



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA

LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

**DESCRIPCIÓN GENÉTICA DE UNA POBLACIÓN MAZAHUA Y
SU POSIBLE RELACIÓN CON OTRAS ETNIAS MEXICANAS A
PARTIR DE HAPLOGRUPOS MITOCONDRIALES.**

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

LUIS MORENO CENTENO.

ASESOR: DR. ANTONIO GONZÁLEZ MARTÍN

ÍNDICE

I.- AGRADECIMIENTOS.....	2
II.- RESUMEN.....	3
1.- INTRODUCCIÓN.....	4
2.- ANTECEDENTES.....	9
3.- LA POBLACION MAZAHUA.....	14
4.- JUSTIFICACIÓN.....	16
5.- HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	17
5.1.- HIPOTESIS.....	17
5.2.- OBJETIVO GENERAL.....	17
5.3.- OBJETIVOS PARTICULARES.....	17
6.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	18
6.1.- POBLACIÓN Y TOMA DE MUESTRAS.....	18
6.2.- LABORATORIO.....	18
6.3.- TÉCNICAS MOLECULARES.....	19
6.3.1.- EXTRACCIÓN DEL mtDNA.....	19
6.3.2.- AMPLIFICACIÓN DEL mtDNA, (PCR).....	20
6.3.3.- ENZIMAS DE RESTRICCIÓN.....	22
6.4.- FRECUENCIA DE LOS HAPLOGRUPOS.....	22
6.5.- ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	22
6.5.1 ANALISIS INTRAPOBLACIONALES.....	22
6.5.2. ANALISIS INTERPOBLACIONALES.....	23
6.5.2.1. DISTANCIAS GENÉTICAS: Nei (1978).....	24
6.5.5.2. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (ACP).....	26
6.5.5.3. MÉTODOS DE ESCALAMIENTO MULTIDIMENSIONAL (MDS).....	27
6.5.5.4. TEST DE MANTEL: GEOGRAFÍA VS GENÉTICA.....	27
6.5.5.5. ANÁLISIS DISCRIMINANTE (ADP).....	27
7.- RESULTADOS.....	29
7.1.- RESULTADOS DE CAMPO.....	29
7.2.- LABORATORIO.....	29
7.3.- DETERMINACION DE HAPLOGRUPOS.....	29
7.4.- ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	30
7.4.1.- ESTRUCTURA GENÉTICA INTRAPOBLACIONAL.....	30
7.4.2.- ESTRUCTURA GENÉTICA INTERPOBLACIONAL.....	31
7.4.2.1. DISTANCIA GENÉTIC DE Nei (1978) Y REPRESENTACIÓN GRÁFICA.....	31
7.4.2.2. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (ACP).....	33
7.4.2.3.- MÉTODOS DE ESCALAMIENTO MULTIDIMENSIONAL (MDS).....	34
7.4.2.4.- TEST DE MANTEL: GEOGRAFÍA VS GENÉTICA.....	36
7.4.2.5.- ANÁLISIS DISCRIMINANTE.....	36
8.- DISCUSIÓN.....	41
8.1.- ESTRUCTURA GENÉTICA INTRAPOBLACIONAL.....	41
8.2.- ESTRUCTURA GENÉTICA INTERPOBLACIONAL.....	43
9.- CONCLUSIONES.....	48
10.- LITERATURA CITADA.....	49
11.- ANEXOS.....	54

I.- AGRADECIMIENTOS.

Agradezco a mis padres, por el apoyo que me han brindado hasta el momento. A mis hermanos, mi esposa y a toda mi familia materna y paterna.

Agradezco al Dr. Antonio y a Amaya por la atención que me han prestado en la elaboración de la tesis a si como también por dejarme formar parte de su equipo de tesis.

A mis compañeros Chuy, Paco, Ere y Carmen por el apoyo que me han brindado.

Agradezco a la Dra. Carmen por apoyarme en las correcciones finales de este trabajo y en la parte de análisis intrapoblacional a nivel haplogrupo.

Por ultimo agradezco al Laboratorio del Sistemática Molecular de la UAEH, por permitirme hacer uso del mismo.

II.- RESUMEN

El objetivo central de este trabajo es determinar la frecuencia de los haplogrupos amerindios del mtDNA en 73 individuos indígenas procedentes de una población Mazahua, mediante la aplicación de técnicas moleculares. Las muestras se amplificaron mediante el método de la PCR y se analizaron con enzimas de restricción. Los resultados muestran que en la población están representados los linajes A, B y C, donde A y B predominan con una frecuencia de 0.060 y 0.356 respectivamente. La presencia del haplogrupo C es menor, con una frecuencia de 0.041. Lo que indica que los haplogrupos A y B son haplogrupos más frecuentes en la población Mazahua y que C es el último que se ha fijado en dicha población. Estas frecuencias se compararon mediante métodos matemáticos con otras poblaciones indígenas reportadas para México. Se construyó un árbol de distancias genéticas en el cual se observa que la población Mazahua está emparentada con la población Nahua.

1.- INTRODUCCIÓN

Uno de los métodos que se utilizan hoy en día para entender e interpretar la evolución biológica es la genética molecular, que se basa en el estudio del DNA y del análisis de los cambios que acumula de forma aleatoria o por selección natural a lo largo del tiempo. Estos procesos generan información de interés para campos de la biología que abordan sus investigaciones desde una perspectiva evolutiva. Un caso particular lo constituye la Antropología Biológica que utiliza esta información para estudiar el origen, la dinámica y la reconstrucción de las filogenias humanas. Para este tipo de estudios se utiliza, las mutaciones en el DNA mitocondrial (mtDNA), que se conocen comúnmente con el nombre de haplogrupos del mtDNA (Martínez, 2002).

En la actualidad, podemos apreciar una gran diversidad de genomas mitocondriales de diferentes reinos (Figura 1; Stern y Newton, 1985). Como se aprecia en la figura 1, en la especie *Homo sapiens* el genoma mitocondrial es de tipo circular y secuenciado por primera vez por Anderson *et al* (1981). Dicha secuencia de 16 k.b. ó 16.568 pares de bases (p.b.), se utiliza como referencia para compararla con el resto de las secuencias obtenidas en la actualidad. El conocimiento de la secuencia del mtDNA en humanos ha hecho posible la construcción de mapas que indican los sitios de restricción, que son usados como dianas en la identificación de grandes grupos humanos africanos, asiáticos, europeos y amerindios (Stoneking *et al.*, 1986).

La existencia o ausencia de dianas puede ponerse en relevancia mediante la utilización de diferentes enzimas de restricción por ejemplo *Hae* III, *Alu* I, *Hinc* II y *Hpa* para identificar haplogrupos amerindios (Figura 2). Posteriormente, con la técnica descrita por Kary B. Mullis en 1987 (Mullis y Faloona, 1987) de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) se hizo el

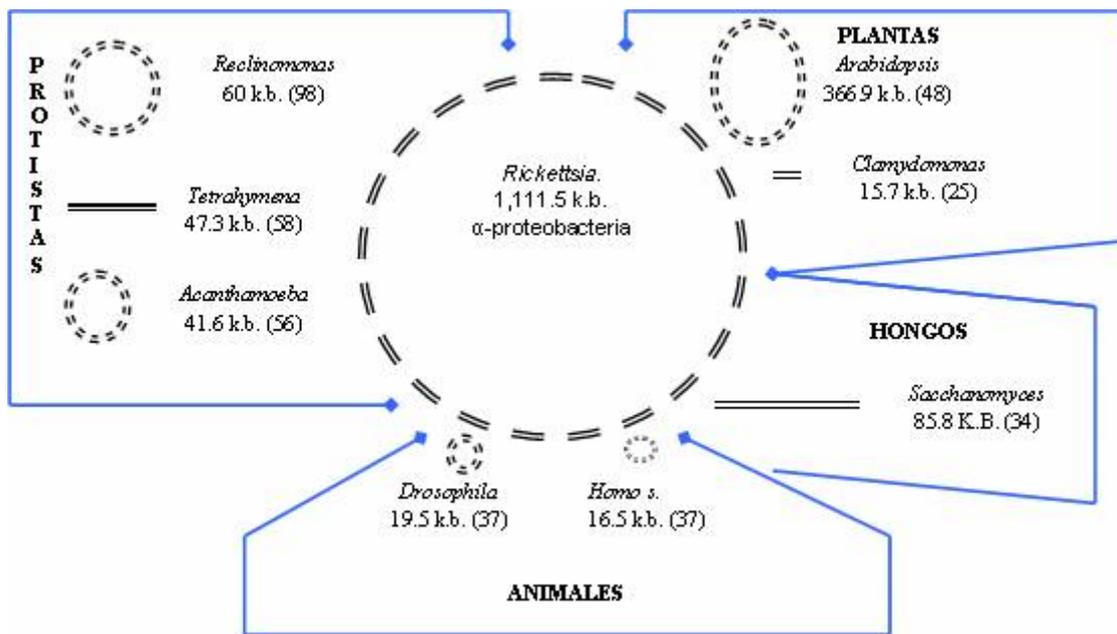


Figura 1. Comparación de los genomas mitocondriales, el tamaño de cada genoma mitocondrial se expresa en kilobases (k.b.), el número de genes que codifica entre paréntesis y el círculo o línea indican si se trata de un genoma circular o lineal (Stern y Newton, 1985).

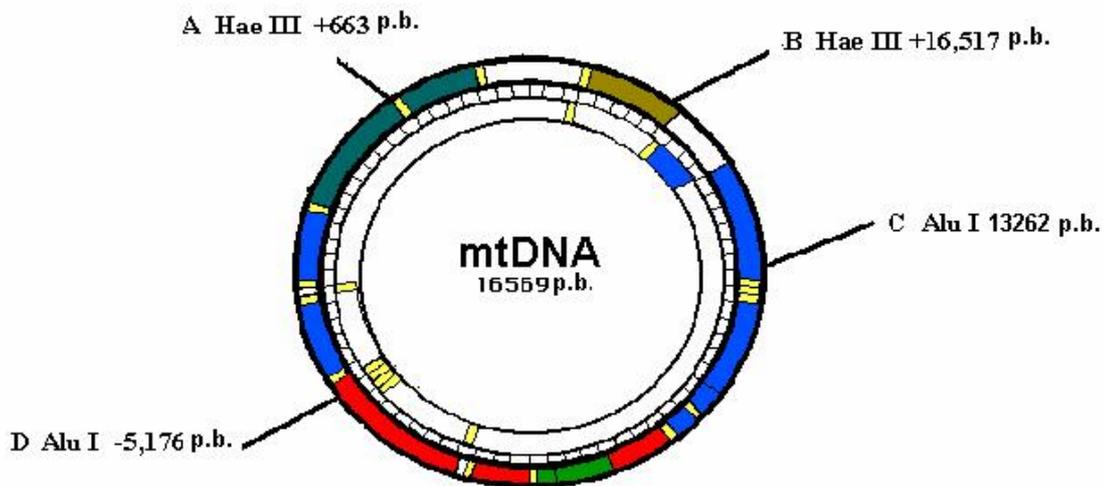


Figura 2. Mapa del genoma mitocondrial donde se pueden apreciar los sitios polimorficos conocidos como haplogrupos para americanos nativos (Brigitte, y Stoneking, 2005).

análisis a nivel de secuencia en estudios de poblaciones. Esta técnica permite obtener múltiples copias de cualquier fragmento de DNA. Así el conocimiento de la secuenciación del mtDNA implica que la PCR puede ser usada para la amplificación de cualquier segmento de su genoma, con lo que permitirá realizar, entre otros, estudios con fines filogenéticos (Mullis y Faloona, 1987).

Existen diversas razones por las cuales los científicos realizan estudios de reconstrucciones filogenéticas mediante el uso del mtDNA, las cuales resultan ventajosas y se describen a continuación.

En el mtDNA existen dos fenómenos debido a su forma de expresión de sus alelos, el más común conocido como homoplasma, sugiere que la mayoría de los individuos presentan una misma secuencia o alelo en la mayoría de las moléculas del mtDNA que poseen (Monnat y Loeb, 1985). Y el segundo, llamado heteroplasma, fenómeno que no es muy frecuente. Éste se caracteriza por la existencia de una mezcla de formas diferentes de mtDNA con cambios en su secuencia, presentes en una sola mitocondria, una sola célula o un solo individuo. Esta situación es común en individuos que padecen enfermedades mitocondriales, sin embargo, se han observado muy pocas mutaciones neutrales o silenciosas (sin efecto en el fenotipo) que produzcan heteroplasma en el mtDNA de individuos normales. Por lo que se llega a pensar que la heteroplasma es un fenómeno que no es fácilmente detectable mediante secuenciación directa (Bendall *et al.*, 1996).

Otro aspecto importante del mtDNA es que evoluciona de 5 a 10 veces más rápido que el segmento promedio del DNA nuclear, esta característica es útil para estudios de análisis de procesos evolutivos (Brown *et al.*, 1979). Para explicar por que el mtDNA evoluciona rápido, hay que tomar en cuenta dos procesos, la *tasa de mutación* y la probabilidad de que una mutación recién

surgida sea fijada, *tasa de fijación* (Richter *et al.*, 1988 y Morten *et al.*, 1993). No obstante, los cálculos que se han hecho para estimar las tasa de mutación en humanos sugiere 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). Debido a este hecho, la variación de secuencias entre individuos de una misma especie es muy grande, hasta de uno 70 nucleótidos, y en un mismo individuo se éste generando, a lo largo de la vida, una pequeña heterogeneidad en el mtDNA (Solano *et al.*, 2001). Las variaciones de las secuencias existentes han resultado muy útiles para estudios de antropología, etnología y forense, y es la base de la hipótesis sobre el origen del hombre más aceptada en la actualidad que se conoce con el nombre de Eva mitocondrial (Ingman *et al.*, 2000).

Estas mutaciones del mtDNA han permitido que sea utilizado como marcador molecular en pruebas de identificación de grandes linajes africanos, asiáticos, europeos y amerindios, y agruparlos en familias llamadas haplogrupos, que son específicos de forma continental (Torrioni *et al.*, 1998).

Otra de las conveniencias y ventajas que tiene el mtDNA para utilizarlo como herramienta para la reconstrucción filogenética de poblaciones humanas se debe a su forma de herencia a través de la línea materna con un patrón uniparental. Dicho de otro modo la madre transmite su genoma mitocondrial a todos sus hijos, pero solamente las hijas lo pasarán a todos los miembros de la siguiente generación (Figura 3). Esta característica refleja genealogías maternas de los individuos estudiados (Stoneking, 1993; Solano *et al.*, 2001). Esta característica tiene implicaciones interesantes; la primera de ellas es que la diversidad actual de los diferentes haplogrupos o linajes mitocondriales, no es toda la que ha existido a los largo de la evolución humana. Es decir, que el

origen de todos los linajes que podemos rastrear, mediante el estudio de la variabilidad de linajes en poblaciones actuales, nos remonta a la mujer que nos originó, llamada Eva mitocondrial, que no tiene por qué coincidir con la primera mujer de nuestra especie.

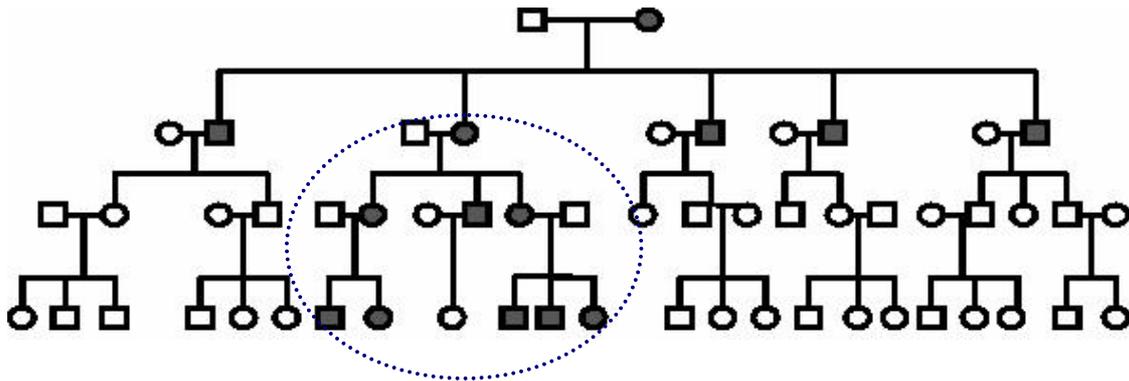


Figura 3.- Modelos de herencia, los círculos negro indican las mujeres y los cuadros a los varones, Observe que sólo hay descendencia en donde se encierra con círculo punteado (Stoneking, 1993).

La presente tesis pretende contribuir en la identificación de los haplogrupos propios de la poblaciones aborígenes amerindias (A, B, C y D), para ello se analizaron los sitios polimorfos mediante enzimas de restricción del mtDNA de una población Mazahua, así también, las posibles relaciones genéticas y lingüísticas, que pueda tener con otras poblaciones indígenas mediante la reconstrucción de árboles filogenéticos y métodos de análisis multivariado.

2.- ANTECEDENTES.

El uso de marcadores genéticos para el estudio del origen del hombre se centró, inicialmente, en trabajos basados en grupos sanguíneos y en polimorfismos séricos (Bowcock *et al.*, 1991). La utilización del DNA, concretamente el mtDNA, para investigar la diversidad humana tiene su referencia principal, en el trabajo publicado por Rebeca Cann en el año 1987 (Cann *et al.*, 1987a). Este trabajo titulado *DNA mitocondrial y evolución humana* constituyó un punto de partida en la metodología de investigación sobre el origen del hombre. A partir de esta publicación han sido innumerables los trabajos y las aportaciones que se han llevado a cabo, analizando el mtDNA, sobre evolución humana, reconstrucción de migraciones e historia de diferentes poblaciones del mundo (Ingman *et al.*, 2000).

En la actualidad existen dos teorías (Pakendorf y Stoneking, 2005) que apoyan el origen y dispersión de los humanos anatómicamente modernos, tema aun controvertido (Cann *et al.*, 1987a). La teoría de Continuidad morfológica o del Candelabro expuesta por Wolpoff en 1984 (Wolpoff *et al.*, 2000), poco aceptada, propone que la transición de *H. erectus* a *H. sapiens* ocurrió de forma paralela en diversas partes del mundo, a través de varias poblaciones intermedias, con una mezcla continua que mantuvo la unidad de las especies. Sin embargo los autores de la teoría no pueden explicar la existencia contemporánea de diferentes especies de *Homo erectus* y *sapiens* en distintas regiones.

La teoría más aceptada, se conoce con el nombre de Fuera de África, Eva mitocondrial o Arca de Noe, propuesta inicialmente por Rebeca Cann (Cann *et al.*, 1987b). Esta teoría, explica cómo y cuándo *Homo sapiens* migró desde el continente africano hace 150,000 de años a Eurasia, fundamentada

en datos moleculares y avalada por el registro fósil, un ejemplo de ello es el yacimiento de llamado Herto en Etiopia. Estos fósiles se dataron en unos 160,000 años, fecha que se aproxima a la portada por la teoría fuera de África (Stringer, 1989).

Esta hipótesis sostiene que ha habido, como mínimo, dos migraciones, la primera de llevada a cabo hace 120,000 años desde África por un ancestro de *Homo erectus*. Este se diferencio y diversifico dando lugar al mismo *Homo erectus* en Asia, al *Homo neanderthalensis* en Europa y *Homo sapiens* en África. Este ultimo hace unos 100,000 años, llevó a cabo una segunda migración con una dispersión por todo el mundo (Stringer, 1989).

Lo que lleva con siglo el origen de los humanos modernos explicado a través de esta teoría, sugiere que al momento de la ultima migración de *Homo sapiens* hace unos 100,000 dejo su marca genética en el mtDNA conocida con el nombre de haplogrupo.

Viéndolo desde este punto de vista la aparición de *Homo sapiens* en África y durante su dispersión dentro del mismo continente, se dio una mutación que constituye la primera marca genética, o haplogrupo africano, conocido como L1. Posteriormente una expansión oriental de los individuos que poseían el marcador L1 hace unos aproximadamente 80,000 – 60,000 años repobló África, difundiendo paralelamente dos nuevos haplogrupos el L2 y el L3. Finalmente una expansión fuera de África de individuos llevó consigo la difusión de al menos, un subtipo de mtDNA, el marcador del haplogrupo L3 (Salas *et al.*, 2002). De este último haplogrupo proceden el resto de marcadores mitocondriales que en la actualidad se encuentran distribuidos por el mundo. Con el paso del tiempo la población de hombres modernos había colonizado Eurasia y fueron acumulando algunos marcadores. En Europa

suelen clasificarse en nueve haplogrupos y subagruparse en cuatro grupos: HV, UK, TJ y WIX (Richards *et al.*, 1996; Torroni *et al.*, 1996). En Asia los haplogrupos se agrupan dentro un surperhaplogrupo M (Torroni *et al.*, 1996), subdividido en cuatro haplogrupos llamados C, D, G y E. Mientras que para el continente Americano se tiene los haplogrupos A, B, C, D o X (Figura 4). En América la distribución de los haplogrupos se relaciona, según algunos autores, a tres tipos de troncos lingüísticos, Amerindio, Na-Dene y Eskimo-Aleutiano (Merriwether *et al.*, 1991).

En lo que corresponde América, ya en el siglo XX se sabía que los habitantes americanos tenían afinidades biológicas y culturales con las poblaciones asiáticas (Greenberg *et al.*, 1986; Grennberg, 1987), lo que llevó a proponer que los primeros pobladores eran originarios del continente asiático y que la colonización se había realizado a través del estrecho de Bering, y que estas poblaciones nómadas fueron ocupando espacios de norte al sur del continente americano, en mínimo tres migraciones. (Lewin, 1987), donde tres poblaciones genética y lingüísticamente separadas contribuyeron en orden de entrada a los Paleo-indios (hablantes ancestrales amerindio, Los Na-Dene y los Eskimo-Aleutiano (Torroni *et al.*, 1993).

Estudios previos del mtDNA en poblaciones amerindias mexicanas, revelan que los indígenas caen dentro de los cuatro haplogrupos ya antes mencionados (Torroni *et al.*, 1993). Estas investigaciones del mtDNA se han desarrollado con el propósito de aclarar y conocer el origen del linaje mexicano. A pesar de que México, es uno de los países más diversos en cuanto a culturas y diversidad humana se refiere, existen pocos estudios en cuanto al mtDNA en poblaciones indígenas de México. Desde 1990 al 2002 solo se han analizado poblaciones indígenas como los Seris, Cochimi, Pimas, Pai Yuman, Kiliwa,

Nahua de Puebla, Mixtecos de Sierra alta y Baja de Oaxaca, Mixes, Mayas de Yucatan y Huastecos Hidalguenses.

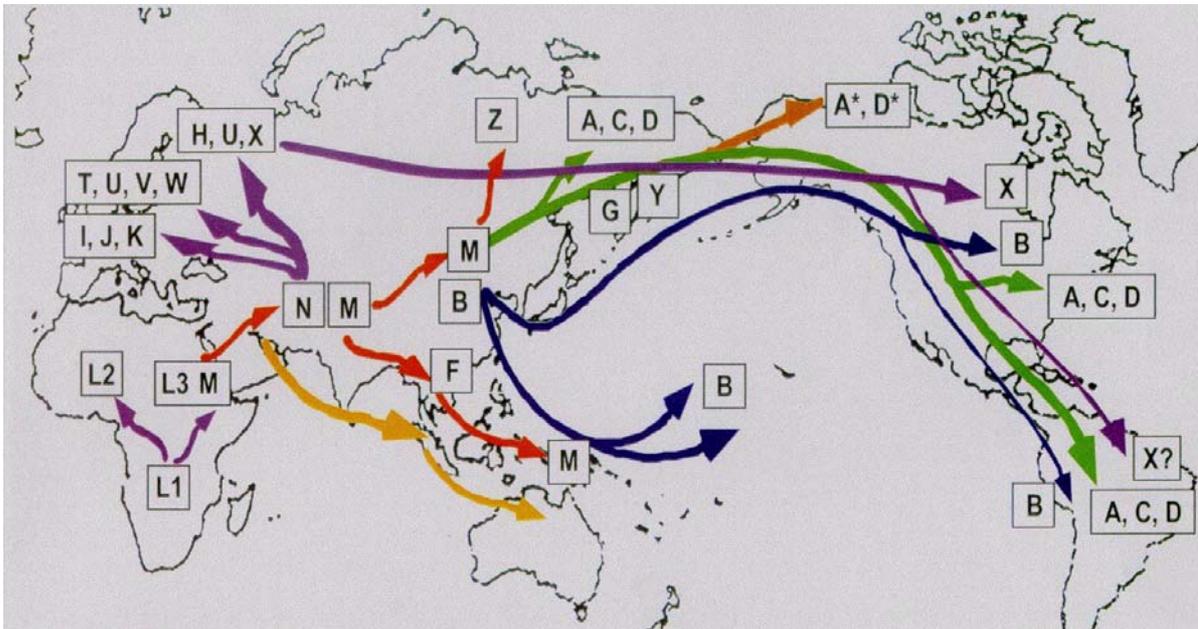


Figura 4. Distribución de los haplogrupos del mtDNA, las letras mayúsculas representan a los haplogrupos. En la imagen podemos apreciar como han ido evolucionando desde su salida de África hace 50,000 a 75,000 años; Asia 40,000 a 60,000 años, Europa 35,000 a 50,000 años y América 15,000 a 35,000 años (<http://www.mitomap.org>).

Sin embargo se han realizado una gran cantidad de trabajos en cuanto a las filogenias lingüísticas se refiere. Desde hace más de un siglo diferentes autores han clasificado a los grupos indígenas según su lengua. Esto ha implicado la creación de filogenias basadas en su lengua. Existen muchas clasificaciones y, en la actualidad, no hay un consenso sobre cuál de ellas es la más adecuada y se ajusta mejor a la realidad genética de los pueblos indígenas. Uno de los primeros intentos de sistematización lingüística de América lo llevó a cabo Manuel Orozco Berra entre 1864 – 1884. En 1902 León propuso una nueva clasificación de lenguas. Según este nuevo sistema de clasificación los idiomas indígenas quedaron agrupados en tres grupos y diecisiete familias. Trager, en, 1938, propuso otra clasificación de las lenguas

indígenas considerando tres grandes grupos subdivididos en ocho familias. Schmidt en 1926 propuso en su libro "Atlas de lingüística mundial" la agrupación de las lenguas indígenas en seis grupos en el que incluye la gran mayoría de las lenguas de México (Vivo, 1960). Una de las clasificaciones más aceptadas hoy en día es la realizada por Manrique en el año de 2002 (<http://www.inegi.gob.mx>). Sus postulados se han aceptado a todos los niveles y son, actualmente los utilizados por el INEGI, CONADEPI y el INI. Manrique propone una clasificación de 12 familias lingüísticas. Estas últimas cuatro clasificaciones (León, Trager, Schmidt citadas por Vivo en 1960) y Manrique, serán utilizadas para posteriores análisis estadísticos.

3.- LA POBLACION MAZAHUA.

En México los primeros asentamientos de grupos humanos cazadores recolectores datan del periodo llamado Etapa Lítica. A finales de este período aparecen las evidencias de las primeras sociedades sedimentarias agrícolas que serían protagonistas del esplendor mesoamericano.

Respecto a la población Mazahua, motivo del presente estudio, no se conocen sus orígenes desde una perspectiva biológica. Una propuesta dice que perteneció a una de las cinco tribus Chichimecas que migraron en el siglo XIII al Valle de México (Mendieta, 1945). Según este mismo autor una de ellas estuvo encabezada por Mazahuatl, jefe de este grupo, al que se considera el más antiguo de los integrantes de las tribus fundadoras de las ciudades de Culhuacan, Otompan y Tula. Éstas estaban compuestas por Mazahuas, Matlatzincas, Tlahuicas y Toltecas, las cuales dominaron el valle de Toluca y llegaron hasta Michoacán (<http://www.ini.gob.mx>). El idioma Mazahua pertenece al tronco lingüístico otomipame de la familia otamiana, aunque ya en este tiempo los mazahuas dominan un buen castellano sienten que es necesario conservar su lengua materna, como un medio de identificación étnica (Benites, 1975). En la actualidad la etnorregión Mazahua se caracteriza por su pobreza, manifestada en sus formas de vida, atraso social y económico (<http://www.cdi.gob.mx>). El Consejo Nacional de Población, registró un índice de marginalidad de grado bajo para los municipios de la región Mazahua, donde ocho de los trece municipios que la constituyen mantienen un alto grado de marginalidad, siendo San Felipe del Progreso el más elevado, teniendo un grado medio Jiquipilco, Jocotitlán y El Oro (población de estudio), los dos restantes, Atlacomulco y Valle de Bravo, presentan un índice bajo en economía (Figura 5).

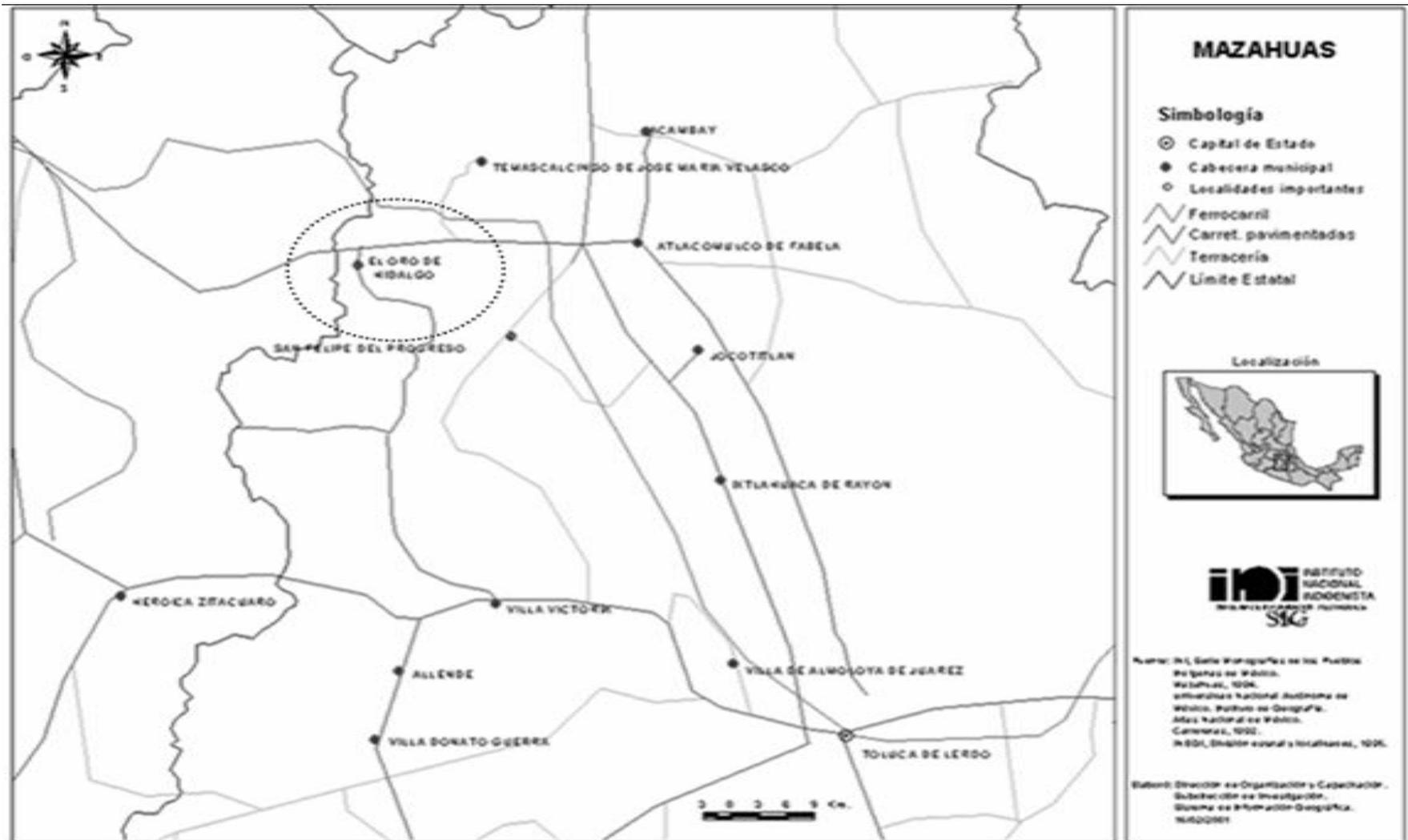


Figura 5. Localización del municipio del Oro. (www.ini.gob.mx)

4.- JUSTIFICACIÓN.

Existen muy pocos estudios de mtDNA, que usan un enfoque poblacional, para investigar el origen de la diversidad y las relaciones genéticas entre poblaciones indígenas de México. Aún existen menos estudios centrados en el origen del pueblo Mazahua. Desde esta perspectiva los datos aportados en esta tesis son, por una parte, un complemento para otros estudios. Por otro lado son inéditos ya que es la primera vez que se realiza un estudio de estas características en esta población de México.

El conocimiento de la historia de algunos grupos indígenas de México es, en la actualidad, muy pobre. Este trabajo pretende aportar información sobre uno de estos grupos y proponer, desde la genética molecular, una hipótesis sobre sus orígenes y la relación que guardan con otros grupos de la región de México.

5.- HIPOTESIS Y OBJETIVOS.

5.1.- HIPOTESIS

En función de los haplogrupos del mtDNA se espera obtener una filiación genética predominante indígena, sin esperar atributos mestizos y con aporte de grupos de antiguos grupos nómadas del norte.

5.2.- OBJETIVO GENERAL.

Caracterizar genéticamente a una comunidad Mazahua del noreste del estado de México utilizando un análisis de frecuencias de haplogrupos mitocondriales para establecer relaciones de distancias genéticas con otros grupos étnicos de México.

5.3.- OBJETIVOS PARTICULARES.

Obtener las proporciones de haplogrupos mitocondriales amerindios para la comunidad Mazahua seleccionada.

Establecer comparaciones con los datos relativos a otros grupos étnicos de México mediante un análisis de distancias genéticas y métodos de agrupación estadística.

Determinar qué clasificación lingüística, de las propuestas a lo largo de la historia, se ajusta a los datos genéticos de los pueblos indígenas.

6.- MATERIAL Y MÉTODOS.

6.1.- POBLACIÓN Y TOMA DE MUESTRAS

Para este trabajo se eligió como objeto de estudio la población Mazahua, ubicada al noroeste del estado de México, municipio de Ixtapan del Oro. De esta población se extrajo material biológico (saliva) el día 25 al 28 de octubre del año 2004. El trabajo se realizó en cuatro localidades pertenecientes al mismo municipio: El Ejido, Miahuatlán Hidalgo, Milpillas y San Miguel.

La toma de muestras se realizó directamente visitando las casas en las comunidades seleccionadas. A cada una de las familias se les comunicó el objetivo del proyecto y se les solicitó su colaboración con la donación de material biológico consistente en saliva. Tomándose como máximo dos muestras de familiares no emparentados (mamá y papá), para evitar la toma de muestras de familiares cercanos.

La obtención de material biológico (saliva) consistió en que cada una de las personas realizara un enjuague bucal con solución salina (15ml), con el propósito de desprender células de la mucosa bucal. El donante realizó un enjuague durante 20 segundos y expulsó el lavado salino en el mismo vaso. Este lavado bucal se vertió en un tubo de 10 centímetros, que se etiquetó y se colocó en hielo para su conservación. Una vez realizada esta fase de la obtención de material biológico se transportó al laboratorio y se inició la fase de extracción de DNA.

6.2.- LABORATORIO

El análisis molecular se llevó a cabo en el laboratorio de Sistemática Molecular del Centro de Investigaciones Biológicas (C.I.B.) de la UAEH.

Previo al trabajo, en el laboratorio se realizó la esterilización del

material; tubos de PCR, agua desionizada, microtubos de 1.5ml, y puntas para micropipetas, todo esto con el propósito de evitar contaminación en los resultados posteriores a la extracción y amplificación.

Al comienzo del trabajo, el laboratorio se dividió en tres zonas: de pre-PCR o extracción, zona de PCR o amplificación y zona de post-PCR o electroforesis. En la zona de pre-PCR se contaba con material previamente esterilizado, así como los rotores de las centrifugas limpiados con alcohol para la extracción. La zona de PCR cuenta con un equipo de amplificación, el termociclador (GeneAmp, PCR-System 9700) que servirá para la amplificación del fragmento de DNA deseado. En la última zona se encuentra el aparato de electroforesis empleado en la visualización de los fragmentos de DNA ampliados y ya cortados por las enzimas de digestión.

La mayoría de las amplificaciones fueron llevadas a cabo en grupos de 21 muestras más un control negativo de contaminación (blanco sin DNA). La presencia de una banda del tamaño esperado (determinado mediante electroforesis en gel de agarosa) en alguno de los blancos utilizados, se considera contaminación. En caso de determinar contaminación del blanco, todas las muestras amplificadas en el mismo grupo se descartaban y se repetía la reacción utilizando nuevas alícuotas de los mismos extractos.

6.3.- TÉCNICAS MOLECULARES.

6.3.1.- EXTRACCIÓN DEL mtDNA

La extracción del mtDNA de saliva de muestras nativas americanas se realizó en 79 individuos de un total de 4 comunidades (El Ejido, San Miguel, Miahuatlán Hidalgo y Milpillal). Se realizó mediante una resina quelante Chelex[®] al 5%.

Para llevar a cabo la extracción lo primero que se realizó fue descongelar las muestras, seguido de una centrifugación a 7,500 rpm durante 10 minutos. Al término de la centrifugación se descartó el sobrenadante de cada muestra evitando perder el botón con células que se formaba en la parte inferior del tubo. Se agregaron 500 µl de producto Chelex[®] al 5%. Se pipeteó la solución de Chelex[®] dentro y fuera de la punta de la micropipeta con el propósito de resuspender el botón de células. Se transfirieron 500 µl aún microtubo de 1.5 ml, antes de que la resina quedara asentada. El microtubo se incubó al baño a una temperatura de 85 °C por 10 minutos. Una vez pasado este tiempo las muestras se colocaron en hielo por un minuto. Se centrifugaron a 11,000 rpm durante 1 minuto. Por último, se tomaron del sobrenadante 200 µl y se transfirieron aún microtubo limpio de 1.5 ml (Pérez, 2001).

6.3.2.- AMPLIFICACIÓN DEL mtDNA, (PCR)

Para la amplificación y determinar los sitios de mutación del mtDNA se usó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa.

Para que la PCR se lleve a cabo, se utilizaron los oligonucleótidos cortos entre 20 y 50 p.b., que poseían una secuencia de bases complementaria a la del fragmento de DNA que se desea amplificar. Las secuencias exactas de los oligonucleótidos se obtuvieron del trabajo de Bailliet *et al.*, (1994; Tabla I).

En el trabajo, la reacción de PCR se realizó utilizando la siguiente mezcla, para cada muestra en un total de 105 alícuotas realizadas (Tabla II). Fueron amplificadas en un termociclador (GeneAmp, PCR-System 9700). El programa utilizado se muestra en la tabla III.

Tabla I. Oligonucleotidos utilizados en ampliación del mtDNA. Se muestra su posición en el genoma mitocondrial de acuerdo a la secuencia de Anderson (Baillet *et al.*, 1994).

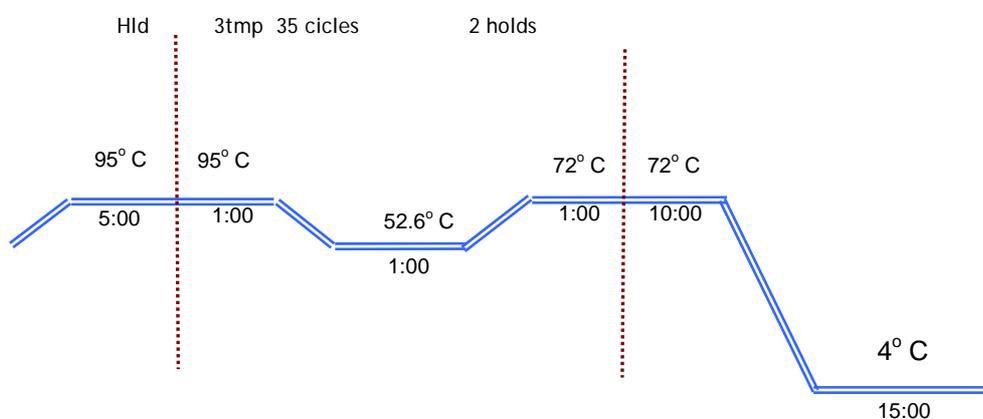
Oligonucleotidos	Haplogrupo	Enzima	Tamaño fragmento	Fragmento cortado	Loci
MIL582 5' TGTAGCTTACCTCCTCAAAGC 3' MIH745 5' TTGATCGTGGTGATTTAGAGG 3'	A	<i>Hae III</i>	163	82/105	+663
MIL16475 5' TAGCTAAAGTGAAGTGTATCC 3' MIL 16475 5' GGTGATAGACCTGTGATCCAT 3'	B	<i>Hae III</i>	112	70/42	+ 16517
MIL13209 5' CGCCCTTACACAAAATGACATCAA 3' MIH13437 5' TAATACACCAGTCTTGTAACC 3'	C	<i>Alu I</i>	228	178/50	+ 13262

Tabla II. Reactivos de la PCR. La primera columna muestra los reactivos utilizados en la PCR y la segunda columna indica la cantidad por muestra en un volumen final de 24.17 µl.

Reactivo PCR.	Concentración por muestra
Buffer de PCR	1 X
MgCl ₂	2.64 µM
dNTPs (de cada uno)	0.2 µM
Oligonucleotidos	0.24 µM
Taq polimerasa (Applied Biosystems®)	0.85 U
DNA muestra (saliva)	0.4 µl

El producto final de las ampliaciones se colocó en geles de agarosa al 3%, en una cámara de electroforesis a 6.0 V/cm³, durante 21 minutos. Los geles se tiñeron con bromuro de etidio, visualizados con luz ultravioleta.

Tabla III. Muestra las tres fases del termociclador: desnaturalización (95 °C), alineamiento (52.6 °C) y extensión (72 °C).



6.3.3.- ENZIMAS DE RESTRICCIÓN.

El uso de enzimas de restricción para determinar sitios de mutaciones en el mtDNA, se realizó una vez que el DNA fue observado en el gel de agarosa.

En el microtubo de PCR que contenía la amplificación final de (24.17 µl), se le agregaron los componentes de las enzimas de restricción (Tabla I) fueron: buffer a 1 X, 1.1 mM de cada enzima. Se incubaron a 37° C durante 20 horas con el propósito de que la enzima cortara los sitios mutados.

6.4.- FRECUENCIA DE LOS HAPLOGRUPOS.

El cálculo de las frecuencias para cada haplogrupo se obtuvo al dividir el número de muestras que dieron positivo para A, B ó C entre el total de las muestras, es decir, mediante la aplicación de la ecuación:

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

dónde *Nh* es el número de muestras que dieron positivo para cada haplogrupo dividido entre el número total de individuos *Ni*.

6.5.- ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

6.5.1.- ANALISIS INTRAPOBLACIONALES

Este tipo de análisis analizan aspectos internos de la estructura genética de la población Mazahua que advertir que debido a la naturaleza de los datos hay muchos análisis que no pudieron realizarse. El mtDNA es una material que se comporta como haploide por lo que quedan excluidos todos aquellos análisis que se basan en el estudio de organismos diploides. El análisis interpoblacional se basó principalmente en el cálculo de dos tipos de estadísticos:

- A. Diversidad Genética. Existen diferentes formas de calcular la diversidad de una población, en este caso se utilizaron diferentes estimadores como el índice de Shannon (H), la diversidad genética o índice h y el test de neutralidad. Dichos análisis de genética se realizaron con el programa Popgene y Arlequin. Los análisis se calcularon a dos niveles, para las comunidades muestreadas de forma independiente (El Ejido, Miahuatlán Hidalgo, Milpillas y San Miguel) y para toda la población.
- B. AMOVA. (Análisis Molecular de la Varianza). Este tipo de análisis tiene como objetivo determinar si existe una subestructura genética interna en la población Mazahua. Se fundamenta en el cálculo de la variación que hay dentro de las comunidades y entre ellas a partir del estimador F_{st} . Este tipo de análisis se realizaron con el programa Arlequin.

6.5.2.- ANALISIS INTERPOBLACIONALES

El objetivo de estos análisis es comparar, mediante diferentes pruebas, los resultados obtenidos en la tesis con los publicados en revistas científicas y citadas en el anexo I. Los resultados permitieron obtener información sobre las semejanzas genéticas de la población Mazahua con otras poblaciones indígenas, y de esta manera, obtener información sobre su origen y las relaciones que han mantenido con otros grupos.

Para realizar estos análisis se utilizaron diferentes programas. Las distancias genéticas se calcularon con el programa Phylip así como la robustez de las ramas mediante la aplicación de remuestreos. Estas distancias se representaron mediante árboles con el programa Treeview. Las distancias geográficas se han estimado mediante el programa Arcview 3.1. Con el programa XLSTAT se realizaron diferentes pruebas estadísticas como el

análisis de componentes principales (ACP), el escalamiento multidimensional (MDS) y el análisis discriminante (AD). El programa Mantel se utilizó para comparar matrices de igual dimensión, en este caso matrices de distancias genéticas con matrices de distancias geográficas.

6.5.2.1.- DISTANCIAS GENÉTICAS: Nei (1978)

Las distancias genéticas se obtienen mediante la aplicación de un algoritmo matemático que expresa la semejanza o diferencia que existe entre poblaciones a través de una expresión numérica. Bajos valores manifiestan semejanzas genéticas, por el contrario valores altos de esta distancia expresan grandes diferencias genéticas. Existen diferentes modelos para calcular las distancias genéticas. La bibliografía aconseja la utilización de algunas de las siguientes: Reynolds, Cavalli-Sforza o Nei (Cavalli-Sforza y Edwards, 1967).

Una vez que se configuró la tabla de las frecuencias de los haplogrupos de las poblaciones que se querían comparar se calcularon las distancias genéticas de Nei (Saitou y Nei, 1987), en este caso mediante la aplicación del módulo *Gendist* del programa Phylip.

Los cálculos y reconstrucciones de árboles de distancias genéticas se realizaron con el software Phylip. Las opciones utilizadas para Phylip se especifican a continuación.

1. *Gendist*: para calcular las distancias de Nei y Reynolds. La distancia de Nei, que es la que se utilizó para el desarrollo del presente trabajo, se define como la posibilidad de que dos individuos elegidos al azar sean diferentes (Tuimala, 2005).
2. *Neighbor*: Este módulo construye árboles correspondientes a partir de la matriz generada al aplicar *Gendist*.

3. *Seqboot*: esta opción se utiliza para realizar árboles con remuestreo. Es decir, a partir de una tabla de frecuencias se generan múltiples matrices de distancias de forma aleatoria. El resultado final será un número asociado a los nodos de los árboles representados, que expresa la consistencia o robustez de esa rama (Tuimala, 2005).
4. *Consense*: A partir de la aplicación *Seqboot* se generan n tablas de frecuencias que, a su vez, son pasadas por *Gendist* generándose el mismo número de matrices de distancias. A partir de las n distancias de Nei se generan n árboles mediante la aplicación del módulo *Neighbor*. Las relaciones que presentan se sintetizan mediante la aplicación del módulo *Consense*.

Las representaciones de los árboles se generaron mediante los módulos *Neighbor* y *Consense* del paquete estadístico Phylip. Pero para aumentar los detalles de las representaciones se empleó el programa TreeView (Page, 2001), que, en esencia, consiste en la visualización del árbol de distancias genéticas consenso generado por Phylip.

Antes de realizar otros análisis estadísticos también se configuró una tabla de distancias geográficas para compararlo con la matriz de distancias genéticas. La idea era determinar si existía una correlación entre semejanzas genéticas y proximidad geográfica, según el modelo conocido como aislamiento por distancia. Dichas distancias geográficas, se calcularon, aproximadamente, entre los puntos distribución geográfica de las poblaciones indígenas incluidas en el estudio. Las distancias se tomaron de forma lineal asumiéndose que se comete un error ya que no representa el camino real que se tiene que recorrer para unir dos comunidades o poblaciones. De todas

formas, y asumiendo este principio, las distancias geográficas representan un buen estimador de las distancias geográficas proporcionales que separan a las poblaciones.

El programa que se utilizó en la construcción de la matriz de distancias geográficas fue Arcview 3.1. El anexo II muestra el mapa con la distribución de las poblaciones que se usó para obtener la matriz de distancias geográficas (Anexo III) que se comparó con la matriz de distancias genéticas de Nei, mediante un test de Mantel.

6.5.5.2.- ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (ACP)

Antes de aplicarse el ACP y verificar si la matriz de correlaciones es una matriz identidad es necesario aplicar la prueba de Bartlett, que presenta dos estimadores que son *Ji-cuadrada* y un valor *p* (Mina y Verde, 2004).

Se realizó un ACP, con la frecuencia genética de los haplogrupos. El estadístico permite la reducción de la complejidad de los resultados de un análisis multivariado. Este proceso se realiza mediante la transformación de los datos originales (variables o frecuencias de los haplogrupos en este caso), o conjunto de *x* variables originales en otro conjunto de *p* variables incorrelacionadas llamadas componentes principales. Dicho de otra manera, es una aproximación a la tabla de datos obtenida (Anexo I), con dimensiones *n x k* donde las *n* filas son casos (poblaciones) y *k* columnas, las variables (frecuencias genéticas). La representación gráfica de las poblaciones es una topografía que indica la proximidad genética, en este caso, que existe entre las poblaciones comparadas. Un valor a tener en cuenta es la variabilidad que expresan los ejes, cuanto más alta mejor ya que mayor número de información se habrá utilizado y estará representada en la gráfica (Mina y Verde, 2004).

6.5.5.3.- MÉTODOS DE ESCALAMIENTO MULTIDIMENSIONAL (MDS)

Este método se aplicó a dos niveles, entendiendo como nivel la forma de agrupar a las poblaciones, las distancias genéticas de Nei y la matriz de distancias geográficas. Este análisis multivariado representa en un espacio geométrico de pocas dimensiones las proximidades existentes entre un conjunto de objetos, en éste caso las distancias genéticas y geográficas de las poblaciones. La importancia del MDS viene dada por los estimadores *stress* y la *bondad de ajuste*. Para que la prueba sea confiable el primero ha de acercarse a 0 y el segundo a 1.

6.5.5.4.- TEST DE MANTEL: GEOGRAFÍA VS GENÉTICA

Esta prueba estadística es utilizada muy a menudo en ecología para ver la correlación existente entre dos tipos de matrices de distancias, ya sean genéticas obtenidas mediante métodos moleculares y/o geográficas a partir de la distancia entre especies (<http://www.nceas.ucst.edu>). En éste caso la realización de el estadístico, permitirá conocer si existe una relación entre la matriz de distancia de Nei y la matriz de distancia geográfica (Mantel, 1967).

6.5.5.5.- ANÁLISIS DISCRIMINANTE (AD)

El análisis discriminante proporciona una función de clasificación *a priori* de los datos observados (frecuencias genéticas) que describen un conjunto de clases (poblaciones). Así, para cada uno de los análisis se asignó a cada población un valor arbitrario en función de la información lingüística. Se utilizaron las frecuencias para determinar si esa clasificación *a priori* estaba bien realizada.

Con las frecuencias de los haplogrupos se realizó un análisis discriminante, que en términos simples es una técnica estadística multivariante

que permite establecer la pertenencia probabilística de un grupo (en nuestro caso las poblaciones), previamente establecidos a través de funciones discriminantes. Dicho de otro modo parte de una tabla de n poblaciones las que tienen x variables (frecuencias) cuantitativas independientes, que actuarán como perfil característico de cada una de las poblaciones. Una variable cualitativa adicional (en este caso “lingüística”), clasificatoria, con dos a más categorías, que definirá al grupo al que cada población pertenece.

Los resultados de los análisis indican, mediante probabilidades, si la asignación a un grupo previo fue la correcta o si habría que asignarle otra categoría a la población. Dichos resultados son avalados mediante la prueba estadística *Lambda de Wilks* y el cálculo de la *tasa de error*. Si la *Lambda de Wilks* es próxima a 1 los grupos estarán mezclados y el conjunto de variables independientes no es el adecuado. Por el contrario, si su valor es pequeño, la variabilidad total será debida a las diferencias entre los grupos, y por tanto, el conjunto de variables correspondiente los discriminará. En cuanto a la *tasa de error* esta indica, en porcentaje, qué tan bien clasificadas están las poblaciones *a priori*, si su valor es 0 la posibilidad de clasificarlas es buena y conforme el valor aumenta, la posibilidad de clasificar bien las poblaciones descende.

Se realizaron diferentes análisis discriminantes con datos lingüísticos, donde se clasificó a las poblaciones por su familia lingüística. La idea fundamental al utilizar este método era de demostrar, o comparar, si bajo determinadas clasificaciones lingüísticas subyace un patrón genético.

Las clasificaciones que se utilizaron son las ya descritas en el apartado *de Antecedentes*, la de León (1902), Trager (1938), Schmidt (1926) (citadas por Vivo en el año de 1960) y Manrique del 2002 (<http://www.inegi.gob.mx>).

7.- RESULTADOS

7.1.- RESULTADOS DE CAMPO

El número de muestras obtenidas para las diferentes comunidades se representan en la tabla IV:

Tabla IV. Número de muestras por comunidad indígena Mazahua.

COMUNIDAD	NÚMERO DE MUESTRAS
El Ejido	27
Miahuatlán de Hidalgo	30
Milpillas	8
San Miguel Ixtapan	14
Total	79

7.2.- LABORATORIO

A pesar de las precauciones que se tomaron para evitar el muestreo de parientes cercanos, en algunos casos no fue posible evitar esta circunstancia. Así, una vez revisadas las encuestas y después de un detallado análisis de los datos, se excluyeron aquellas que pertenecían a parientes cercanos (Anexo IV). Debido a esto, únicamente se trabajó con muestras de 73 de los individuos procedentes de las cuatro localidades.

La amplificación del mtDNA tuvo una eficiencia del 100% es decir, se consiguió amplificar las regiones deseadas para todas las muestras. En ningún caso, y para ninguna de las muestras, se detectó contaminación.

7.3.- DETERMINACIÓN DE HAPLOGRUPOS.

Los haplogrupos determinados fueron: 44 A, 26 B y 3 C. No se detectó ningún representante del haplogrupo D u otro (Tabla V).

Tabla V. Frecuencias de los haplogrupos mitocondriales A, B y C para la población Mazahua.

Haplogrupos	A	B	C	D
Número de individuos (Nh)	44	26	3	0
Frecuencia (Fh)	0.6027	0.356	0.0410	0

7.4.- ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

7.4.1.- ESTRUCTURA GENÉTICA INTRAPOBLACION

La diversidad genética (Tabla VI) concretamente el índice de Shannon, se obtuvo con el programa Poptgene. El índice calculado de forma independiente para las comunidades muestreadas oscilaba entre 0.955 en Milpillas y 0.593 en El Ejido. El valor medio de la diversidad en la población Mazahua es de 0.8081. Los índices de diversidad genética (h) de Nei (1978), calculados con el programa Arlequín, de las comunidades oscilaban entre 0.4200 en la localidad El Ejido y 0.666 en Milpillas. Para la población en conjunto la diversidad $h = 0.5152$. En la tabla V puede observarse que, aunque con diferentes rangos de valores, los dos índices de diversidad son proporcionales, con valores menores en la población de El Ejido y con valores máximos en Milpillas.

Tabla VI. Resultados del análisis de diversidad genética de las comunidades y de la población en conjunto. N representa el número de individuos, los haplogrupos están representados en porcentajes. I indica el índice de Shannon obtenido por Poptgene y h representa la diversidad genética de Nei, obtenida con el programa Arlequín.

LOCALIDAD	N	HAPLOGRUPO			I	h
		A	B	C		
El Ejido.	26	0.720	0.280	0.000	0.593	0.4200
Mihauatlán	25	0.480	0.440	0.080	0.916	0.5877
Milpillas	15	0.571	0.286	0.143	0.956	0.666
San Miguel	7	0.600	0.400	0.000	0.673	0.5143
TOTAL	73	0.603	0.356	0.041	0.808	0.5152

También se calculó mediante Popgene la diversidad genética (Shannon “I” y diversidad de Nei “h”), para el conjunto de haplogrupo obtenidos (A, B y C). El índice de Shannon (I) oscilaba entre 0.6719 para el haplogrupo A y 0.1714 el C, con un valor medio entre los tres haplogrupos de 0.4982. Mientras que la diversidad de Nei (1973) oscilaba entre 0.4789 para el haplogrupo A y 0.0788 en B, y un valor medio de 0.3388 (Tabla VII).

Tabla VII. Resultados del análisis de diversidad genética de los haplogrupos. *I* indica el índice de Shannon y *h* representa la diversidad genética de Nei, obtenida con el Popgene.

HAPLOGRUPO	I	h
A	0.6719	0.4789
B	0.6512	0.4586
C	0.1714	0.0788
MEDIA	0.4982	3388

El análisis molecular de la varianza (AMOVA) se calculó para las cuatro comunidades muestreadas. Los resultados arrojan un nivel de significancia de $p=0.56207$, es decir, que los resultados no son significativos, lo que indica que no existen diferencias significativas en la frecuencia de los haplogrupos a nivel de comunidades. Dicho de otro modo, mediante este tipo de marcador mitocondrial, no se detectó la existencia de una subestructura genética a nivel de sub-población.

7.1.2.- INTERPOBLACIONAL.

7.4.2.1.- DISTANCIA GENÉTICA DE Nei: (1978) Y REPRESENTACIÓN GRÁFICA

Para determinar las relaciones genéticas entre los Mazahuas y otras poblaciones del continente, y con base en la distribución de los haplogrupos, se calculó la distancia de Nei (Anexo V). La menor distancia corresponde a la población Mixe con respecto a la Nahua, con un valor de 0.0001. La mayor distancia corresponde a la existente entre Seris y Kiliwuas, con un valor de

0.5174. En lo que respecta a la población de estudio *Mazahua*, la distancia más pequeña es con la Nahua de 0.0006 y la mayor distancia es con la población Seri 0.4114. Para facilitar la interpretación se crearon los árboles que, en esencia, son una representación gráfica de las distancias genéticas. Además, y para medir la robustez de los nodos del árbol se realizaron 1.000 repeticiones.

La representación grafica, basada en la matriz de distancias genéticas de los haplogrupos y con 1,000 remuestreos, muestra la relación genética entre las once poblaciones mexicanas contrastadas con la Mazahua. El árbol (Figura 6) presenta valores de remuestreo superior al 50% en todos los nodos de sus ramas y alcanzando valores superiores de robustez del 80%. El valor máximo de remuestreo agrupa a las poblaciones del norte con el resto de poblaciones mexicanas localizadas en el centro o sur del país. En cuanto a la población de estudio Mazahua, se encuentra entre el grupo Nahua y el grupo Maya.

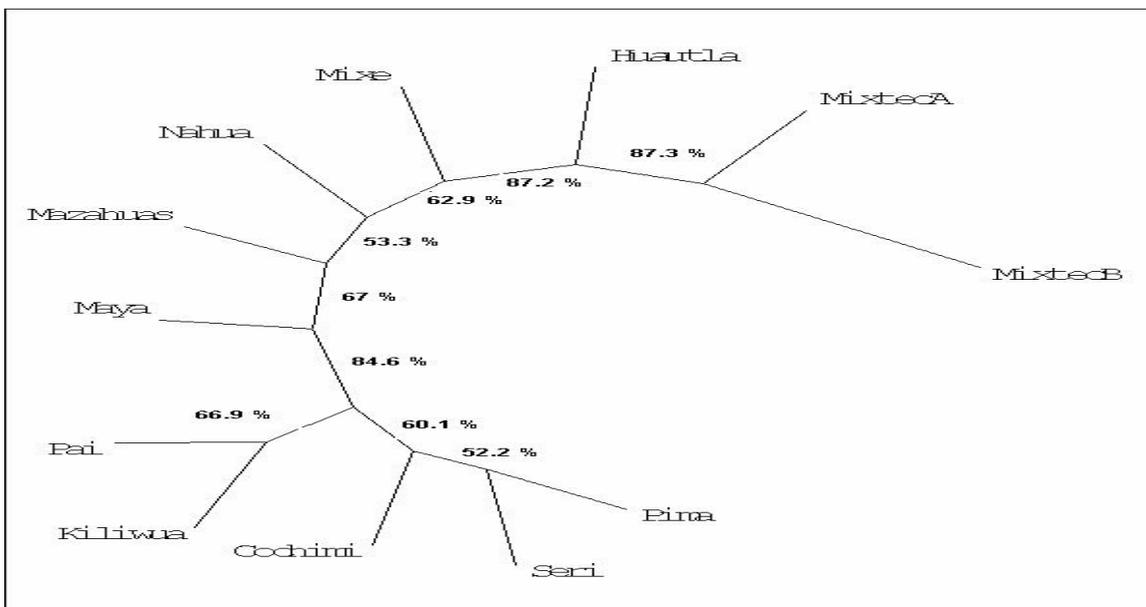


Figura 6. Árbol de distancias genéticas obtenido mediante las distancias de Nei, sin raíz, los números indican la robustez de los nudos para mil remuestreos.

7.4.2.2.- ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (ACP)

La prueba de Bartlett indica que las variables de los haplogrupos se correlacionan con una Ji-cuadrada = 56.009 y con una $p = 0.0001$), por lo tanto el análisis es significativo, sin embargo el estadístico Ji-cuadrado es un valor elevado, y los puntos en el grafico estarán dispersos en la figura 7 (Ferrán, 2001).

El ACP de los datos de frecuencias genéticas indica que los dos primeros vectores explican el 79.20% de la varianza; el eje X representa el 50.81%, mientras que el eje Y representa el resto, el 28.39%. La topografía de la gráfica nos permite realizar dos agrupaciones; las del norte conformadas por Seri, Chochimi, Kiliwua, Pai y Pima. El segundo grupo está compuesto por las poblaciones del centro y sur de México; Mazahua, Mixe, MixtecA, MixtecB, Huastecos de Hidalgo (Huautla) y Maya. Estos dos grupos se diferencian claramente, situándose el primero en los valores negativos del eje de las X y distribuyéndose prácticamente de forma homogénea en el de las Y. De las poblaciones del norte los Seris se diferencian, a su vez, del resto de grupos. En este grupo del norte tiene una mayor importancia relativa la frecuencia de los haplogrupos B y C.

Los pueblos indígenas del centro y sur de México se distribuyen en otra agrupación caracterizada principalmente por las frecuencias de los haplogrupos A y D. Dentro de este grupo se detectan dos subgrupos; Mazahuas, Mixe y Nahuas por una parte y Mixtecos, Huastecos (Huautla, Hidalgo;) y Mayas por otra (Figura 7).

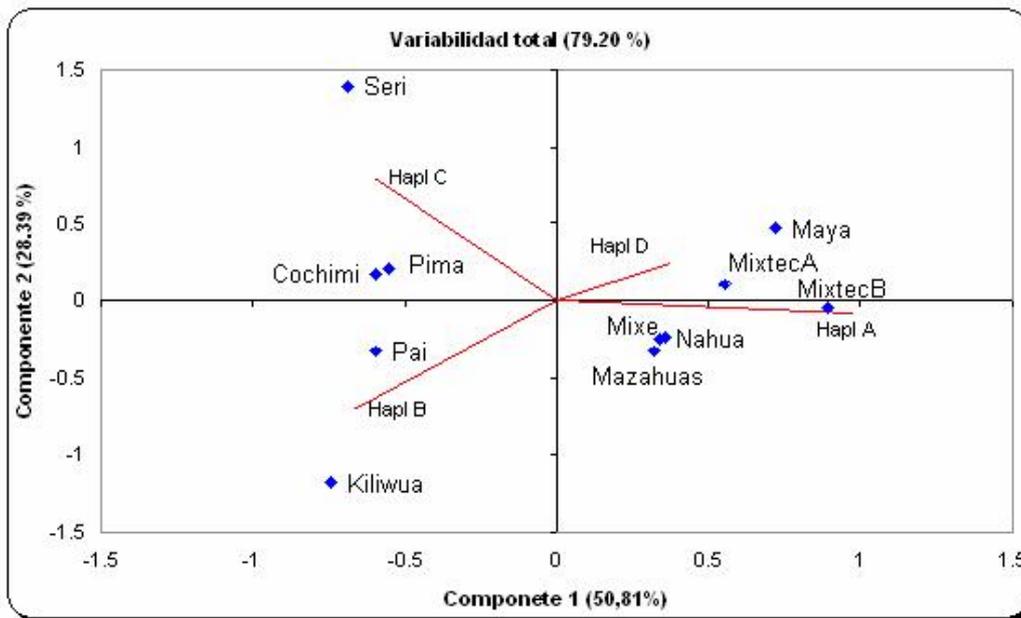


Figura 7. Análisis de componentes principales al analizar las frecuencias de los haplogrupos de 11 poblaciones indígenas de México. Debido al valor alto de la *Ji-cuadrada* se observa como las poblaciones del norte están más dispersas.

7.4.2.3.- MÉTODOS DE ESCALAMIENTO MULTIDIMENSIONAL (MDS)

En lo que respecta al MDS, este se aplicó a la matriz de distancias genéticas y geográficas. Para las distancias genéticas se obtuvo un valor de *stress* fue de 0.241 con una *bondad de ajuste* de 0.9965. Dichos resultados son estadísticamente confiables (Figura 8).

La información de MDS no difiere de la obtenida al representar gráficamente las distancias de Nei ni las obtenidas al aplicar el ACP. Nuevamente se pueden observar dos agrupaciones que incluyen a las poblaciones del norte, por una parte, y las del centro-sur de la República por la otra. Puede observarse como, nuevamente, las poblaciones del norte están más dispersas que las del centro-sur. De hecho, si existiese un modelo genético que coincidiese con la geografía, hipótesis lógica asumiendo que las poblaciones más cercanas tienen relaciones genéticas más próximas, el MDS debería ajustarse a la figura 9.

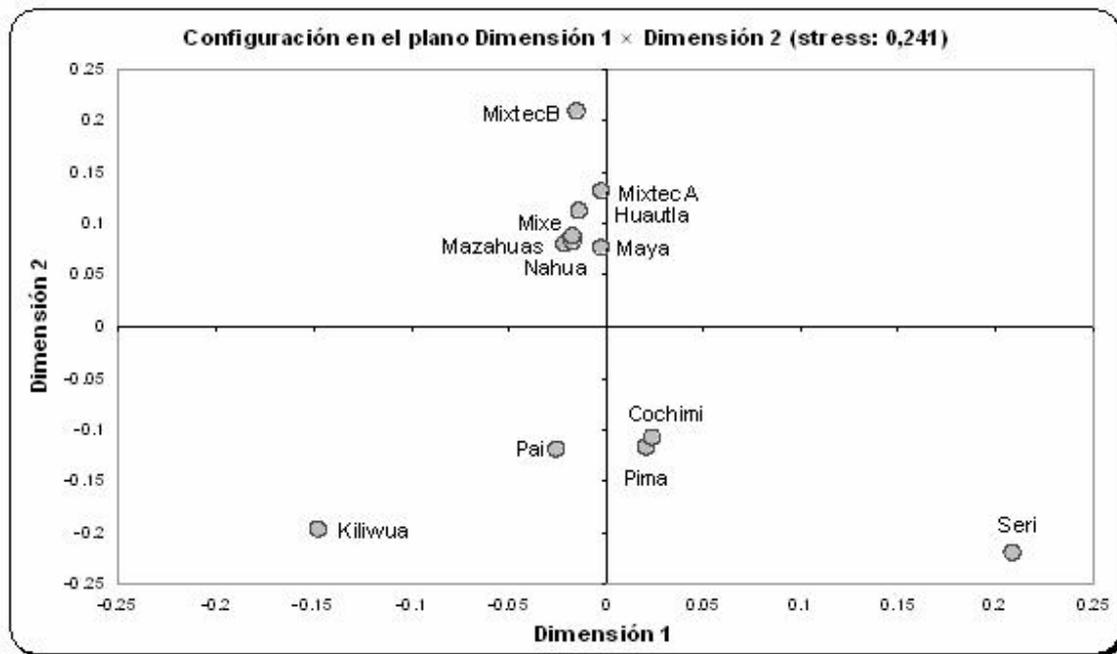


Figura 8. MDS que representa la distribución de las distancias genéticas de Nei.

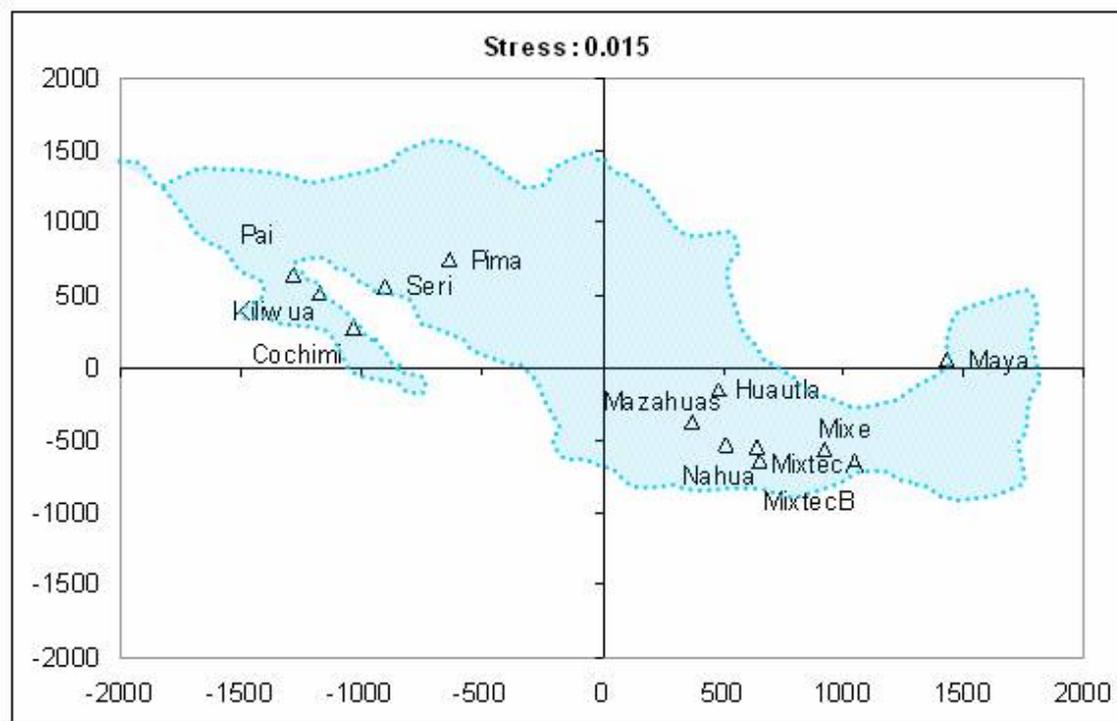


Figura 9. Representación mediante MDS de las distancias geográficas que existen entre diferentes comunidades indígenas de México.

La figura 9 es la representación del MDS utilizando las distancias geográficas que separan en línea recta a las comunidades. La distribución superficial debe expresar, en proporciones, la separación geográfica que hay entre los grupos indígenas utilizados para el análisis. Los estimadores de los modelos son, lógicamente, los más ajustados que se obtuvieron; un *stress* es de 0.015 y la *bondad de ajuste* de 0.9994. Observando con detenimiento el MDS se puede reconstruir la geografía de México, solo hay que imaginar un mapa de México y colocar este gráfico de distancias geográficas.

Aunque, más adelante se realizarán pruebas estadísticas para confirmar estos resultados, intuitivamente se observa que el MDS que expresa las distancias geográficas coincide, con el MDS que representa las distancias genéticas. En teoría la población maya debería, según la geografía, apartarse un poco más del resto de poblaciones pero no es así, todo lo contrario, está inmersa dentro de las poblaciones del centro de México. Esta apreciación sugiere que existe proporcionalmente más afinidad genética que geográfica entre estas poblaciones.

7.4.2.4.- TEST DE MANTEL: GEOGRAFÍA VS GENÉTICA

Al aplicar este tipo de prueba a la matriz de distancias genéticas y geográficas con 1,000 repeticiones, se demuestra que, de forma general, ambas matrices están correlacionadas significativamente con un valor de $r = 0.6369$ y una probabilidad asociada de $p=0.0020$. Dicho de otra manera, la estructura de ambas matrices es la misma.

7.4.2.5.- ANÁLISIS DISCRIMINANTE

Los datos se sometieron a una serie de pruebas discriminantes. Los análisis se realizaron para valorar qué clasificación lingüística propuesta por

diferentes autores se ajusta mejor a la información genética. Hasta ahora las agrupaciones de los grupos indígenas de México se han realizado según las lenguas, obviando otro tipo de información, como la genética. Los datos fueron:

León 1902: este autor clasifica las lenguas aborígenes de México en 17 familias. Ocho de las poblaciones incorporadas al estudio se clasificarían en tres de estos 17 troncos lingüísticos. Los resultados dan un valor de lambda de 0.002, lo que demuestra que el modelo está muy bien ajustado estadísticamente. Por otro lado la tasa de error aparente indica que la totalidad de las clasificaciones realizadas es correcta por lo que puede asegurar que, según este autor, la clasificación lingüística tiene una importante lógica genética. Además, la probabilidad de que los Mazahuas estén bien clasificados según su lengua, llamada por este autor Nahuatlana, es de 0.99 (Anexo VI). En la figura 10 se representa la distribución de las poblaciones basadas según su lengua. Se observa, claramente que se generan tres agrupaciones correspondientes a los tres troncos lingüísticos que *a priori* se agrupan correctamente. En esta clasificación, se aprecia que las poblaciones del norte Cochimi, Pai y Kiliwua forman un grupo separado del grupo del centro y del sur, formado por MixtecA, MixtecB y Huatla, Mazahua y Nahua.

Trager 1938: clasificó las familias lingüísticas de México en 3 grandes troncos subdivididos en 8 familias, de las cuales 9 poblaciones de estudio entran en cuatro de las familias lingüísticas. Los resultados que se obtuvieron reflejan que la probabilidad de que la población Mazahua pertenezca a la familia Azteca es de 0.99, además lambda tiene un valor de 0. Nuevamente la tasa de error aparente es de 0 (Anexo VII), lo que indica que en la clasificación de Trager la información genética se ajusta a la lingüística.

En la figura 11 se puede observar que hay una relación entre las poblaciones del norte Kiliwua, Pai y Cochimi con algunas de las poblaciones del Sur Mixtecos, Nahua y Mazahua. Las poblaciones Maya y Huautla son poblaciones del sur que se alejan un poco, pero siguen estando dentro de las poblaciones del sur.

Schmidt, 1926: Este autor propone 6 grandes grupos, de los que cuatro están representados genéticamente por nuestras poblaciones. En este caso λ tiene un valor de 0.002 pero la tasa de error aparente es del 9.09%, es decir, existe un error de clasificación.

Para este autor la población Mazahua se puede clasificar dentro del grupo Opata con una probabilidad de 0.922. El error de clasificación lo encontramos en la población de los Pai. Schmidt clasifica a este grupo como del tronco Opata cuando, según su estructura genética, tendría que clasificarse como Hoka con una probabilidad de 0.89. En la Anexo VIII, se muestra esta circunstancia en la que se puede observar cómo la población Pai se aleja del grupo clasificado como Opata para relacionarse más íntimamente con los grupos Hoka (Figura 12).

En la figura 12 se puede apreciar que las poblaciones del norte, Cochimi, Pai y Kiliwua se juntan con las poblaciones del sur Mazahua, Nahua, MixtecA y MixtecB, y estas alejadas de la población Huautla y Maya.

Manrique, 2002: Manrique propone una clasificación de 12 familias lingüísticas. Las 12 poblaciones que se han utilizado en este trabajo representan cinco de esos troncos lingüísticos. λ arroja un valor de 0.002 y el valor de la tasa de error aparente asciende a 16.67%. Dicho de otra forma, la clasificación lingüística de al menos dos poblaciones no concuerda con los datos genéticos.

Los resultados que se obtienen es que la población de interés se ajusta bien, con una probabilidad de 0.515 para la familia Oaxaqueña, aunque podría clasificarse como Otopameana con una probabilidad de 0.482, valor por otra parte relativamente elevado. Lo que indica que se encuentra al límite de significación. Las dos poblaciones reclasificadas en otro grupo lingüístico son los Nahuas clasificados como Oaxaqueñas con una probabilidad de 0.469 pero que deberían haberse clasificado como Otopamean con un probabilidad de 0.528, (Anexo IX). Los Pimas se encuentran en la misma circunstancia, clasificados *a priori* como Oaxaqueños, con una probabilidad de 0.121, deberían de encontrarse agrupados en la familia Hokana con una probabilidad muy elevada, 0.878. La figura 13 expresa perfectamente esta circunstancia, de hecho, la flecha indica la posición de aquellas poblaciones que están erróneamente clasificadas.

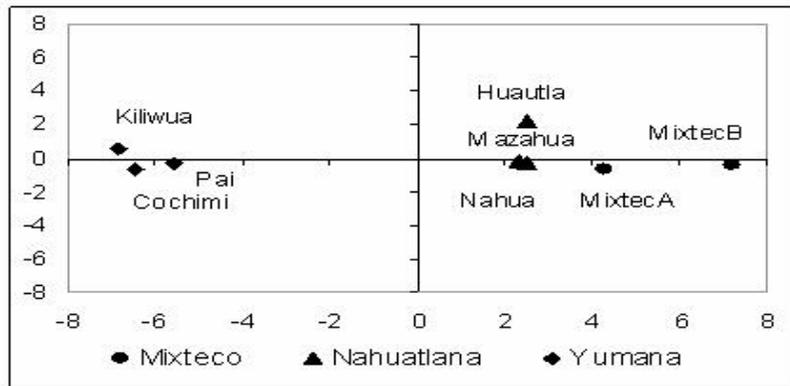


Figura 10. León (1902). El diagrama representa la dispersión de las 3 familias lingüísticas, *a priori* las poblaciones se agrupan bien. Los mazahuas se agrupan dentro de la familia lingüística Nahuatlana junto con los nahuas y huastecos (datos lingüísticos tomados de Vivo, 1960).

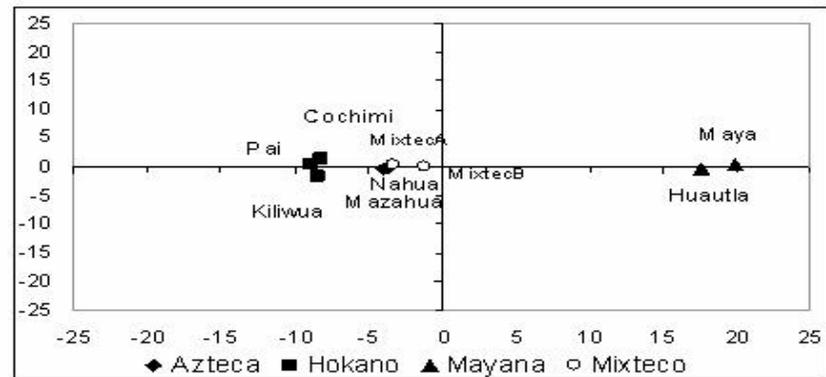


Figura 11. Trager (1938). El diagrama representa la dispersión de las 4 familias lingüísticas. Los mazahuas se agrupan en la familia Azteca junto con los nahuas (datos lingüísticos tomados de Vivo, 1960).

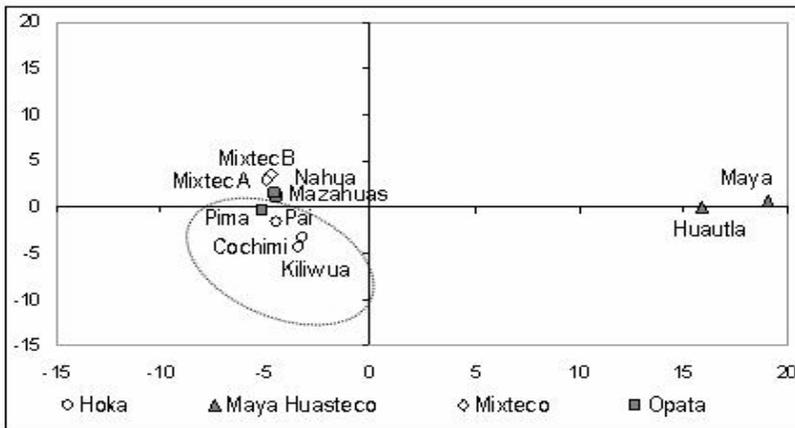


Figura 12. Schmidt (1926). El diagrama representa la distribución de 4 familias lingüísticas. Los mazahuas se agrupan dentro de la familia lingüística Opata junto con los nahuas y pimas. Los pimas según este resultado deberían de estar dentro de la familia Hoka (ver anexo VIII; datos lingüísticos tomados de Vivo, 1960).

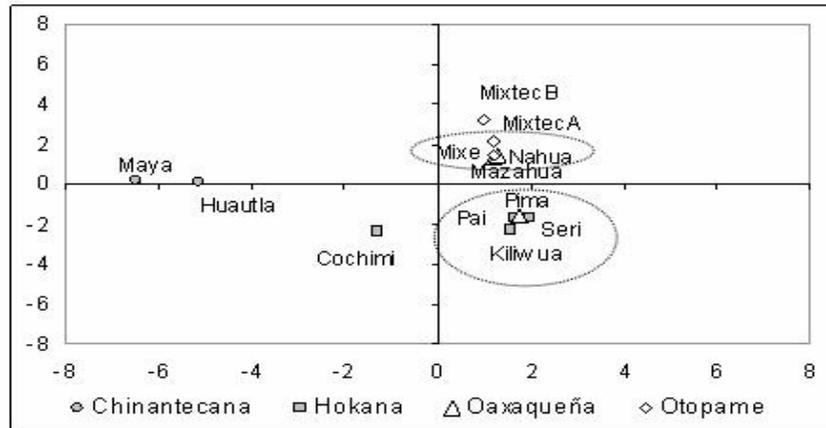


Figura 13. Manrique (2002). El diagrama representa la distribución de 4 familias lingüísticas. Los mazahuas se agrupan dentro de la familia Otopame junto con los nahuas. Este análisis a pesar de que la población mazahua se agrupa bien, existen dos poblaciones que se agrupan mal, los nahuas y pimas, los primeros a la familia Otopame y los pimas a la Hoka. (ver anexo IX; datos lingüísticos www.inegi.com.mx).

8.- DISCUSIÓN.

El presente trabajo se desarrolló mediante investigaciones basadas en el mtDNA, es decir, todas las interpretaciones se tienen que hacer dentro de la dinámica hereditaria de los ancestros femeninos ya que este tipo de material genético se hereda exclusivamente por vía materna (Stoneking, 1993). Por lo tanto, los resultados expuestos representarán únicamente una parte de la historia del pueblo Mazahua: la construida por las mujeres.

8.1.- INTRAPOBLACIONAL

Los resultados de las frecuencias de haplogrupos del mtDNA mostraron que prácticamente no existe mestizaje con grupos humanos procedentes de otros continentes ya que la totalidad de las muestras tenía uno de los cuatro haplogrupos amerindios (A, B, C, y D) descritos por Torroni *et al.*, (1993). Es decir, no se detectó ningún linaje procedente de Europa o del continente africano. De las 73 muestras analizadas un alto porcentaje pertenecía al haplogrupo A (60.27%) y al B (35.6%), y bajo porcentaje de C (0.41%). Estos resultados, dan una idea de cómo esta caracterizada la población, pero son insuficientes para hacer una proyección antropológica.

En primer lugar hay que señalar que las frecuencias de los haplogrupos de los Mazahuas corresponden, al modelo de distribución de los haplogrupos a escala continental. Básicamente se puede decir que el haplogrupo A presenta un gradiente decreciente norte-sur (Wallace, 1994; Lalueza *et al.*, 1997; Bonato y Salzano, 1997; Derbeneva *et al.*, 2002). Por otra parte los haplogrupos C y D presentan una distribución de gradiente inverso, con altos valores en el sur y bajos valores en el norte. Por último, el haplogrupo B se caracteriza por presentar una distribución más o menos uniforme a lo largo del

continente con una ausencia casi total en las regiones extremas, tanto en la región polar como en la ártica (Bailliet *et al.*, 1994; Bonato y Salzano, 1997). Bajo este modelo no son de extrañar las frecuencias encontradas en la población estudiada, de hecho, se ajustan a este modelo. En la latitud que se encuentra cabría esperar altos valores del haplogrupo A, relativamente elevados valores del B, y casi total ausencia del C y del D (Torrioni *et al.*, 1993).

Los valores de diversidad genética (h) encontrados en las comunidades de la población Mazahua son valores bajos lo en tres localidades (El Ejido, Miahuatlán y San Miguel ver tabla VI) en comparación con la de Milpillas. Pero el mejor nivel de diversidad se obtiene de la población en conjunto ($h = 0.51$ %) es un valor relativamente parecido al encontrado en la población Nahua ($h = 0.53$ %; Ripan *et al.*, 2003), lo que sugiere que se podría tratar de una misma población que se sufrió algún proceso de diferenciación. Sin embargo este valor de diversidad en la población Mazahua se considera bajo debido a factores como barreras culturales que limitan el flujo genético con otros grupos indígenas o mestizos (Nei, 1987).

También estos valores de diversidad genética sugieren que los haplogrupos A y B al poseer valores altos en sus frecuencias (Tabla VII), indican que son mutaciones que ya están dentro de la población y que el bajo valor de C indica que es la última mutación que se comenzó a incorporar a la población (Torrioni *et al.*, 1993). Dicha relación es debida a la relación de las frecuencias ya hay en cada haplogrupo, esto se puede apreciar en Anexo X, basada los datos de diversidad genética de Nei. Sin embargo la ausencia de una subestructura en la población Mazahua indica que existe una homogeneidad en cuanto a la distribución de los haplogrupos en el interior de la muestra utilizada. A falta de más investigaciones es lógico pensar que estos

resultados puedan extrapolarse a la población Mazahua: si no existe subestructura entre cuatro comunidades Mazahuas elegidas al azar, es posible que tampoco la exista a nivel del grupo indígena.

8.2.- ESTRUCTURA GENÉTICA INTERPOBLACIONAL.

El análisis intrapoblacional da una visión antropológica, para ello fue necesario analizar los resultados en el contexto de otras poblaciones para determinar la relación de distancias genéticas del grupo estudiado. Hay que señalar que en la actualidad se están llevando a cabo investigaciones sobre poblaciones indígenas, pero aún existe poca cantidad de poblaciones con las que podamos comparar nuestros resultados. Estas limitaciones van en detrimento de la calidad y profundidad de la interpretación. Pero aún a pesar de esto se consultó la bibliografía científica y se pudieron obtener los datos referentes a algunas poblaciones relativamente cercanas. Concretamente se pudo recopilar la información referente a once poblaciones indígenas distribuidas por la República Mexicana. Esto permitió realizar pruebas de estadística multivariada que permitieron postular algunas hipótesis sobre el pueblo Mazahua.

Los diversos análisis de distancias y estadísticos realizados muestran que las relaciones genéticas de los Mazahuas deberían buscarse con poblaciones Nahuas. Además, este es un aspecto interesante, no parecen tener una estrecha relación con grupos del norte, que proceden de poblaciones nómadas. De hecho, existe poca información sobre el origen de los Mazahuas, la poca información sugieren procede de un grupo Chichimeca que llegó al centro de México en el siglo XIII (Gómez, 1972). Si esta hipótesis es cierta debería detectarse una relación genética con grupos del norte del continente,

supuestamente descendientes de los antiguos Chichimecas. Pero esta circunstancia no se da, por lo que, desde el punto de vista genético, y de acuerdo con los análisis estadísticos esta hipótesis no es válida.

A pesar del parentesco de la población Mazahua con la Nahuatl, no es posible aventurar una hipótesis sobre esta realidad, ya que sólo se cuenta con poca información molecular, aunque lo más parsimonioso sería considerar hasta ahora que se trata de un pueblo Nahuatl que sufrió un proceso de diferenciación poblacional, debido a procesos de aislamiento geográfico y cultural, llegando a acumular diferencias y, como se demostró en esta trabajo de tesis, pequeñas variaciones genéticas que los identifican como población independiente. Por lo tanto, con la información que se tiene hasta el momento, lo más lícito es considerar que se trata de una población que formó parte de un ancestral grupo Nahuatl.

También se observa que al realizar estudios de distancias genéticas de todas las poblaciones, el mtDNA permite identificar una segregación genética norte – sur (García *et al.*, 2004).

Los estudios etnolingüísticos sugieren otra alternativa. Consideran a la lengua Mazahua como un grupo otomangué, de donde se deriva el tronco otomangué, al que pertenece la familia otomí-mazahua. Ésta, por lo tanto, se encontraría emparentada con la lengua otomí, pame, matlatzinca, pirinda, ocuilteca y chichimeca. En este trabajo se pudo demostrar que la asociación con lenguas chichimecas (nómadas del norte) es improbable aunque sería posible una relación genética con otros grupos como los Pame o los Otomíes. Desgraciadamente ninguno de estos dos grupos ha sido estudiado hasta el momento, por lo que dada la información disponible, sigue siendo más

plausible su relación genética con la población Nahua.

A pesar de tener grupos del norte, que se podrían llamar de filiación Chichimeca, éstos presentan una mayor heterogeneidad genética que los del centro y sur. Esta circunstancia se puede observar en los diferentes gráficos representados (ACP y MDS) donde las poblaciones del norte se distribuyen de una manera mucho más dispersa que las del centro y sur del país. Esta circunstancia revela que las poblaciones que integran la agrupación del norte son más heterogéneas. Explicar esta situación no es fácil aunque se pueden proponer algunas hipótesis. Por una parte los grupos del norte se han caracterizado, en gran parte de su historia, por ser grupos cazadores-recolectores, nómadas y distribuidos en extensas regiones geográficas (Hu-DeHart, 1995; Radding, 1995; Rodríguez, 1995;). Este modelo de subsistencia implicó una menor probabilidad de contacto comercial con otros pueblos (Valdés, 1995; Castro, 1996). Es sabido que las relaciones culturales son, *a priori*, un paso para la interrelación genética (Sokal *et al.*, 1981; Cavalli-Sforza y Feldman, 1981). Esta podría ser una explicación a esta alta heterogeneidad: el aislamiento genético relacionado con los mecanismos de subsistencia. Es un fenómeno sabido que en biología de poblaciones las poblaciones con pequeño tamaño maestral están más sometidas al efecto de la deriva genética (Hartl y Clark, 1997) además, esta es una fuerza que tiende a diversificar a las poblaciones, aunque actúa al azar.

Otra hipótesis válida, y complementaria, está relacionada con la anteriormente planteada. Los grupos de cazadores-recolectores, por su sistema de explotación e interacción con el medio, implican tamaños demográficos relativamente pequeños. Poblaciones pequeñas están sometidas de una manera más intensa al efecto de la deriva genética (Boyd y Silk, 2001).

Un ejemplo de particular interés, y que puede servir como referencia a falta de ejemplos más cercanos geográficamente a la población de estudio, lo encontramos en los grupos de cazadores-recolectores de la cuenca sur del continente americano. Concretamente en los Fueguinos, desgraciadamente ya extintos, y a través del DNA antiguo, se ha podido determinar que se trataba de grupos relativamente pequeños debido a su sistema de explotación (Hernández *et al.*, 1997) y que en ellos actuó de una forma muy importante la deriva genética (Lalueza, 1996; Lalueza *et al.*, 1997).

Estos dos modelos de subsistencia, cazadores-recolectores al norte, y agricultores-ganaderos en el centro y sur, se pueden apreciar observando los resultados genéticos en los que se detecta cierta discontinuidad, que coincidiría con la frontera chichimeca, entre las poblaciones del norte y del centro y sur.

Los análisis genéticos y estadísticos, expuestos en la presente tesis también demostraron que, al menos para las poblaciones estudiadas, se mantiene el modelo de aislamiento por distancia (Barbujani, 1987). Este modelo se fundamenta en la hipótesis, por otra parte cierta, que a mayor distancia geográfica menores afinidades genéticas. De hecho, lo que se observa en este planteamiento es una correlación positiva y significativa entre la distancia geográfica y la distancia genética. En el trabajo se demostró que a pesar de que algunas poblaciones no guardan una estricta relación genética con su posición geográfica, por ejemplo los Mixes, en contexto general el principio de aislamiento por distancia se cumple para las poblaciones de México.

Otro aspecto interesante que se pudo contrastar en este trabajo fue la filiación lingüística de los Mazahuas. De hecho, existe un gran número de

clasificaciones de familias de lenguas que han servido como modelo para posteriores estudios filogenéticos. Gracias a los adelantos en aplicaciones estadísticas se puede determinar cuál de estas clasificaciones se ajusta mejor a la genética. Sería de esperar, por principio, que la clasificación de lenguas reflejara una realidad genética. Se aplicaron diferentes pruebas consistentes en el análisis discriminante en función de cuatro clasificaciones lingüísticas tratadas tradicionalmente: León (1902), Trager (1938), Schmidt (1926) (citados por Vivó, en el año de 1960) y Manrique de 2002 (www.inegi.gob.mx). De todas ellas la que mejor se ajusta a la estructura genética de las poblaciones fueron la de León y Trager. En cierta manera las dos reflejan una misma lógica: los Mazahuas se aproximan a poblaciones Nahuas, tanto lingüísticamente como genéticamente. Las dos clasificaciones dan resultados confiables, aunque la de Trager presenta un λ ligeramente inferior por lo que, si se tuviera que seleccionar un modelo de clasificación lingüística, sin duda se elegiría ésta, asignándole a la lengua Mazahua la clasificación de Azteca y compartiendo el mismo tronco lingüístico con los Nahuas (Boyd y Silk, 2001).

Por último cabe mencionar que la información genética que se obtiene de la población Mazahua, presentada en esta tesis permite realizar algunas inferencias sobre las relaciones ancestrales y el hecho de que no se encontrara mestizaje, se debe a que el aporte al acervo genético mitocondrial amerindio por parte de otros grupos no amerindios es reciente (Rothhammer y Coke, 1983).

9.- CONCLUSIONES.

- La totalidad de las muestras de la población de estudio Mazahua presentan haplogrupos amerindios, A, B y C, siendo los más frecuentes A y B.
- No existe subestructura de la población para estos marcadores, como demuestra el análisis AMOVA.
- Los análisis de distancias genéticas y estadísticos multivariados sugieren una segregación genética norte – sur.
- Los resultados sugieren una filiación genética Nahua. Por falta de más información la hipótesis más plausible es que la población Mazahua pudo ser una escisión de una población de sustrato genético Nahua.
- De las clasificaciones lingüísticas que se han realizado a lo largo de la historia, y por diferentes autores, la que mejor se ajusta aún modelo genético es la de Strager. En esta clasificación, el autor asigna a los Mazahuas la familia lingüística Azteca relacionada con los grupos Nahuas.

10.- LITERATURA CITADA.

Almenara, B., J., García-Ortega, C., González-Caballero, J.L. y Abellán-Hervás, A. 2002. Creación de índices de gestión hospitalaria mediante análisis de componentes principales. *Sal. Púb. Méx.* 44:533-540.

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. y Young, I.G. 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature.* 290:457-470.

Bailliet, G., Rothhammer, F., Carnese, F.R., Bravi, C.M. y Bianchi, N.O. 1994. Founder mitochondrial haplotypes in Amerindian populations. *Am. J. Hum. Genet.* 55:27-33.

Barbujani, G. 1987. Autocorrelation of gene frequencies under isolations by distance. *Gent.* 117:777-782.

Bendall K.E., Macaulay V.A., Baker J.R. y Sykes B.C. 1996. Heteroplasmic point mutations in the human mt control region. *Am. J. Hum. Genet.* 59:1276-1287.

Benites, F. 1975. Viaje el centro de México. Ed. F.C.E. México. 55 pp.

Bonnato, S. y Salzano, M. 1997. Diversidad de los cuatro haplogrupos de ADNmt más importantes, y sus implicancias en el poblamiento del Nuevo Mundo. Departamento de genética, UFRGS, Brasil. 120-132.

Bowcock, A.M., Kidd, J.R., Mountain, J.L., Hebert, J.M., Carotenuta, L., Kidd, K.K. y Cavalli-Sforza. 1991. Drift, admixture, and selection in human evolution: a study with polymorphisms. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88:839-843.

Boyd, R. y Silk, J.B. 2001. *Cómo evolucionaron los Humanos.* Ariel Ed. Barcelona.

Brigitte, P. y Stoneking, M. 2005. Mitochondrial and Human evolution. *Annu. Rev. Genom. Human. Genet.* 6: 165-183.

Brown, W., George, M. y Wilson A.C. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76:1967-1971.

Cann, R.L., Stoneking, M. y Wilson, A.C. 1987a. Mitochondrial and human evolution. *Nature.* 325:31-36.

Cann, R.L., Stoneking, M. y Wilson, A.C. 1987b. Disputed African origin of human populations. *Nature.* 329:111-112.

Castro, F. 1996. *La rebelión de los indios y la paz de los españoles.* Historia de los pueblos Indígenas de México. Instituto Nacional Indigenista. México. 90pp.

Castro, L. y Toro, M.A. 2004. The evolution of culture: from primate social learning to human culture. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 6;101:10235-10240.

- Cavalli-Sforza., L.L. y Bodmer, W.F. 1981. *The Genetics of Human Populations*. W.H. Freeman and Co. Eds. San Francisco.
- Cavalli-Sforza., L.L. y Feldman, M. 1981. The applications of molecular genetic approaches to the study of human evolution. *Nat. Genet.* 33: 266-275.
- Cavalli-Sforza., L.L. y Edwards, A.W. 1967. Phylogenetic analysis. Models and estimation procedures. *Am. J. Hum. Genet.* 19:233-257.
- Derbeneva, O., Sukernik, R., Volodko, N., Hosseini, S., Lott, M. y Wallace, D. 2002. Analysis of mitochondrial diversity in the Aleuts of the Commander Islands and its implication for the genetic history of Beringia. *Am. J. Hum. Genet.* 71: 415-421.
- Ferrán, A.M. 2001. Análisis estadístico SPSS para Windows. Mc: Graw Hill. Interamericana de España. 407pp.
- García, F. Moraga, M. Vera, S. Ocampo, C y Aspillaga, E. 2004. Origen y microdiferenciación de la población humana del Archipiélago de Chiloé. *Revista Chilena de historia Natural.* 77:539-546.
- Gómez, M. 1972. Los Mazahuas del Estado de México. Ed. SEP-SETANTAS. México. 41 pp.
- Greenberg, J., Turner, C.G. y Zegura S.L. 1986. The settlement of the Americas: a comparison of the linguistic, dental and genetic evidence. *Curr. Anthr.* 4:477-497
- Greenberg, J. 1987. Language in the Americas. Stanford University Press, Palo Alto. 40 pp.
- Gunn, S. 2005. Translating Bourdieu: cultural capital and the English middle class in historical perspective. *Br. J. Sociol.* 56:49-64.
- Hartl, D. L. y Clark, A. G. 1997. Principles of population genetics. 3ra ed. Sinauer Associates, Sunderland. 105 pp.
- Hernández, M., Lalueza, C. F y Garcia, M. (1997). Fiegian cracial morphology: the adaptation to a cold, hars environment. *Am. J. Physic. Anthrop.* 103:103-117.
- Hernández, C. F. (2006 no publicada). Caracterizacion genetica de una muestra de la poblacion indígena de Huahutla, Hidalgo. Tesis. U.A.E.H. 58 pp.
- Hu- DeHart. 1995. *Adaptación y resistencia en el Yaquimi. Los Yaquis durante la colonia*. Historia de los pueblos Indígenas de México. Instituto Nacional Indigenista. México. 89pp.
- Ingman, M., Kaessmann, H., Paabo, S. y Gyllensten U. 2000. Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans. *Nature.* 408:708-713.
- Lalueza, F. 1996. Mitochondrial Haplogroups in Four Tribes from Tierra del Fuego-Patagonia: Inferences about the Peopling of the Americas. *Hum Biol.* 68:853-71.

- Lalueza.F., Bertranpetit. J., Alcover. J. y Shailer., 1997. Ancient mtDNA analysis in extincy aborigines from Tierra de Fuego . *Ancient Biomolecules*. 1:43-45.
- Lewin, R. 1994. Evolucion Humana. Ed. Salvat. Barcelona, España. 416pp.
- Lorenz, J, G y Smith, D.G. 1997. Distribution of sequence variations in the mtDNA control region of native North American. *Hum. Biol.* 69;749-776.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Can. Res.* 27:209-220.
- Malhi, R.S., Smith, D. G. y Schultz, B. 2002. Briet communication; haplogroup X confirmed in prehistoric north American. *Am. J. Phys. Anthropol.* 119;84-86.
- Martínez, C. J. 2002. El uso del ADN mitocondrial para descubrir las migraciones precolombinas al Caribe: Resultados para Puerto Rico y expectativas para la República Dominicana. *Revista de historia y antropología de los indigenas del Caribe*. 12 pp.
- Mendieta, 1945. Los Mazahuas. México, Ed. SEP/UPN. 15 pp.
- Merriwether, D.A., Clark, A.G., Ballinger, S.W., Schurr, T.G., Soodyall, H., Jenkins, T., Sherry, S.T. y Wallace, D.C. 1991. The structure of human mitochondrial variation. *J. Mol. Evol.* 33:543-555.
- Mina, J. y Verde, C. 2004. Detección de fallas usando análisis de componentes principales. Congreso de Control Automático. AMCA. 10pp.
- Monnat, R.J. y Loeb, L.A. 1985. Nucleotide sequence preservation of human mitochondrial DNA . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 82:2895-2899.
- Morten, K.J., Cooper, J.M., Brown, G.K., Lake, B.D., Pike, D. y Poulton J. 1993. A new point mutation associated with mitochondrial encephalomyopathy . *Hum. Mol. Genet.* 2:2081-2087.
- Mullis, K.B. y Faloona, F.A. 1987. Specific synthesis of in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.* 155:335-350.
- Page, R. 2001. *Taxonomy and Systematics at Glasgow*. Division of Environmental and Evolutionary Biology. Institute of Biomedical and Life Sciences. University of Glasgow, Scotland, UK. Treeview.
- Pakendorf, B. y Stoneking. 2005. Mitochondrial DNA and human evolution. *Ann. Rev. Genom. Hum. Genet.* 6:165-183.
- Pérez, M. 2001. Tesina. Elaboración de un manual de técnicas para el laboratorio de biología molecular del cuciénega. División de Ingeniería. Ocotlán, Jalisco. 75 pp.
- Radding, M. C. 1995. Entre el desierto y la sierra: las naciones *o'odham* y *teguüima* de Sonora. CIESAS-INI. México D.F. 1538-1840.

Richards, M., Corte-Real, H., Forster, P., Macaulay, V., Wilkinson-Herbots, H., Demaine, A., Papiha, S., Hedges, R., Bandelt, H.J. y Sykes, B. 1996. Paleolithic and neolithic lineages in the European mitochondrial gene pool. *Am. J. Hum. Genet.* 59:185-203.

Richter, C., Park, J.W. y Ames, B.N. 1988. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 85:6465-6467.

Ripan, S. Maihi., Mortensen, H. M., Eshleman, J. A., Kemp, B. M., Lorenz, J., Kaestle, F.A., Jonson, J. R y smith, D. G. 2003. Native american mtDNA Prehistory in the American Southwes. *Am. J. Physc. Anthropol.* 120:108-124.

Rodríguez, M. 1995. Historia de resistencia y exterminio. Los indios de Coahuila durante el siglo XIX. Historia de los pueblos Indígenas de México. Instituto Nacional Indigenista. México. 84pp.

Rothhammer, F y Coke, C. 1983. Flujo genético y deriva genética. Curso básico de genética humana. Ed. Universidad Santiago de Chile. VII. 265 pp.

Saitou, N. y Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4:406-425.

Salas, A., Richards, M., De la Fe, T., Lareu, M.V., Sobrino, B., Sanchez-Diz, P., Macaulay, V. y Carracedo, A. 2002. The making of the African mt landscape. *Am. J. Hum. Genet.* 71(5):1082-1111.

Sokal, R.R., Oden, N., y Wilson. 1981. Genetic evidence for the spread of agriculture in Europe by demic diffusion . *Nature.* 351: 143-145.

Solano, A., Playan, A., López-Pérez, M.J. y Montoya, J. 2001. Genetic diseases of the mitochondrial DNA in humans. *Salud Pública Mex.* 43:151-161.

Schurr, T.G., Ballinger, S.W., Gan, Y.Y., Merriwether, D.A., Lawrece, D.N., Knowler, W.C y Wallace, D.C. 1990. Amerindian mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies suggesting they derived from four primary maternal lineages. *Am. Hum. Genet.* 46:613-623.

Stern, D.B. y Newton, K.J. 1985. Mitochondrial gene expression in Cucurbitaceae: conserved and variable features. *Curr. Genet.* 9(5):395-404.

Stoneking, M. 1993. and recent human evolution. *Evolutionary Anthropology.* 2:60-70.

Stoneking, M., Bhata, K. y Wilson, A.C. 1986. Rate of sequence divergence estimated from restricción maps of mitochondrial DNAs. *Am. Anthropol.* 96:433-439.

Stringer, C. 1989. The origin of early modern humans: A comparison of the European and non-European evidence. En: *The human revolution: Behavioral and biological perspectives on the origins of modern humans.* Eds. Edinburgh. University Press, Edinburgh. 290 pp.

Torrioni, A., Schurr, T., Cabell, M.F., Brown, M.D., Neel, J.V., Larsen, M., Smith, D.G., Vullo, C.M. y Wallace, D.C. 1993. Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American. *Am. J. Hum. Genet.* 53:563-590.

Torrioni, A., Neel, J.V., Barrantes, R., Schurr, T. y Wallace, D.C. 1994. Mitochondrial DNA "clock" for the Amerinds and its implications for timing their entry into North America. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91:1158-1162.

Torrioni, A. y Wallace, D.C. 1995. mtDNA haplogroups in Native Americans. *Am. J. Hum. Genet.* 56:1234-1236.

Torrioni, A., Huoponen, K., Francalacci, P., Petrozzi, M., Morelli, L., Scozzari, R., Obinu, D., Savontaus, M.L. y Wallace, D.C. 1996. Classification of European mts from an analysis of three European populations. *Genet.* 144:1835-1850.

Torrioni, A., Bandelt, H.J., D'Urbano, L., Lahermo, P., Moral, P., Sellito, D., Rengo, C., Forster, P., Savontaus, M.L., Bonne-Tamir, B. y Scozzari, R. 1998. mt analysis reveals a major late Paleolithic population expansion from southwestern to northeastern Europe. *Am. J. Hum. Genet.* 62:1137-1152.

Tuimala, J. 2005. A primer to phylogenetic analysis using Phylip package. Fourth edition. CSC - Scientific Computing Ltd. pp 54.

Valdés. 1995. *La gente del mesquite. Los nómadas del noreste en la colonia.* Historia de los pueblos Indígenas de México. Instituto Nacional Indigenista. México.

Vivo, J. A. 1962. Razas y lenguas indígenas de México "su distribución geográfica". Contribución al Congreso Científico Americano, Sección de Antropología. Publicación numero 55. México. 120pp.

Wallace, D.C. 1994. Mitochondrial sequence variation in human evolution and disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91:8739-8746.

Wolpoff, M., Hawks, J. and Caspari R. 2000. Multiregional, not multiple origins. *Am. j. Phys. Anthropol.* 112:129-136.

Internet.

<http://www.cdi.gob.mx>
<http://www.inegi.gob.mx>
<http://www.ini.gob.mx>
<http://www.nceas.ucst.edu>
<http://www.mitomap.org>
<http://www.proel.org/mundo/uto.htm>

11.- ANEXOS.

Anexo I. Tabla de frecuencias de los haplogrupos, de las poblaciones que se utilizaron como base para los estudios genéticos y estadísticos.

POBLACIÓN	N	HAPLOGRUPOS				GEOGRAFIA	CITA
		A	B	C	D		
Cochimi	13	0,0770	0,4620	0,4260	0,0000	B. Sur	Lorenz y Smith, 1996
Huautla	100	0,7150	0,1440	0,0000	0,0160	Hidalgo	Hernandez, 2006 (no publicada)
Kiliwua	43	0,0000	10,000	0,0000	0,0000	B. Norte	Lorenz y Smith, 1997
Mayas	27	0,5560	0,2220	0,1480	0,0740	Yucatan	Schurr <i>et al.</i> , 1990
Mixe	16	0,6250	0,3130	0,0620	0,0000	Oaxaca	Torrioni <i>et al.</i> , 1994
MixtecA	15	0,7340	0,1330	0,1330	0,0000	Oaxaca	Torrioni <i>et al.</i> , 1994
MixtecB	14	0,9290	0,0710	0,0000	0,0000	Oaxaca	Torrioni <i>et al.</i> , 1994
Nahua	31	0,6130	0,3230	0,0650	0,0000	Puebla	Lorenz y Smith, 1997
Pai	27	0,0740	0,0667	0,2590	0,0000	B. Norte	Lorenz y Smith, 1997
Pima	30	0,0670	0,5000	0,4330	0,0000	Sonora	Torrioni <i>et al.</i> , 1993.
Seri	8	0,0000	0,1250	0,8750	0,0000	Mar Cortez.	Malhi <i>et al.</i> , 2002



Anexo II. Mapa de distribución de las poblaciones indígenas de México, que se utilizaron en el análisis genético y estadístico. Los puntos blancos indican los puntos que se utilizaron para tomar las distancias geográficas.

Anexo III. Matriz de distancias geográficas obtenida con el programa Arcview.

POBLACIÓN	Huautla	Mazahua	Nahua	Pima	Mixe	Pai	Cochimi	MixtecB	MixtecaA	Maya	Seri
Huautla											
Mazahua	214,70										
Nahua	495,24	192,16									
Pima	1449,17	1522,71	1698,82								
Mixe	574,36	619,99	371,15	2022,34							
Pai	1935,17	1947,52	2145,65	653,82	2515,86						
Cochimi	1566,57	1565,27	1750,02	615,31	2136,02	446,70					
MixtecB	488,62	387,10	217,51	1908,13	278,90	2330,40	1911,98				
MixtecaA	395,83	319,51	132,55	1831,40	280,00	2246,48	1861,94	95,26			
Maya	1005,63	1144,66	1033,56	2168,38	797,49	2775,66	2465,77	1072,67	1009,78		
Seri	1575,60	1593,97	1770,48	355,39	2153,90	405,24	312,96	1988,77	1922,50	2379,49	
Kiliwua	1784,84	1790,91	1974,74	572,71	2368,19	184,94	266,70	2164,61	2093,42	2640,37	297,72

Anexo IV. Información de las encuestas, nombre, edad, municipio de las personas que se tomo muestra. Por cuestiones morales, éticas y legales no se presentan los apellidos de las personas que voluntariamente participaron en el estudio. Solo 6 muestras fueron excluidas para la amplificación de mtDNA ya que tiene parentesco cercano con otras personas.

Nombre			Edad	Dialecto indígena	Localidad
Apellido paterno	Apellido Materno	ISRAEL	34	NO	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	JOSE RAMON	8	NO	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	LORENA *	20	SUS ABUELOS MATERNOS	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	GRISELDA	25	NO	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	OLIVIA	--	NO	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	MARIA DE JESUS	22	NO	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	ELIDA	11	FAMILIARES HABLAN MAZAHUA	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	DAVID	11	MAZAHUA	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	FERMIN	12	PROCEDENCIA MAZAHUA. LO HABLA	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	MARIA	66	NO	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	NICOLASA	36	SUS ANCESTROS SON DE MIAHUATLAN. HABLA MAZAHUA.	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	MAIRANI	9	LO HABLA Y LO ENTIENDE BIEN	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	JUAN	60	PROCEDEN DE MIAHUATRAN. HABLA Y ENTIENDE MAZAHUA.	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno		24	SI.	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	JULIO	47	PAPAS, HABLAN MAZAHUA	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	IMELDA	59	FAMILIARES HABLAN MAZAHUA, ELLA NO	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	ROSA ILDA	49	NO	EL EJIDO
Apellido paterno	Apellido Materno	VIRGINIA	55	ENTIENDE MAZAHUA. PAPA SI LO HABLAN	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	ODILON	19	SUS PADRES HABLAN MAZAHUA	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	LEONARDO	25	NO	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	ESTELA *	63	HABLA MAZAHUA POR LA LINEA MATERNA	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	DAVID	10	MAZAHUA LO ENTIENDE Y LO HABLA CON SU MAMA	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	MARCELA	28	SU MAMA HABLA MAZAHUA	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	ELODIA	33	NO	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	ROSA ISELA	37	NO	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	ISUEL *	13	ABUELOS PATERNOS Y MATERNOS HABLAN MAZAHUA	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	ESTHER	47	NO	EL EJIDO
Apellido Paterno	Apellido Materno	ESPERANSA *	41	ENTIENDE. PAPAS SI	MIAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	CRISTIAN	9	LA MAMA LO ENTIENDE, EL NO.	MIAHUATLAN HGO.

Apellido Paterno	Apellido Materno	AGUSTINA	70	HABLA POCO MAZAHUA	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno		33	NO	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	ANGELA *	25	SUS PAPAS HABLANB MAZAHUA	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	MAUNLIO	62	SI HABAL MAZAHUA	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	SILENIO	40	---	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	FEBRINIA	50	HABLA MEXICANO, NAHUALT	MAHUATLAN HGO.
Apellido paterno	Apellido Materno	OMAR	11	ABUELITA HABLA MAZAHUA	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	MACEDINIO	28	LO ENTIENDE	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	ABELARDO	5	NO	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	SENAIDO	41	ENTIENDE PERO NO LO HABLA. SUS PAPAS SI	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	OLIVIA	23	NO	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	LAURA *	26	NO	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	CONCEPCION	21	ABUELITA HABLA MAZAHUA	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno		70	HABLA MAZAHUA	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	GLADIS	18	PAPAS MAZAHUAS	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	MARIA LUISA	22	MAZAHUA	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	YASMIN	12	SU ABUELA HABLA MAZAHUA	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	BRANDON C.	5	NO	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	ARLETTE	13	ENTIENDE MAZAHUA, PERO SU ABUELA LO HABLA	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	ERMELINDO	42	ENTIENDE MAZAHUA	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	NORMA	15	PAPAS HABLAN MAZAHUA	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	RUTH	10	ABUELO HABLA MAZAHUA	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	VITALIA	73	HABLA MAZAHUA	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	ERIBERTO	16	LA MAMA LO ENTIENDE, EL NO.	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	PRICILA	53	NO	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno		25	ABUELOS HABLAN MAZAHUA	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	NICOLAS	39	SI HABILAMAZAHUA	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	ANA MARIA	21	ABUELITO HABLA MAZAHUA	MAHUATLAN HGO.
Apellido Paterno	Apellido Materno	CONSUELO	29	NO	MILPILLAS
Apellido Paterno	Apellido Materno	GUADALUPE	64	NO	MILPILLAS
Apellido Paterno	Apellido Materno	FAUSTO	68	NO	MILPILLAS
Apellido Paterno	Apellido Materno	GERARDO	7	FAMILIARES	MILPILLAS
Apellido Paterno	Apellido Materno	ENRIQUE	45	NO	MILPILLAS
Apellido Paterno	Apellido Materno	MA. CONSUELO	64	NO	MILPILLAS
Apellido Paterno	Apellido Materno	REYNA	25	NO	MILPILLAS
Apellido Paterno	Apellido Materno	MARCOS	47	NO	MILPILLAS
Apellido Paterno	Apellido Materno	JUAN OSCAR FRANCISCO	36	NO	SAN MIGUEL IXTAPAN
Apellido Paterno	Apellido Materno	MARIA SANTOS	54	NO	SAN MIGUEL IXTAPAN
Apellido Paterno	Apellido Materno	MARIA		NO	SAN MIGUEL IXTAPAN
Apellido Paterno	Apellido Materno	PEDRO	80	NO	SAN MIGUEL IXTAPAN
Apellido Paterno	Apellido Materno	NESTOR		NO	SAN MIGUEL IXTAPAN
Apellido Paterno	Apellido Materno	LAURA MARIA GUADALUPE	22	NO	SAN MIGUEL IXTAPAN
Apellido Paterno	Apellido Materno	LUCILA	40		SAN MIGUEL IXTAPAN
Apellido Paterno	Apellido Materno	LUCILA	16	NO	SAN MIGUEL IXTAPAN
Apellido Paterno	Apellido Materno	ROCIO	13		SAN MIGUEL IXTAPAN
Apellido Paterno	Apellido Materno	JORGE	45	NO	SAN MIGUEL IXTAPAN
Apellido Paterno	Apellido Materno	ESTEBAN MIGUEL	39	NO	SAN MIGUEL IXTAPAN
Apellido Paterno	Apellido Materno	ISURER	29		SAN MIGUEL IXTAPAN
Apellido Paterno	Apellido Materno	CLEMENTINA	38	NO	SAN MIGUEL IXTAPAN

Anexo V. Tabla de matriz de distancias genéticas de Nei, obtenidas con Phylip, en negrita se muestra la distancia genética menor y mayor.

POBLACIÓN	Huautla	Mazahua	Nahua	Pima	Mixe	Pai	Cochimi	MixtecB	MixtecA	Maya	Seri
Huautla											
Mazahua	0,0093										
Nahua	0,0063	0,0006									
Pima	0,2274	0,1711	0,1730								
Mixe	0,0052	0,0009	0,0001	0,1801							
Pai	0,2247	0,1519	0,1610	0,0195	0,1689						
Cochimi	0,2120	0,1611	0,1620	0,0006	0,1687	0,0236					
MixtecB	0,0225	0,0516	0,0447	0,4022	0,0409	0,4111	0,3784				
MixtecA	0,0074	0,0245	0,0178	0,2501	0,0159	0,2720	0,2320	0,0138			
Maya	0,0076	0,0123	0,0085	0,1536	0,0084	0,1666	0,1403	0,0488	0,0134		
Seri	0,4293	0,4114	0,3934	0,1061	0,3996	0,2271	0,0994	0,5923	0,3906	0,3057	
Kiliwua	0,3530	0,2421	0,2642	0,1241	0,2745	0,0441	0,1357	0,5904	0,4486	0,3092	0,5174

(a)

Observación	a priori	a posteriori	Prob. Mixteco	Prob. Nahuatlana	Prob. Yumana	F1	F2	Centroide (Mixteco)	Centroide (Nahuatlana)	Centroide (Yumana)
Huautla	Nahuatlana	Nahuatlana	0,000	1,000	0,00	2,50	2,20	19,10	3,33	83,29
Mazahuas	Nahuatlana	Nahuatlana	0,002	0,998	0,00	2,31	-0,24	12,38	0,88	74,25
Nahua	Nahuatlana	Nahuatlana	0,004	0,996	0,00	2,50	-0,34	10,91	0,88	77,41
Pai	Yumana	Yumana	0,000	0,000	1,00	-5,60	-0,34	132,31	68,13	3,28
Cochimi	Yumana	Yumana	0,000	0,000	1,00	-6,44	-0,68	152,43	83,38	3,33
MixtecB	Mixteco	Mixteco	1,000	0,000	0,00	7,23	-0,48	2,50	24,38	183,19
MixtecA	Mixteco	Mixteco	0,748	0,252	0,00	4,33	-0,69	2,50	5,49	113,48
Kiliwua	Yumana	Yumana	0,000	0,000	1,00	-6,82	0,57	162,68	88,26	3,30

(b)

Lambda	0,018
F (valor observado)	3,214
F (valor crítico)	6,260
GDL 1	8
GDL 2	4
p-value unilateral	0,137
Alpha	0,05

Prueba del Lambda de Wilks:

(c)

	a Mixteco	a Nahuatlana	a Yumana	Suma
de Mixteco	2 25,00%	0 0,00%	0 0,00%	2 25,00%
de Nahuatlana	0 0,00%	3 37,50%	0 0,00%	3 37,50%
de Yumana	0 0,00%	0 0,00%	3 37,50%	3 37,50%
Suma	2 25,00%	3 37,50%	3 37,50%	8 100,00%

Tasa de error aparente (tasa de resustitución en los datos de aprendizaje): 0,00 %

Anexo VI. Resultados del MDS para la clasificación de León. En la tabla (a) se observa la clasificación a priori que propone el autor para las poblaciones de México analizadas en este trabajo y las tablas (b y c) son dos de los estimadores para este tipo de estadístico. La clasificación propuesta para este autor esta bien.

(a)

Observación	a priori	a posteriori	Prob. Azteca	Prob. Hokano	Prob. Mayana	Prob. Mixteco	F1	F2	Centroide (Azteca)	Centroide (Hokano)	Centroide (Mayana)	Centroide (Mixteco)
Huautla	Mayana	Mayana	0,0000	0,0000	1,0000	0,0000	17,686	-1,137	482,106	696,019	2,500	444,692
Mazahuas	Azteca	Azteca	0,9979	0,0000	0,0000	0,0021	-3,849	2,716	0,043	74,250	532,823	12,379
Nahua	Azteca	Azteca	0,9957	0,0000	0,0000	0,0043	-3,927	2,985	0,043	77,408	538,788	10,910
Pai	Hokano	Hokano	0,0000	1,0000	0,0000	0,0000	-8,928	-3,457	67,296	3,283	772,609	132,309
Cochimi	Hokano	Hokano	0,0000	1,0000	0,0000	0,0000	-8,150	-4,915	82,548	3,331	738,383	152,433
MixtecB	Mixteco	Mixteco	0,0000	0,0000	0,0000	1,0000	-1,152	6,832	23,550	183,187	472,230	2,500
MixtecA	Mixteco	Mixteco	0,2541	0,0000	0,0000	0,7459	-3,269	4,731	4,653	113,482	529,466	2,500
Kiliwua	Hokano	Hokano	0,0000	1,0000	0,0000	0,0000	-8,294	-5,284	87,429	3,301	747,950	162,677
Maya	Mayana	Mayana	0,0000	0,0000	1,0000	0,0000	19,883	-2,472	594,420	808,333	2,500	557,006

(b)

Lambda	0,000
F (valor observado)	13,154
F (valor critico)	4,056
GDL 1	12
GDL 2	6
p-value unilateral	0,002
Alpha	0,05

Prueba del Lambda de Wilks:

(c)	a Azteca	a Hokano	a Mayana	a Mixteco	Suma
de Azteca	2 22,22%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	2 22,22%
de Hokano	0 0,00%	3 33,33%	0 0,00%	0 0,00%	3 33,33%
de Mayana	0 0,00%	0 0,00%	2 22,22%	0 0,00%	2 22,22%
de Mixteco	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	2 22,22%	2 22,22%
Suma	2 22,22%	3 33,33%	2 22,22%	2 22,22%	9 100,00%

Tasa de error aparente (tasa de resustitución en los datos de aprendizaje): 0,00 %

Anexo VII. Resultados del MDS para la clasificación de Trager. En la tabla (a) se observa la clasificación a priori que propone el autor para las poblaciones de México analizadas en este trabajo y las tablas (b y c) son dos de los estimadores para este tipo de estadístico. Para el autor su clasificación esta bien.

(a)

Observación	a priori	a posteriori	Prob. Hoka	Prob. Maya Huasteco	Prob. Mixteco	Prob. Opata	Centroide (Hoka)	Centroide (Maya Huasteco)	Centroide (Mixteco)	Centroide (Opata)
Seri	Hoka	Hoka	0,900	0,000	0,000	0,100	4,680	518,197	22,908	8,495
Huautla	Maya Huasteco	Maya Huasteco	0,000	1,000	0,000	0,000	427,786	3,500	398,408	411,078
Mazahuas	Opata	Opata	0,006	0,000	0,253	0,742	11,362	478,305	2,325	0,984
Nahua	Opata	Opata	0,004	0,000	0,303	0,693	12,044	479,041	1,962	1,123
Pima	Opata	Hoka	0,880	0,000	0,000	0,120	0,766	507,536	19,370	4,183
Pai	Hoka	Hoka	0,899	0,000	0,000	0,101	0,779	506,270	20,669	4,586
Cochimi	Hoka	Hoka	0,993	0,000	0,000	0,007	5,247	488,279	31,162	14,699
MixtecB	Mixteco	Mixteco	0,000	0,000	0,977	0,023	28,078	471,685	0,305	8,644
MixtecA	Mixteco	Mixteco	0,000	0,000	0,771	0,229	17,928	475,982	0,305	3,545
Maya	Maya Huasteco	Maya Huasteco	0,000	1,000	0,000	0,000	585,025	3,500	555,648	568,317
Kiliwua	Hoka	Hoka	0,975	0,000	0,000	0,025	3,394	512,976	30,153	10,162

En negrita, observación reclasificada

(b)

Lambda	0,002
F (valor observado)	9,706
F (valor crítico)	2,793
GDL 1	12
GDL 2	11
p-value unilateral	0,000
Alpha	0,05

Prueba del Lambda de Wilks:

(c)	a Hoka	a Maya Huasteco	Suma
de Hoka	4 36,36%	0 0,00%	4 36,36%
de Maya Huasteco	0 0,00%	2 18,18%	2 18,18%
de Mixteco	0 0,00%	0 0,00%	2 18,18%
de Opata	1 9,09%	0 0,00%	3 27,27%
Suma	5 45,45%	2 18,18%	11 100,00%

Anexo VIII. La tabla (a) indica que la clasificación a priori de Schmidt, no concuerda con la obtenida en el MDS, puesto que hay un error de 9,09% (c). El error de clasificación esta en la población Pima.

(a)

Observación	a priori	a posteriori	Prob. Chinantecana	Prob. Hokana	Prob. Oaxaqueña	Prob. Otopame
Huautla	Chinantecana	Chinantecana	1,000	0,000	0,000	0,000
Mazahuas	Oaxaqueña	Oaxaqueña	0,000	0,004	0,515	0,482
Nahua	Oaxaqueña	Otopame	0,000	0,003	0,469	0,528
Pima	Oaxaqueña	Hokana	0,000	0,878	0,121	0,000
Mixe	Otopame	Otopame	0,000	0,002	0,439	0,559
Pai	Hokana	Hokana	0,000	0,890	0,110	0,000
Cochimi	Hokana	Hokana	0,000	0,995	0,005	0,000
MixtecB	Otopame	Otopame	0,000	0,000	0,022	0,978
MixtecA	Otopame	Otopame	0,000	0,000	0,155	0,845
Maya	Chinantecana	Chinantecana	1,000	0,000	0,000	0,000
Seri	Hokana	Hokana	0,000	0,915	0,085	0,000
Kiliwua	Hokana	Hokana	0,000	0,968	0,032	0,000

En negrita, observación reclasificada

(b)

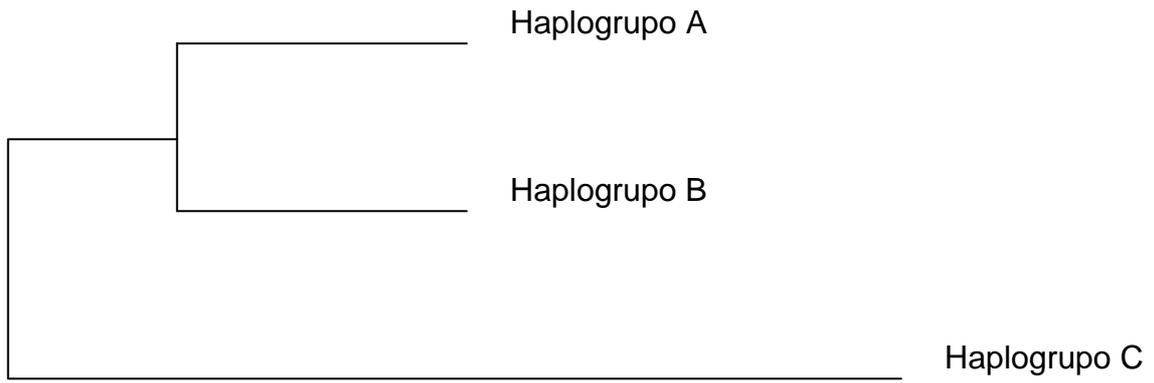
Lambda	0,017
F (valor observado)	4,231
F (valor crítico)	2,536
GDL 1	12
GDL 2	14
p-value unilateral	0,006
Alpha	0,05

Prueba del Lambda de Wilks:

(c)	a Chinantecana	a Hokana	a Oaxaqueña
de Chinantecana	2 16,67%	0 0,00%	0 0,00%
de Hokana	0 0,00%	4 33,33%	0 0,00%
de Oaxaqueña	0 0,00%	1 8,33%	1 8,33%
de Otopame	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%
Suma	2 16,67%	5 41,67%	1 8,33%

Tasa de error aparente (tasa de resustitución en los datos de aprendizaje): 16,67 %

Anexo IX. En la tabla (a) se aprecia que la clasificación de Manrique no se ajusta de forma adecuada a los resultados del MDS, hay dos reclasificaciones señaladas en negrita y una tasa de error de clasificación de 16,67 % (c).



Anexo X. Relación de los haplogrupos A, B y C, basados en diversidad genética obtenida mediante Popgene. Se aprecia que el haplogrupo A y B son más parecidos que C.