

VARIACIÓN DEL ADN MITOCONDRIAL EN POBLACIÓN INDÍGENA MEXICANA DEL ESTADO DE PUEBLA

Paola Everardo Martínez,^a Amaya Gorostiza Langa^b
y Nancy Monroy Jaramillo^c

^a*Laboratorio de Genética Molecular, Escuela Nacional de Antropología e Historia*
^b*Departamento de Zoología y Antropología Física, Universidad Complutense de Madrid*
^c*Laboratorio de Neurogenética, Instituto Nacional de Neurología
y Neurocirugía "Manuel Velasco Suárez"*

RESUMEN

El ADN mitocondrial (ADNmt) ha sido ampliamente utilizado como marcador genético en estudios de filogenia y evolución humana. Su modo de herencia uniparental permite trazar la divergencia de los linajes maternos entre poblaciones, así como las rutas de dispersión geográfica. La datación de estos sucesos se hace posible con el conocimiento de su tasa de mutación. Las variantes contenidas dentro de este genoma se pueden agrupar, identificando la ocurrencia de mutaciones diagnósticas, en lo que se denomina haplogrupos. En América son cinco los haplogrupos que representan la diversidad de nuestras poblaciones nativas (A, B, C, D y X). En este estudio analizamos secuencias de la región hipervariable I de 50 individuos provenientes de dos comunidades indígenas: totonaca y nahua de la sierra Norte de Puebla. Las frecuencias de sus haplogrupos mitocondriales concuerdan con las reportadas anteriormente en las que el haplogrupo A2 es el más frecuente (.74), seguido del haplogrupo B2 (.20); únicamente en la población totonaca se encuentra el haplogrupo D, pero con muy baja frecuencia. En el grupo nahua hay una mayor diversidad haplotípica que puede deberse a la integración de nuevas variantes en los procesos de mestizaje de este grupo durante el periodo de expansión del imperio mexica. En la población totonaca se observa una mayor cantidad de sitios polimórficos, lo cual apoya los datos históricos que presentan a esta población como originaria en la región; la mayor representación de individuos totonacas en el nodo ancestral de la red del haplogrupo A2 apoyaría esta propuesta.

PALABRAS CLAVE: ADN mitocondrial, haplogrupos mitocondriales, genética de poblaciones.

ABSTRACT

Mitochondrial ADN (mtDNA) has been widely used as a genetic marker in studies of phylogeny and human evolution. Its uniparental inheritability allows tracing the divergent maternal lineages among populations, as well as geographic dispersal routes. Dating these events becomes possible with the knowledge of their mutation rate. Variants contained within the genome can be grouped, identifying the occurrence of diagnostic mutations, in what is called haplogroups. In America there are five haplogroups that represent the diversity of our native populations (A, B, C, D and X). For purposes of this study, we analyzed sequences of the hypervariable region I of 50 individuals from two indigenous communities: Totonac and Nahua, both from the Sierra Norte de Puebla. The frequencies of mitochondrial haplogroups in these populations are consistent with those reported previously in which haplogroup A2 is the most frequent (.74), followed by haplogroup B2 (.20); haplogroup D is present only in the Totonac population but with very low frequency. A higher haplotype diversity in the Nahua group, which may be due to the integration of new variants in mixing processes in this group during the period of the Mexica empire expansion. There is a higher number of polymorphic sites in the Totonac population, which supports historical data that present this population as originating in the region; the higher representation Totonac individuals ancient node in the network of haplogroup A2 supports this proposal.

KEYWORDS: mitochondrial DNA, mitochondrial haplogroups, population genetics.

INTRODUCCIÓN

Con la finalidad de conocer los procesos que han moldeado las frecuencias y distribución de las variantes genéticas de los grupos humanos se han utilizado diversos marcadores, esto constituye una fuente de información con la que se contrastan los datos arqueológicos y lingüísticos para responder a cuestiones sobre la evolución y relaciones existentes entre dichos grupos. A esta manera de abordar la diversidad se le conoce como genética de poblaciones (Cavalli-Sforza 1997).

Entre estos marcadores se cuenta el ADN mitocondrial, el cual posee características que lo han convertido en la herramienta por excelencia en estudios de genética de poblaciones y evolución humana. Su modo de herencia uniparental (transmitido de madres a hijos), la falta de recombinación, así como su tasa de mutación, diez veces mayor que la del ADN nuclear (Ingman *et al.* 2000), hacen posible trazar los linajes maternos

mitocondriales a través del tiempo con la ayuda de los relojes moleculares.¹ Hoy en día, se conoce la distribución de los haplogrupos mitocondriales mundiales. A partir de un linaje ancestral africano (L3) divergen las ramas de los haplogrupos M y N, mismos que dieron lugar a la diversidad de haplogrupos mitocondriales del resto del mundo (Quintana-Murci *et al.* 1999). Para el continente americano se reconocen cinco haplogrupos fundadores de origen asiático (A, B, C, D y X) (Schurr *et al.* 1990; Horai *et al.* 1993; Bonatto *et al.* 1997). Actualmente el análisis de secuencias evidencia la existencia de más variantes contenidas dentro de cada uno de ellos, y la diversidad puede ser descrita en nueve haplogrupos posibles (A2, B2, C1, D1, X2a, D2a, D3, D4h3 y C4c), siendo los cuatro primeros mayoritarios y ubicuos del continente; X2a únicamente se encuentra entre poblaciones del norte de Norteamérica, D2a y D3 están presentes en poblaciones aleutianas y esquimales, D3 sólo en esquimales (Achilli *et al.* 2008), D4h3 en Alaska y Tierra del Fuego (Kemp *et al.* 2007) y C4c en hablantes de ijka de Colombia (Tamm *et al.* 2007) y Shuswap de Columbia Británica (Malhi *et al.* 2010). Sin embargo, existen otros subhaplogrupos que contienen mutaciones adicionales y que constituyen parte de la diversidad en las poblaciones americanas.

En el caso de la población mexicana se han utilizado muestras provenientes de contextos del presente, así como de restos óseos (González-Olivier *et al.* 2001), en la búsqueda por describir y entender la distribución y las frecuencias de estas variantes. El haplogrupo A se encuentra con mayor frecuencia en las poblaciones del centro de nuestro país (Torroni *et al.* 1992, 1993; Sandoval 2010; Gorostiza *et al.* 2012), seguido por el haplogrupo B; mientras que los haplogrupos C y D se observan menos frecuentemente (Malhi *et al.* 2003; Gorostiza *et al.* 2012).

Las dos poblaciones analizadas se ubican geográficamente en la región de la sierra Norte de Puebla, la cual se define en función de una región de mayor antigüedad, conocida como Totonacapan (García Martínez 1987). Desde la época prehispánica su configuración ha estado en función de los movimientos poblaciones y las dinámicas de interacción de diversos grupos, entre ellos los analizados en el presente estudio.

Nuestro objetivo es conocer las frecuencias de los haplogrupos mitocondriales de dos poblaciones indígenas mexicanas para ampliar el

¹ Técnica utilizada para datar la divergencia, basada en el conteo de las diferencias en el material genético y el conocimiento de su tasa de mutación.

conocimiento que se tiene de las variantes contenidas en este marcador y abordar las relaciones filogenéticas existentes entre estas poblaciones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron secuencias de la región hipervariable I del ADN mitocondrial de 24 individuos no emparentados de un grupo nahua y 26 de un grupo totonaca de la sierra Norte de Puebla, con la finalidad de conocer las frecuencias de sus haplogrupos mitocondriales, así como su relación filogenética. El diseño de este muestreo lo llevó a cabo el grupo de investigación del Laboratorio de Genética Molecular de la Escuela Nacional de Antropología e Historia y del Departamento de Medicina Genómica del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán". Se colectaron muestras de sangre periférica de cada uno de los individuos para la obtención del material genético. Se extrajo el ADN utilizando el *DNA blood sample extraction kit* de 96 pozos de QIAgen. Se calcularon y ajustaron las concentraciones del extracto, buscando un volumen final de 50 ng/ μ l. Se corrió una reacción de amplificación de la región hipervariable I, utilizando un par de oligonucleótidos que flanquean la región de interés (cuadro 1).

Cuadro 1

Oligos utilizados para la amplificación y secuenciación de la región hipervariable I

Región	Oligo N°	Clave	Secuencia
HVSI	5225	15997-L	(5'-3'): CAC CAT TAG CAC CCA AAG CT
	5226	017-H	(3'-5'): CCC GTG AGT GGT TAA TAG GGT

Para correr la reacción de secuenciación se usó un oligonucleótido, dado que el secuenciador tiene capacidad de leer en un solo sentido de la cadena. Las secuencias fueron editadas mediante el empleo del software *BioEdit* (Hall *et al.* 1999) para eliminar artefactos de la secuenciación, así como repeticiones y mutaciones fantasma (Bandelt *et al.* 2002). El alineamiento de las secuencias se realizó con la secuencia de referencia

de Cambridge (CRS) (Anderson *et al.* 1981), en el programa *MEGA 5* (Tamura *et al.* 2011).

La designación de haplogrupos se hizo de acuerdo con las mutaciones diagnósticas previamente reportadas (cuadro 2):

Cuadro 2
Mutaciones diagnósticas para haplogrupos nativos americanos
(Achilli *et al.* 2008)

<i>Haplogrupo</i>	<i>Mutaciones diagnósticas</i>
A	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C
B	16189C 16217C
C	16223T 16298C 16327T
D	16223T 16325C 16362C

Los cálculos de la diversidad genética encontrada en la región hipervariable I del ADNmt, se realizaron en el software *DNAsp 5.10* (Librado-Rozas *et al.* 2009) y otros parámetros, como *Mean Pairwise Differences*, se obtuvieron con el programa *Arlequin 3.5.1.2* (Excoffier *et al.* 2010). A partir de estos resultados y otros adquiridos de la literatura, se establecieron las relaciones genéticas entre las poblaciones. Estas comparaciones se efectuaron mediante distancias genéticas y su posterior representación en un gráfico de MDS (*MultiDimensional Scaling*), obtenido con el entorno de programación *R* (<http://www.r-project.org/>). Para definir la estructura y datación de los haplogrupos encontrados en las poblaciones, construimos un *median-joining network* (red de haplogrupos) con el programa *Network 4.5.1.6* (Bandelt *et al.* 1999).

RESULTADOS

En ambas poblaciones se encontró una mayor frecuencia de los haplogrupos A2 y B2, lo cual concuerda con las frecuencias previamente reportadas en la literatura. La población nahua posee una mayor diversidad haplotípica, mientras que las secuencias totonacas muestran un mayor número de sitios polimórficos (cuadro 3). En total, entre las dos poblaciones se encuentran representados quince haplotipos distintos.

Cuadro 3
Frecuencias previamente publicadas

<i>Población</i>	<i>n</i>	<i>A %</i>	<i>B %</i>	<i>C %</i>	<i>D %</i>	<i>H</i>	<i>S</i>	<i>Referencia</i>
Maya	27	51.9	22.2	14.8	7.4	-	-	Torróni 1992
Mixtecos	29	82.75	10.34	6.85	-	-	-	Torróni <i>et al.</i> 1994
Zapotecos	15	33.3	33.3	33.3	-	-	-	Torróni <i>et al.</i> 1994
Seri	8	0	12.5	87.5	-	-	-	Malhi 2003
Pimas	49	2.04	14.28	81.06	2.04	.894 ± .028	34	Gorostiza 2012
Huicholes	36	55.6	25.0	16.7	2.8	.963 ± .019	41	Gorostiza 2012
Otomíes	177	50.28	12.99	25.42	9.60	.982 ± .003	97	Gorostiza 2012
Tepehuas	61	62.3	24.6	4.9	3.3	.945 ± .016	40	Gorostiza 2012
Nahuas H	192	57.4	28.4	9.5	4.7	.983 ± .003	110	Gorostiza 2012
Nahuas N	25	48.0	52.0	-	-	.910 ± .043	24	Sandoval 2009
Nahuas P*	26	69.2	19.2	7.7	-	.937 ± .025	26	*este estudio
Totonacos*	24	79.1	20.8	-	-	.93 ± .039	31	*este estudio

Frecuencias de los haplogrupos mitocondriales en poblaciones indígenas mexicanas, *n* corresponde al número de individuos, los tres grupos nahuas reportados corresponden a distintas zonas geográficas Nahuas H (nahuas de la huastecas), Nahuas N (nahuas de Necoxtla, Puebla), Nahuas P (nahuas de la Sierra Norte de Puebla).

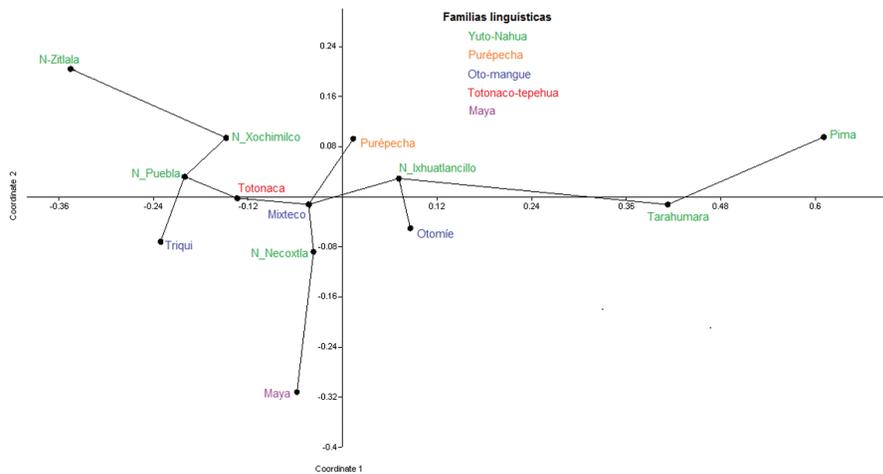


Figura 1. Filiación lingüística y distancias genéticas.

Basándonos en la filiación lingüística y su relación con la matriz de distancias genéticas (F_{ST}) no se observó ningún agrupamiento entre poblaciones, tal y como habían reportado previamente Sandoval (2010) y Gorostiza *et al.* (2012) (figura 1).

Finalmente, en la red de haplogrupos están representados los haplotipos de ambas poblaciones (figura 2). El nodo central representa el haplotipo más frecuente representado por once individuos (16111T, 16223T, 16290T, 16319A, 16362C, 16519C). Se encontraron seis haplotipos únicos, cinco de ellos representados por individuos del grupo totonaca y uno nahua. La tasa de mutación de un cambio sucede cada 20 180 años, así, se realizó el cálculo de la antigüedad del nodo ancestral, que en este caso dio una temporalidad de 8 408 años, lo que se puede interpretar como el tiempo que le ha tomado a estas secuencias diferenciarse y acumular mutaciones hasta las ramas descendientes.

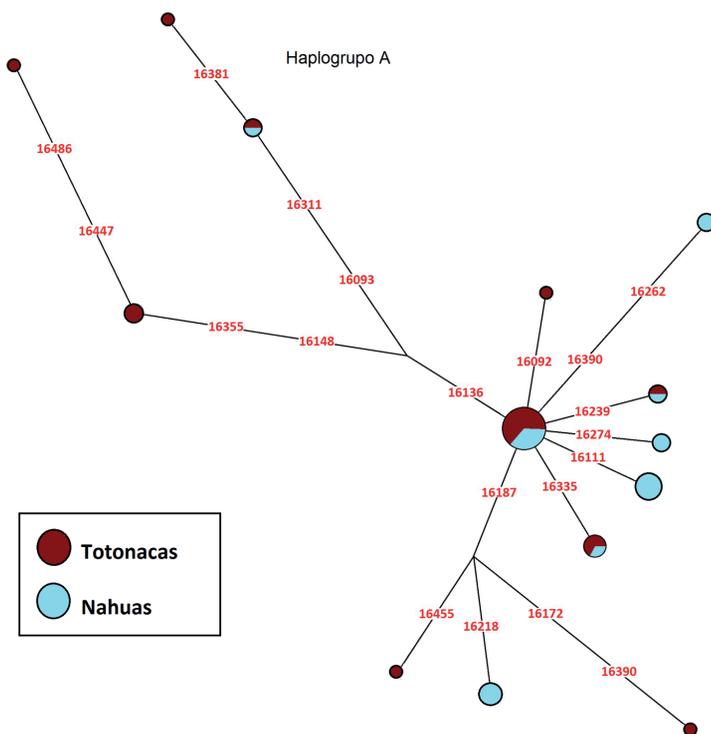


Figura 2. Red de haplogrupos. Poblaciones nahua y totonaca de la sierra Norte de Puebla.

DISCUSIÓN

Las poblaciones indígenas mexicanas presentan frecuencias elevadas de los haplogrupos nativos americanos. Esta tendencia se observa mejor en los procesos de mestizaje; principalmente las mujeres de las poblaciones nativas contribuyeron a la herencia materna, lo que representa lo opuesto al comportamiento del cromosoma Y, en el que se puede encontrar contribución de genomas españoles, africanos y de otros orígenes (Mesa *et al.* 2000).

La correspondencia de las frecuencias con aquellas reportadas previamente en la literatura contribuye a observar el mantenimiento de cierta diversidad de los haplogrupos nativos americanos en las poblaciones de nuestro país.

La diversidad haplotípica encontrada en la población nahua, aunque no se diferencia marcadamente de la totonaca, probablemente sea resultado de los procesos de mestizaje entre este grupo y los conquistados durante la expansión del imperio mexica.

En cuanto a la mayor diversidad de sitios polimórficos dentro de las secuencias totonacas, esto puede deberse a que ellos constituirían la población ancestral en esta región (García Martínez 1987), lo que se traduciría en la acumulación de variantes particulares a lo largo del tiempo; tomando en cuenta que aún en la actualidad permanece como la única población dentro de una región mayoritariamente nahua. Esto se apoya con el gráfico de la red del haplogrupo A2, en la que el nodo ancestral está mayoritariamente representado por haplotipos presentes en individuos totonacas.

REFERENCIAS

ACHILLI ALESSANDRO, UGO A. PEREGO, CLAUDIO M. BRAVI, MICHAEL D. COBLE, QING-PENG KONG, SCOTT R. WOODWARD, ANTONIO SALAS, ANTONIO TORRONI Y HANS-JÜRGEN BANDELT

- 2008 The phylogeny of the four Pan-American Mtdna haplogroups: Implications for evolutionary and disease studies, *Public Library of Science*, 3 (3): 1-8.

- ANDERSON, S., A. BANKIER, B. BARREL, M. BRUIJN, A. COULSON, J. DROUIN, I. EPERON, D. NIERLICH, B. ROE, F. SANGER, P. SCHREIER, A. SMITH, R. STADEN E I. YOUNG
 1981 Sequence and organization of the human mitochondrial genome, *Nature*, 290: 457-465.
- BANDELT, H. J. Y A. ROHL
 1999 Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies, *Molecular Biology and Evolution*, 16: 37-48.
 2002 The fingerprint of phantom mutations in mitochondrial DNA data, *American Journal of Human Genetics*, 71: 1 150-1 160.
- BONATTO, S. Y F. SALZANO
 1997 Diversity and age of the four major mtDNA haplogroups, and their implications for the peopling of the New World, *American Journal of Human Genetics*, 61: 1 413-1 423.
- CAVALLI-SFORZA, L.
 1997 Genes, peoples and languages, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94 (15): 7 719-7 724.
- EXCOFFIER, L. Y H. LISCHER
 2010 Arlequin suite version 3.5: A new series of programs to perform population genetics analysis under Linux and Windows, *Molecular Ecology Resources*, 10: 564-567.
- GARCÍA-MARTÍNEZ, B.
 1987 *Los pueblos de la sierra. El poder y el espacio entre los indios del norte de Puebla hasta 1700*, Centro de Estudios Históricos, El Colegio de México, México.
- GONZÁLEZ-OLIVIER, A., L. MÁRQUEZ-MORFÍN, J. JIMÉNEZ Y A. TORRE-BLANCO
 2001 Founding Amerindian mitochondrial DNA lineages in ancient Maya from Xcaret, Quintana Roo, *American Journal of Physical Anthropology*, 116: 230-235.
- GOROSTIZA, A., V. ACUÑA-ALONZO, L. REGALADO-LIU, S. TIRADO, J. GRANADOS, D. SÁMANO, H. RANGEL-VILLALOBOS Y A. GONZÁLEZ-MARTÍN
 2012 Reconstructing the history of Mesoamerican Populations through the study of the mitochondrial DNA control region, *Public Library of Sciences*, 7 (9): 1-9.

HALL, T.

- 1999 BioEdit: a user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows95/98/NT, *Nucleic Acid Symposium*, 41: 95-98.

HORAI, S., R. KONDO, Y. NAKAGAWA-HATTORI, S. HAYASHI, S. SONODA Y K. TAJIMA
1993 Peopling of the Americas, founded by four major lineages of mitochondrial DNA, *Molecular Biology and Evolution*, 10 (1): 23-47.

INGMAN, M., H. KAESSMANN, S. PÄÄBO Y U. GYLLENSTEN

- 2000 Mitochondrial genome variation and the origin of Modern Human, *Nature*, 408: 708-713.

KEMP, B., R. MALHI, D. BOLNICK, J. ESHLEMAN, O. RICKARDS, C. MARTÍNEZ-LABARGA, J. JOHNSON, J. LORENZ, E. DIXON, T. FIFIELD, T. HEATON, R. WORL Y D. SMITH

- 2007 Genetic analysis of early Holocene skeletal remains from Alaska and its implications for the settlement of the Americas, *American Journal of Physical Anthropology*, 132: 605-621.

LIBRADO, P. Y J. ROZAS

- 2009 DnaSPv5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data, *Bioinformatics*, 25: 1 451-1 452.

MALHI, R., H. MORTENSEN, J. ESHLEMAN, B. KEMP, J. LORENZ, F. KAESTLE, J. JOHNSON, C. GORODEZKY Y D. GLEEN SMITH

- 2003 Native American mtDNA Prehistory in the American Southwest, *American Journal of Physical Anthropology*, 120: 108-124.

MALHI, R., J. CYBULSKI, J. JOHNSON, H. HARRY Y C. DAN

- 2010 Brief communication: mitochondrial haplotype C4c confirmed as a founding genome in the Americas, *American Journal of Physical Anthropology*, 141 (3): 494-497.

MESA, N., M. MONDRAGÓN, I. SOTO, M. PARRA, D. CONSTANZA, D. ORTÍZ BARRIENTOS, L. GARCÍA, I. VELEZ, M. BRAVO, J. MÚNERA, G. BEDOYA, M. C. BORTOLINI Y A. RUIZ-LINARES

- 2000 Autosomal, mtDNA, and Y-Chromosome diversity in Amerinds: Pre and Post Columbian patterns of gene flow in South America, *American Journal of Human Genetics*, 67: 1 277-1 286.

- TAMM, E., T. KIVISILD, M. REIDLA, M. METSPALU, D. GLEEN-SMITH, C. MULLIGAN, C. BRAVI, O. RICKARDS, C. MARTÍNEZ-LABARGA, E. KHUSNUTDINOVA, S. FEDOROVA, M. GOLUBENKO, V. STEPANOV, M. GUBINA, S. ZHADANOV, L. OSSIPOVA, L. DAMBA, M. VOEVODA, J. DIPIERRI, R. VILLEMS Y R. MALHI
 2007 Beringian Standstill and Spread of Native American Founders, *Public Library of Science*, 2 (9): 1-6.
- TAMURA, K., D. PETERSON, N. PETERSON, G. STECHER, M. NEI Y S. KUMAR
 2011 Mega 5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods, *Molecular Biology and Evolution*, 28 (10): 2 731-2 739.
- TORRONI, A., T. SCHURR, C. YANG, E. SZATHMARY, R. WILLIAMS, M. SCHANFIELD, G. TROUP, W. KNOWLER, D. LAWRENCE, K. WEISS Y D. WALLACE
 1992 Native American mitochondrial DNA analysis indicates that the Amerind and the Nadene Populations were founded by two independent migrations, *Genetics*, 130: 153-162.
- TORRONI, A., T. SCHURR, M. CABELL, M. BROWN, J. NEEL, M. LARSEN, D. SMITH, C. VULLO Y D. WALLACE
 1993 Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNA, *American Journal of Human Genetics*, 53: 563-590.
- QUINTANA-MURCI, L., O. SEMINO, H. J. BANDELT, G. PASSARINO, K. MCELREAVY Y A. S. SANTACHIARA-BENECERETTI
 1999 Genetic evidence of an early exit of *Homo sapiens sapiens* from Africa through eastern Africa, *Nature Genetics*, 23: 437-441.
- SANDOVAL, K.
 2010 Linguistic and maternal genetic diversity are not correlated in Native Mexicans, *Human Genetics*, 126 (4): 521-531.
- SCHURR, T., S. BALLINGER, Y. GAN, J. HODGE, D. MERRIWETHER, D. LAWRENCE, W. KNOWLER, K. WEISS Y D. WALLACE
 1990 Amerindian mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies, suggesting they derived from four primary maternal lineages, *American Journal of Human Genetics*, 46: 613-623.