

Antropología molecular y análisis del ADN mitocondrial en poblaciones nahuas del Altiplano de México

Angélica González Oliver* / Ernesto Garfias Morales* / Víctor Hugo Avilés Chávez* / Aurora Millán Sierra* / Héctor Alessandro López Hernández*

ISSN: 2007-6851

p. 8-p. 25

Fecha de recepción del artículo: junio de 2018

Fecha de publicación: diciembre de 2018

Título del artículo en inglés: *Molecular Anthropology and the Analysis of Mitochondrial DNA from Nahua Populations from Central Mexico*

Resumen

Estudio que identifica las frecuencias de los haplogrupos del ADN mitocondrial en poblaciones nahuas de los estados de Hidalgo, Puebla y San Luis Potosí. Los resultados obtenidos se compararon con los obtenidos de otras poblaciones del mismo grupo. En las poblaciones nahuas el haplogrupo A presenta la mayor frecuencia en un rango de 46 a 74%; el menos frecuente es el haplogrupo D, que muestra frecuencias bajas de 2 a 17%. Las poblaciones nahuas actuales y antiguas no muestran un patrón claro de distribución de las frecuencias de los cuatro haplogrupos mitocondriales, contrariamente a lo observado para otras poblaciones de origen mesoamericano como las mayas (A, C, B y D, con base en su frecuencia decreciente). En términos generales, los resultados muestran diferencias genéticas significativas entre las poblaciones, especialmente al comparar a los nahuas de Veracruz entre sí y con otras poblaciones de ese mismo grupo, lo que podría deberse a la historia regional de los grupos y su origen. Además, las poblaciones nahuas modernas de la misma región geográfica no siempre muestran relaciones genéticas cercanas; por ejemplo, las dos poblaciones nahuas de la Ciudad de México o las dos poblaciones de Puebla y las de Hidalgo. Por otra parte, cuatro poblaciones nahuas modernas de distintas regiones geográficas muestran una cercanía genética que podría deberse a la presencia de un flujo génico continuo entre ellas. Otras tres poblaciones, dos antiguas, como los aztecas de Tlatelolco y nahuas de Tlaxcala, así como los nahuas modernos de la Sierra Norte de Puebla estudiados aquí, muestran similitudes genéticas que podrían deberse a un origen común.

Palabras clave: haplogrupos mitocondriales, ADN mitocondrial, poblaciones nahuas modernas, nahuas antiguos.

Abstract

This study identifies the mitochondrial haplogroup frequencies, A, B, C and D, in present-day Nahua inhabiting the states of Hidalgo, Puebla, and San Luis Potosí. The results obtained were compared with those of other Nahua populations cited in the literature. In Nahua populations haplogroup A shows the highest frequency with a range of 46 to 74%, haplogroup D is the least frequent, with low frequencies from 2 to 17%. The present and ancient Nahua populations do not show a clear distribution pattern of mitochondrial haplogroup frequencies, in contrast to what has been observed in other populations of Mesoamerican origin, as the Maya (A, C, B and D, based on their decreasing frequency). In general, the results show significant genetic differences between the populations, especially the present-day Nahua of Veracruz compared within itself and with other Nahua populations, which could be the result of regional history and origin. Also, other modern Nahua populations from the same geographical region do not always show close genetic relations, such as the two Nahua populations from Mexico City, or those from Puebla and Hidalgo. In turn, four modern Nahua populations from different geographic regions show a genetic similarity that could be due to the presence of a continuous gene flow between them. Three other populations, the ancient Aztec from Mexico City, the ancient Nahua from Tlaxcala and the modern Nahua from the Puebla Sierra Norte studied here also show a close genetic relation that could be owed to a common origin.

Keywords: mitochondrial haplogroups, mitochondrial DNA, modern Nahua populations, ancient Nahua.

* Departamento de Biología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México (goliver@unam.mx; egarfias@ciencias.unam.mx; victor_hach@ciencias.unam.mx, aurorabio@ciencias.unam.mx, alessandro@ciencias.unam.mx).

La antropología biológica permite identificar y explicar la variación genética de *Homo sapiens* utilizando varias ciencias auxiliares que pertenecen a dos campos, el de las humanidades y el de las ciencias experimentales (González-Martín, 2006). En estas últimas, la genética, medicina, biología molecular, antropología, antropología molecular y, de manera más reciente, la genómica, han abierto nuevas posibilidades para estudiar el origen y evolución del hombre, entre otros temas. La biología molecular no es sólo una tecnología, sino una disciplina que involucra el estudio de la estructura genómica y la función. Cuando el conocimiento de esta disciplina se integra con el de la antropología permite un conocimiento profundo sobre el enfoque molecular de la evolución y diversidad humana, y el de los primates no humanos (Pääbo, 1993). Algunos de los primeros métodos moleculares, por ejemplo, las técnicas inmunológicas, fueron utilizados para estudiar a las proteínas desde una perspectiva evolutiva (Goodman, 1964; Zuckerkandl, 1964). Los primeros intentos para entender el desarrollo evolutivo de los humanos fueron a través del uso de marcadores proteicos, como las hemoglobinas (Zuckerkandl *et al.* 1960) y las proteínas del suero (Goodman, 1964). Estos trabajos fueron pioneros en utilizar las herramientas moleculares en las disciplinas de la antropología y de la evolución.

Los polimorfismos genéticos, es decir, la presencia de más de un alelo de un gen en una población, han sido ampliamente analizados en las poblaciones humanas. Los polimorfismos de los grupos sanguíneos, de antígenos de linfocitos humanos, de inmunoglobulinas, de proteínas y de ácido desoxirribonucleico (ADN), son utilizados como marcadores genéticos para medir y entender la variación genética en las poblaciones. Existen métodos directos e indirectos para reconocer los polimorfismos biológicos en los humanos. Los indirectos se relacionan con el análisis de características fenotípicas, mientras que los directos se basan en el estudio del genotipo, es decir del ADN (Cavalli-Sforza, 1994). Algunos avances metodológicos permitieron que el ADN se analizara más fácilmente, como el método de secuenciación del ADN por terminación de cadenas, propuesto por Frederick Sanger a finales de los setenta. Por otro lado, a principios de los ochenta, el desarrollo de las técnicas de ADN recombinante también permitió analizar de manera sencilla y rápida los polimorfismos del ADN, principalmente empleando dos métodos, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR del inglés *Polymerase Chain Reaction*) con el cual se amplifican segmentos específicos de ADN, y el análisis de restricción que utiliza endonucleasas que reconocen secuencias cortas específicas (Cavalli-Sforza, 1994; Pääbo *et al.* 1989). También se descubrió que el ADN antiguo sobrevivía en los restos humanos provenientes de sitios arqueológicos, ya que se podía recuperar y, por lo tanto, hacía posible estudiar la genética original de los individuos antiguos (Pääbo, 1985).

En los años noventa estas metodologías aceleraron el conocimiento de la variación genética del ADN en las poblaciones humanas modernas y antiguas, lo que permitió abordar distintas problemáticas como el origen del hombre y su dispersión fuera de África, el poblamiento americano y mezclas génicas entre las poblaciones, entre otras. Con el método de secuenciación automatizada se

inició el Proyecto Genoma Humano en 1998, y en el 2001 se presentó el primer bosquejo de nuestro genoma, donde se identificaron alrededor de 23 000 genes humanos, algunos asociados con enfermedades, lo que cobró importancia en el área de la medicina (Dopazo, 2009).

Los avances de las técnicas de hibridación de ácidos nucleicos permitieron generar unas pequeñas placas de vidrio o *chips* que contienen muchos genes del genoma humano o incluso de ratón o mosca; éstos se utilizan ampliamente para analizar la expresión de genes, para la detección de mutaciones de un solo nucleótido en las poblaciones, etc. (Dopazo, 2009). A principios del año 2000, el avance en las tecnologías de las plataformas de secuenciación de nueva generación (NGS del inglés *next generation sequencing*) hizo posible la secuenciación masiva de segunda generación que permitió el análisis de varios genes en paralelo, así como la secuenciación del genoma mitocondrial y del genoma nuclear humano completo en un tiempo corto, aunque a un costo más elevado que el de la secuenciación automatizada tipo Sanger (Rodríguez-Santiago *et al.* 2012). Con lo anterior se abrió la posibilidad de estudiar la expresión de genes, redes de regulación, rutas metabólicas, así como secuenciar el genoma de otros organismos como el del chimpancé, nuestro pariente primate más cercano, cuya primera versión se publicó en 2005. De esta manera se hizo posible la comparación de genes entre especies de mamíferos y con otras especies, lo que llevó al surgimiento de la genómica, es decir, el análisis comparativo de miles de genes, y al nacimiento de la filogenómica, que implica la comparación de secuencias de genomas de diferentes organismos. Las nuevas tecnologías generaban millones de datos que requirieron de soportes estadísticos más complejos, como algoritmos informáticos y modelos probabilísticos para analizarlos (Dopazo, 2009; Rodríguez-Santiago *et al.* 2012). Los secuenciadores de tercera generación hoy proporcionan más información, en menor tiempo y costo (Liu *et al.*, 2012; Rodríguez-Santiago *et al.*, 2012), y la revolución tecnológica permite el análisis masivo de genes en paralelo que interactúan en redes muy complejas y dependen de variables múltiples; este análisis ayuda a responder preguntas de antaño por medio de una gran diversidad de respuestas que generan conocimiento nuevo.

Quizá el mayor reto del siglo XXI será realizar una interpretación eficiente y fiable que permita comprender toda la información que se genera (Dopazo, 2009), así como entender esta nueva visión de cómo se está realizando la ciencia. El uso de estas tecnologías requiere de una importante infraestructura económica, la cual hoy en día es más difícil de subsidiar en los países latinoamericanos, y que podría complicarse más con la política económica de los Estados Unidos de América. Sin embargo, estas nuevas plataformas de secuenciación se están comercializando cada vez más, por lo que los costos de operación están disminuyendo, así es que en un futuro cercano serán accesibles para más grupos de investigación; pero mientras eso sucede, es importante enfatizar que los métodos tradicionales de la antropología molecular generan conocimiento preciso con experimentaciones cortas, que al menos hoy son menos costosas que el de las actuales plataformas de secuenciación de nueva generación, y que se utilizan para explorar las mismas pro-

blemáticas principales, por ejemplo identificar las diferencias genéticas entre las poblaciones indígenas de origen mesoamericano.

En la Escuela Americana, la antropología molecular es una subdisciplina de la antropología biológica, la cual es definida por Mark Stoneking como “el uso de técnicas de genética molecular para abordar cuestiones que interesan a los antropólogos, concernientes con la evolución y diversidad humana” (Stoneking, 1997: 87). La línea de investigación de antropología molecular, con énfasis en el estudio genético del ADN antiguo de poblaciones indígenas en México, se inició a principios de los noventa, con los grupos de investigación del Instituto de Investigaciones Antropológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), el grupo del Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav-IPN), y de la Facultad de Ciencias de la UNAM. Casi diez años después el grupo del Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (Langebio / Cinvestav-IPN) empezó a desarrollar esta línea de investigación, y después de dos décadas del comienzo de la antropología molecular se iniciaron los estudios genómicos del ADN antiguo en el Laboratorio Internacional de Investigación sobre el Genoma Humano de la UNAM con las plataformas de secuenciación de nueva generación. Por otra parte, los estudios genéticos del ADN actual de poblaciones indígenas se iniciaron en los ochenta en el área médica y no necesariamente desarrollando la línea de antropología molecular, como sucedió más tarde en el Centro Universitario de la Ciénega de la Universidad de Guadalajara. Hasta la fecha varios grupos de investigación de distintas instituciones analizan la genética humana desde la perspectiva de la antropología molecular y/o la genómica, entre otros enfoques.

En el presente trabajo, a partir de métodos clásicos de la antropología molecular, se analizaron los haplogrupos fundadores del ADN mitocondrial en poblaciones nahuas que habitan en el Altiplano de México, con la finalidad de identificar sus relaciones genéticas.

Antecedentes culturales de las poblaciones nahuas

El grupo nahua es el más numeroso de México con 1 727 571 hablantes, y sus miembros viven en al menos 12 diferentes estados del país. En la zona centro habitan en los estados de Hidalgo donde existen 177 902 hablantes, en Puebla hay 397 207 y en San Luis Potosí 127 329, entre otras entidades (INEGI, 2010). La actual región de la Sierra Norte de Puebla está habitada mayoritariamente por nahuas, y tiene el mayor número de hablantes de náhuatl a nivel nacional. La época en que fue habitada esta región por vez primera no es del todo clara; sin embargo, se piensa que antiguamente fue un corredor cultural entre la costa del Golfo y el Altiplano (Noguez, 2014). Por otra parte, en la región Huasteca los nahuas son el segundo grupo predominante después de los tenek; esta región se ubica en el noreste de México, abarca zonas del norte de Veracruz, el oriente de Hidalgo y San Luis Potosí, y el sur de Tamaulipas. Los nahuas habitan en las regiones del centro de la Huasteca en los estados de San Luis Potosí e Hidalgo (Cabrera, 2002).

La lengua náhuatl se clasifica dentro de la familia lingüística yuto-azteca, que es una de las familias con mayor número de hablantes y extensión geográfica, y se divide en dos ramas: la yuto-azteca del norte, que incluye la región cultural del suroeste americano, mientras la yuto-azteca del sur abarca la región cultural de Mesoamérica y algunas poblaciones del suroeste americano; esta última rama incluye el grupo corachol-azteca al que pertenece la lengua náhuatl (Campbell, 1997: 107). El náhuatl funcionaba como una lengua franca en el centro de México cuando inició el contacto español (Fagan, 1984: 322); muchos grupos indígenas antiguos hablaban náhuatl, lo cual no implica una relación genética entre ellos.

La economía de los nahuas se basa en la agricultura, principalmente del maíz, frijol, calabaza y chile para el consumo familiar. En la Sierra de Puebla, Morelos, San Luis Potosí e Hidalgo también se desarrollan cultivos de tipo comercial como café, arroz y caña de azúcar. Además, se dedican a la siembra de maguey para obtener pulque, utilizan la fibra de éste para tejer, las pencas para la construcción y la pulpa para hacer papel. Los pueblos nahuas están organizados en familias nucleares, y en situaciones especiales forman familias extensas. En estos pueblos existe un agente o ayudante municipal propio de la comunidad que establece comunicación con las autoridades del municipio. En pueblos tradicionales los ancianos aún tienen un papel preponderante en la solución de problemas (Scheffler, 1992: 153).

La historia de la región mesoamericana estuvo en cierta medida influida por grupos de origen nahua. Desde mediados del siglo XII d. C. fueron llegando grupos al Valle de México para asentarse, los cuales posteriormente se mezclaron con grupos nómadas que llegaron del norte, algunos de ellos de lengua náhuatl, y éstos fundaron ciudades como Coatlinchan, Texcoco y Coyoacán, e interactuaron con poblaciones más antiguas como Azcapotzalco, Culhuacán, Chalco, Xochimilco, etc. A mediados del siglo XIII hizo su aparición el último grupo nómada del norte, los aztecas o mexicas (León-Portilla, 1961), quienes más tarde fundaron el imperio azteca. Los códices refieren el origen de los aztecas en una tierra al norte llamada Aztlán (Townsend, 1992). Otra fuente histórica menciona que siete tribus de una misma nación arribaron después de los chichimecas a las tierras del Valle de México o a sus inmediaciones. Estas tribus fueron las de los xochimilcas, chalcas, tepanecas, colhuas, tlahuicas, tlaxcaltecas y mexicanos. El origen de estas tribus fue la misma provincia de Aztlán. Todas hablaban la misma lengua. Los diferentes nombres con que se conocen derivan de las ciudades que fundaron o del lugar donde se establecieron. Los xochimilcas tomaron el nombre de la gran ciudad de Xochimilco; los chalcas de la ciudad de Chalco; los colhuas de la ciudad de Colhuacán; los mexicanos de México; los tlaxcaltecas de Tlaxcala; los tlahuicas de Tlahuicán; los tepanecas fundaron la ciudad de Azcapotzalco y tomaron el nombre de Tepan (Clavijero, 2003). Estas tribus no llegaron juntas al Anáhuac sino en diverso tiempo. Los mexicanos o aztecas encontraron deshabitado uno de los islotes del Lago de Texcoco, y ahí fundaron Tenochtitlán entre 1325 y 1345; también fundaron Tlatelolco en 1337 o quizá antes, iniciándose el nacimiento del gran imperio azteca (Matos, 1989). Desde el periodo Preclásico la Sierra Norte de Puebla funcionó

como zona de enlace para la migración de grupos poblacionales del Pacífico al Altiplano. La Sierra Norte era parte de la región conocida como Totonacapan y abarcaba gran parte de lo que hoy es el estado de Veracruz (entre los ríos Cazones y Huitilapan), y la Sierra Norte de lo que hoy es el estado de Puebla. La lengua franca del Totonacapan era el totonaco; sin embargo, debido a su flujo comercial varios de sus habitantes conocían otras lenguas como el náhuatl (García Martínez, 1987). Tras el dominio del imperio azteca la influencia de esta última lengua en la región del centro de México y en otras culturas es indiscutible. Es probable que se haya expandido aún más tras la Conquista, ya que muchos frailes franciscanos que pretendían evangelizar aprendieron y usaron el náhuatl como lengua franca para hacer más fácil el proceso de evangelización (Schwaller, 2012). Además, después de la derrota de los aztecas, los españoles reorganizaron a la población indígena en la tierra recién conquistada. Algunas veces los asentamientos de la gente indígena incluían poblaciones no relacionadas para conformar una nueva comunidad (Gibson, 1964), lo que promovió la introducción del náhuatl en regiones que no eran propiamente de ancestría nahua.

ADN mitocondrial y las poblaciones indígenas de origen mesoamericano

El genoma mitocondrial se hereda por vía materna y no sufre recombinación genética durante la meiosis, por lo que se convierte en la herramienta ideal para analizar ancestría materna. La alta tasa de mutación en la región control del ADN mitocondrial permite distinguir poblaciones que tienen una historia de desarrollo en un periodo de tiempo relativamente corto (Eshleman *et al.*, 2003: 7; González-Oliver *et al.*, 2017: 195).

Las poblaciones indígenas de origen mesoamericano se caracterizan por presentar uno de los cuatro haplogrupos mitocondriales llamados A, B, C y D, por lo que son utilizados como marcadores genéticos poblacionales que proporcionan información útil de la historia común o de aislamiento de las poblaciones, y de las relaciones genéticas entre éstas. Estos haplogrupos se identifican como polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción (RFLPs) o una delección de nueve pares de bases (Brown *et al.*, 1998: 1852; Torroni *et al.*, 1992: 153; Torroni *et al.*, 1993: 563).

En general, las poblaciones indígenas de origen mesoamericano se caracterizan por altas frecuencias del haplogrupo A y menores frecuencias de los haplogrupos B, C y D (Kemp *et al.*, 2010: 6759; Mata-Míguez *et al.*, 2012: 504; Sandoval *et al.*, 2009: 521). Sin embargo, existen excepciones, por ejemplo las poblaciones mazahuas (González-Oliver *et al.*, 2017: 195; Mizuno *et al.*, 2017: 1). Los estudios del ADN antiguo en poblaciones prehispánicas como son los mayas de Xcaret, Quintana Roo (González-Oliver *et al.*, 2001: 230); aztecas de Tlatelolco (De la Cruz *et al.*, 2008: 519; Kemp *et al.*, 2005: 22); nahuas y otomíes de Xaltocan (Mata-Míguez *et al.*, 2012), e individuos de Teotihuacan (Álvarez-Sandoval *et al.*, 2015) indican que el patrón de distribución de las frecuencias de los haplogrupos mitocondriales (A, B, C y D) es muy antiguo en la región (Kemp *et al.*, 2005: 22).

En este estudio presentamos un análisis de los haplogrupos mitocondriales en indígenas nahuas que habitan en los estados de Hidalgo, Puebla y San Luis Potosí. Los resultados fueron comparados con los de otras poblaciones nahuas antiguas y actuales para contribuir al entendimiento de las diferencias genéticas entre las poblaciones de este grupo y de su historia evolutiva.

Material y métodos

Previo a la colecta de las muestras biológicas, visitamos a las autoridades municipales y a las comunidades locales para informar el desarrollo del proyecto de investigación, para lo cual contamos con asistencia de traductoras bilingües. Estas visitas tienen la finalidad de explicar en forma clara a las comunidades e individuos que se les invita a participar en el estudio. Seguimos la guía ética de la Declaración de Helsinki (1964) establecida por la UNESCO, en el marco del respeto a los pueblos y su soberanía genética se obtuvo el consentimiento previo, libre e informado de las comunidades o personas. Cabe mencionar que los resultados de este estudio guardan la privacidad de los individuos, y que al término del proyecto se entregarán los resultados globales a las comunidades participantes, por medio de una plática u otro material de divulgación que tiene la finalidad de enriquecer el conocimiento histórico regional y biológico del grupo cultural que representan.

Un total de 60 muestras de frotis bucal fueron obtenidas de indígenas nahuas que habitan en la Sierra Norte de Puebla, y en la Huasteca hidalguense y potosina. Los individuos participantes fueron seleccionados al azar y no están emparentados por vía materna, se autoadscriben como miembros del pueblo indígena nahua, su lengua materna es la lengua náhuatl, practican tradiciones propias del grupo; los individuos nacieron en su localidad, con padres y abuelos originarios del mismo lugar.

Extracción del ADN e identificación de los haplogrupos mitocondriales

El ADN fue extraído de 60 individuos nahuas con el mini kit QIAamp DNA Blood de Qiagen siguiendo el procedimiento recomendado por el fabricante. El ADN fue analizado para los haplogrupos mitocondriales de nativos americanos A, B, C y D, utilizando las condiciones de amplificación por PCR, y las del análisis de restricción de los amplicones como se describió en González-Oliver *et al.* (2017).

Análisis estadístico de las frecuencias de haplogrupos mitocondriales

Realizamos una prueba exacta de Fisher con RStudio 1.1.456 (RStudio, 2018) para comparar las poblaciones nahuas estudiadas y con otras que han sido reportadas por otros autores. Los resultados se consideraron estadísticamente significativos cuando $p \leq 0.05$.

Con las frecuencias de los haplogrupos mitocondriales realizamos un análisis de componentes principales (PCA) con el programa STATISTICA versión 10 (StatSoft, 2011). Se calcularon los valores de diversidad de haplogrupo (h) basados en el modelo de Tajima y Nei (1984), las distancias génicas (del inglés *Pairwise Fst*) entre las poblaciones, los valores P de los (Fst) y la matriz de significancia de éstos utilizando el programa Arlequin 3.5.1.2. (Excoffier *et al.*, 2005: 47). La distribución de la diversidad del ADN mitocondrial utilizando un criterio geográfico fue evaluada con un análisis de varianza molecular (AMOVA) (Excoffier *et al.*, 2005); las poblaciones nahuas se agruparon en tres grupos, del este, del centro y del oeste con base en la distribución de la Sierra Madre Oriental, la Sierra Madre del Sur y el Eje Volcánico. La significancia estadística de este análisis fue evaluada con 1 023 permutaciones azarosas. Utilizando los valores de distancia génica (Fst) se construyó un dendrograma con el método del promedio aritmético de los grupos pares no ponderados (*Unweighted pair group method with arithmetic averaging*, UPGMA) con el programa STATISTICA versión 10.

Resultados

Los resultados de las frecuencias de los haplogrupos mitocondriales de las poblaciones nahuas estudiadas aquí mostraron que los cuatro haplogrupos están presentes solamente en los nahuas del estado de Puebla, ya que en los nahuas de Hidalgo y San Luis Potosí el haplogrupo D está ausente. En las tres poblaciones nahuas el haplogrupo A fue el más frecuente, con frecuencias de aproximadamente 60%, seguido de los haplogrupos B y C con frecuencias en el rango de 10 a 20% y, el D presenta una frecuencia de 15% en una población (figura 1, tabla 1).

La prueba estadística de Fisher mostró que las tres poblaciones nahuas (Hi1, Pu1, SL) no son estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$) (tabla 2). Estos resultados fueron comparados con los de otras poblaciones nahuas actuales y antiguas reportadas en la literatura, que habitan en el centro o en el sureste y suroeste de México. En términos generales, las poblaciones nahuas actuales de Veracruz (Ve1, Ve2, Ve3) son estadísticamente distintas a la mayoría de las poblaciones nahuas, así como también la población nahua antigua de la Ciudad México (aztecas, pCiM3) mostró diferencias con las nahuas modernas de la Ciudad de México (CiM1 y CiM2), de Hidalgo (Hi2) y Guerrero (Gu2) (Tabla 2).

La diversidad de haplogrupos fue mayor en los individuos nahuas actuales de Puebla-1 (Pu1, 0.6158 ± 0.1051) que en los nahuas de Hidalgo-1 y San Luis Potosí (Hi1, 0.5895 ± 0.0926 ; SLP, 0.5421 ± 0.1046) estudiados aquí, lo que sugiere una diversidad genética ligeramente mayor en esta población nahua.

Por otra parte, las poblaciones nahuas más diversas fueron las actuales de Guerrero-2 (Gu2, 0.6646) y de la Ciudad de México-2 (CiM2, 0.6423). Cabe mencionar que otras poblaciones nahuas mostraron menor diversidad génica que los nahuas de Guerrero-2 (Gu2), a pesar de que se analizaron más individuos (tabla 1). Los nahuas menos diversos fueron los de Veracruz-3 (Ve3, 0.4235), del centro de la Ciudad de México-1 (CiM1, 0.4474) y de Guerrero-1 (Gu1, 0.4918); es

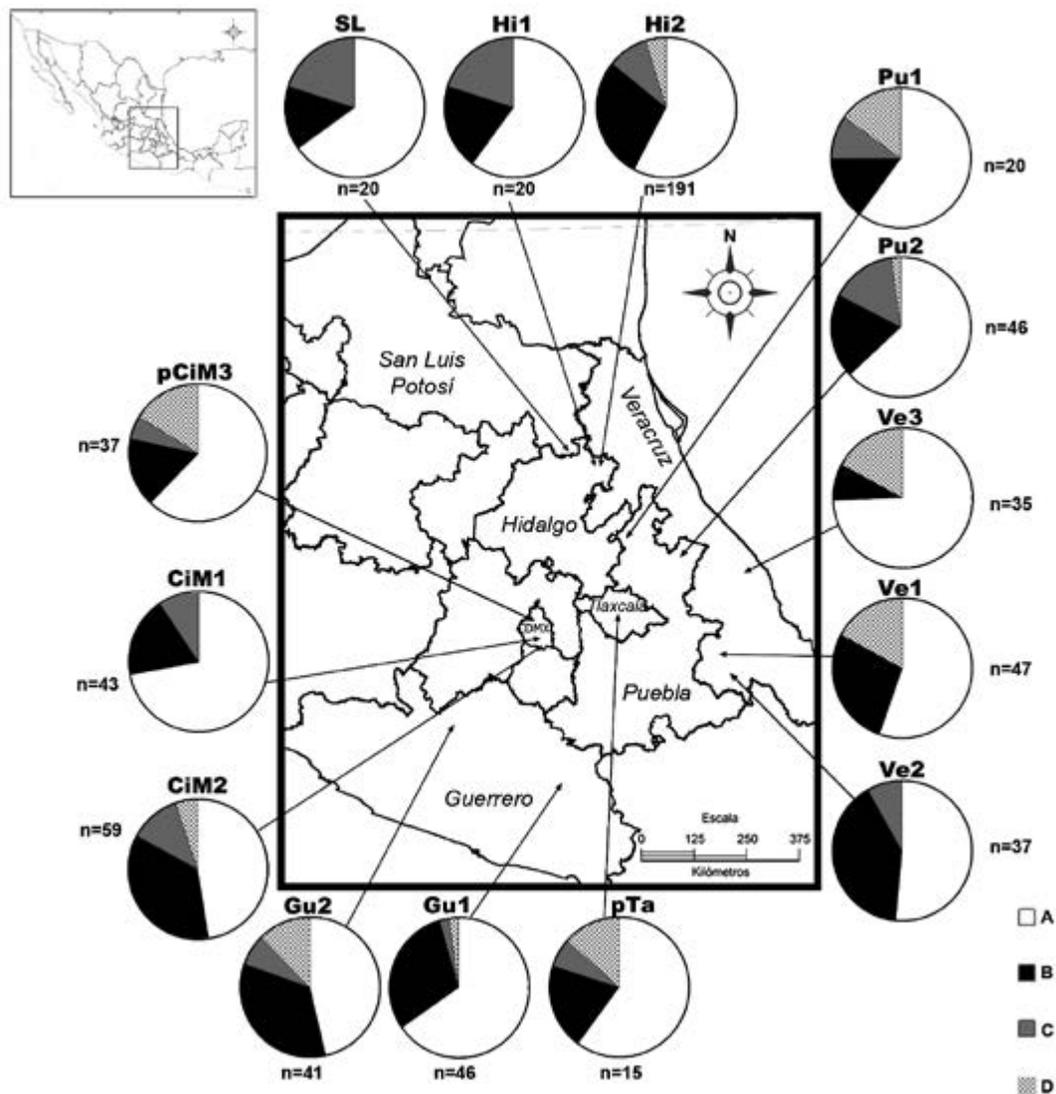


Figura 1. Mapa de la ubicación geográfica de 14 poblaciones nahuas y las frecuencias de haplogrupos mitocondriales. Las abreviaturas corresponden a las descritas en la tabla 1. Fuente: elaboración propia.

pertinente especificar que el número de individuos nahuas analizados de Veracruz-3 (Ve3) fue similar al de otras poblaciones nahuas (Ve2, y CiM3) que mostraron más diversidad genética.

El gráfico del análisis de componentes principales (ACP) (figura 2) muestra que todas las poblaciones nahuas se distribuyeron en los cuatro cuadrantes, y que las nahuas de Veracruz (V1, Ve2 y Ve3) son las más lejanas a la mayoría de las poblaciones. También se observó en el gráfico que algunas poblaciones se encuentran más cercanas, conformando tres agrupaciones que no están relacionadas con su ubicación geográfica. Las dos poblaciones antiguas, la azteca (pCiM3) y la nahua de Tlaxcala (pTa), se ubicaron cercanas a la nahua de Puebla-1 analizada aquí (NPu1). Las poblaciones nahuas de San Luis Potosí (SL) e Hidalgo-1 (Hi1) también se muestran cercanas en el gráfico, lo

Tabla 1. Frecuencias de los haplogrupos mitocondriales en poblaciones nahuas

Abreviatura Población	n	A (%)	B (%)	C (%)	D (%)	h^a	Desviación Estándar	Localización Geográfica	Referencias
CiM1	43	72.1	18.6	9.3	0.0	0.4474	±0.0786	Ciudad de México	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
CiM2	59	47.5	35.6	11.9	5.1	0.6423	±0.0365	Ciudad de México	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
pCiM3 ^b	37	62.2	16.2	5.4	16.2	0.5736	±0.0775	Ciudad de México	De la Cruz <i>et al.</i> , 2008
Gu1	46	65.2	30.4	2.2	2.2	0.4918	±0.0577	Guerrero	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Gu2	41	46.3	34.1	7.3	12.2	0.6646	±0.0445	Guerrero	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Hi1	20	60.0	20.0	20.0	0.0	0.5895	±0.0926	Huasteca, Hidalgo	Este estudio
Hi2	191	57.6	28.3	9.4	4.7	0.5803	±0.0276	Huasteca, Hidalgo	Gorostiza <i>et al.</i> , 2012
Pu1	20	60.0	15.0	10.0	15.0	0.6158	±0.1051	Sierra Norte de Puebla	Este estudio
Pu2	46	63.0	19.6	15.2	2.2	0.5527	±0.0674	Sierra Norte de Puebla	Malhi <i>et al.</i> , 2003; Kemp <i>et al.</i> , 2010
SL	20	65.0	15.0	20.0	0.0	0.5421	±0.1046	Huasteca, San Luis Potosí	Este estudio
pTa ^c	15	60.0	20.0	6.7	13.3	0.6190	±0.1196	Tlaxcala	Mata-Miguez <i>et al.</i> , 2012
Ve1	47	55.3	27.7	0.0	17.0	0.6013	±0.0489	Veracruz	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Ve2	37	51.4	40.5	8.1	0.0	0.5811	±0.0425	Veracruz	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007
Ve3	35	74.3	8.6	0.0	17.1	0.4235	±0.0899	Veracruz	Peñaloza <i>et al.</i> , 2007

^a Diversidad génica.

^b Aztecas del periodo prehispánico.

^c Población antigua del periodo prehispánico.

que podría deberse a que ambas son de la región Huasteca que colinda entre ambos estados (figura 2). El análisis de AMOVA mostró que la mayor variación genética está dentro de las poblaciones (98.9%) y que no existe variación genética entre los grupos geográficos (tabla 4).

Por otra parte, en el dendrograma UPGMA las poblaciones también se agruparon en tres grupos, sugiriendo flujo génico entre las poblaciones de cada grupo con excepción de la nahua de Veracruz-3 (Ve3), que no está agrupada y presenta la rama con mayor distancia genética, ubicada en la base del dendrograma. Lo anterior indica que esta población es la más diferente (figura 3), lo cual también está apoyado por los valores de probabilidad (p) de la matriz de significancia de las distancias genéticas (llamadas F_{st}) (tabla 3). Aunque en el dendrograma las tres poblaciones de la Ciudad de México (CiM1, CiM2 y pCiM3) están en distintos grupos, los valores p de las distancias genéticas solamente apoyan diferencias génicas significativas entre los nahuas CiM1 y CiM2 (tabla 3).

Tabla 2. Prueba Exacta de Fisher con los haplogrupos mitocondriales

	CiM1	CiM2	pCiM3	Gu1	Gu2	Hi1	Hi2	Pu1	Pu2	SL	Ta	Ve1	Ve2	Ve3
CiM1	--		+		+							+		+
CiM2	0.053	--	+									+		+
CiM3	0.046	0.046	--				+						+	
Gu1	0.198	0.143	0.056	--										+
Gu2	0.018	0.619	0.303	0.119	--									+
Hi1	0.465	0.388	0.109	0.066	0.139	--						+		+
Hi2	0.252	0.554	0.048	0.393	0.210	0.413	--					+		+
pPu1	0.088	0.184	0.966	0.059	0.469	0.393	0.186	--					+	
Pu2	0.664	0.234	0.086	0.097	0.069	0.949	0.436	0.289	--			+		+
SL	0.498	0.198	0.120	0.045	0.075	1.000	0.264	0.407	0.902	--		+		+
pTa	0.135	0.401	1.000	0.179	0.812	0.400	0.440	1.000	0.369	0.383	--			
Ve1	0.002	0.015	0.308	0.062	0.254	0.005	0.006	0.161	0.002	0.003	0.423	--	+	
Ve2	0.102	0.633	0.008	0.310	0.182	0.181	0.368	0.032	0.114	0.114	0.112	0.005	--	+
Ve3	0.004	0.000	0.462	0.008	0.009	0.005	0.001	0.249	0.004	0.009	0.277	0.091	0.000	--

Las abreviaturas corresponden a las descritas en la tabla 1.
 + Las poblaciones que presentaron diferencias significativas.
 La matriz inferior son los valores de probabilidad de Fisher.
 La matriz superior contiene los valores de significancia ($p \leq 0.05$).
 Resaltadas en gris oscuro las poblaciones de este estudio.

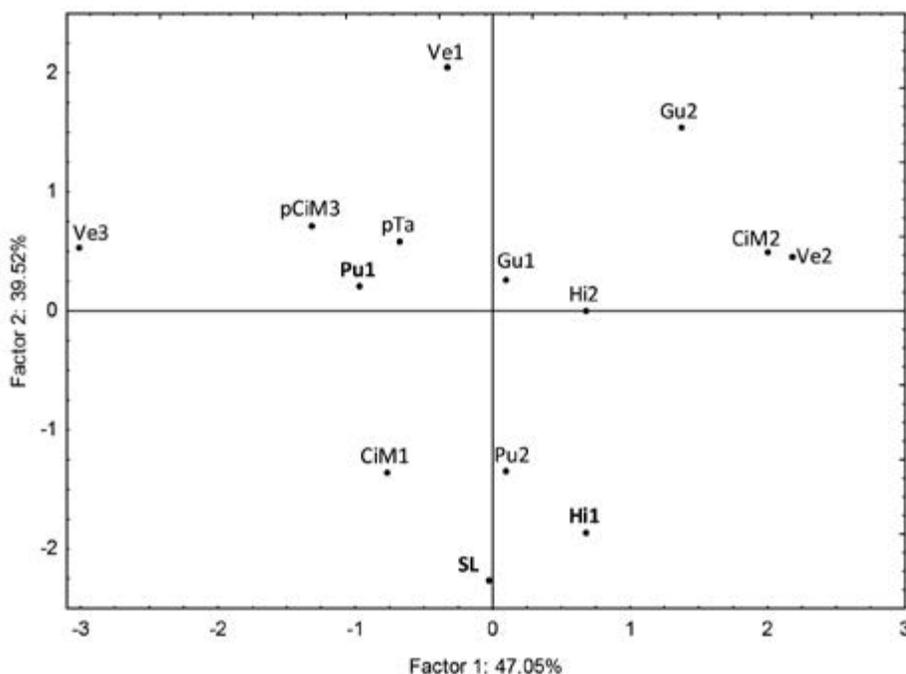


Figura 2. Análisis de componentes principales (ACP) basado en las frecuencias de los haplogrupos del ADN mitocondrial de las poblaciones nahuas. Las abreviaturas corresponden a las descritas en la tabla 1. **Fuente:** elaboración propia.

Tabla 3. Distancias genéticas y valores de significancia entre 14 poblaciones nahuas

	CiM1	CiM2	pCiM3	Gu1	Gu2	Hi1	Hi2	Pu1	Pu2	SL	pTa	Ve1	Ve2	Ve3
CiM1	0.000	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
CiM2	0.059	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
pCiM3	0.013	0.038	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gu1	0.003	0.019	0.015	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gu2	0.067	-0.015	0.021	0.020	0.000	-	-	-	-	+	-	-	-	+
Hi1	-0.010	0.006	0.004	0.008	0.017	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-
Hi2	0.015	0.003	0.011	-0.003	0.004	-0.010	0.000	-	-	-	-	-	-	+
Pu1	0.002	0.020	-0.037	0.010	0.007	-0.021	-0.003	0.000	-	-	-	-	-	-
Pu2	-0.010	0.023	0.003	0.006	0.030	-0.034	-0.001	-0.017	0.000	-	-	-	-	+
SL	-0.018	0.032	0.005	0.019	0.043	-0.048	0.004	-0.020	-0.032	0.000	-	-	-	-
pTa	-0.011	-0.003	-0.046	-0.018	-0.016	-0.030	-0.023	-0.058	-0.027	-0.024	0.000	-	-	-
Ve1	0.046	0.013	-0.007	0.009	-0.007	0.028	0.008	-0.012	0.028	0.043	-0.034	0.000	-	-
Ve2	0.061	-0.016	0.055	0.007	-0.009	0.016	0.002	0.040	0.031	0.046	0.010	0.021	0.000	+
Ve3	0.029	0.116	-0.004	0.057	0.099	0.063	0.061	-0.004	0.044	0.047	-0.007	0.042	0.139	0.000

Las abreviaturas corresponden a las descritas en la tabla 1. En gris oscuro las poblaciones estudiadas aquí.

Matriz inferior de distancias genéticas (*Fst*).

Matriz superior de significancia de los valores p. Nivel de significancia = 0.0500.

+ = significativamente diferente; - = significativamente no diferente.

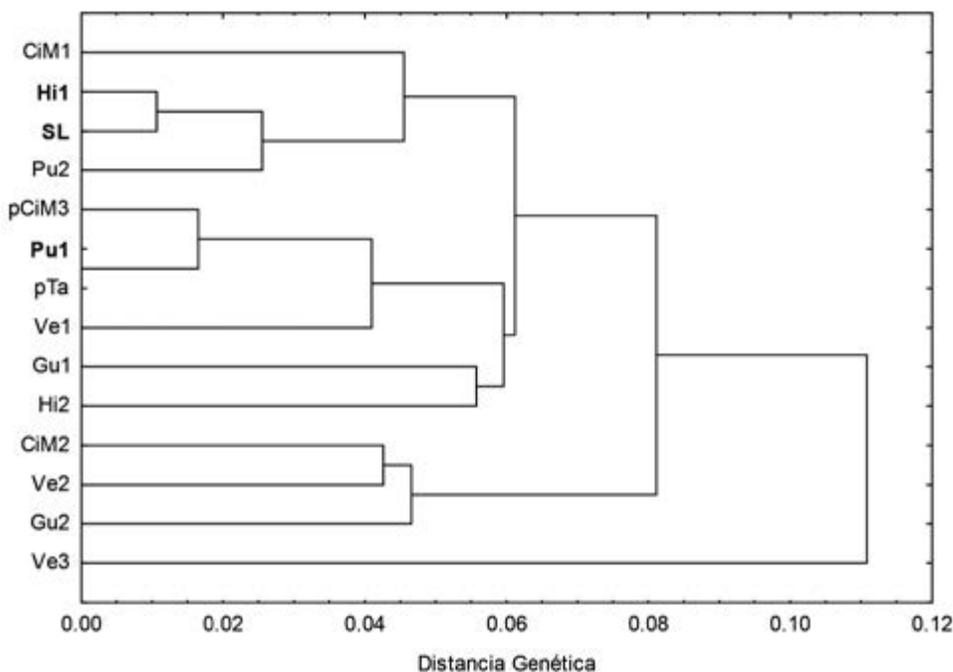


Figura 3. Análisis de UPGMA basado en los valores de las distancias genéticas pareadas (*Fst*) de los haplogrupos mitocondriales. Las abreviaturas corresponden a las descritas en la tabla 1.

Tabla 4. Resultado de AMOVA con criterio de agrupación geográfico

Grupo	Poblaciones	Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de variación	Índices de Fijación	p
Este	Hi1, Hi2, Pu1, Pu2, SL, Ve1, Ve2 y Ve3	Entre grupos	2	0.314	-0.003	-0.87	F _{CT} : -0.00874	0.905± 0.008
Centro	CiM1, CiM2, pCiM3 y pTa	Entre las poblaciones dentro de los grupos	11	5.660	0.006	1.91	F _{SC} : 0.01897	*0.0186± 0.004
Oeste	Gu1 y Gu2	Dentro de las poblaciones	643	182.693	0.284	98.96	F _{ST} : 0.01041	*0.024± 0.004
		Total	656	188.667	0.287			

Permutaciones = 1023

*p≤0.05

Discusión

En las poblaciones nahuas que hoy habitan distintas regiones geográficas de México, el haplogrupo A está presente en todas las poblaciones con las frecuencias más altas, mientras que en términos generales los haplogrupos menos frecuentes son C y D. Aunque el haplogrupo D está ausente en más poblaciones nahuas que el haplogrupo C, los valores de su frecuencia no siempre son más bajos que los de C, por ejemplo en pCiM3 y Gu2. Las frecuencias altas del haplogrupo A y baja del D se han reportado en otras poblaciones antiguas y actuales de México (Kemp *et al.*, 2010: 6759; Mata-Míguez *et al.*, 2012: 504; Sandoval *et al.*, 2009: 521). El patrón de distribución de los cuatro haplogrupos mitocondriales en las poblaciones nahuas no se puede generalizar con base en un orden decreciente de su frecuencia, como es posible hacerlo para otras poblaciones de México, por ejemplo las mayas (González-Martín *et al.*, 2015: e0131791; González-Oliver *et al.*, 2001: 230, 2013: 153; Ochoa-Lugo *et al.*, 2016: 136).

El análisis del ACP y del dendrograma sugieren diferencias genéticas entre las poblaciones nahuas con independencia de su ubicación geográfica, puesto que las nahuas de Veracruz (por ejemplo Ve1, Ve2 y Ve3) se ubican distantes entre sí en ambos análisis, así como las dos de Puebla (Pu1 y Pu2), las tres de la Ciudad de México (CiM1, CiM2 y pCiM3) y las de Hidalgo (Hi1 y Hi2). Todas estas poblaciones se ubican lejanas en el gráfico del ACP, y tampoco se agrupan juntas en el dendrograma, lo cual sugiere diferencias genéticas que no se relacionan con su actual ubicación geográfica, ya que estas poblaciones habitan regiones cercanas en cada uno de los estados. Por lo tanto, las diferencias podrían deberse a otros factores como son origen y/o su historia de desarrollo regional, como recientemente se propuso para otras poblaciones no nahuas que habitan el centro de México (González-Oliver *et al.*, 2017: 195). En un estudio anterior, donde comparamos distintas poblaciones indígenas de México, detectamos que las poblaciones nahuas no se agru-

paban cercanas entre sí en el ACP, lo cual sugirió que no existe una relación genética continua en el grupo cultural-lingüístico nahua, a diferencia de otras poblaciones como las mayas (González Oliver *et al.*, 2013: 153).

Por otra parte, en este estudio identificamos que algunas poblaciones nahuas se agrupan cercanas y conforman tres grupos. Por ejemplo, en los nahuas de la Huasteca estudiados aquí, su similitud genética probablemente se debe al flujo génico entre ellas. Mientras que en el caso de los nahuas de la Sierra Norte de Puebla con las poblaciones antiguas nahuas del centro de México (pCiM3) y de Tlaxcala (pTa) podría deberse a un origen común.

De las poblaciones nahuas analizadas aquí, la de Veracruz-3 (Ve3) es la menos diversa, ya que se caracteriza por la frecuencia más alta del haplogrupo A (74 %) y la ausencia del haplogrupo C, esto podría deberse a que los individuos de Veracruz-3 habitan en la región de Coyolillo. Las fuentes históricas mencionan que a esta región llegaron los individuos hablantes de náhuatl aproximadamente en 1695, y desde su llegada sortearon una serie de problemas por la tenencia de la tierra que se prolongaron por años. Este origen distinto y un probable aislamiento posterior pueden explicar que muestren diferencias genéticas con las otras poblaciones nahuas.

El presente estudio se continuará con el análisis de más individuos nahuas de cada una de las poblaciones y con los haplotipos (secuencias del ADN) de la región control del ADN mitocondrial para determinar con mayor exactitud las diferencias génicas entre las poblaciones. También se continuará con la revisión histórica de las localidades que habitan para relacionar la historia local con la información genética.

Conclusiones

Los resultados de los haplogrupos mitocondriales muestran, por una parte, que existen diferencias genéticas significativas entre algunas poblaciones nahuas que no necesariamente se correlacionan con su ubicación geográfica; estas diferencias génicas podrían deberse a otros factores, como la historia regional de las poblaciones y su origen. Por otro lado, existe cercanía genética entre otras poblaciones nahuas modernas que podría deberse a la presencia de flujo génico por su cercanía geográfica. Finalmente, la similitud genética entre las poblaciones nahuas antiguas del centro de México y los nahuas actuales de la Sierra Norte de Puebla estudiados aquí podría deberse a un origen común por vía materna.

Agradecimientos

Agradecemos a todas las personas nahuas de los estados de Hidalgo, Puebla y San Luis Potosí que voluntariamente participaron en este proyecto. Este estudio se realizó con los apoyos PAPIIT IN403217, UNAM; y SEP-CONACYT No. 252130.

Bibliografía

- Álvarez-Sandoval, Brenda Arizai *et al.* (2015). "Genetic Evidence Supports the Multiethnic Character of Teopancazco, a Neighborhood Center of Teotihuacan, Mexico (AD 200-600)". *PLOS ONE*, 10(7).
- Avilés Chávez, Víctor Hugo. *Estudio del dna mitocondrial en indígenas nahuas que habitan los estados de Puebla e Hidalgo*. Tesis de licenciatura en biología, Facultad de Ciencias-UNAM, México. En prensa.
- Brown, Michael D. *et al.* (1998). "mtDNA haplogroup X: an ancient link between Europe/Western Asia and North America?". *The American Journal of Human Genetics*, 63(6), pp. 1852-1861. Recuperado de: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002929707616292>>.
- Cabrera, Antonio J. (2002). *La Huasteca potosina: ligeros apuntes sobre este país*. México: El Colegio de San Luis/CIESAS.
- Campbell, Lyle (1997). "Languages of North America". En *American Indian Languages* (pp.107-138). Nueva York: Oxford.
- Cavalli-Sforza, Luca *et al.* (1994). "Introduction to Concepts, Data, and Methods". *The History and Geography of Human Genes* (pp.7-11). Nueva Jersey: Princeton University Press.
- Clavijero, Francisco Javier (2003). *Historia antigua de México*. México: Porrúa.
- Cruz, Isabel de la *et al.* (2008). "Sex identification of children sacrificed to the ancient Aztec rain gods in Tlatelolco". *Current Anthropology*, 49(3), pp. 519-526.
- Dopazo, Hernán (2009). "Genómica, bioinformática y evolución: una alianza estratégica para la biología del nuevo siglo". *Ciencia hoy*, 19(113), pp. 88-93. Recuperado de: <<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4316235>>
- Eshleman, Jason A. *et al.* (2003). "Mitochondrial DNA studies of Native Americans: conceptions and misconceptions of the population prehistory of the Americas". *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews*, 12(1), p. 18.
- Excoffier, Laurent *et al.* (2005). "Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis". *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1(4), 47-50. Recuperado de: <<http://www.cmpg.unibe.ch/software/arlequin3513/man/Arlequin35.pdf>>
- Fagan, Brian Murray (1984). *The Aztecs*. Nueva York: W. H. Freeman.
- García Martínez, Bernardo (1987). *Los pueblos de la sierra: el poder y el espacio entre los indios del norte de Puebla hasta 1700*. México: El Colegio de México.
- Gibson, Charles (1964). *Aztecs under Spanish rule: a history of the Indians of the Valley of Mexico, 1519-1810*. Redwood City: Stanford University Press.
- Goodman, Morris (1964). Man's place in the phylogeny of the primates as reflected in serum proteins. En Washburn, Sherwood L. (ed.) *Classification and human evolution* (pp. 204-234). Londres / Nueva York: Routledge Library Editions.
- González-Martín, Antonio (coord.) (2006). *Historia biológica del hombre en América: aproximaciones desde la antropología física*. Pachuca: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

- ____ *et al.* (2015). "Demographic History of Indigenous Populations in Mesoamerica Based on mtDNA Sequence Data". *PLOS ONE*, 10(8).
- González-Oliver, Angélica *et al.* (2001). "Founding amerindian mitochondrial DNA lineages in ancient Maya from Xcaret, Quintana Roo". *American Journal of Physical Anthropology*, 116(3), pp. 230-235. Recuperado de: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ajpa.1118>>.
- ____ (2013). "Análisis del DNA mitocondrial antiguo y contemporáneo: un acercamiento a las relaciones genéticas en las poblaciones indígenas de Mesoamérica". *Cuicuilco*, 20(58), pp. 153-171. Recuperado de: <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S018516592013000300009&script=sci_arttext&tlng=en>.
- ____ (2017). "Mitochondrial DNA Analysis of Mazahua and Otomi Indigenous Populations from Estado de México Suggests a Distant Common Ancestry". *Human Biology*, 89(3), pp. 195-216.
- Gorostiza, Amaya *et al.* (2012). "Reconstructing the history of Mesoamerican populations through the study of the mitochondrial DNA control region". *PLoS One*, 7(9).
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI) (2010). "Censo de población y vivienda. Tabulados básicos. México". Recuperado de: <<http://www.inegi.org.mx/default.aspx>>.
- Kemp, Brian Matthew *et al.* (2005). "An analysis of ancient Aztec mtDNA from Tlatelolco: Pre Columbian relations and the spread of Uto-Aztecan". En Reed, D. M. (ed.), *Biomolecular Archaeology: Genetic Approaches to the Past* (pp. 22-42). 19th Visiting Scholar Conference, Carbondale: Southern Illinois University.
- ____ (2010). "Evaluating the farming/language dispersal hypothesis with genetic variation exhibited by populations in the Southwest and Mesoamerica". *PNAS. Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(15), pp. 6759-6764. Recuperado de: <<http://www.pnas.org/content/107/15/6759.full>>.
- León-Portilla, Miguel (1961). *Los antiguos mexicanos*. México: FCE.
- Liu, Lin *et al.* (2012). "Comparison of next-generation sequencing systems". *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, pp. 1-11.
- Malhi, Ripan Singh *et al.* (2003). "Native American mtDNA prehistory in the American Southwest". *American Journal of Physical Anthropology*, 120(2), pp. 108-124. Recuperado de <<https://doi.org/10.1002/ajpa.10138>>.
- Mata-Míguez, Jaime *et al.* (2012). "The genetic impact of Aztec imperialism: ancient mitochondrial DNA evidence from Xaltocan, Mexico". *American Journal of Physical Anthropology*, 149(4), pp. 504-516.
- Matos Moctezuma, Eduardo (1989). *The Aztecs*. Nueva York: Rizzoli.
- Mizuno, Fuzuki *et al.* (2017). "Characterization of complete mitochondrial genomes of indigenous Mayans in Mexico". *Annals of Human Biology*, 44(7), pp. 652-658. Recuperado de: <<https://doi.org/10.1080/03014460.2017.1358393>>.
- Noguez, Xavier (2014). "La zona del Altiplano central en el Posclásico: la etapa tolteca". En *Historia antigua de México. Vol. III: El horizonte Posclásico y algunos aspectos intelectuales de las culturas mesoamericanas*

- (pp. 199-236). México: Porrúa / Instituto Nacional de Antropología e Historia / Universidad Nacional Autónoma de México,
- Ochoa-Lugo, Mirna Isabel *et al.* (2016). "Genetic Affiliation of Pre-Hispanic and Contemporary Mayas through Maternal Linage". *Human Biology*, 88(2), pp. 136-167. Recuperado de: <<http://www.bioone.org/doi/abs/10.13110/humanbiology.88.2.0136>>.
- Pääbo, Svante (1985). "Molecular cloning of ancient egyptian mummy DNA". *Nature*, 314, pp. 644-645.
- ____ (1993). *Molecular applications in Biological Anthropology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- ____ *et al.* (1989). "Ancient DNA and the polymerase chain reaction". *The Journal of Biological Chemistry*, 264, pp. 9709-9712.
- Peñaloza-Espinosa, Rosenda *et al.* (2007). "Characterization of mtDNA haplogroups in 14 Mexican indigenous populations". *Human Biology*, 79(3), pp. 313-320. Recuperado de: <<http://www.bioone.org/doi/full/10.1353/hub.2007.0042>>.
- Reguero Reza, María Teresa. (2014). "La secuenciación del ADN: consideraciones históricas y técnicas". *Revista Colombiana de Biotecnología*, 16(1), 5-8. Recuperado de: <<https://search.proquest.com/docview/1677190590?pq-origsite=gscholar>>.
- Rodríguez-Santiago, Benjamín y Armengol, Lluís (2012). "Tecnologías de secuenciación de nueva generación en diagnóstico genético pre- y postnatal". *Diagnóstico Prenatal*, 23(2), pp. 56-66.
- RStudio, Inc. 2018. RStudio. Version 1.1.456-2009-2018.
- Sandoval, Karla *et al.* (2009). "Linguistic and maternal genetic diversity are not correlated in Native Mexicans". *Human Genetics*, 126(4), p. 521.
- Scheffler, Lilian (1992). "Nahuas". En *Los indígenas mexicanos* (pp. 153-163). México: Panorama.
- Schwaller, John (2012). "The Expansion of Nahuatl as Lingua Franca among Priests in Sixteenth-Century Mexico". *Ethnohistory*, 59(4), pp. 675-690.
- StatSoft Incorporation (2011). "STATISTICA data analysis software system. Version 10". Recuperado de: <www.statsoft.com>.
- Stoneking, Mark (1997). "The Human Genome Project and Molecular Anthropology". *Genome Research*, 7(2), pp. 87-91.
- Tajima, Fumio y Nei, Masatoshi. (1984). "Estimation of evolutionary distance between nucleotide sequences". *Molecular Biology and Evolution*, 1(3), pp. 269-285. Recuperado de: <<https://academic.oup.com/mbe/article/1/3/269/1244029>>.
- Torróni, Antonio *et al.* (1992). "Native American mitochondrial DNA analysis indicates that the Amerind and the Nadene populations were founded by two independent migrations". *Genetics*, 130(1), pp. 153-162. Recuperado de: <<http://www.genetics.org/content/130/1/153.short>>.
- ____ (1993). "Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNAs". *American Journal of Human Genetics*, 53(3), p. 563. Recuperado de: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1682412/>>.
- Townsend, Richard Fraser (1992). *Aztecs*, Londres: Thames and Hudson.

World Medical Association (2018). Declaration of Helsinki, Ethical principles for medical research involving human subjects. Recuperado de: <<https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki-ethical-principles-for-medical-research-involving-human-subjects/>>.

Zuckermandl, Emile (1964). "Perspectives in Molecular Anthropology". En Washburn, S. L. (ed.), *Classification and human evolution* (pp. 243-272). Londres / Nueva York: Routledge Library Editions.

____ *et al.* (1960). "A comparison of animal hemoglobins by tryptic peptide pattern analysis". *PNAS. Proceedings of the National Academy of Sciences*, 46, pp. 1349-1360.