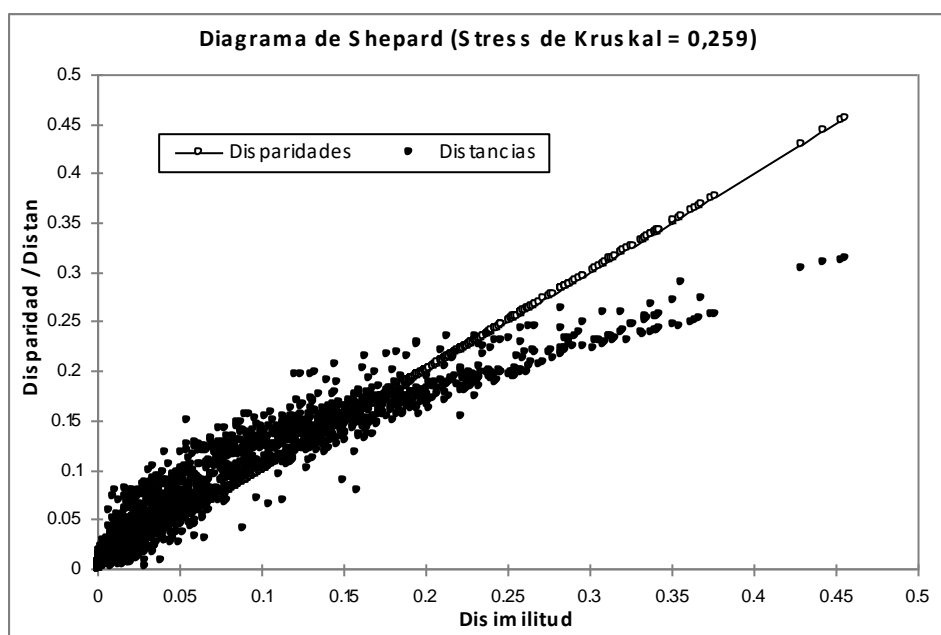
Gráfica 6. Contribución de cada haplogrupo a la varianza explicada por cada PC de las poblaciones mesoamericanas.

Análisis de escalamiento multidimensional escala continental (MDS)

De acuerdo a la matriz de distancias euclidianas, producto del análisis discriminante, el MDS generó dos dimensiones que explican las similitudes-disimilitudes de la matriz con un estrés de Kruskal pobre (Kruskal 1964) (Tabla C, Gráfica G).

Tabla 4. Stress después de la minimización

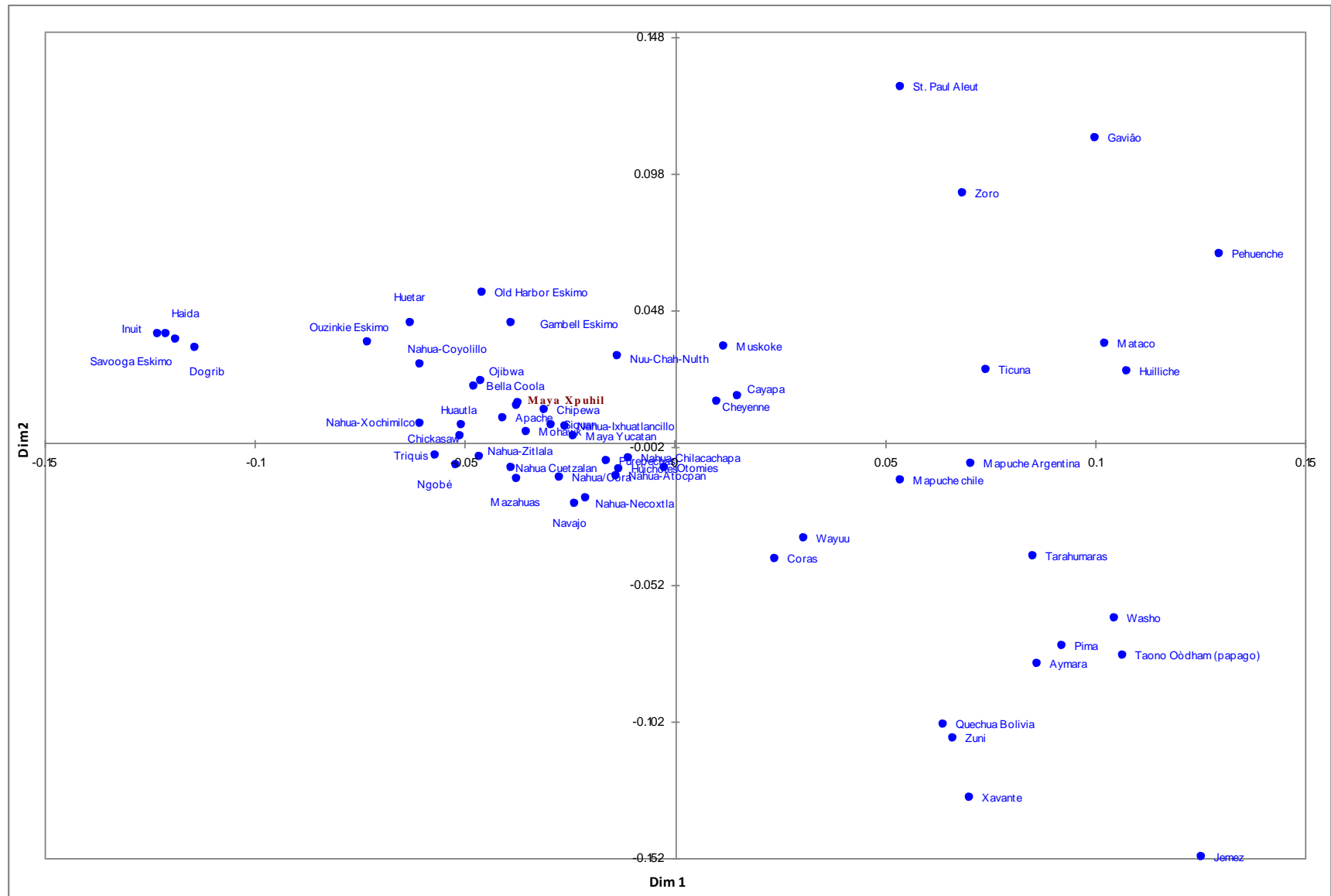
Dimensiones	2
Stress de Kruskal (1)	0.259
Iteraciones	37
Convergencia	0.000



Gráfica 7. Diagrama de Shepard para el estrés de Kruskal del MDS

La reconfiguración de los datos permite observar en un espacio x y, la relación multiespacio de las distancias euclídeas mínimas de cada población. Teniendo esta idea en mente, podemos ver que se repiten los patrones observados en el PCA. La población Maya X se asocia espacialmente a la población Maya

Tzeltal y cercana a Maya Yucatán. Las poblaciones Mayas se circunscriben cercanas a las poblaciones Nahuas (Gráfica 8).



Gráfica 8. MDS muestra la relación espacial de las distancias entre poblaciones incluidas en el análisis a escala continental. Los Mayas Xpuhil se encuentran cercanos a Maya Tzeltal y dentro de las distancias esperadas al resto de las poblaciones mexicanas.

En la tabla D se muestran las distancias euclídeas mínimas de la población Maya Xpuhil al resto de las poblaciones. Se puede ver que no necesariamente las distancias resultantes reconstruyen la historia biológica.

Población	Distancia	Población	Distancia	Población	Distancia
Maya Tzeltal	0.001	Gambell Eskimo	0.030	Ticuna	0.112
Apache	0.005	Nahua-Chilacachapa	0.033	Zoro	0.131
Chipewa	0.007	Huicholes	0.033	Tarahumaras	0.134
Mohawk	0.010	Nahua-Atocpan	0.035	Mataco	0.142
Siouan	0.011	Nahua-Necoxtla	0.038	Huilliche	0.146
Bella Coola	0.012	Navajo	0.038	St. Paul Aleut	0.148
Ojibwa	0.012	Huetar	0.040	Quechua Bolivia	0.154
Nahua-Ixhuatlancillo	0.014	Otomies	0.042	Aymara	0.156
Huautla	0.015	Old Harbor Eskimo	0.042	Pima	0.156
Maya Yucatan	0.017	Ouzinkie Eskimo	0.042	Zuni	0.160
Chickasaw	0.018	Cheyenne	0.048	Washo	0.162
Nahua-Zitlala	0.021	Cayapa	0.053	Gavião	0.169
Nahua Cuetzalan	0.023	Muskoke	0.054	Taono	Oòdham
Nahua-Xochimilco	0.024	Dogrib	0.080	(papago)	
Ngobé	0.026	Coras	0.083	Pehuenche	0.176
Mazahuas	0.027	Wayuu	0.083	Xavante	0.179
Triquis	0.027	Savooga Eskimo	0.085	Jemez	0.232
Nahua-Coyolillo	0.028	Haida	0.088		
Nahua/Cora	0.028	Inuit	0.089		
Purepechas	0.029	Mapuche chile	0.095		
Nuu-Chah-Nulth	0.030	Mapuche Argentina	0.110		

Tabla 5. Distancias euclídeas de Maya Xpuhil al resto de las poblaciones.

Para el caso de la comparación a escala continental la disimilitud la tienen las poblaciones Inuit – Haida, seguidas por Maya Xpuhil y Maya Tzeltal. Sin embargo, la menor distancia, respecto a estas poblaciones la tienen los Mayas. Es decir, menor distancias entre sus distribuciones pero mayor diversidad. Con los Mayas Yucatán Maya Xpuhil tiene una disparidad de 0.004 y un rango en cuanto a distancias de 17.

Como complemento al MDS, se generó un análisis de conglomerados que resultó en una agrupación de Maya Xpuhil y Maya Tzetal con Apaches como grupo hermano y con eskimales dentro de su supergrupo. La población más diversa fue Jemez (Gráfica I)

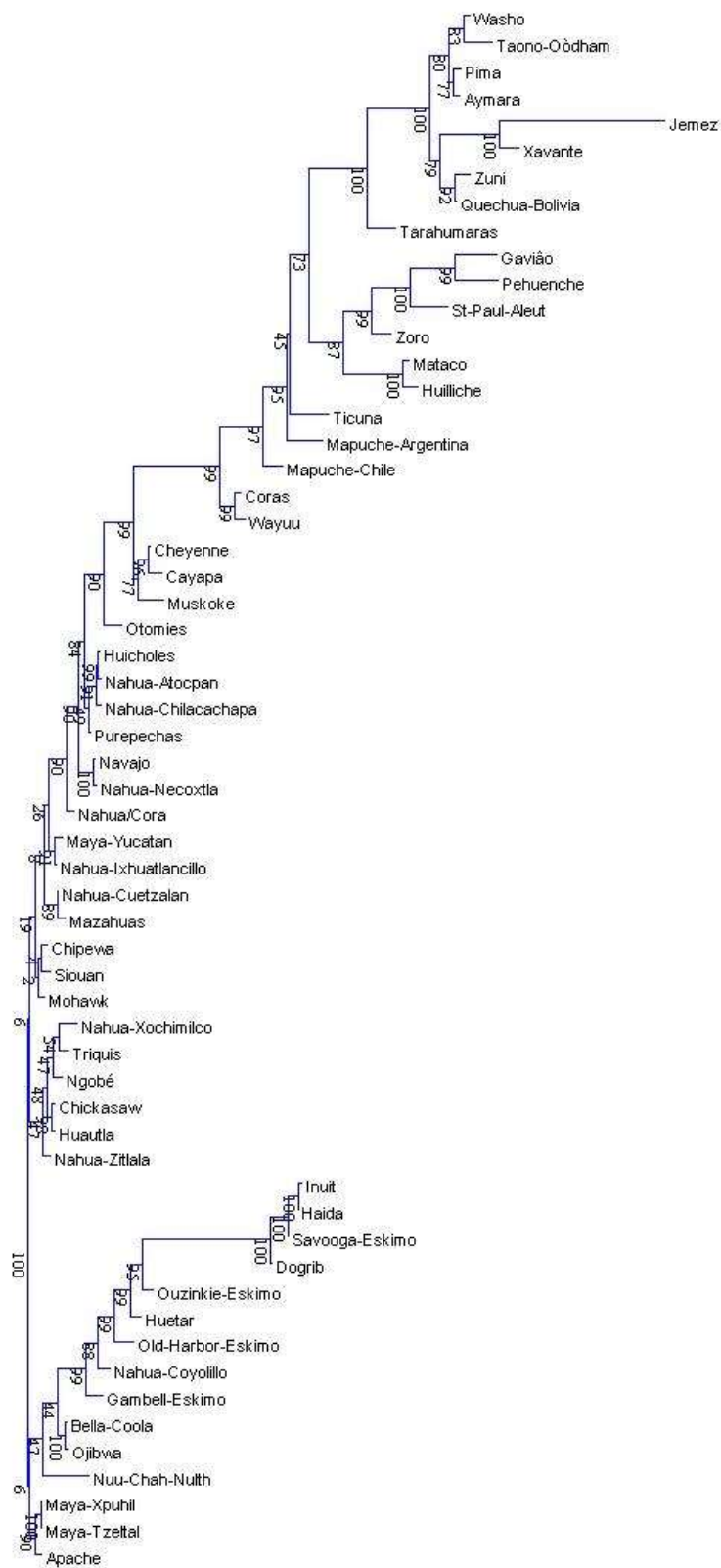
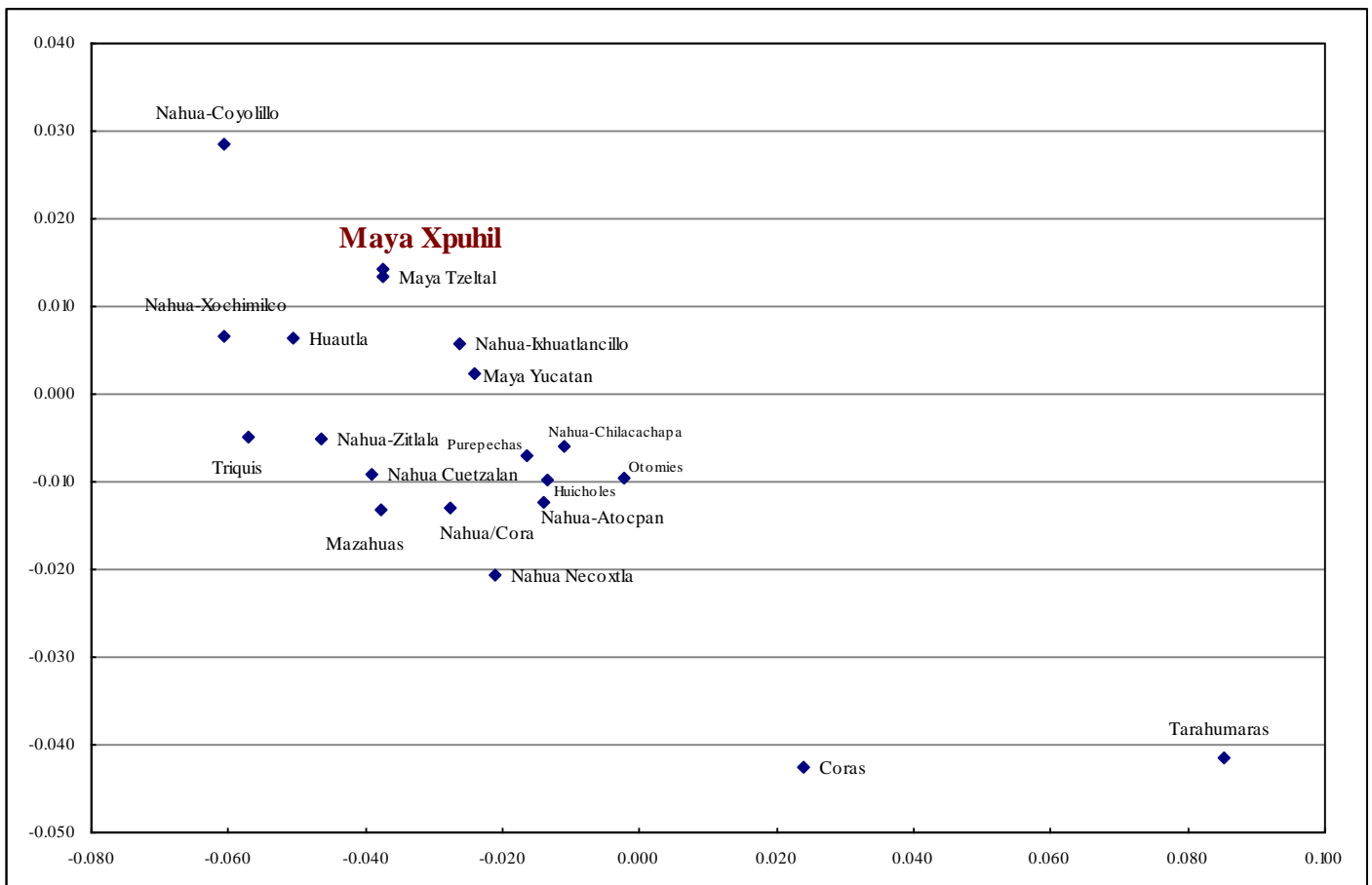


Figura10. *Neighbour joining clustering* de las distancias producto del MDS con 1000

permutaciones.

Análisis de escalamiento multidimensional escala mesoamericana (MDS)

De la misma matriz anterior, se utilizaron sólo las poblaciones mexicanas (mesoamericanas) para conocer la distribución o relación espacial de las mismas. De esta relación la gráfica J permite observar el patrón de distribución que guardan las poblaciones en estudio, que es la misma que la que se observó en el MDS a escala



Gráfica 9. MDS de las poblaciones mexicanas incluidas en el análisis. Se repite el la cercanía de Maya Xpuhil y Maya Tzeltal.

continental. Los Mayas están hacia valores negativos de la primera dimensión del MDS y hacia positivos de la segunda dimensión dentro de la variación de

las poblaciones del centro de México. Las poblaciones más dispares son los Coras y los Tarahumaras que se circunscriben hacia el norte del país. De las poblaciones del centro de México las mas dispares son los Nahuas de Coyolillo.

La tabla 6 muestra las distancias de Maya Xpuhil a cada una de las poblaciones incluidas en el análisis para México. La menor distancia la reporta Maya Tzeltal y la mayor con los Tarahumaras que es congruente con los esperado en relación al modelo de aislamiento por distancia.

Población	Distancia
Maya Tzeltal	0.001
Nahua-Ixhuatlancillo	0.014
Huautla	0.015
Maya Yucatan	0.017
Nahua-Zitlala	0.021
Nahua Cuetzalan	0.023
Nahua-Xochimilco	0.024
Mazahuas	0.027
Triquis	0.027
Nahua-Coyolillo	0.028
Nahua/Cora	0.028
Purepechas	0.029
Nahua-Chilacachapa	0.033
Huicholes	0.033
Nahua-Atocpan	0.035
Nahua-Necoxtla	0.038
Otomies	0.042
Coras	0.083
Tarahumaras	0.134

Tabla 6. Distancias mínimas euclídeas de Maya Xpuhil al resto de poblaciones mexicanas

Finalmente, para comprender mejor estas distancias en interacción la gráfica 10 nos permite ver las diversas agrupaciones que se generan mediante un análisis de conglomerados. Cómo ya se había observado en la gráfica de dispersión de las dimensiones del MSD. La población más diversa y separada

de las poblaciones en estudio es la Tarahumara seguida de la Cora; ambas en del norte de México. La clasificación de Mayas Xpuhil y Tzeltal es del 100 para todas las permutaciones.

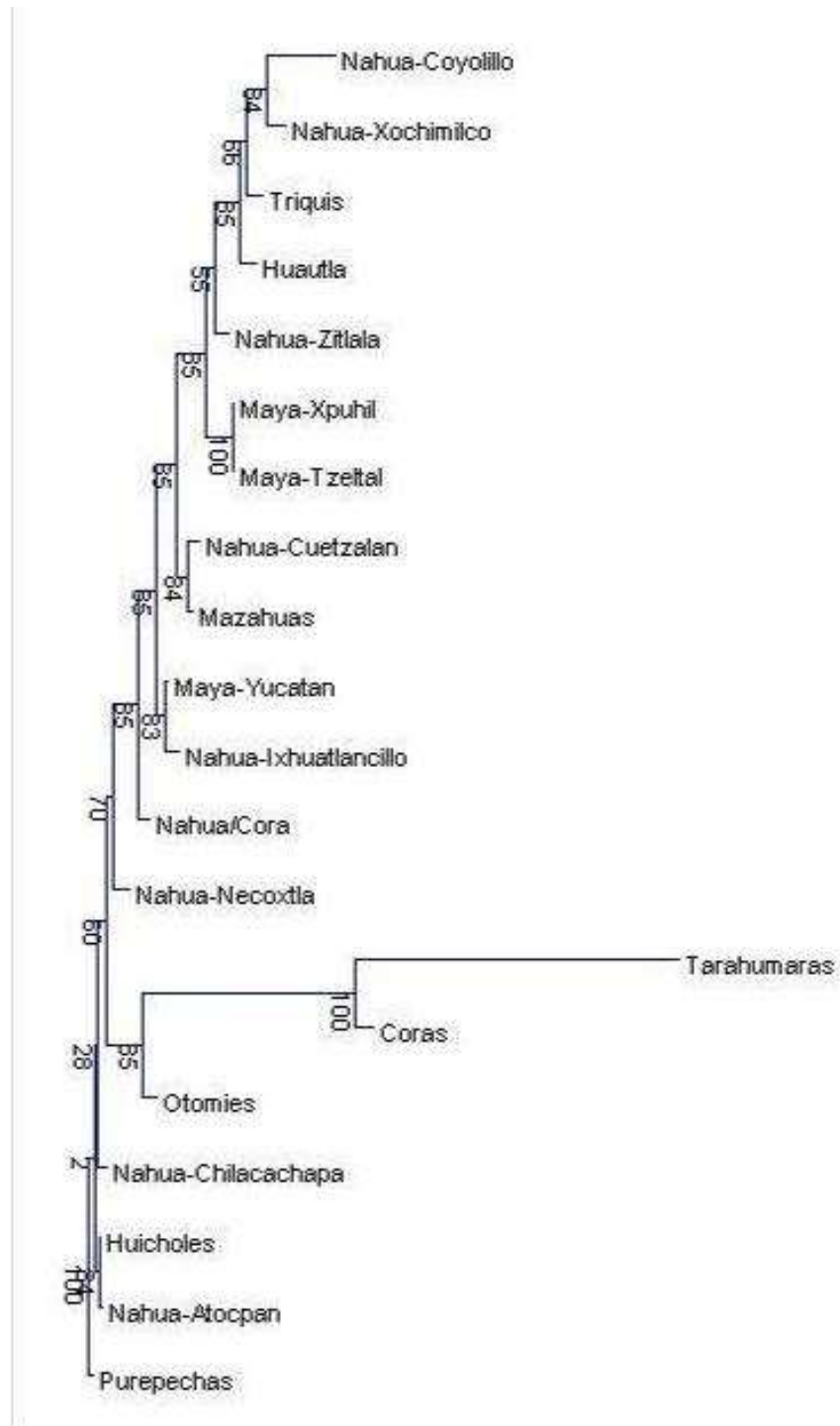


Figura 10. *Neighbour joining clustering* de las distancias producto del MDS con 1000 permutaciones

AMOVA

El número de poblaciones utilizadas es de 59, el tipo de datos empleado son frecuencias genéticas. Se realizaron 1000 repeticiones o permutaciones.

Agrupación Norteamérica: Inuit, Gambell Esquimo, Savooga Esquimo, Dogrib, Ouzinkie, Old Harvor Esquimo, Aleut, Haida, Bella Coola, Nuu-Chah-Nulth, Chipewa, Ojibwa, Cheyenne, Mohawk, Siouan, Washo, Jemez, Muskoke, Navajo, Zuni, Chickasaw, Apache.

Agrupación Centroamérica: Taono, Tarahumara, Pima, Coras, Nahua Cora, Huicholes, Huautla, Maya Yucatán, Otomies, Nahua Cuetzalan, Purepechas, Nahua Coyolillo, Nahua Atocpan, Nahua Xochimilco, Mazahua, Maya Xpuhil, Nahua Ixhuatlancillo, Nahua Necoxtla, Nahua Chilacachapa, Nahua Zitlala, triques, Maya Tzeltal.

Agrupación Sudamérica: Huetar, Ngobe, Cayapa, Gaviao, Zoro, Ticuna, Wayuu, Quechua Bolivia, Xavante, Aymara, Mataco Mapuche Chile, Pehuenche, Mapuche Argentina, Huiliche.

Curso de la variación	d.f.	Suma de cuadrados	Varianza de componentes	Porcentaje de variación
Entre grupos	2	83.356	0.03350 Va	9.26
Entre poblaciones dentro de grupos	56	198.419	0.05849 Vb	16.17
Dentro de poblaciones	3310	892.460	0.26963 Vc	74.56
Total	3368	1174.235	0.36162	

Tabla 7 Análisis Molecular de la Varianza (AMOVA)

Fixation Indices

FSC : 0.17826

FST : 0.2543

FCT : 0.09265

Valor de Epsilon = 1e-07

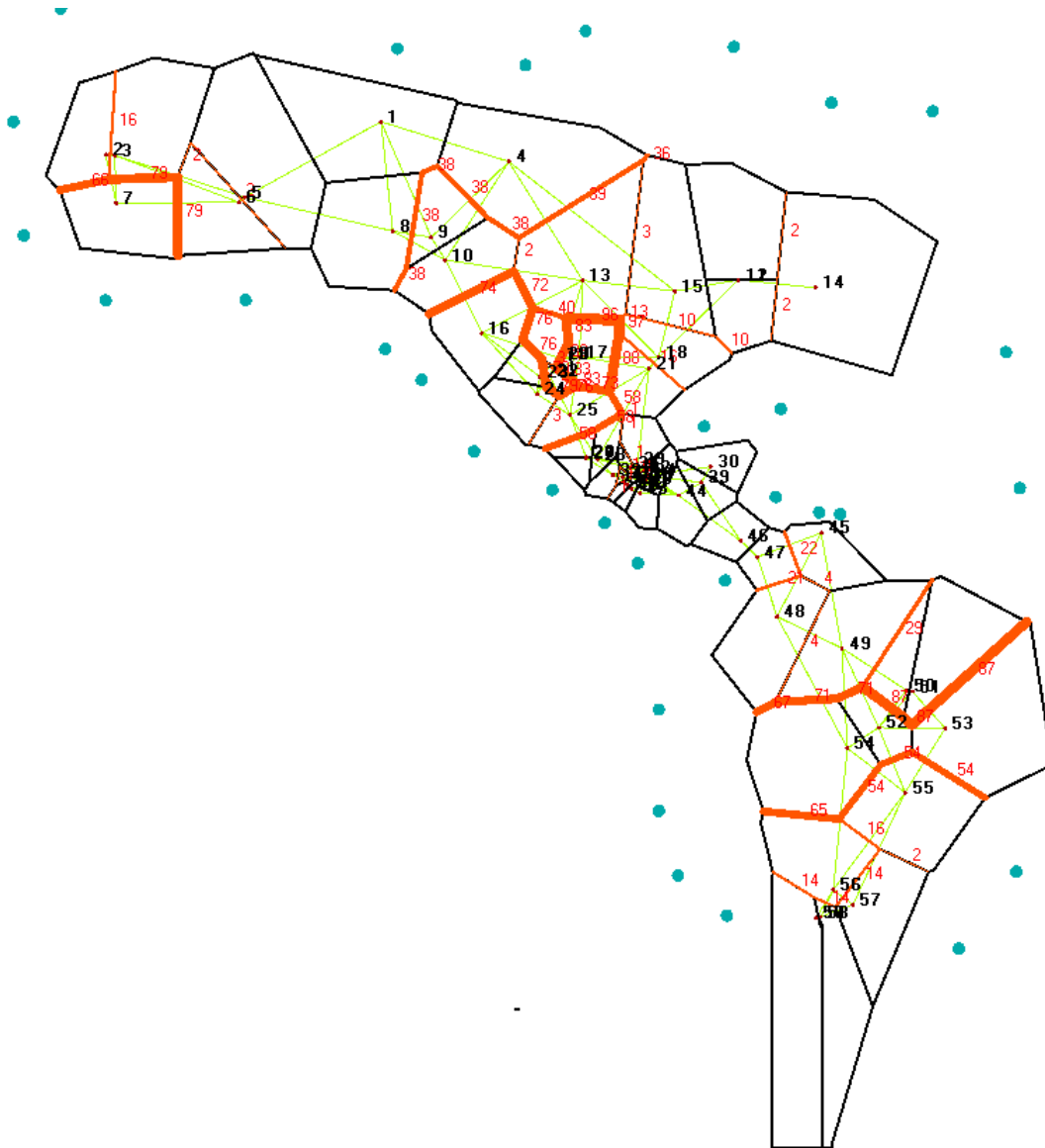


Figura 11. Mapa generado por el programa Barrier

8.- DISCUSIÓN

Se estudió la variación genética de la población de Xpuhil, Campeche, con haplogrupos de DNA mitocondrial (mtDNA). La población de Xpuhil es la cabecera municipal de Calakmul, Campeche y posee una composición variada ya que reúne población rural de distintos orígenes, principalmente mayas y mestizos de Campeche, Chiapas, Tabasco, Veracruz y Quintana Roo. En este estudio se seleccionaron a los individuos de origen maya. Se ha sugerido que los mayas constituyen un macrogrupo relativamente homogéneo desde el punto de vista cultural, diferenciado de otras poblaciones, pero biológicamente no se conoce si constituyen un grupo homogéneo hasta el punto de poderlo diferenciar de otros grupos.

Se obtuvieron las siguientes frecuencias de haplogrupos mitocondriales amerindios: A: 47 (0.53); B: 12 (0.14); C: 10 (0.11) y D: 9 (0.10). Esta distribución de linajes, caracterizada esencialmente por la alta frecuencia del haplogrupo A, concuerda con los patrones observados en otras poblaciones mayas y mesoamericanas. De las 88 muestras, 10 (0.11) no fueron identificadas para ninguno de los haplogrupos amerindios por lo que pudieran tratarse de haplogrupos europeos o africanos introducidos por mestizaje en la población de Xpuhil, para confirmar esto será necesario probar la tipificación los diferentes haplogrupos europeos y africanos en estas muestras.

Los resultados obtenidos con diferentes métodos multivariados y particularmente con el MDS muestran que existe una clara afinidad genética entre los mayas de Xpuhil y los mayas tzeltales de Chiapas y una mayor distancia de estos dos respecto de los mayas de Yucatán. Esta afinidad sería

congruente con la distancia lingüística y geográfica entre estos dos grupos y con el hecho de que es probable que una gran parte de la población maya de la región de Xpuhil sea de origen chol provenientes de Chiapas y no mayas descendientes de las poblaciones mayas que habitaron la región de Calakmul.

Los datos obtenidos en este estudio son relevantes para la pregunta clásica acerca de si las poblaciones mayas constituyen una unidad genética o por el contrario se distinguen varios subgrupos. Diferentes estudios muestran que dentro del contexto americano los mayas muestran una gran diversidad genética (Salzano, FM *et al* 2006) y estudios previos de DNA mitocondrial muestran que algunas poblaciones mayas pueden tener una composición genética muy diferente respecto a los haplogrupos mitocondriales, como es el caso de una muestra prehispánica de Copán (González Oliver *et al* 2001). Aunque faltaría representar un mayor número de poblaciones mayas, pareciera que al menos para el DNA mitocondrial los mayas provenientes de Chiapas (Xpuhil y tzeltales) se diferencian de los mayas peninsulares. En cuanto al contexto mesoamericano, los grupos nahuas muestran una distribución muy amplia ocupando el espacio de las poblaciones del centro y sur, lo que podría reflejar el mestizaje entre los nahuas y las poblaciones que dominaron o incluso que se mantiene la estructura genética ancestral local a pesar del cambio de lengua por aculturación. Tal y como se había dicho previamente las poblaciones del norte se diferencian gradualmente ya que muestran mayores frecuencias de los linajes C y D: los tarahumaras aparecen como el grupo más diferenciado tras lo cual los coras son un grupo intermedio entre este grupo del norte y los grupos mesoamericanos. El análisis de AMOVA es congruente con la conclusión de otros estudios de

que la mayor parte de la varianza en las poblaciones humanas se explica por diferencias entre individuos dentro de cada población (75% en este caso). Aún así el porcentaje de varianza entre poblaciones dentro de los grupos geográficos es relativamente alto (16%) lo que indica que dentro de cada región puede haber diferencias importantes en las frecuencias de los haplogrupos mitocondriales. Este sería el caso de México y Centroamérica donde la diferenciación entre poblaciones geográficamente distantes del norte y del centro y sur es muy clara.

11-. CONCLUSIONES

1. El principal resultado de este trabajo es que de acuerdo a las distancias genéticas obtenidas, la población maya de Xpuhil muestra una mayor afinidad a las poblaciones mayas de Chiapas que a las poblaciones mayas de Yucatán. La frecuencia de los cuatro haplogrupos mitocondriales en las poblaciones mayas se ajustó al patrón esperado ya que se encontró una mayor frecuencia del haplogrupo A y una baja frecuencia de los haplogrupos C y D.
2. Es difícil con los datos disponibles decir si los pueblos mayas presentan unidad en su historia biológica. Aunque en los análisis realizados se observaron distancias genéticas cortas, sí parece haber una clara diferenciación de los mayas de la península de Yucatán respecto de los mayas de Chiapas. El estudio de un mayor número de marcadores y de poblaciones mayas contribuirá a resolver esta cuestión.
3. La diversidad del DNA mitocondrial en México está estructurada por la geografía, la inclusión de poblaciones nuevas del occidente de México (Coras y Huicholes) permite observar un patrón que parece consistente con el modelo de aislamiento por distancia en el cual se observan clinas en la distribución de los haplogrupos mitocondriales desde el sudoeste de EUA hacia el sur de Mesoamérica.

4. Los haplogrupos que aportan una mayor peso a la varianza en Mesoamerica y en las poblaciones mayas son haplogrupos

A y B.

5. Las poblaciones del norte, tradicionalmente cazadoras-recolectoras, debieron de mantener tamaños poblacionales pequeños lo que favoreció el efecto de la deriva genética y permitió una mayor diferenciación y heterogeneidad genética en contraposición con los grupos del centro y sur que tuvieron una expansión demográfica, mantuvieron tamaños efectivos de población mayores y un mayor flujo génico en diferentes regiones.

6. Se aprecia una clara barrera genética en cuatro regiones de nuestro continente: el ártico; el norte de Canadá; el suroeste de Estados Unidos y el noroeste de México; en Sudamérica una línea de costa a costa justo en donde comienzan los Andes, quizá debido a la existencia de dos modelos genéticos basados en ancestrales sistemas de subsistencia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- A Torroni, TG Schurr, MF Cabell, MD Brown, JV Neel, M Larsen, DG Smith, CM Vullo and DC Wallace. 1993. Asian affinities and continental radiation of the four founding.
- Achilli A, Perego UA, Bravi CM, Coble MD, Kong Q-P, Woodward SR, Salas A, Torroni A, Bandelt HJ. Achilli A, Perego UA, Bravi CM, Coble MD, Kong Q-P, Woodward SR, Salas A, Torroni A, Bandelt HJ. 2008. The Phylogeny of the Four Pan-American MtDNA Haplogroups: Implications for Evolutionary and Disease Studies. PLoS ONE 3(3): e1764. doi:10.1371/journal.pone.0001764.
- Anderson, S., Bankier, A.T., Barrell, B.G., de Bruijn, M.H., Coulson, A.R., Drouin, J., Eperon, I.C., Nierlich, D.P., Roe, B.A., Sanger, F., Schreier, P.H., Smith, A.J., Staden, R. and Young, I.G. 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*. 290(5806):457-470.
- Bailliet, G., Rothhammer, F., Carnese, F.R., Bravi, C.M. and Bianchi, N.O. 1994. Founder mitochondrial haplotypes in Amerindian populations. *Am. J. Hum. Genet.* 55(1):27-33.
- Bianchi, N.O., Catanesi, C.I., Bailliet, G., Martinez-Marignac, V.L., Bravi, C.M., Vidal-Rioja, L.B., Herrera, R.J. and López-Camelo, J.S. 1992. Characterization of Ancestral and Derived Y-Chromosome Haplotypes of

New World Native Populations. *Am. J. Hum. Genet.* 63 (6):1862-1871.

- Bowcock, A.M., Kidd, J.R., Mountain, J.L., Hebert, J.M., Carotenuta, L., Kidd, K.K. and Cavalli-Sforza, L.L. 1991. Drift, admixture, and selection in human evolution: a study with DNA polymorphisms. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88(3):839-843.
- Carvalho-Silva, D.R., Santos, F.R., Rocha, J. and Pena, S.D. The phylogeography of Brazilian Y-chromosome lineages. 2001. *Am. J. Hum. Genet.* 68(1):281-286.
- Comas, D., Calafell, F., Mateu, E., Pérez-Lezaun, A. and Bertranpetit, J. 1996. Geographic variation in human mitochondrial DNA control region sequence: the population history of Turkey and its relationship to the European populations. *Mol. Biol. Evol.* 13(8):1067-1077.
- Crews, S., Ojala, D., Posakony, J., Nishiguchi, J. and Attardi, G. 1979. Nucleotide sequence of a region of human mitochondrial DNA containing the precisely identified origin of replication. *Nature.* 277(5693):192-19.
- De Knijff, P., Kayser, M., Caglia, A., Corach, D., Fretwell, N., Gehrig, C., Graziosi, G., Heidorn, F., Hermann, S., Herzog, B., Hidding, M., Honda, K., Jobling, M., Krawczak, M., Leim, K., Meuser, S., Meyer, E., Oesterreich, W., Pandya, A., Parson, W., Penacino, G., Pérez-Lezaun, A., Piccini, A., Prinz, M., Schmitt, C., Schneider, P.M., Szibor, R., Teifel-Greding, J., Weichhold, G., Roewer, L. 1997. Chromosome Y microsatellites: population genetic and evolutionary aspects. *Int. J. Legal Med.* 110(3):134-149.
- González-Oliver A., et al., "Founding Amerindian Mitochondrial DNA

Lineages in Ancient Maya from Xcaret, Quintana Roo" *American Journal of Physical Anthropology* 116 (2001), 230-235.

- Malhi, R.S., Mortensen, H.M., Eshleman, J.A., Kemp, B.M., Lorenz, J.G., Kaestle, F.A., Jonson, J.R., Gorodezky, C., Smith, D.G. 2003. Native American mtDNA prehistory in the American Southwest. *Am. J. Phys. Anthropol.* 120(2):108-124.
- Merriwether, D.A., Clark, A.G., Ballinger, S.W., Schurr, T.G., Soodyall, H., Jenkins, T., Sherry, S.T. and Wallace, D.C. 1991. The structure of human mitochondrial DNA variation. *J. Mol. Evol.* 33(6):543-555.
- Mishmar, D., Ruiz, P.E., Golink, P., Macaulay, V., Clark, A.G., Hosseini, S., Brandon, M., Easley, Chen, E., Brown, M.D., Sukernik, R.I., Olckres, A. and Wallace, D.G. 2003. Natural selection shaped regional mtDNA variation in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 100(1):171-176.
- Perego, U., Achilli, A., Angerhofer, N., Accetturo, M., Pala, M., Olivieri, A., Hooshiar-Kashani, B., Ritchie, K. H., Scozzari, R., Qing-Peng, K., Myres, N., Salas, A., Semino, O., Bandelt H. J., Woodward, S. R., y Antonio Torroni. 2009. Distinctive Paleo-Indian Migration Routes from Beringia Marked by Two Rare mtDNA Haplogroups. *Elsevier Current Biology.* 18 (1): 1-8.
- Richards, M., Corte-Real, H., Forster, P., Macaulay, V., Wilkinson-Herbots, H., Demaine, A., Papiha, S., Hedges, R., Bandelt, H.J. and Sykes, B. 1996. Paleolithic and neolithic lineages in the European mitochondrial gene pool. *Am. J. Hum. Genet.* 59(1):185-203.
- Ripan S. Malhi, Jason A. Eshleman, Jonathan A. Greenber, Deborah A.

- Weiss, Beth A. Schultz Shook, Frederika A. Kaestle Joseph G. Lorenz, Brian M. Kemp, John R. Johnson and David Glenn Smith-2002. The Structure of Diversity within New World Mitochondrial DNA Haplogroups: Implications for the Prehistory of North America. *Am. J. of Hum. Genet* .70 (4)905-919.
- Ruiz-Linares, A., Ortiz-Barrientos, D., Figueroa, M., Mesa, N., Munera, J.G., Bedoya, G., Velez, I.D., García, L.F., Pérez-Lezaun, A., Bertranpetit, J., Feldman, M.W. and Goldstein, D.B.. Microsatellites provide evidence for Y chromosome diversity among the founders of the New World. 1999. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 96(11):6312-6317.
 - Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B. and Erlich, H.A. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with thermostable DNA polymerase. *Science.* 239(4839):487-491
 - Salas, A., Richards, M., De la Fe, T., Lareu, M.V., Sobrino, B., Sanchez-Diz, P., Macaulay, V. and Carracedo, A. 2002. The making of the African mtDNA landscape. *Am. J. Hum. Genet.* 71(5):1082-1111.
 - Schurr TG., Ballenger SW, Gan YY, Hodge JA, Merriwether DA, et al . 1990 American mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies, suggesting they derived from four primary maternal lineages. *Am J Hum Genetics* 46: 613-623.
 - Torroni, A., Bandelt, H.J., D'Urbano, L., Lahermo, P., Moral, P., Sellito, D., Rengo, C., Forster, P., Savontaus, M.L., Bonne-Tamir, B. and Scozzari, R. 1998. mtDNA analysis reveals a major late Paleolithic

- population expansion from southwestern to northeastern Europe. *Am. J. Hum. Genet.* 62(5):1137-1152.
- Torroni, A., Chen, Y.S., Semino, O., Santachiara-Beneceretti, A.S., Scott, C.R., Lott, M.T., Winter, M. and Wallace D.C. 1994. mtDNA and Y-chromosome polymorphisms in four Native American populations from southern Mexico. *Am. J. Hum. Genet.* 54(2):303-18.
 - Torroni, A., Huoponen, K., Francalacci, P., Petrozzi, M., Morelli, L., Scozzari, R., Obinu, D., Savontaus, M.L. and Wallace, D.C. 1996. Classification of European mtDNAs from an analysis of three European populations. *Genetics.* 144(4):1835-1850.
 - Torroni, A., Schurr, T., Cabell, M.F., Brown, M.D., Neel, J.V., Larsen, M., Smith, D.G., Vullo, C.M. and Wallace, D.C. 1993. Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNAs. *Am. J. Hum. Genet.* 53(3):563-590.
 - Li C.C., 1976. Population Genetics. Boxwood, Pacific Grove, California
 - Long J.C., 1986 The allelic correlation structure of Gainj- and Kalam-speaking people. I. The estimation and interpretation of Wright's F-statistics. *Genetics* **112**: 629-647.
 - Excoffier, L. G. Laval, and S. Schneider (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50.
 - Malhi RS (2001) Investigating prehistoric population movements in North America using ancient and modern mtDNA. PhD thesis, University of California, Davis.

- Figueras, S (2000): "Introducción al Análisis Multivariante", [en línea] 5campus.com, Estadística <<http://www.5campus.com/leccion/anamul>>
- population genetic and evolutionary aspects. *Int. J. Legal Med.* 110(3):134-149.
- Wang S, Lewis CM, Jakobsson M, Ramachandran S, Ray N, et al. 2007 Genetic variation and population structure in Native Americans. *PLoS Genet* 3: e185.
- Cavalli-Sforza, L.L. and Edwards, A.W. 1967. Phylogenetic analysis. Models and estimation procedures. *Am. J. Hum. Genet.* 19(3): 233-257
- Sanger, F., Nicklen, S. and Coulson A.R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 74(12):5463-5467.
- Brown, W., George, M. and Wilson A.C. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76(4):1967-1971
- Clayton, D.A. 1982. Replication of animal mitochondrial DNA. *Cell.* 28(4): 693-705.
- Turner, C.G. II 1984. Advances in the dental search for Native American origins. *Acta Anthropogenet.* 8(1-2):23-78.
- Greenberg, J., Turner, C.G. II and Zegura S.L. 1986. The settlement of the Americas: a comparison of the linguistic, dental and genetic evidence. *Current Anthropology.* 4:477-497.
- Cann, R.L., Stoneking, M. and Wilson, A.C. 1987a. Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature.* 325(6099):31-36.

- Cann, R.L., Stoneking, M. and Wilson, A.C. 1987b. Disputed African origin of human populations. *Nature*. 329:111-112.
- Mullis, K.B. and Faloona, F.A. 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.* 155:335-350.
- Saitou, N. and Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4(4):406-425.
- Horai, S. and Hayasaka, K. 1990. Intraspecific nucleotide sequence differences in the major noncoding region of human mitochondrial DNA. *Am. J. Hum. Genet.* 46(6): 828-842.
- Dillehay, T.D and Meltzer, D.J. 1991. *The First Americans: Search and Research*. CRC Press, Boca Raton. Florida. 253pp.
- Jeffreys, A.J., Wilson, V. and Thein S.L. 1992. Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. *Biotechnology.* 24:467-472.
- Shields, G.F., Hecker, K., Voevoda, M.I. and Reed, J.K. 1992. Absence of the Asian –specific region V mitochondrial marker in Native Beringians. *Am. J. Hum. Genet.* 50(4):758-765.
- Stoneking, M. 1993. DNA and recent human evolution. *Evolutionary Anthropology.* 2:60-70.
- A Torroni, JV Neel, R Barrantes, TG Schurr and DC Wallace. 1994. Mitochondrial DNA “clock” for the Amerinds and its implications for timing their entry into North America, *Proc Natl Acad Sci USA* **91** (1994), pp. 1158–1162.

- Lewin, R. 1994. *Evolucion Humana*. Ed. Salvat. Barcelona, España. 416pp.
- Wallace, D.C. 1994. Mitochondrial DNA sequence variation in human evolution and disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 91(19):8739-8746.
- Merriwether, D.A., Rothhammer, F. and Ferrell, R.E. 1995. Distribution of the four founding lineage haplotypes in Native Americans suggests a single wave of migration for the New World. *Am. J. Phys. Anthropol.* 98(4):411-430.
- Bendall K.E., Macaulay V.A., Baker J.R. and Sykes B.C. 1996. Heteroplasmic point mutations in the human mtDNA control region. *Am. J. Hum. Genet.* 59(6):1276-1287.
- Lorenz, J.G. and Smith, D.G. 1996. Distribution of four founding mtDNA haplogroups among Native North Americans. *Am. J. Phys. Anthropol.* 101(3):307-323.
- Gray, M.W., Burger, G. and Lang B.F. 1999. Mitochondrial evolution. *Science*. 283(5407):1476-1481.
- Vigilant, L. 1999. An evaluation of techniques for extraction and amplification of DNA from naturally shed hairs. *The Journal of Biological Chemistry* 380: 1329-1331.
- Green, L.D., Derr, J.N and Knight, A. 2000. mtDNA affinities of the peoples of North-Central Mexico. *Am. J. Hum. Genet.* 66(3):989-998
- Ingman, M., Kaessmann, H., Paabo, S. and Gyllensten U. 2000. Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans.

Nature. 408(6813):708-713.

- Lehninger, A.L. 2001. Principios de Bioquímica. Omega. Barcelona, España.
- Solano, A., Playan, A., López-Pérez, M.J. and Montoya, J. 2001. Genetic diseases of the mitochondrial DNA in humans. *Salud Pública Mex.* 43(2):151-161.
- Salzano, F.M. 2002. Molecular variability in Amerindians: widespread but uneven information. *An. Acad. Bras. Cienc.* 74(2):223-263.
- Andersson, S.G., Karlberg, O., Canback, B. and Kurland, C.G. 2003. On the origin of mitochondria: a genomics perspective. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 358(1429):165-16.
- Diego, G.H., Pérez, M.X., Funes, S. y Reyes P.A. 2003. La migración de la mitocondria al núcleo y la evolución de los genomas mitocondriales. UNAM. 201-219.
- González –Martín 2003 Actas del congreso Otopames. Identidad indígena y genética: propuesta de investigación para el siglo XXI.
- Mina, J. y Verde, C. 2004. Detección de fallas usando análisis de componentes principales. Congreso de Control Automático. AMCA.
- Schurr TG, Sherry ST. 2004 Mitochondrial DNA and Y chromosome diversity and the peopling of the Americas: evolutionary and demographic evidence. *Am J Hum Biol* 16: 420–439.
- Schurr TG. 2004. The peopling of the New World: perspectives from molecular anthropology. *Annu Rev Anthropol* 33: 551–583.

- Hernández, F. 2005. Caracterización genética de la población indígena de Huautla, Hidalgo: inferencias en el poblamiento de América y en la filogenia de los pueblos indígenas. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México.
- Tuimala, J. 2005. A primer to phylogenetic analysis using Phylip package. Fourth edition. CSC - Scientific Computing Ltd. pp 54.
- López R.C., Gorostiza, A. y Antonio González-Martín. 2006. El DNA mitocondrial como herramienta en antropología molecular. En Historia biológica del hombre en América., González- Martín A. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México. 199pp.
- Walsh, P. S., Metzger, D. A. y R. Higuchi. 1991. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. Biotechniques 10: 506-513.
- Klug, W. S. 2006. Genética de poblaciones p. 726. En Conceptos de Genética. Pearson Prentice Hall. 8ª Ed. 884pp.

✎ www.cdi.gob.mx

✎ www.didac.edu.es

✎ www.ini.gob.mx

✎ www.xlstat.com

✎ <http://www.calakmul.gob.mx>

✎ <http://exploreourpla.net/explorer>.

	Ref. muestra	Hapl. A	Hapl. B	Hapl. C	Hapl. D		Ref. muestra	Hapl. A	Hapl. B	Hapl. C	Hapl. D
1	Z-01	0	0	0	0	45	Y-19	0	1	0	0
2	Z-02	0	1	0	0	46	Y-20	1	0	0	0
3	Z-03	1	0	0	0	47	Y-21	1	0	0	0
4	Z-04	0	0	1	0	48	Y-23	0	0	0	1
5	Z-05	0	0	1	0	49	Y-24	0	0	0	1
6	Z-06	1	0	0	0	50	Y-25	0	1	0	0
7	Z-07	0	0	0	1	51	Y-26	0	0	0	0
8	Z-09	0	0	1	0	52	Y-27	1	0	0	0
9	Z-10	0	1	0	0	53	Y-28	1	0	0	0
10	Z-11	0	0	1	0	54	Y-29	1	0	0	0
11	Z-12	0	1	0	0	55	Y-30	0	1	0	0
12	Z-13	1	0	0	0	56	Y-31	1	0	0	0
13	Z-15	0	1	0	0	57	Y-32	0	0	0	0
14	Z-16	0	0	0	0	58	Y-33	1	0	0	0
15	Z-17	1	0	0	0	59	Y-34	1	0	0	0
16	Z-18	0	0	1	0	60	Y-35	1	0	0	0
17	Z-19	1	0	0	0	61	Y-36	1	0	0	0
18	Z-20	1	0	0	0	62	Y-37	0	0	0	0
19	Z-21	1	0	0	0	63	Y-38	1	0	0	0
20	Z-22	1	0	0	0	64	Y-39	1	0	0	0
21	Z-23	0	1	0	0	65	Y-40	1	0	0	0
22	Z-24	1	0	0	0	66	Y-41	1	0	0	0
23	Z-25	1	0	0	0	67	Y-42	0	0	1	0
24	Z-26	1	0	0	0	68	Y-43	1	0	0	0
25	Z-27	0	0	0	1	69	Y-44	0	1	0	0
26	Z-28	0	0	0	0	70	Y-45	1	0	0	0
27	Z-29	1	0	0	0	71	Y-46	0	0	0	1
28	Z-30	1	0	0	0	72	Y-47	1	0	0	0
29	Y-02	1	0	0	0	73	Y-48	0	1	0	0
30	Y-04	1	0	0	0	74	Y-49	1	0	0	0
31	Y-05	1	0	0	0	75	Y-50	1	0	0	0
32	Y-06	1	0	0	0	76	Y-51	1	0	0	0
33	Y-07	1	0	0	0	77	Y-52	1	0	0	0
34	Y-08	0	0	0	0	78	Y-53	1	0	0	0
35	Y-09	0	0	0	0	79	Y-54	1	0	0	0
36	Y-10	0	1	0	0	80	Y-55	0	0	0	1
37	Y-11	1	0	0	0	81	Y-56	0	0	0	1
37	Y-12	1	0	0	0	82	Y-57	0	0	1	0
39	Y-13	0	0	0	0	83	Y-58	0	0	1	0
40	Y-14	1	0	0	0	84	Y-59	0	0	1	0
41	Y-15	0	0	0	0	85	Y-60	0	0	1	0
42	Y-16	1	0	0	0	86	Y-61	1	0	0	0
43	Y-17	0	0	0	1	87	Y-62	0	0	0	1
44	Y-18	1	0	0	0	88	Y-63	0	1	0	0

FRECUENCIAS DE LAS POBLACIONES ÉTNICAS INCLUIDA EN ESTA TESIS.											
Población	A	B	C	D	Otros	Población	A	B	C	D	Otros
Inuit	0,967	0,000	0,000	0,033	0,000	Otomi	0,405	0,300	0,230	0,065	0,000
EskGa	0,580	0,000	0,140	0,260	0,020	NahuCu	0,613	0,323	0,064	0,000	0,000
EskSa	0,939	0,000	0,000	0,020	0,041	Purep	0,440	0,240	0,180	0,000	0,140
Dogri	0,909	0,000	0,020	0,000	0,071	NahuCo	0,684	0,079	0,000	0,158	0,079
EskOu	0,732	0,000	0,049	0,146	0,073	NahuAt	0,475	0,356	0,119	0,051	0,000
EskOI	0,617	0,035	0,000	0,348	0,000	NahuXo	0,721	0,186	0,093	0,000	0,000
NuuCh	0,451	0,069	0,157	0,255	0,068	Mazah	0,603	0,356	0,041	0,000	0,000
Ojibw	0,512	0,070	0,162	0,000	0,256	Nahulx	0,553	0,277	0,000	0,170	0,000
Chipe	0,484	0,113	0,193	0,000	0,210	Maya XPH	0,602	0,153	0,128	0,115	0,002
Cheye	0,343	0,114	0,343	0,143	0,057	NahuNe	0,514	0,405	0,081	0,000	0,000
Mohaw	0,577	0,171	0,236	0,016	0,000	NahuCh	0,463	0,341	0,073	0,122	0,000
Sioua	0,529	0,176	0,147	0,059	0,089	Wayuu	0,250	0,350	0,380	0,000	0,020
Washo	0,000	0,536	0,357	0,107	0,000	Hueta	0,704	0,037	0,000	0,259	0,000
Jemez	0,000	0,889	0,028	0,000	0,083	Ngobe	0,674	0,326	0,000	0,000	0,000
Musko	0,366	0,155	0,099	0,380	0,000	Cayap	0,333	0,200	0,167	0,300	0,000
Navaj	0,517	0,415	0,034	0,000	0,034	Ticun	0,130	0,150	0,390	0,330	0,000
Zunis	0,154	0,769	0,077	0,000	0,000	Gavia	0,148	0,148	0,000	0,704	0,000
Chick	0,667	0,222	0,074	0,000	0,037	Zoros	0,200	0,067	0,133	0,600	0,000
Apach	0,621	0,172	0,138	0,069	0,000	QuecB	0,156	0,750	0,094	0,000	0,000
Pimas	0,047	0,535	0,395	0,000	0,023	Xavan	0,160	0,840	0,000	0,000	0,000
Papag	0,000	0,568	0,378	0,054	0,000	QuecP	0,263	0,571	0,143	0,000	0,023
Tarah	0,120	0,300	0,540	0,020	0,020	Aymar	0,064	0,674	0,122	0,140	0,000
Nahua	0,531	0,343	0,063	0,000	0,063	Matac	0,107	0,357	0,000	0,536	0,000
Coras	0,283	0,519	0,160	0,038	0,000	Pehue	0,020	0,090	0,370	0,520	0,000
Huich	0,460	0,260	0,260	0,000	0,020	MapuA	0,084	0,337	0,221	0,284	0,074
Huaut	0,677	0,218	0,043	0,062	0,000	Huill	0,038	0,288	0,188	0,487	0,000
MayaY	0,519	0,222	0,148	0,074	0,037	MapuC	0,154	0,385	0,205	0,256	0,000

SIGLAS Y ACRONIMOS

A. P	Antes del presente
PCR	Reacción en Cadena de la polimerasa
r.p.m.	Revoluciones por minuto
DNA	Acido Desoxirribonucleico
mtDNA	DNA mitocondrial
m. s. n. m.	Metros sobre el nivel del mar
p. b.	Pares de bases
D-loop	Displacement loop
HVI	Región hipervarible I
HVII	Región hipervarible II
CR	Región de control
C	Citosina
T	Timina
A	Adenina
G	Guanina
dNTPs	Desoxinucleotidos trifosfato
ACP	Análisis de Componentes principales
AD	Análisis Discriminante
AFC	Análisis Factorial de Correspondencia

GLOSARIO

Adenina: (A) Base purínica presente en DNA y RNA, en cadenas dobles de DNA se empareja con la pirimidina timina.

5' Capping: Adición de un nucleótido de guanina metilada (un cap) en el extremo 5' de una molécula de RNA pre- mensajero. Este cap se retiene en la molécula de RNA maduro.

Citosina: (C) Base pirimidínica presente en el DNA y RNA. En cadenas dobles de DNA, la citosina se empareja con la purina guanina.

Código genético: Información de los pares de bases que especifica la secuencia de aminoácidos de un polipéptido.

Codón: Grupo de tres nucleótidos adyacentes en una molécula de mRNA que especifica cada uno de los aminoácidos en una cadena polipeptídica o la terminación de la síntesis de un polipéptido.

Codón de STOP: O codón de terminación de cadena. Cada uno de los codones para los que no existe el correspondiente tRNA con un anticodón apropiado. Llamado también codón *nosense*, este codón especifica la terminación de la síntesis del polipéptido.

Cola de Poli (A): Secuencia de entre 50 y 250 nucleótidos de adenina añadida como modificaciones postranscripcionales en el extremo 3' de la mayoría del mRNA eucariótico.

Deleción: Mutación cromosómica que resulta de la pérdida de un segmento del material genético y de información genética que este segmento contiene.

Deriva genética: Cualquier cambio producido en las frecuencias génicas por efecto del azar.

Diploide: Célula eucariota con dos dotaciones cromosómicas.

DNA Polimerasa: Enzima que cataliza la síntesis del DNA

Efecto cuello de botella: Forma de deriva genética que ocurre cuando una población se ve drásticamente reducida en tamaño. En la reducción de algunos genes del *pool* génico pueden perderse como resultado del azar.

Fenotipo: Manifestación física de un carácter genético, resultado de un genotipo específico y su interacción con el ambiente.

Filogenia: Ciencia que estudia la secuencia ramificada del cambio de caracteres en los organismos a través del tiempo.

Frecuencia de mutación: Número de veces que tiene lugar un tipo particular de mutación en una población de células o individuos.

Gen: Elemento determinante de una característica de un organismo. La información genética está codificada en el DNA, que es el responsable de la variación individual y de las especies. La secuencia de nucleótidos de un gen especifica un polipéptido o RNA y está sujeta a la alteración mutacional.

Genética de poblaciones: Estudia la dinámica de los genes en el interior de las poblaciones.

Genoma: Cantidad total de material genético en una célula. En eucariotas dotación haploide de cromosomas de un organismo.

Genotipo: Constitución genética de un organismo.

Guanina: (G) Base purínica presente en el DNA y el RNA. En DNA de doble cadena se empareja con la pirimidina citosina.

Haploide: célula o individuo con una copia de cada cromosoma nuclear.

Heteroduplex: Fragmento de ADN de doble cadena que no presenta coincidencia en todas sus bases.

Histona: Uno de los tipos de proteínas básicas asociadas al DNA en los cromosomas y esencial en la determinación estructural de los cromosomas nucleares eucariotas.

Haplotipo: Espécimen designado como referencia, en cuanto a sus características, de una especie determinada. Es el individuo considerado como modelo de una especie.

Homodúplex: Fragmento de ADN de doble cadena que presenta coincidencia en todas sus bases.

Intrón: En eucariotas, secuencia de nucleótidos que debe ser escindida del transcrito de un gen estructural para convertirlo en una molécula madura de mRNA, que contenga únicamente secuencias codificantes y pueda ser traducida a la cadena de aminoácidos de un polipéptido.

Lugar de Adición de Poli (A): Extremo 3' del mRNA donde se añaden entre 50 y 250 adeninas como parte de las modificaciones postranscripcionales de esta molécula.

Mitosis: Proceso de división nuclear en células haploides y diploides. Como resultado se obtienen núcleos descendientes genéticamente idénticos al núcleo que les ha dado lugar.

Meiosis: Dos divisiones nucleares sucesivas de un núcleo diploide para formar gametos haploides con la mitad de material genético que la célula original.

mRNA: Molécula de RNA que contiene la información codificada para la secuencia de aminoácidos de una proteína.

Mutación: Cualquier cambio detectable y heredable en el material genético no causado por recombinación.

Mutación génica: Alteración heredable del material genético, usualmente de una forma alélica a otra.

Mutación neutra: alteración de un par de bases en un gen que cambia un codón en la secuencia del mRNA, sin implicar ninguna alteración en la función de la proteína traducida de esa secuencia.

Nucleótido: Molécula monomérica del DNA y del RNA, formada por tres partes: una pentosa (Desoxirribosa en el DNA y ribosa en el RNA), una base nitrogenada y un grupo fosfato.

Origen de replicación: en procariotas, secuencia específica de DNA necesaria para la iniciación de la replicación del DNA

Plásmidos: Cadena doble de ADN circular cerrada por sus extremos. Se replica independientemente de los cromosomas y la información que contiene puede conferir a la célula que los alberga características especiales.

Pirimidina: Tipo de base nitrogenada.

“*Pool génico*”: Información genética total en los genes de una población reproductora en un momento determinado.

Primer: Cadena de polinucleótidos preexistente a la replicación del DNA, a la que se unen los nuevos nucleótidos.

Purina: Tipo de base nitrogenada. Tanto en DNA como en RNA las purinas son adenina y guanina.

Recombinación génica: Proceso en que progenitores con caracteres genéticos distintos dan lugar a la progenie, haciendo que los genes en que los progenitores difieren se asocien en nuevas combinaciones.

rRNA: Moléculas de RNA de diferentes tamaños que, junto con proteínas ribosómicas, forma los ribosomas de procariontes y eucariontes.

Selección Natural: Reproducción diferencial de genotipos

Tasa de mutación: Probabilidad de un tipo particular de mutación en el tiempo.

Timina: (T) Base pirimidínica presente en el DNA pero no en el RNA. En cadenas dobles de DNA se emparaja con la purina adenina.

Traducción: Síntesis de proteínas. Conversión de la información de la secuencia de bases del mRNA en la secuencia aminoácidos de un polipéptido.

Transcripción: Síntesis del RNA. Transferencia de la información de una molécula de DNA de doble cadena a una De RNA de cadena sencilla.

Transición: Mutación específica de sustitución que implica el cambio de una base pirimidina o purina, a otra pirimidina o purina.

Transversión: Mutación específica de sustitución que implica el cambio de una base, purina o pirimidina, a otra purina o pirimidina.

tRNA: Uno de los cuatro tipos de moléculas de RNA producidas por transcripción e implicadas en la síntesis de proteínas. Estas moléculas entregan los aminoácidos al ribosoma.

Uracilo: (U) Base pirimidínica presente en el RNA pero no en el DNA

"Nuestro ADN no se deshace como un antiguo pergamino; no se oxida en la tierra como la espada de un guerrero muerto hace mucho tiempo; no lo erosionan el viento y la lluvia; no queda reducido a ruinas por incendios y terremotos. Es un viajero procedente de un país antiguo que vive dentro de nosotros."

Bryan Sykes



Narciso.
Composición Yañez-Solis E.
Ilustración Julio Cesar Yañez Solis



Figura Mapa polaciones nativo americanas