

ANÁLISIS DEL ADN MITOCONDRIAL DE TRES SERIES ANTIGUAS MEXICANAS

Eduvigis Solórzano,* ** Nancy Díaz,* **
Rafael Montiel,* ***Assumpció Malgosa*

* *Unitat d'Antropologia Biològica, Universitat Autònoma de Barcelona, España*

** *Departamento de Biopatología, Facultad de Odontología, Universidad
de Los Andes, Mérida, Venezuela*

*** *Departamento de Biologia-CIRN, Universidade dos Açores, Portugal*

RESUMEN

Se ha analizado ADN mitocondrial (ADNmt) de restos humanos de yacimientos ubicados en el altiplano mexicano: Tlatelolco, Los Olmos y Hospital San Juan de Dios, con la finalidad de inferir, desde la visión de los linajes maternos, la dinámica de las poblaciones antiguas mexicanas. Para ello, se estudiaron marcadores del ADNmt a partir de la restricción enzimática de la región codificante y de la secuenciación de un fragmento de la región híper-variable I (HVI), se observó una total correspondencia entre ambos análisis. De los 93 individuos estudiados, 78 fueron clasificados dentro de los cuatro principales haplogrupos americanos y tres no segregaron para ninguno de ellos. En éstos últimos, los datos actuales permiten suponer un linaje africano perteneciente a uno de los haplogrupos L1, L2 o L3. Los resultados muestran continuidad genética entre las tres series, Los Olmos tiene una la distribución atípica del ADNmt, lo que indica un fuerte declive, producto, posiblemente, del proceso de colonización. Por otra parte, el aporte europeo está virtualmente ausente en los linajes maternos; sin embargo, destaca el hallazgo de tres individuos de la serie Hospital San Juan de Dios con linajes maternos africanos.

PALABRAS CLAVE: Mesoamérica, ADN antiguo, ADN mitocondrial.

ABSTRACT

Mitochondrial DNA from human skeletal remains from the Mexican Plateau (the Mexican "Altiplano") were analyzed, in order to gain insights, with the information that the maternal lineages can provide us, into dynamics of the ancient Mexican populations. mtDNA markers have been studied both by specific restriction enzyme analysis in the coding region and by sequencing of the HVI segment. Full correspondence among mitochondrial markers was found. Eighty seven out of the 102 individuals studied were classified into one of the four major founding mtDNA haplogroups described for Native Americans while three of them didn't segregate for any of these haplogroups. For these samples, the current data indicate an African lineage, either from L1, L2 or L3 haplogroups. The result showed that there is a genetic continuity among the three ancient series. Nevertheless, mtDNA atypical distribution in the series of Los Olmos allows us to hypothesize that this population could suffer a strong declivity due to colonization processes. The maternal European contribution to the samples analyzed was virtually absent. However, is worth to note the finding of three individuals with African mitochondrial inheritance in the series from Hospital San Juan de Dios.

KEY WORDS: Mesoamerica, ancient DNA, mitochondrial DNA.

INTRODUCCIÓN

Los hallazgos arqueológicos y las evidencias antropológicas en América, desde la década de los 80, se han sustentado en análisis genéticos utilizando diversos marcadores. Una herramienta muy importante ha sido sin duda el análisis del ADN mitocondrial (ADNmt), que ha proporcionado una amplia información en los estudios de la evolución histórica de la especie humana. La secuencia total del genoma mitocondrial humano fue publicada por Anderson *et al.* en 1981 (Anderson *et al.* 1981). Es una molécula duplo-helicoidal circular cerrada de ± 16.569 pb. En este genoma las mutaciones se acumulan secuencialmente formando linajes independientes conocidos como haplotipos; de modo que las relaciones filogenéticas entre los haplotipos mitocondriales reflejan las relaciones genealógicas matrilineales. Las mutaciones basales (sitios polimórficos estables) son compartidas por grupos de linajes denominados haplogrupos, los cuales son específicos en los continentes (Maca-Meyer *et al.* 2001). Las investigaciones sobre la variación del ADNmt en las poblaciones del Norte, Centro y Sudamérica (Torroni *et al.* 1992, 1993; Stone y Stoneking 1998, Lalueza *et al.* 1997) han coincidido en que los aboríge-

nes de este continente comparten sólo cuatro de los haplogrupos presentes en la población asiática ancestral (A, B, C y D), definidos por mutaciones específicas en las regiones codificante y de control, lo que confirma la teoría del desplazamiento migratorio del hombre a través del estrecho de Bering. Los avances en las técnicas de genética molecular han permitido recuperar pequeños segmentos de ADN de restos antiguos, especialmente de ADNmt, cuyas características favorecen su preservación en relación con el ADN nuclear. No obstante, recientemente se han publicado trabajos sobre marcadores autosómicos y cromosoma-Y (Keyser-Tracqui *et al.* 2003) que complementan los análisis previos en material antropológico.

En este estudio se analiza el ADNmt de individuos pertenecientes a tres poblaciones antiguas localizadas en el Altiplano mexicano: Tlatelolco, Los Olmos y Hospital San Juan de Dios que incluyen una serie prehispánica y dos series posteriores al contacto con la finalidad de aportar datos para la caracterización genética desde la época prehispánica hasta el Virreinato de la Nueva España, especialmente a partir del ADN mitocondrial, y de esta manera contribuir al esclarecimiento de los posibles movimientos poblacionales que han dado origen a la población mexicana actual.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron de forma aleatoria 93 dientes, en buenas condiciones de conservación de individuos pertenecientes a tres de las colecciones esqueléticas del Instituto Nacional de Antropología e Historia (INAH) de México. Este material fue proporcionado por los investigadores del proyecto "Time variation in Mesoamerica: testing the effects of the European contact and reconstructing scenarios" GR 6863, de la Wenner-Gren Foundation for Anthropological Research. Los dientes con caries, fracturas o fisuras fueron excluidos; asimismo, se descartaron los dientes de individuos infantiles o jóvenes con raíces incompletas o forámenes apicales abiertos, ya que cualquiera de estos casos podría representar una puerta de entrada de ADN contaminante y otras sustancias inhibitorias de las reacciones enzimáticas. La muestra comprende tres series localizadas en el contexto geográfico del Altiplano mexicano: 30 individuos del yacimiento prehispánico de la ciudad de Tlatelolco, Ciudad de México (Posclásico tardío mesoamericano, datados entre 1350-1400 aproximadamente); 36 individuos del

yacimiento de la época del contacto en la comunidad de Los Olmos, que corresponde a un asentamiento colonial llamado Tetetzontlilco, en el municipio Tizayuca, estado de Hidalgo (siglo XVI entre 1531-1600); y 27 individuos del yacimiento Hospital San Juan de Dios, Ciudad de México (siglo XIX).

La fase experimental se realizó siguiendo la metodología descrita por Malgosa *et al.* (2005). En los procedimientos de laboratorio se establecieron criterios de esterilización que consisten en: lavado de equipos, instrumental y material de vidrio con soluciones de hipoclorito de sodio al 10% y alcohol etílico al 70%; y esterilización en autoclave y radiación con luz ultravioleta. Los procesos de extracción y amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) se realizaron en un laboratorio dedicado exclusivamente al trabajo con ADN antiguo, físicamente separado de las áreas en las que se realizaron los procedimientos posteriores a la PCR (post-PCR), restringiendo así la contaminación por transporte de amplicones (*carryover*).

Extracción y precipitación de ADN

Los dientes se esterilizaron mediante inmersión en hipoclorito de sodio al 10% y exposición a luz ultravioleta. En cada extracción se procesaron de cuatro a cinco dientes; asimismo, en el proceso se incluyó un blanco de extracción que contenía sólo los reactivos para el control de la contaminación. Del conducto radicular, por medio de instrumental odontológico, se obtuvo polvo de dentina (~0.05gr.) que fue sometido a digestión enzimática con 0.1mg/ml de proteinasa K, en tampón de extracción (EDTA 0.5M pH 8, Tris-HCl 1M pH 8.0-8.5, SDS al 10%), incubándolo a 37° C durante toda la noche. La extracción de ADN se realizó con fenol/cloroformo y la purificación y concentración se llevó a cabo con centrífuga 30 (Millipore®). Los extractos de ADN en suspensión se almacenaron a 4°C durante tres días, con la finalidad de minimizar los efectos de los inhibidores de la PCR (Montiel *et al.* 1997).

Caracterización genética

El estudio del ADNmt se basó en el análisis de sitios polimórficos estables en la región codificante, incluidos polimorfismos de restricción (RFLPs

por sus siglas en inglés), una delección polimórfica y la secuenciación de un fragmento de la región híper-variable I (HVI). Se analizaron los cuatro marcadores del ADNmt descritos para linajes de nativos americanos por Wallace *et al.* (1985) y Torroni *et al.* (1992). Se amplificaron mediante PCR fragmentos de la región codificante que contienen los sitios de restricción específicos para los linajes americanos y la delección de 9 pb (cuadro 1). Sólo en el caso de que la muestra no fuese asignada a ninguno de los principales linajes americanos, se procedió al análisis de la posición polimórfica que define al haplogrupo X. En cada proceso se incluyeron blancos de extracción y un control negativo de amplificación, que contenía todos los reactivos excepto ADN, para el control de contaminación.

Las muestras que resultaron negativas para los cinco haplogrupos fundadores americanos se analizaron para la posición polimórfica 10871 *MnlI* (cuadro 1), la cual define su pertenencia, ya sea a uno de los haplogrupos europeos (Pre-HV, HV, H, V, U, K, J, T, I, X, W, otros), o a cualquiera de los haplogrupos L1, L2, L3, M (Santos C. *et al.* 2004).

Para el análisis de la región HVI se amplificaron fragmentos solapantes de entre 87 y 400 pb (cuadro 1). El producto amplificado y purificado se sometió a la reacción de secuenciación con *Big Dye* ABI PRISM® v3.1. Las secuencias se visualizaron con el programa Chromas v1.45 y se alinearon, la verificación se realizó manualmente con el programa BioEdit v5.0.9.1, usando como referencia la secuencia de Cambridge (CRS) (Anderson *et al.* 1981).

RESULTADOS

Del total de 93 individuos estudiados, 78 pertenecen a uno de los cuatro principales linajes descritos para aborígenes americanos y tres sujetos de la serie Hospital San Juan de Dios resultaron negativos para estos marcadores, inclusive para el quinto y menos frecuente linaje americano, el haplogrupo X. Con la finalidad de intentar definir el origen geográfico de sus linajes maternos, estos individuos fueron sometidos a restricción para la posición 10871 *MnlI*, con resultado negativo en los tres casos, por lo cual lo más probable es que pertenezcan a alguno de los haplogrupos africanos L1, L2 o L3. De hecho, en una de las muestras (SJD26L2a) se logró la secuencia de un fragmento de 190 pb, que contiene variantes

Cuadro 1
Descripción de los *primers* utilizados para cada uno de los fragmentos amplificados en la región codificantes y en la región de control

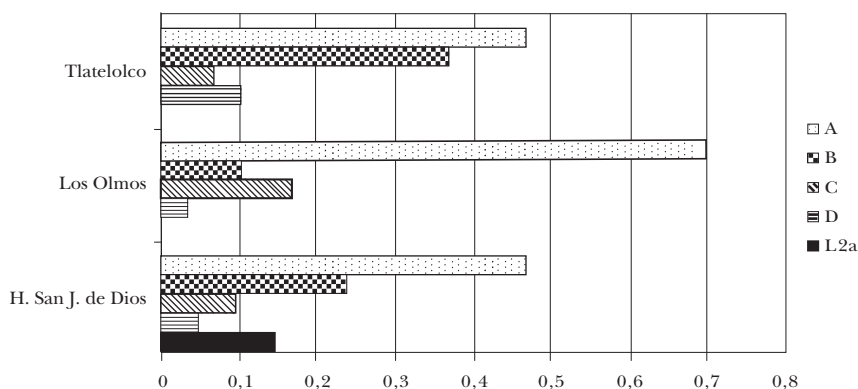
Haplogrupo	<i>Primers</i> ^a	Tamaño (bp)	Coordenadas ^a	Secuencias de <i>Primers</i> (5' - 3')	Referencias
A	F-635/R-708	120	609-635	TGAAAATGCTTTAGACGGCCTCACATC	Stone & Stoneking 1998
			729-708	TAGAGGGTCAACTCACTGGAAC	
B	F-8215/R-8297	121	8195-8215	ACAGTTTCATGCCCATGGTC	Stone & Stoneking 1998
			8316-8297	ATGCTAAGTTAGCTTTACAG	
C	F-13257/R-13393	181	13235-13257	AATCGTAGCCTTCTCCAGTTCA	Stone & Stoneking, 1998
			13416-13393	TCCTATTTTTCGAATATCTTGTTTC	
D	F-5054/R-5189	182	5028-5054	TAGGATCAATAATAGCAGCTCTACCG	Stone & Stoneking 1998
			5210-5189	GGGTGGATGGAATTAAGGGTGT	
X	F-14419/R-14513	134	14399-14419	ACACTCAACCAAGACCTCAAC	Solórzano 2006
			14533-14513	GGGAGGTTATATGGGTTTAA	
10871 <i>Mn/I</i>	F-10849/R-10912	104	10828-10849	TGAATCAACACAAACCAACCCAC	Montiel R. Comunicación personal
			10932-10912	AGGAAAAGGTTGGGGAACAG	
	F-15996		15975-15996	CTCCACCATTAGCACGCCAAAGC	Montiel 2001
	R-16255		16274-16255	CCTAGTGGGTGAGGGGTGGC	Montiel 2001
	F-16209		16190-16209	CCCCATGCTTACAAAGCAAGT	Montiel 2001
	R-16401		16420-16401	TGATTTACGGGAGGATGGTG	Montiel 2001
	F-16313		16292-16313	CACCCTTAACAGTACATAGTAC	Montiel 2001
	R-16320		16339-16320	GTGCTATCTACGGTAAATGG	Solórzano 2006

a: numerado según *CRS*, Anderson *et al.* 181, C: citosina, T: timina, A: adenina, G: guanina, F (*forward*), R (*reverse*)

nucleotídicas que corresponden al subhaplogrupo africano L2a. Lamentablemente, no se pudo continuar con su caracterización debido a que los extractos se agotaron y no contamos con más dientes para realizar nuevas extracciones; cabe señalar que la muestra está constituida por dientes aislados.

Es bien conocido que las investigaciones con ADN antiguo presentan dificultades inherentes al daño molecular que algunas veces impide obtener suficiente ADN amplificable, tal es el caso de nueve individuos, en los cuales no se consiguió la secuenciación de los fragmentos de la región HVI. No obstante, se lograron obtener 63 secuencias legibles de 190 pb y nueve de 400 pb con un rendimiento global total de 88.8%.

En la gráfica 1 se observa el análisis de frecuencias de haplogrupos de las tres series antiguas mexicanas. El haplogrupo A es el linaje dominante. En el caso de la serie Tlatelolco éste haplogrupo alcanza un 0.467, en tanto que el B presenta 0.367, siendo la mayor frecuencia observada entre las tres series examinadas. Finalmente los haplogrupos C y D están representados con 0.066 y 0.10, respectivamente. En Los Olmos el haplogrupo A también muestra la mayor frecuencia (0.70); el haplogrupo C también exhibe la mayor de las tres series (0.167). Contrariamente, el haplogrupo B exhibe la más baja (0.10). En esta serie, la distribución de los haplogrupos B y C difiere de lo observado en las series de Tlatelolco y Hospital San Juan de Dios e incluso en un contexto general si lo confrontamos con datos publicados. El D tiene la menor frecuencia



Gráfica 1. Frecuencias relativas de haplogrupos de las series Tlatelolco, Los Olmos y Hospital San Juan de Dios.

de todos los haplogrupos (0.033). En la serie Hospital San Juan de Dios la distribución de los haplogrupos analizados está más relacionada con la encontrada en Tlatelolco, A 0.476; B 0.238; C 0.095 y D 0.047, cada uno. De esta serie, tres de los individuos no pertenecen a ninguno de los cinco linajes fundadores americanos, lo que representa 0.142.

En cuanto al análisis de secuenciación de la región HVI, para cada una de las series analizadas (27 Tlatelolco, 26 Los Olmos y 17 Hospital San Juan de Dios), hay una total correspondencia entre RFLPs/delección y las secuencias del HVI (cuadros 2 y 3), asimismo en cada grupo, de las 19 extracciones realizadas, se han obtenido resultados distintos, tanto en el análisis de restricción enzimática (diferentes frecuencias) como en la secuenciación (diferentes secuencias), lo que disminuye la probabilidad de que éstos provengan de eventos de contaminación entre las muestras o de una contaminación con ADN exógeno. La correspondencia entre los resultados de estas dos metodologías, restricción y secuenciación, se reconoce como un criterio de autenticidad cuando se analiza el ADNmt proveniente de restos antiguos (Montiel *et al.* 2001, Bandelt 2005).

Debido al escaso número de secuencias de 400 pb, los análisis entre las secuencias nucleotídicas se realizaron tomando como base un fragmento de 162 pb entre las posiciones 16209-16370. Según lo establecido por Montiel (2001), este fragmento contiene suficiente información para realizar análisis filogenéticos y producir resultados similares a los obtenidos en segmentos de mayor tamaño. No obstante, el análisis de Montiel (2001) fue realizado con secuencias europeas y aún queda por determinar si en secuencias americanas se obtendrá el mismo resultado. Gilbert *et al.* (2003) también señalan que esta región (la media del HVI) contiene la mayoría de las variantes filogenéticas.

Se analizaron 162 posiciones nucleotídicas, de las cuales 60 sitios son polimórficos, que incluyen 21 sitios para cada serie Tlatelolco y Los Olmos y 18 para Hospital San Juan de Dios. De las posiciones polimórficas, 59 son transiciones (substitución de purina por purina o pirimidina por pirimidina) y corresponden al mayor número de transiciones entre pirimidinas que entre purinas (22 T→C, 23 C→T, 9 A→G y 4 G→A), así como una tranversión (substitución de purina por pirimidina o viceversa) tipo C→G, en la posición 16270 observada en la secuencia TL22B de la serie Tlatelolco. Una tranversión en esta posición nucleotídica no es especialmente común; sin embargo, según Excoffier y Yang (1999), este

sitio tiene una alta tasa mutacional *in vivo*. Es posible que esta transversión sea simplemente producto de un daño molecular *post-mortem* o de la inserción de bases erróneas durante el proceso de amplificación, aunque la secuencia fue replicada a partir de dos productos de PCR independientes y se observaron los mismos resultados.

16 haplotipos distintos se encontraron en la serie Tlatelolco, 17 en Los Olmos y 16 en Hospital San Juan de Dios. De éstos, nueve son compartidos:

Cuadro 2

Resultados obtenidos por secuenciación de la región HVI (Haplotipo) y RFLPs (Haplogrupo) en la serie Tlatelolco (TL)

Muestra	Haplotipo (+16000)	Haplogrupo
TL01A	223T, 290T, 319A, 362C	A
TL02A	223T, 290T, 319A, 362C	A
TL03A	223T, 290T, 319A, 362C	A
TL04A	223T, 290T, 319A, 362C	A
TL05A	223T, 261T, 274G, 290T, 319A, 362C	A
TL06A	223T, 290T, 319A, 356C, 362C	A
TL07A	223T, 257T, 311C, 290T, 319A	A
TL08A	223T, 311C, 290T, 319A, 362C	A
TL09A	223T, 249C, 264T, 290T, 319A, 362C	A
TL10A	223T, 289G, 290T, 319A, 362C	A
TL11A	223T, 257T, 290T, 311C, 319A, 344T, 362C	A
TL12A	223T, 290T, 319A, 362C	A
TL13A	223T, 240G, 290T, 319A, 362C	A
TL14A	223T, 289G, 290T, 319A, 362C	A
TL15B	217C	B
TL16B	217C	B
TL17B	217C, 298C	B
TL18B	217C	B
TL19B	217C	B
TL20B	217C, 241G, 362C	B
TL21B	217C	B
TL22B	217C, 270G, 278T	B
TL23C	223T, 298C, 325C, 327T	C
TL24C	223T, 298C, 311C, 325C, 327T	C
TL25D	223T, 325C, 362C	D
TL26D	223T, 325C, 362C	D
TL27D	223T, 325C, 362C	D

Cuadro 3

Resultados obtenidos por secuenciación de la región HVI
(Haplotipo) y RFLPs (Haplogrupo) en las series Los Olmos
y Hospital San Juan de Dios

Muestra	Haplotipo (+16000)	Haplogrupo
LO01A	223T, 277G, 290T, 319A, 326G, 362C	A
LO02A	223T, 290T, 319A, 326G, 362C	A
LO03A	223T, 288C, 290T, 319A, 362C	A
LO04A	223T, 290T, 319A, 326G, 362C	A
LO05A	290T, 319A, 362C	A
LO06A	223T, 257T, 290T, 311C, 319A, 344T, 362C	A
LO07A	223T, 290T, 319A, 362C	A
LO08A	223T, 264T, 290T, 319A	A
LO09A	223T, 290T, 319A, 362C	A
LO10A	223T, 234T, 267T, 290T, 319A, 362C	A
LO11A	223T, 290T, 319A, 362C	A
LO12A	223T, 290T, 319A, 362C	A
LO13A	223T, 290T, 319A, 362C	A
LO14A	223T, 290T, 362C	A
LO15A	223T, 274A, 290T, 319A, 362C	A
LO16A	223T, 290T, 319A, 362C	A
LO17A	223T, 278T, 290T, 319A, 326G, 328T, 362C	A
LO18A	223T, 290T, 319A, 362C	A
LO19A	223T, 290T, 319A, 362C	A
LO20B	217C, 362C	B
LO21B	217C	B
LO22C	223T, 325C, 327T, 362C	C
LO23C	223T, 298C, 311C, 325C, 327T	C
LO24C	223T, 298C, 325C, 327T	C
LO25C	223T, 298C, 325C, 327T	C
LO26D	223T, 271C, 325C, 362C	D
Muestra	Haplotipo	Haplogrupo
SJD03A	223T, 290T, 319A, 362C	A
SJD04A	223T, 290T, 319A, 360T, 362C	A
SJD05A	223T, 290T, 311C, 319A, 362C	A
SJD06A	223T, 290T, 319A, 356C, 362C	A
SJD09A	223T, 290T, 311C, 319A, 362C	A
SJD10A	223T, 265G, 290T, 311C, 319A, 362C	A
SJD11A	223T, 290T, 319A, 335G	A
SJD12A	223T, 278T, 290T, 311C, 319A, 362C	A
SJD13A	223T, 290T, 292T, 311C, 319A, 362C	A
SJD14A	223T, 290T, 319A, 362C	A
SJD15B	217C, 298C	B
SJD16B	217C	B
SJD17B	217C	B
SJD18B	217C	B
SJD19B	223T	B
SJD21C	223T, 325C, 327T	C
SJD22C	223T, 325C, 327T	C
SJD25D	223T, 325C, 362C	D
SJD26L2a	223T, 278T, 294T, 309G, 335T	L2a

tres haplotipos (TL11A, TL23C y TL24C) entre Tlatelolco y Los Olmos, cuatro (TL06A, TL08A, TL17B y TL25D) los comparten Tlatelolco y Hospital San Juan de Dios y dos (TL01A y TL15B) son comunes para las tres series. Asimismo, en la comparación de las series analizadas, 27 secuencias son únicas: siete pertenecen a Tlatelolco, ocho a Hospital San Juan de Dios y Los Olmos tiene 12 secuencias únicas, siendo la que presenta el mayor número de linajes propios; en cada serie hay dos individuos que comparten una de estas secuencias.

DISCUSIÓN

En nuestros resultados existe una total correspondencia entre los polimorfismos de la región codificante para los principales haplogrupos mitocondriales americanos y la combinación de las sustituciones en la región de control en las muestras mexicanas antiguas, lo que avala la autenticidad del ADN antiguo obtenido, como lo definen Montiel *et al.* (2001) y lo ratifica Bandelt (2005), por lo que consideramos extremadamente reducida la probabilidad de cualquier tipo de contaminación entre las muestras o de una contaminación externa por los investigadores. Es importante resaltar, además, que en los laboratorios de la Universitat Autònoma de Barcelona (España), en donde se realizó esta investigación, nunca antes se había procesado ADN de muestras antiguas ni actuales procedentes del continente americano.

La serie más antigua está representada por muestras esqueléticas provenientes de Tlatelolco. La distribución de frecuencias de haplogrupos es comparable con la mayoría de las muestras americanas y especialmente mexicanas encontradas en la literatura, tanto antiguas (Lalueza *et al.* 1997, González-Oliver *et al.* 2001, Kemp *et al.* 2005) como contemporáneas (Torroni *et al.* 1994, Santos M. *et al.* 1994, Kolman y Bermingham 1997, Green *et al.* 2000), lo que permite suponer que el modelo de distribución de frecuencias de haplogrupos observados en nativos mexicanos contemporáneos, probablemente sea un modelo que se ha mantenido a lo largo de su historia. Es interesante destacar que Tlatelolco, desde sus orígenes, se dedicó fundamentalmente al comercio. En esta ciudad existió uno de los mercados indígenas más notables de su tiempo y el más importante de Mesoamérica, estos datos históricos permiten suponer una gran movilidad demográfica en esta zona.

La serie de Tlatelolco comparte un mayor número de secuencias con Hospital San Juan de Dios, esto no implica que no se detecten niveles de similitud entre Tlatelolco y Los Olmos, sólo que se hace más evidente la continuidad genética de las series de Tlatelolco y Hospital San Juan de Dios, posiblemente debido a circunstancias históricas inherentes a Los Olmos que se relaciona con la época crítica del contacto europeo.

Los restos esqueléticos de Los Olmos pertenecen a un asentamiento rural de la época colonial (siglo XVI) que tenía poco menos de 2 000 habitantes con una ubicación distante de los poblados aledaños. Según Prada y Sterpone (1999) en este yacimiento se detectaron dos prácticas de enterramiento (inhumaciones individuales y enterramientos de tipo colectivo), lo que sugiere una época de gran mortalidad, razón por la cual se supone que este poblado desapareció aproximadamente en el año 1600. Su nivel de aislamiento sustenta los datos genéticos encontrados en el análisis que sugieren una posible endogamia, debido al elevado número de individuos caracterizados con el haplogrupo A (0.70) y una disminución significativa de individuos pertenecientes al B (0.10). La distribución atípica de los linajes mitocondriales detectados en esta serie puede ser el resultado de la actuación de la deriva genética, ya que las poblaciones con un bajo número de habitantes son más vulnerables a sus efectos, reflejando una disminución de la diversidad genotípica de la población.

Por otra parte, esta serie exhibe la mayor cantidad de haplotipos únicos y no comparte ninguno con la colonial del Hospital San Juan de Dios, con las excepciones de los haplotipos basales descritos para el fragmento analizado que son compartidos por las tres series. La población de Los Olmos corresponde a un grupo pequeño, por ello es posible que muchos de sus haplotipos se perdieron cuando la mayoría de sus habitantes murieron durante la etapa crítica de las pandemias, y ésta sea la causa por la cual no se detectaron haplotipos compartidos con la serie más reciente (siglo XIX), como es Hospital San Juan de Dios.

En relación con la serie Hospital San Juan de Dios, es bien sabido que la introducción española en las Américas y especialmente en México produjo altos niveles de flujo génico que, indudablemente, afectaron la estructura demográfica de la región. Asimismo, de forma progresiva los esclavos negros traídos de África también se fueron incorporando a la sociedad colonial.

Aguirre Beltrán (1972) señala que en México, en el año 1793, la población europea estaba formada principalmente por hombres adultos y que las mujeres representaban apenas el 1.5% de la población. Este desequilibrio trajo como principal consecuencia la mezcla entre hombres españoles y mujeres indígenas, motivo por el cual comenzó el mestizaje racial, que fue fortaleciéndose progresivamente a lo largo de la Colonia. Este mestizaje, obviamente, no se puede detectar a nivel mitocondrial debido a su herencia exclusivamente materna.

Análisis previos de la morfología cráneo-facial en la serie Hospital San Juan de Dios determinaron valores morfométricos intermedios entre ancestros españoles y amerindios (Martínez *et al.* 2006), lo cual sugiere que son grupos mestizos. Los resultados de nuestro estudio a nivel del ADNmt muestran una composición genética primordialmente amerindia, que se corresponde con datos de poblaciones aborígenes contemporáneas mexicanas. Se trata de individuos de origen materno americano, pero muchos de ellos posiblemente poseen un linaje paterno europeo. Por otra parte, la distribución de frecuencias de haplogrupos es muy similar a la observada en la serie Tlatelolco, con excepción de tres individuos que resultaron negativos para los principales linajes americanos. Estos mismos también fueron negativos para un posible linaje europeo. Por lo cual, lo más probable es que tengan un origen materno africano. Lamentablemente, sólo en un individuo (SJD26L2a) se confirmó este supuesto, con la secuencia del fragmento de 190 pb del HVI, que contiene los sitios polimórficos 16223T, 16278T, 16294T, 16309G, típicos del subhaplogrupo africano L2a que es el más común en toda África, y éste se divide en dos subconjuntos por la mutación 16309G, en donde el grupo que contiene esta mutación específica es el África occidental (Torroni *et al.* 2001).

En América, los esclavos negros procedían fundamentalmente de la franja situada entre Senegal y Angola (costa atlántica del oeste africano), y la secuencia asignada al subhaplogrupo L2a contiene, además, el cambio nucleotídico G→A en la posición 16309, característica de esta región geográfica, por lo cual nuestros datos a nivel mitocondrial se corresponden con el contexto histórico esclavista de la época.

CONCLUSIÓN

Los linajes compartidos entre las tres series mexicanas, que además han sido descritos en otras poblaciones americanas, permiten deducir que tienen una continuidad vía materna dentro del contexto americano; obviamente, en todos los casos, con las reservas debidas a la limitación del fragmento analizado. Esto ratifica la autenticidad del ADN obtenido, lo que indica que el espectro mutacional es propio y no producto de contaminaciones o daño molecular.

En cuanto al impacto genético del proceso de colonización española, en México está virtualmente ausente el aporte europeo a nivel de linajes maternos debido, posiblemente, a que el proceso de mestizaje fue de tipo unidireccional: hombre español-mujer indígena. No obstante, el hallazgo de tres individuos de la serie Hospital San Juan de Dios con posibles linajes maternos africanos se corresponde con el modelo esclavista de la época y muestra su mestizaje con la población mexicana.

Agradecimientos

Este trabajo tuvo el apoyo del Ministerio de Educación y Ciencia de España (CGL2005-02567/BOS) proyecto concedido a AM, ES y ND, y fueron becadas por la Universidad de Los Andes, Venezuela. RM fue becario postdoctoral de la “Fundação para a Ciência e a Tecnologia” de Portugal (SFRH/BPD/32473/2006).

REFERENCIAS

AGUIRRE BELTRÁN, G.

1972 *La población negra de México. Estudio etnohistórico*, Editorial Fondo de Cultura Económica, Ciudad de México.

ANDERSON, S, A. T. BANKIER, B. G. BARRELL, M. H. DE BRUIJN, A. R. COULSON, J. DROUIN, I. C. EPERON, D. P. NIERLICH, B. A. ROE, F. SANGER, P. H. SCHREIER, A. J. SMITH, R. STADEN, I. G. YOUNG

1981 Sequence and organization of the human mitochondrial genome, *Nature*, 290(5 806): 457-65.

BANDELT, H. J.

- 2005 Mosaics of ancient mitochondrial DNA: positive indicators of nonauthenticity, *European Journal of Human Genetic*, 13(10): 1 106-1 112.

EXCOFFIER, L., Z. YANG

- 1999 Substitution rate variation among sites in mitochondrial hypervariable region I of humans and chimpanzees, *Molecular Biology and Evolution*, 16(10):1 357-1 368.

GILBERT, M. T., E. WILLERSLEV, A. J. HANSEN, I. BARNES, L. RUDBECK, N. LYNNERUP, A. COOPER

- 2003 Distribution patterns of postmortem damage in human mitochondrial DNA, *American Journal of Human Genetic*, 72(1): 32-47.

GONZÁLEZ-OLIVER, A., L. MÁRQUEZ-MORFÍN, J. JIMÉNEZ, A. TORRE-BLANCO

- 2001 Founding Amerindian mitochondrial DNA lineages in ancient Maya from Xcaret, Quintana Roo, *American Journal of Physical Anthropology*, 116(3): 230-235.

GREEN, L. D., J. N. DERR, A. KNIGHT

- 2000 mtDNA affinities of the peoples of North-Central Mexico, *American Journal of Human Genetic*, 66(3): 989-998.

KEMP, B. M, A. RESÉNDEZ, R. BERRELLEZA, R. S. MALHI, D. G. SMITH

- 2005 An analysis of ancient Aztec mtDNA from Tlatelolco: Pre-columbian relations and the spread of Uto-aztecán, en D. M. Reed (ed.), *Biomolecular Archaeology: Genetic approaches to the past*, 32, pp. 22-46, Southern Illinois University, Illinois.

KEYSER-TRACQUI, C., E. CRUBEZY, B. LUDES

- 2003 Nuclear and mitochondrial DNA analysis of a 2 000-year-old necropolis in the Egyin Gol Valley of Mongolia, *American Journal of Human Genetic*, 73(2): 247-260.

KOLMAN, C. J., E. BERMINGHAM

- 1997 Mitochondrial and nuclear DNA diversity in the Choco and Chibcha Amerinds of Panama, *Genetics*, 147(3): 1 289-1 302.

LALUEZA, C., A. PÉREZ-PÉREZ, E. PRATS, L. CORNUDELLA, D. TURBON

- 1997 Lack of founding Amerindian mitochondrial DNA lineages in extinct aborigines from Tierra del Fuego-Patagonia, *Human Molecular Genetic*, 6(1): 41-46.

- MACA-MEYER, N., A. M. GONZÁLEZ, J. M. LARRUGA, C. FLORES, V. CABRERA
 2001 Major genomic mitochondrial lineages delineate early human expansions, *BMC Genetics*, 2: 13.
- MALGOSA, A., R. MONTIEL, N. DÍAZ, E. SOLÓRZANO, A. SMERLING, A. ISIDRO, C. GARCÍA, M. SIMÓN
 2005 Ancient DNA: A modern look at the infections of the past, en S. G. Pandalai (ed.), *Recent Res Devel Microbiology, Research Signpost*, vol. 9, part II, pp. 213-23, Kerala, India, ISBN: 81-7736-243-7.
- MARTÍNEZ-ABADÍAS, N., R. GONZÁLEZ-JOSÉ, A. GONZÁLEZ-MARTÍN, S. VAN DER MOLEN, A. TALAVERA, P. HERNÁNDEZ, M. HERNÁNDEZ
 2006 Phenotypic evolution of human craniofacial morphology after admixture: A geometric morphometrics approach, *American Journal of Physical Anthropology*, 129(3): 387-398.
- MONTIEL, R.
 2001 *Estudio diacrónico de la variabilidad del mitocondrial en población Catalana*, tesis doctoral, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona. Disponible en: <http://www.tdcat.cesca.es/TDCat-0726101-095837>
- MONTIEL, R., A. MALGOSA, E. SUBIRA
 1997 Overcomming PCR inhibitors in ancient DNA extracts from teet, *Journal Ancient Biomolecular*, 1: 221-225.
- MONTIEL, R., A. MALGOSA, P. FRANCALACCI
 2001 Authenticating ancient human mitochondrial DNA, *Human Biology*, 73(5): 689-713.
- PRADA, M. E., O. STERPONE
 1999 Bony evidence of Kneeling posture in the Metatarsals from "Los Olmos" (Hidalgo, México), en J. E. Sánchez (eds.), *Actas V Congreso Nacional de Paleopatología*, pp. 48-53, Alcalá, España.
- SANTOS, C., R. MONTIEL, N. ANGLES, M. LIMA, P. FRANCALACCI, A. MALGOSA, A. ABADE, M. P. ALUJA
 2004 Determination of human caucasian mitochondrial DNA haplogroups by means of a hierarchical approach, *Human Biology*, 76(3): 431-453.
- SANTOS, M., R. H. WARD, R. BARRANTES
 1994 mtDNA variation in the Chibcha Amerindian Huetar from Costa Rica, *Human Biology*, 66(6): 963-977.

SOLÓRZANO, E.

2006 De la Mesoamérica prehispánica a la colonial: La huella del DNA antiguo, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona.

Disponible en: www.tesisenxarxa.net/TESIS_UAB/AVAILABLE/TDX-0124108-145814//esn1del.pdf

STONE, A. C., M. STONEKING

1998 mtDNA analysis of a prehistoric Oneota population: implications for the peopling of the New World, *American Journal of Human Genetic*, 62(5): 1 153-1 170

TORRONI, A., T. G. SCHURR, C. C. YANG, E. J. SZATHMARY, R. C. WILLIAMS, M. S. SCHANFIELD, G. A. TROUP, W. C. KNOWLER, D. N. LAWRENCE, K. M. WEISS, D. C. WALLACE

1992 Native American mitochondrial DNA analysis indicates that the Amerindian and the Nadene populations were founded by two independent migrations, *Genetics*, 130(1): 153-162.

TORRONI, A., R. I. SUKERNIK, T. G. SCHURR, Y. B. STARIKORSKAYA, M. F. CABELL, M. H. CRAWFORD, A. G. COMUZZIE, D. C. WALLACE

1993 mtDNA variation of aboriginal Siberians reveals distinct genetic affinities with Native Americans, *American Journal of Human Genetic*, 53(3): 591-608.

TORRONI, A., Y. S. CHEN, O. SEMINO, A. S. SANTACHIARA-BENECERETTI, C. R. SCOTT, M. T. LOTT, M., D. C. WALLACE

1994 mtDNA and Y-chromosome polymorphisms in four Native American populations from southern Mexico, *American Journal of Human Genetic*, 54(2): 303-318.

TORRONI, A., C. RENGO, V. GUIDA, F. CRUCIANI, D. SELBITTO, A. COPPA, F. L. CALDERON, B. SIMIONATI, G. VALLE, M. RICHARDS, V. MACAULAY, R. SCOZZARI

2001 Do the four clades of the mtDNA haplogroup L2 evolve at different rates? *American Journal of Human Genetic*, 69(6): 1 348-1 356.

WALLACE, D. C., K. GARRISON, W. C. KNOWLER

1985 Dramatic founder effects in Amerindian mitochondrial DNAs, *American Journal of Physical Anthropology*, 68(2): 149-155.

