



# ANALES DE ANTROPOLOGÍA



Anales de Antropología 52-2 (2018): 23-36

[www.revistas.unam.mx/index.php/antropologia](http://www.revistas.unam.mx/index.php/antropologia)

Artículo

## Análisis comparativo del ácido desoxirribonucleico mitocondrial (ADNmt) de individuos de Chiapas y Nicaragua. Evidencia de su relación genética

*Comparative analysis of mitochondrial deoxyribonucleic acid (ADNmt) of individuals from Chiapas and Nicaragua. Evidence of their genetic relationship*

Eduardo Espinoza Medinilla,<sup>1</sup> Carlos Uriel del Carpio Penagos,<sup>2</sup>  
Sergio López Mendoza,<sup>1</sup> Christian Ruiz Castillejos<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ingeniería, Laboratorio de Ecología Evolutiva, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH), Libramiento Norte 1450 Col. Lajas Maciel, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. CP 29014

<sup>2</sup> Facultad de Humanidades, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH). Calzada Samuel León Brindis y Avenida Central, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; Facultad de Arquitectura UNACH

Recibido el 25 de mayo de 2016; aceptado el 16 de marzo de 2017

### Resumen

En Mesoamérica transitaron y se asentaron en el pasado pueblos que desarrollaron grandes civilizaciones como la maya, zapoteca, teotihuacana, azteca, entre otras. Uno de estos pueblos mesoamericanos es el chiapaneca, perteneciente al extenso grupo otomangue, cuyos miembros habitaron y habitan desde el centro-norte de México, la Depresión Central y costa de Chiapas, así como la costa del Pacífico de Nicaragua hasta la península de Nicoya, en Costa Rica. Nos proponemos estudiar el ADN mitocondrial de los pueblos otomangues y particularmente de uno de ellos, el chiapaneca.

El presente artículo es el resultado de una primera exploración del área comprendida entre el centro de México hasta el río San Juan y la península de Nicoya en Centroamérica. En él se exponen los resultados del análisis genético basado en el uso del ácido desoxirribonucleico mitocondrial (ADNmt) de habitantes actuales de la ciudad de Chiapa de Corzo (10 personas, equivalentes a 20% de la mues-

### Abstract

The original inhabitants of Mesoamerica developed great civilizations such as the Maya, Zapotec, Teotihuacan, and Aztec. One of these groups are the chiapanecas, who belong to the large group of the otomangues, who lived and still live from North Central Mexico to the coast of Chiapas, and along the Pacific coast from Nicaragua to the Nicoya Peninsula in Costa Rica.

We propose to study the mitochondrial DNA of Otomanguan groups and in particular one of them, the chiapanecas, who occupied the area between the center of Mexico to the San Juan River and the Nicoya Peninsula in Central America. This article is the result of a first exploration of genetic analysis based on the use of deoxyribonucleic acid mitochondrial (mtDNA) of current inhabitants of the city of Chiapa de Corzo (10 people, equivalent to 20% of the sample), individuals originating in Nicaragua (21 samples, equivalent to 43% of the total), as well as a set of 18 samples from people of different ori-

\* Correo electrónico: [eduardo.espinoza@unicach.mx](mailto:eduardo.espinoza@unicach.mx)

tra), individuos originarios de Nicaragua (21 muestras, equivalentes a 43% del total), así como un conjunto de 18 muestras provenientes de personas de distinto origen, equivalentes a 37% de la muestra, como grupo de control. De acuerdo con las distancias genéticas obtenidas entre grupos de individuos, se sugiere que existe una relación genética muy cercana entre los habitantes de Chiapa de Corzo y los masaya de Nicaragua.

*Palabras clave:* otomangues; chiapanecas; secuencias de ADNmt; árbol filogenético.

*Keywords:* Chiapas; Nicaragua; Otomanguean; mtADN sequences; Phylogenetic Tree.

## Introducción

Mesoamérica es el área original de distribución de una diversidad de pueblos indígenas que se han diferenciado por su lengua, cultura y tradición (Sandoval-Forero 2002; León-Portilla 2007; De Ávila-Blomberg 2008; Díaz-Couder 2009). México, con 15% de su población y Guatemala, con 40%, representan en el área los países que tienen más hablantes de lenguas indígenas. En México, dicha población se localiza principalmente en los estados de Veracruz, Yucatán, Tabasco, Oaxaca, y Chiapas (Pérez-Suárez 2004; Díaz-Couder 2009) y en Guatemala en Los Altos y el Occidente, en los departamentos de Quetzaltenango, Huehuetenango y San Marcos.

En Chiapas prevalecen sociedades y culturas que pertenecen al conjunto de lenguas mayanses (Lee 1986; 1994), así como pueblos del tronco lingüístico mixe-zoque (Wichmann *et al.* 2008) y, aunque el idioma ha desaparecido, en el pasado reciente existieron también los chiapanecas, pertenecientes a la familia lingüística otomangue (Navarrete 1966; Contreras-García 2001).

Los chiapanecas se consideran como un pueblo de gran importancia histórica, social y política para Chiapas, incluso dan nombre al estado. A pesar de esto, su origen es aún polémico, lo que ha propiciado que exista una discrepancia entre autores al tratar de explicar el controversial tema de acuerdo con las evidencias existentes.

El primero en decir que los chiapanecas venían de Nicaragua fue el cronista Antonio de Herrera y Tordecillas, en 1601, dato que repiten Francisco Ximénez y Antonio de Remesal. Por otro lado, en 1925, Luis Espinoza, basándose en ciertas semejanzas entre el chiapaneca y el tupi-guaraní, así como en un documento que habla de indios Chiapa en Paraguay, postula el origen sudamericano de la etnia (Valverde *op. cit.*: 72). Por otra parte, García-Peláez (1851) y Kaufman (1974), consideran que los otomangues (entre ellos los chiapanecas), vinieron del centro de México, de donde emigraron hacia el sur hasta llegar al actual territorio de Chiapas aproximadamente a partir de 650 y hasta 800 dC. Esta emigración obligó a los otomangues a dividirse y algunas de sus ramas llegaron a regiones ubicadas más al sur, por la costa del Pacífico hasta la región del lago de Nicaragua y la península de Nicoya, en la frontera entre Nicaragua y

Costa Rica. Finalmente, Stone (1946) consideró la migración de los otomangues de México hacia Nicaragua desde tiempos remotos y posteriormente una segunda migración en sentido contrario que los trajo de vuelta hacia la actual Chiapas; situación que nuevamente incitó la polémica sobre el origen y distribución que mantuvo el pueblo chiapaneca. La hipótesis de Espinoza ha sido desechada pero no ha sido refutada de manera incuestionable, como podría hacerse hoy día utilizando la poderosa herramienta del ADNmt.

Actualmente el uso del genoma humano y la secuenciación de genes han permitido la explosión de una complejidad de técnicas moleculares (Williams *et al.* 1990; Barreto *et al.* 1996) dirigidas a determinar y aclarar en corto tiempo las relaciones filogenéticas, antropológicas y culturales entre las poblaciones humanas, a partir de pequeñas muestras biológicas (Solórzano 2006). Por lo anterior, se consideró de gran importancia la aplicación de una técnica molecular mediante el análisis del Ácido Desoxirribonucleico mitocondrial (ADNmt) de los 37 genes que lo componen; específicamente la región de inicio llamada en inglés *D-Loop*, que cuenta con 1 125 pares de bases (pb) (Pereira dos Santos 2005).

Ubicación geográfica de los chiapanecas. Historia y cultura

El idioma chiapaneca se extinguió a fines del siglo XIX. Sobrevive sin embargo una extensa toponimia, nombres patronímicos, así como fiestas y rituales, tanto en Chiapas como en Nicaragua. En 1883, el obispo de Chiapas, Moreno y Castañeda, informa a Francisco Pimentel, autor del *Cuadro descriptivo y comparativo de las lenguas de México*, que “el chiapaneco es un idioma muerto, enteramente perdido, pues la tribu que lo hablaba, mezclada entre los ladinos, como aquí los llaman, habla el español” (Pimentel 1883, citado por Borden *s/f*: 5). Sin embargo, un estudio reciente de historia demográfica sobre el área demuestra que no fue el mestizaje o la aculturación lo que extinguió a los chiapanecas, como lo sugiere Pimentel, sino las epidemias y hambrunas que asolaron la región en el curso del siglo XVIII, obligando a los sobrevivientes a emigrar (Obara-Saeki 2010).

En la Depresión Central de Chiapas, a donde llegaron entre 500 y 700 dC, tuvieron su centro en la ribe-

ra del río Grande (río Grijalva), donde desarrollaron el próspero asentamiento de *Napiniaka*, desde el cual ejercieron la hegemonía política en un territorio donde habitaban poblaciones que hablaban lenguas mayas y mixe-zoqueanas. Paulatinamente, desde su llegada, los chiapanecas fueron dominando y despojando de sus tierras a los pueblos de la depresión del río Grande Chiapas, que habitaban la región desde por lo menos 1500 aC, siendo Chiapa de Corzo el poblado de mayor jerarquía desde entonces, derivando su importancia del control que ejercía sobre el paso de canoas en el río Grijalva en una ruta de comercio que unía el Istmo de Tehuantepec y el centro de México con los Altos de Chiapas y Guatemala. El pueblo controlaba además ricas tierras de aluvión en la margen izquierda del río. El periodo de máximo esplendor del asentamiento fue entre el Preclásico tardío (400 aC-200 dC) y el Clásico temprano (250-600 dC), (Valverde 1992: 40-41).<sup>1</sup>

Según Bernal Díaz del Castillo los chiapanecas tenían su capital en la margen izquierda del río, es decir, frente a la urbe actual, afirmación refutada por Navarrete a partir de sus investigaciones arqueológicas, quien afirma que “el único lugar donde pudo haber estado la capital de los chiapanecas es donde se encuentra Chiapa de Corzo de nuestros días” (citado por Valverde *op. cit.*: 81). Existen diversos nombres para su capital, que Aguilar-Penagos (2012: 24) llama *Nanbihihna yaca námbue* (pueblo grande verdadero), o bien, según Jan de Vos (1995) *Napiniakao* “pueblo grande”. Otros autores clásicos sobre el tema lo derivan del náhuatl *chiapan*, que significa “río” o “agua de chíá” (Valverde *op. cit.*: 72).

La lengua que hablaban estos emigrantes de hace 1 500 años era una rama del tronco otomangueano, considerado como una de las familias lingüísticas más grandes y antiguas de toda Mesoamérica (Ávila-Blomberg, de 2008; Díaz-Couder 2009). Está constituida por ocho ramas: mixteca, popoloca, mangue-chiapaneca, otopame, zapoteca, chinanteca, amuzga y tlapaneca-subtiaba (Ruz-Sosa y Báez 2003: 30), que en México se extienden desde el centro norte (otomí y pame) hasta Chiapas (chiapaneca) y se prolongan a la frontera nicaragüense-costarricense (subtiaba y mangue) (Josserand 1983). Tanto el chiapaneca como el mangue están extintos desde hace por lo menos un siglo y otros están por extinguirse, como el subtiaba, del cual quedan reminiscencias en un barrio de la ciudad de León, Nicaragua.

El pueblo chiapaneca se caracterizó por ser una sociedad de cultura avanzada que tenía un grupo de guerreros, mediante el que sometieron a los hablantes de lenguas mayas y a los zoques que habitaban las riberas del actual río Grijalva. En 1523, Luis Marín, un capitán subordinado a Hernán Cortés, trató de pacificar a los chiapanecas que presentaron resistencia (Markman 1993: 22). En 1525, Diego de Mazariegos al mando de 150 soldados de infantería y 40 de caballería llegó a terminar de pacificar

la región. Durante una batalla librada en esta segunda entrada, muchos de los chiapanecas que huían por el cañón perdieron el equilibrio y cayeron al río, dando así origen a la leyenda de que prefirieron arrojar al precipicio antes que someterse al yugo de los conquistadores castellanos, aunque según Jan de Vos, quien estudió de manera acuciosa este hecho, los chiapanecas se sometieron pacíficamente (Valverde 1992: 98).

## ADN mitocondrial

El ADN mitocondrial (ADNmt) en humanos ha sido estudiado desde inicios de la década de 1980 (Anderson *et al.* 1981). Hasta hoy se ha logrado descifrar el genoma mitocondrial de muchas especies. Su secuencia comprende 16 569 pares de bases. El descubrimiento de la secuencias mitocondriales ha sido desde entonces una herramienta primordial para responder los grandes enigmas de la evolución, migración y la estrecha relación filogenética que existe entre diversas poblaciones (Hayasaka *et al.* 1988; Horai *et al.* 1993, 1995; Wakeley 1993; Fernández-Domínguez 2001; Maca-Meyer 2002; Gorostiza 2011).

El ADNmt puede encontrarse en grandes cantidades de copias en las mitocondrias (Anderson *et al.* 1981; Shuster *et al.* 1988; Avise 2004), razón por la cual hay mayor probabilidad de obtener el ADNmt que el ADN nuclear (poliplasmia) en los diversos tipos de materiales biológicos y en diminutas cantidades de muestras (Comas *et al.* 2000; Coskun *et al.* 2003; Pereira dos Santos 2005). La alta frecuencia de mutaciones (5 a 10 veces más que el ADN nuclear), el no sufrir recombinación génica y ser transmitido únicamente por la vía materna, son otras de las características únicas del ADNmt (Brown *et al.* 1979, 1982).

La estructura del ADNmt consiste en una molécula circular cerrada de doble cadena; la cadena pesada (H) rica en guaninas y la cadena ligera (L) rica en citocinas, no tiene proteínas asociadas; asimismo se encuentra organizado por la región codificante (presenta 90% del genoma mitocondrial humano con 37 genes) y la región no codificante o *D-Loop*, está formada a su vez por dos segmentos que no codifican ninguna proteína, son hipervariables y neutros. Las regiones son llamadas hipervariable I (HV1) y región hipervariable II (HV2). Corresponde al 10% del genoma restante y comprende 1 125 pb (Anderson *et al.* 1981; Avise 1994; Andrews *et al.* 1999; Malyarchuk *et al.* 2002).

## Método

### Obtención y ampliación de ADN

Las muestras sanguíneas se obtuvieron mediante punción con lanceta en el dedo anular con tres gotas de sangre y colocadas en tubo de 2 ml con EDTA como anticoagulante.

<sup>1</sup> De cualquier manera, un periodo muy amplio e impreciso, que abarca por lo menos 1 000 años.

Las muestras fueron colectadas en el estado de Chiapas, México, y entre una población de estudiantes y profesores de la Universidad Nacional de Nicaragua en la ciudad de Managua (UNAN-Managua) en el año 2011, tomada al azar. En Chiapas se seleccionaron 15 individuos de acuerdo con los apellidos de origen Chiapaneca: Nandayapa, Nuriulú, Nanguillasmú, Tipacamú y Nigenda registrados por Becerra (1937) y localizados en el municipio de Chiapa de Corzo. La extracción de ácido desoxirribonucleico se llevó a cabo a partir del método Fenol-Cloroformo, descrito en el método de Sambrook *et al.* (1989) con modificaciones. Posteriormente, se realizó la visualización del ADN extraído mediante la técnica de electroforesis en gel de agarosa al 1% (p/v), utilizando como tapón de carga 5 µl de ADN y 3 µl de azul de bromofenol, este último usado como indicador en el corrimiento del gel que va de 30 a 40 minutos con un voltaje de 100 V, cuyo campo eléctrico permite clasificar las moléculas (ADN, proteínas e isoenzimas) dentro del gel de acuerdo con su carga, tamaño y forma. Posteriormente, el gel fue teñido en bromuro de etidio (bromuro de 3,8 diamino-6-etil-5-fenilfenantridio), colorante que intercala las bases del ADN permitiendo la fluorescencia cuando se ilumina con luz ultravioleta, lo que propicia observar las bandas del marcador y las muestras de ADN. Finalmente, el tamaño de la banda luminosa proporciona la cantidad de ADN que hay en el gel y permite captar la imagen por medio de una cámara fotográfica Samsung PL100, para después ser editada con el programa *Office Microsoft Picture Manager*.

Para llevar a cabo la amplificación del gen *D-Loop*, se efectuó la reacción en cadena polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), técnica cuyo objetivo es copiar y amplificar millones de veces un fragmento de ADN mediante la mezcla de cebadores (*primers* en inglés) y la enzima polimerasa (*Taq* polimerasa); las temperaturas fueron una desnaturalización inicial de 94°C por 4 minutos, seguido de 30 ciclos de 94°C por 1 minuto, 55°C por 1 minuto y 72°C por 1 minuto, y una extensión final de 72°C durante 5 minutos y una temperatura final de 10°C por 1 minuto (Costa 2004; Rodríguez y Barrera 2004; Espinoza 2007). Los cebadores utilizados en el presente estudio fueron: L-29 GGTCTATCACCTATTAACCCAC y H-408 CTGTTAAAAGTGCATACCGCCA; de dos segmentos de la región control (*D-Loop*).

La visualización del ADN amplificado se realizó en gel de agarosa al 2% (p/v) utilizando como tampón de carga de 3 µl de producto amplificado, 1 µl de azul de bromofenol y 1 µl de marcador *ladder* de 100 pb. El programa de corrimiento del gel fue de 60 minutos a 100V para después ser teñido con bromuro de etidio al igual que la extracción de ADN. Finalmente, la imagen fue captada por la cámara fotográfica Samsung PL100 y editada en el programa *Microsoft Office Picture Manager*. Las bandas de ADN fueron purificadas con el paquete *Wizard Genomic DNA Purification Kit* de Promega con la finalidad de eliminar los residuos enzimáticos, sales y nucleótidos que no fueron utilizados en la amplificación. Las bandas

de ADN se observaron con el mismo método de tinción. La secuenciación se elaboró en la compañía MacroGen con secuenciador automático Abiprism de Perkin Elmer en la ciudad de Seúl, Corea del Sur.

### *Análisis de secuencias*

Las secuencias obtenidas fueron corroboradas vía internet con las colecciones de nucleótidos de Blast en el banco de datos de la *National Center for Biotechnology Information* (Gen Bank NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>), para comprobar la secuenciación y verificar que las secuencias correspondieran al ADNmt de la región *D-Loop* en humanos. Los cromatogramas se editaron con el programa *Chromas* versión 2.33 y después las secuencias de cada una de las muestras se alinearon con el programa *Clustal X* versión 2.0 (Larkin *et al.* 2007), y *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA) (Tamura y Nei 1993; Tamura *et al.* 2007), programa en el que las secuencias alineadas se analizaron y se eliminaron los espacios que no coincidieron con la alineación de las demás muestras, hasta obtener el mismo número de pares de bases.

### *Árboles filogenéticos*

Para obtener los árboles filogenéticos se realizaron análisis de reconstrucción filogenética mediante el programa MEGA versión 7 (Tamura y Nei 1993; Tamura *et al.* 2007) a través de una prueba de *Bootstrap* con 1 000 réplicas, mediante el criterio de optimización *Neighbor Joining* (vecino más cercano) (NJ). El objetivo de la elaboración de los cladogramas es representar y plasmar un árbol de genes que describe el patrón o relación de ancestría que existe entre las secuencias de regiones similares de los haplotipos de diversos individuos y los cambios evolutivos representados mediante las ramas del árbol generado (Hey y Machado 2003). Las distancias genéticas fueron calculadas por medio del parámetro *dos de Kimura* en el programa MEGA versión 7.0 (Tamura *et al.* 2007), modelo diseñado para la estima de las sustituciones nucleotídicas asumiendo que las bases (A, T, G y C) ocurren con igual frecuencia y que las tasas de sustitución (transversiones y transiciones) son distintas.

Adicionalmente, se elaboró una red de haplotipos para demostrar las relaciones entre todos éstos con base en el número mínimo de mutaciones, la historia, la distribución y la genética interpoblacional (Templeton *et al.* 1992; Clement *et al.* 2000; Posada *et al.* 2000) lo que facilita y simplifica las relaciones existentes entre los individuos analizados. Para ello se utilizó la red de haplotipos generada por el programa *Network* versión 5.0 (Bandelt *et al.* 1999) el cual genera un gráfico derivado del análisis cladístico de asociaciones fenotípicas (n=49).

## Resultados

Se obtuvieron un total de 58 muestras, de las cuales se logró la extracción y purificación del ADN genómico en 49 de ellas, incluidas 21 de Nicaragua (cuadro 1). El resto fueron desechadas porque presentaron problemas de secuenciación. De cada una de las muestras se obtuvo un cromatograma que detecta la señal de ADN y la cantidad de pb, con lo cual se llevó a cabo el análisis y ajuste de las secuencias, hasta obtener 375 pb en cada una de ellas, mediante los programas, *Chromas*, *Clustal X* y *MEGA 7*.

## Variación y diferenciación genética

Para la interpretación de las secuencias de ADN se construyeron árboles filogenéticos, los cuales reflejan las distancias genéticas entre los individuos. Entre mayor sea la distancia genética entre los individuos, mayor será el número de diferencias entre las secuencias de ADN, probablemente debido a mutaciones. Cuando la distancia es igual a cero se está en presencia de un mismo haplotipo.

Las distancias genéticas fueron calculadas con el programa *MEGA 7* utilizando el parámetro 2 de Kimura (cuadros 2 y 3) y nos permiten realizar una estimación de las diferencias entre individuos y grupos de individuos para estimar así las relaciones evolutivas entre ellas, basándose en las similitudes existentes dentro y entre poblaciones.

Con el programa *DnaSP* versión 4.10 (Librado y Rozas 2009) se estimó el parámetro de diferenciación genética ( $F_{ST}$  y  $G_{ST}$ ) (cuadro 4), el cual permite determinar las diferencias genéticas entre localidades cuyos valores iguales a cero indican que no hay diferenciación genética entre pares de localidades o grupos de secuencias analizadas, mientras que los valores mayores a cero son un indicativo de diferenciación poblacional (Tripp 2009).

## Árboles filogenéticos

Se obtuvieron dos árboles filogenéticos que ejemplifican la diferencia entre individuos analizados. La figura 1 incluye todas las muestras analizadas en el presente estudio, en el cual se diferencian tres haplogrupos o ramas principales (A, B, C) y dos subgrupos (B1, B2). El haplogrupo A se encuentra formado por 15 individuos: 3 chiapanecas, 3 nicaragüenses, 2 europeos, 1 mixe, 1 egipcio, 1 tsotsil, y la familia mestiza compuesta por la madre y tres hijas, todos de diferentes áreas geográficas, por lo que se considera como un grupo muy diverso genéticamente (individuos de diferentes partes del mundo), por ello se le denomina de alta hibridación. En el haplogrupo B se presentan dos subgrupos, compuestos por 26 individuos: 13 nicaragüenses, 7 chiapanecas, 1 mestizo del norte de México (MECA01), 1 zapoteca, 1 tarahumara, 2 tseltales, 1 chol y 1 náhuatl, cuya distribución geográfica

Cuadro 1. *Individuos utilizados en el presente estudio. Se detalla la clave utilizada*

Número	Individuo	Clave	Grupo Asignado
1	Nicaragua 1	NICA01	Nicaragua
2	Nicaragua 2	NICA02	Nicaragua
3	Nicaragua 3	NICA03	Nicaragua
4	Nicaragua 4	NICA04	Nicaragua
5	Nicaragua 5	NICA05	Nicaragua
6	Nicaragua 6	NICA06	Nicaragua
7	Nicaragua 7	NICA07	Nicaragua
8	Nicaragua 8	NICA08	Nicaragua
9	Nicaragua 9	NICA09	Nicaragua
10	Nicaragua 10	NICA10	Nicaragua
11	Nicaragua 11	NICA11	Nicaragua
12	Nicaragua 12	NICA12	Nicaragua
13	Nicaragua 13	NICA13	Nicaragua
14	Nicaragua 14	NICA15	Nicaragua
15	Nicaragua 15	NICA16	Nicaragua
16	Nicaragua 16	NICA17	Nicaragua
17	Nicaragua 17	NICA18	Nicaragua
18	Nicaragua 18	NICA19	Nicaragua
19	Nicaragua 19	NICA20	Nicaragua
20	Nicaragua 20	NICA21	Nicaragua
21	Nicaragua 21	NICA22	Nicaragua
22	Chiapaneca 1	CHIA01	Chiapaneca
23	Chiapaneca 2	CHIA02	Chiapaneca
24	Chiapaneca 3	CHIA03	Chiapaneca
25	Chiapaneca 4	CHIA05	Chiapaneca
26	Chiapaneca 5	CHIA07	Chiapaneca
27	Chiapaneca 6	CHIA08	Chiapaneca
28	Chiapaneca 7	CHIA09	Chiapaneca
29	Chiapaneca 8	CHIA10	Chiapaneca
30	Chiapaneca 9	CHIA12	Chiapaneca
31	Chiapaneca 10	CHIA13	Chiapaneca
32	Madre	MADRO1	Familia
33	Hija1	HERGO1	Familia
34	Hija2	HERLO2	Familia
35	Hija3	HERCO3	Familia
36	Tsetzal 1	TSELO1	TSEL
37	Tsetzal 2	TSELO2	TSEL
38	Choles 1	CHOLO1	CHOL
39	Choles 2	CHOLO2	CHOL
40	Europa 1	FRANO1	EUR
41	Europa 2	ALEMO2	EUR
42	Etnia C1	MECA01	Centro
43	Etnia C2	MIXEO1	Centro
44	Etnia C3	TSOTO4	Centro
45	Etnia C4	TARAO1	Centro
46	Etnia C5	ZAPOO1	Centro
47	Etnia C6	NAHUO1	Centro
48	Norte	ARIZO1	USA
49	Grupo Externo	EGYPO1	EXT



abarca desde el norte de México hasta Nicaragua y se considera de alta aleatoriedad (al azar). El haplogrupo C está constituido por 6 individuos: 5 nicaragüenses y el norteamericano anglosajón (ARIZ01), situación por la cual este grupo se considera como externo.

El segundo árbol (figura 2) incluye únicamente a los individuos de apellido chiapaneca, nicaragüenses y el grupo control formado por la madre y las tres hijas, que en total suman 35 individuos, de los cuales 10 son chiapanecas, 21 nicaragüenses y el grupo control.

Las distancias genéticas obtenidas en el pareado de 49 individuos, presentan valores de diferencia genética de 0.000 a 0.095. El valor más bajo encontrado se estimó en el haplogrupo A que incluye al grupo Familia (0.000 entre hermanas y 0.006 entre hijas y madre) además con una variación de 0.03 dentro del grupo, considerando que el ADNmt se hereda únicamente por línea materna. Incluye al grupo EUR con un valor de distancia genética promedio de 0.008.

De acuerdo con las distancias interpopulacionales los grupos que incluyen a los indígenas del centro de México (MECA, MIXE, TSOT, TARA, ZAPO y NAHUA) y el individuo egipcio del grupo Externo, poseen la distancia genética más baja (0.008) probablemente debido al número de diferencias por sitios polimórficos al ser individuos de origen distinto entre sí, lo que claramente se observa en el haplogrupo B de gran aleatoriedad. Los valores más altos de distancias genéticas atribuidas a cambios en las secuencias analizadas se encuentran entre los haplogrupos (sin considerar el valor entre familia y USA de 0.095), chol y familia, grupos que aunque poseen la misma distribución geográfica (Chiapas, México), no necesariamente comparten ancestría genética (cuadro 3).

Dentro de un valor promedio de diferencias, encontramos a los chiapanecas y nicaragüenses (0.027) puesto que, como se observa en ambos árboles generados por el algoritmo NJ que busca la menor distancia entre los individuos analizados, logran ser agrupados con base en el número reducido de diferencias entre ellos, indicando la estrecha relación por herencia materna detectada entre estos haplogrupos, misma que se identifica en la red de haplotipos elaborada a partir de número de sitios polimórficos encontrados, sustentando la hipótesis planteada en nuestro trabajo. Finalmente, la distancia más lejana se encuentra entre el individuo NICA06 del haplogrupo C con 0.07 de distancia comparado con la mayoría de las muestras del haplogrupo A y haplogrupo B (cuadro 2).

En la red de haplotipos (figura 3) lo ya explicado anteriormente puede observarse de una manera más gráfica.

La diferenciación genética entre los grupos de individuos se puede considerar baja en la mayoría de las comparaciones pareadas sobre todo entre nicaragüenses y chiapanecas, reforzando los resultados generados del análisis de distancias genéticas y por lo tanto los agrupamientos observados en los árboles generados y la red de haplotipos. La diferenciación encontrada entre el grupo Familia, formado por mujeres, y el resto de los grupos resultó ser la más alta porque posee menos diferenciación

debido al ADNmt, lo que implica una baja tasa de recombinación (cuadro 4).

## Discusión

Los árboles filogenéticos elaborados mediante el algoritmo *Neighbor Joining* (vecino más cercano) utilizando *Bootstrap*, forman tres haplogrupos bien diferenciados, en los cuales se aprecia que los individuos chiapanecas y nicaragüenses son grupos genéticos estrechamente relacionados (figuras 1 y 2).

La alta hibridación o mestizaje que se observa en el haplogrupo A, no es una situación desconocida; aún antes de la conquista española de Chiapas en 1524, es muy probable que haya existido mezcla entre los pueblos originales, lo cual propició el intercambio genético de individuos de diversos linajes y culturas, para formar poblaciones compuestas principalmente de amerindios, afrodescendientes y europeos (Rondón *et al.* 2008).

La composición de la población de Chiapas fue inicialmente de indígenas con identidades ancestrales (Peña 2008), pero para junio de 1778, según un censo levantado por disposición de Carlos III, en Villa Real de los Indios (actualmente Chiapa de Corzo) existía una población de 1 103 habitantes, de los cuales 68 eran blancos, 219 negros, 508 indios y 308 mestizos (Riley-Barrios *et al.* 1993); este último grupo formado por individuos de diferentes orígenes, que actualmente constituye el porcentaje mayoritario de la población del estado.

Por otra parte, Kühl-Aráuz (2004) describe ampliamente en el libro *Nicaragua y su café*, los nombres de los hacendados y mujeres principalmente de origen europeo, en los que se da a conocer la relación sociocultural que los emigrantes europeos mantuvieron con miembros de familias distinguidas de origen nicaragüense, desde fines del siglo XIX. Lo anterior explica el aporte genético europeo a través de la vía materna (ADNmt), quizá mucho después que el aporte paterno y en menor cantidad.

El haplogrupo B en este trabajo se considera como el de mayor importancia debido a que confirma la estrecha relación genética que existe entre chiapanecas y nicaragüenses; además denota la relación genética entre un tseltal y un chol, resultados congruentes debido a que ambos individuos pertenecen a pueblos de filiación maya, de origen y distribución geográfica únicamente en Chiapas (Olivera 1964), éstos a su vez están relacionados con otra rama formada, mayoritariamente, por individuos chiapanecas y nicaragüenses. La relación genética existente entre estos individuos está relacionada también con los datos lingüísticos, históricos, antropológicos y arqueológicos que se han recolectado en Nicaragua, principalmente de los periodos Bagaces (300-800 dC) y Ometepe (1350-1550 dC) caracterizados por artefactos y símbolos de diversos colores propios de la cultura náhuatl (Kinloch-Tijerino 2004; García-Vázquez 2006; García-Vázquez y Espinoza-Vallejos 2006) y en Chiapa de Corzo (Valverde 1992).

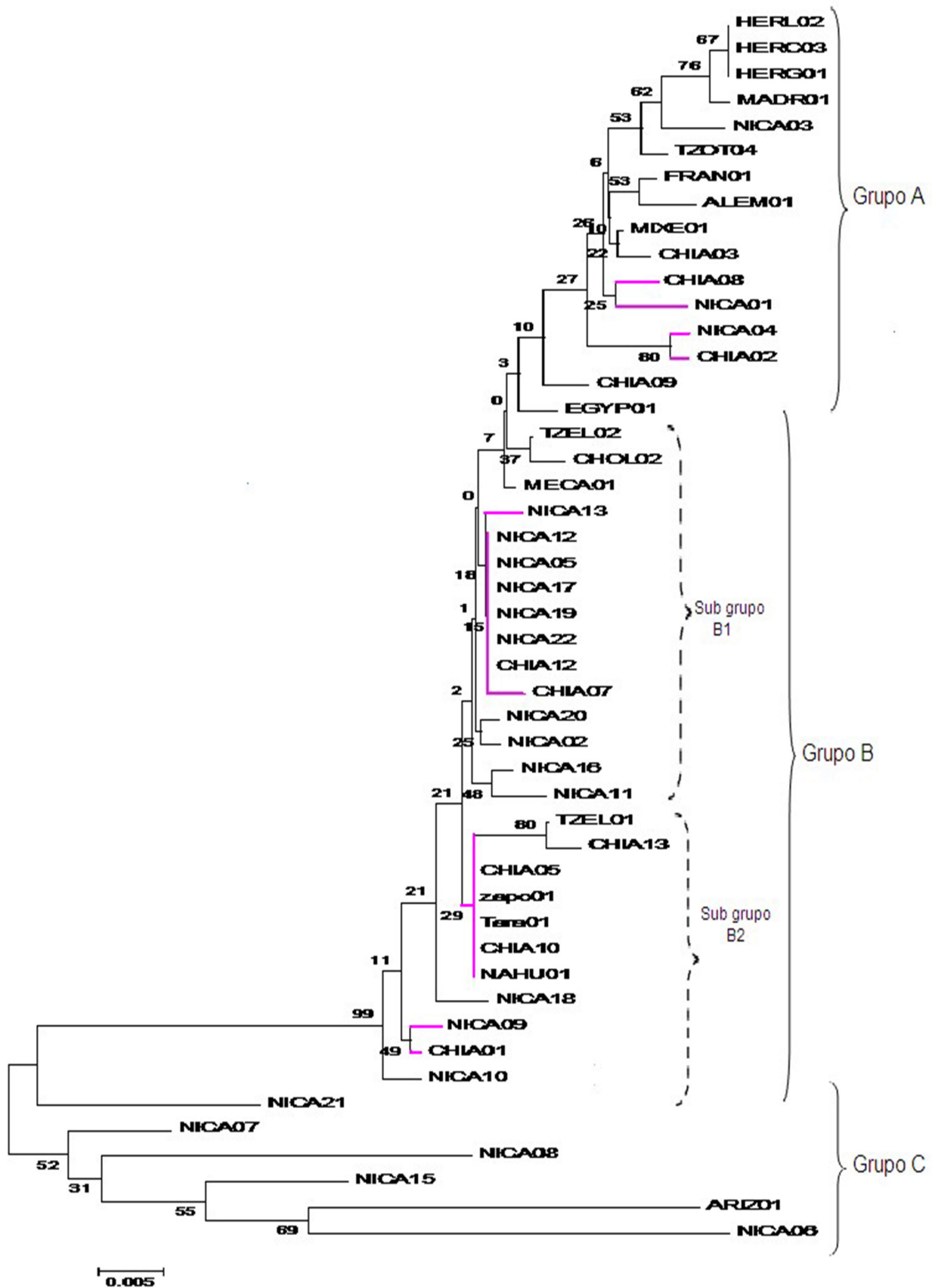


Figura 1. *Árbol de MEGA con la prueba de Bootstrap Neighbor-Joining (parámetro 2 Kimura) con 1 000 réplicas. Se observan tres haplogrupos principales: el haplogrupo A de alta hibridación, haplogrupo B de alta aleatoriedad y el haplogrupo C como grupo externo.*



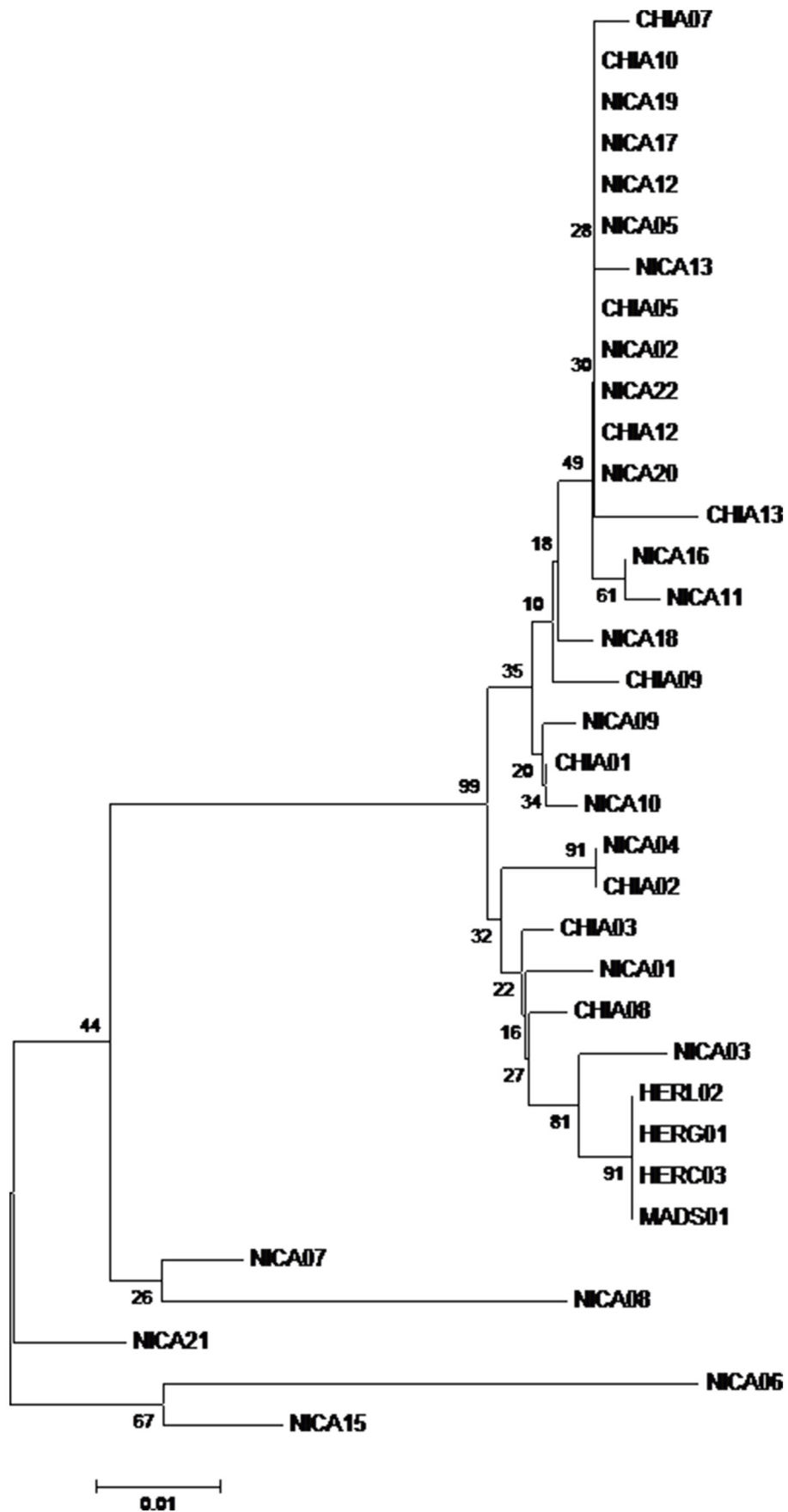


Figura 2. *Árbol de MEGA con la prueba de Bootstrap Neighbor-Joining (parámetro 2 de Kimura) con 1 000 réplicas. Se observan dos haplogrupos de individuos de chiapanecas y nicaragüenses.*

Cuadro 3. *Distancias genéticas intra e inter poblacionales de individuos analizados mediante el parámetro 2 de Kimura*

Población	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Dentro de la población
Familia	-									0.003
CENTRO	0.020	-								0.011
TSEL	0.026	0.011	-							0.014
CHOL	0.045	0.030	0.027	-						0.052
Nicaragua	0.034	0.026	0.027	0.039	-					0.037
Chiapaneca	0.022	0.013	0.014	0.032	0.027	-				0.015
EUR	0.016	0.015	0.021	0.040	0.031	0.019	-			0.008
EXT	0.020	0.008	0.010	0.029	0.026	0.013	0.013	-		-
USA	0.095	0.086	0.087	0.078	0.080	0.087	0.090	0.079	-	-

Cuadro 4. *Diferenciación genética entre pares de grupos de individuos del presente estudio*

Grupo 1	Grupo 2	G <sub>ST</sub>	F <sub>ST</sub>	Diferenciación
Familia	Nicaragua	0.106	0.423	Moderada
Familia	Chiapanecas	0.125	0.582	Fuerte
Familia	TSEL	0.158	0.671	Fuerte
Familia	EUR	0.158	0.652	Fuerte
Familia	CENTRO	0.200	0.645	Fuerte
Familia	CHOL	0.158	0.392	Moderada
Nicaragua	Chiapanecas	0.010	0.030	Baja
Nicaragua	TSEL	0.089	0.055	Baja
Nicaragua	EUR	0.089	0.278	Moderada
Nicaragua	CENTRO	0.060	0.085	Baja
Nicaragua	CHOL	0.089	0.000	Baja
Chiapaneca	TSEL	0.065	0.000	Baja
Chiapaneca	EUR	0.065	0.367	Moderada
Chiapaneca	CENTRO	0.010	0.000	Baja
Chiapaneca	CHOL	0.065	0.000	Baja
TSEL	EUR	0.000	0.449	Moderada
TSEL	CENTRO	0.079	0.000	Baja
TSEL	CHOL	0.000	0.000	Baja
EUR	CENTRO	0.079	0.353	Moderada
EUR	CHOL	0.000	0.237	Moderada
CENTRO	CHOL	0.079	0.000	Baja

Lo anterior también está vinculado con la relación que existe en una rama formada por los individuos chiapaneca, nahua, tarahumara y zapoteca y con una distancia mayor un individuo nicaragüense (0.026 de distancia interpoblacional, de los valores promedio), situación que es corroborada nuevamente con la cerámica policromada de los periodos mencionados, característica también de los pueblos originarios del valle de Cholula, en México, que hablaban lenguas pertenecientes a la familia oto-

mangue, los cuales emigraron al sur y que con el tiempo se subdividieron en varios grupos étnicos; los chiapanecas, que quedaron en el sureste de México, específicamente en Chiapas; los cholultecas en Honduras y los chorotega-mangue, que continuaron hasta el sur de Nicaragua por la costa del Pacífico, a donde llegaron entre 800 y 1 000 dC (García-Vázquez y Espinoza Vallejos 2006). Respecto a los nahuas, hay que recordar que a esta cultura pertenecían los aztecas, quienes lograron expandirse

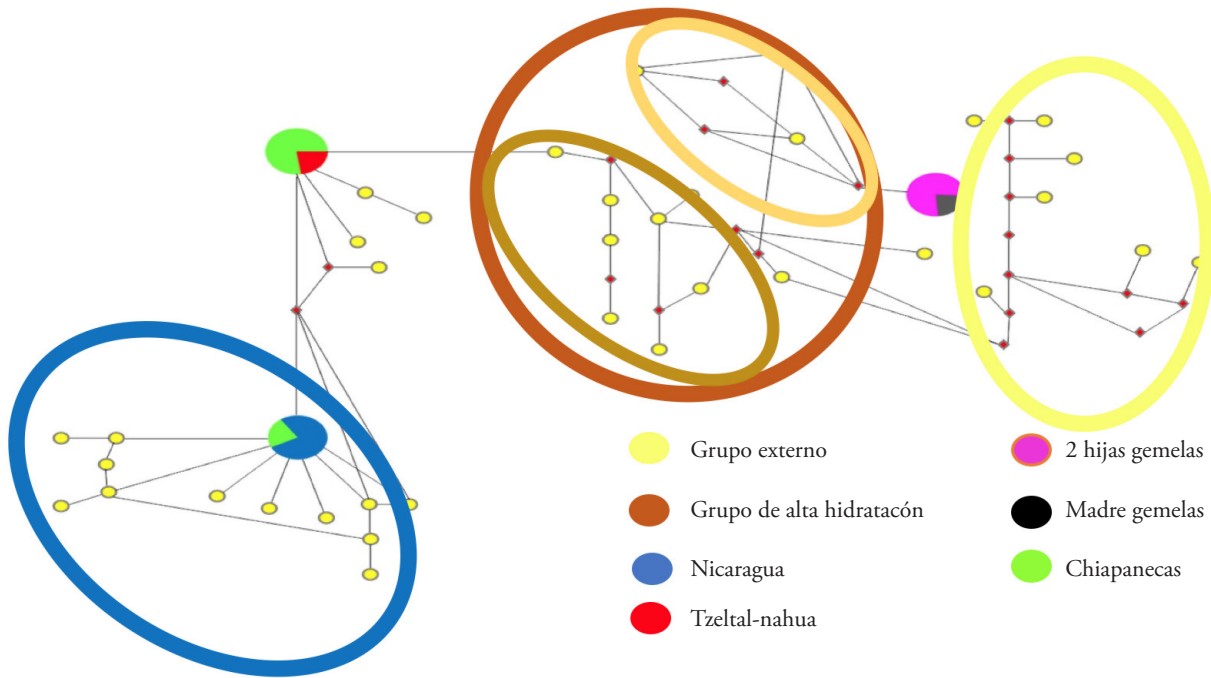


Figura 3. Red de haplotipos resaltando los distintos grupos.

desde el centro de México hasta los confines de Centroamérica en el sur, de donde traían oro a través de una ruta que seguía el curso del río San Juan en uno de sus tramos. Los tarahumaras, habitantes de las frías montañas de Chihuahua, serían un elemento novedoso en la conexión ya que lingüísticamente no forman parte del grupo otomangue.

Lo anterior lleva a suponer que el poblamiento y diversificación de Mesoamérica fue dado por la migración de los pueblos del norte de México. Según Kinloch-Tijerino (2004), esto se hace evidente en la cerámica policroma, asociada con la llegada de nicaraos y pipiles de habla náhuatl que emigraron del centro de México. Sin embargo, como Thomas Lee señalaba, basarse en estudios de cerámica y estatuaria para aclarar relaciones de grupos étnicos específicos es un aspecto muy difícil de comprobar. Los resultados de nuestro trabajo, al apoyarse en el análisis genético, ofrecen una prueba que corrobora la relación genética muy cercana entre ambos pueblos, fortaleciendo así las conclusiones basadas en el estudio de los vestigios culturales.

El haplogrupo C es una rama totalmente fuera del árbol, por lo que se ha considerado como el grupo externo formado por individuos en su mayoría originarios de Nicaragua y anglosajones. La no relación de estos individuos con el resto se debe a la diversidad de corrientes sudamericanas que emigraron principalmente de Colombia y Panamá, pertenecientes a la cultura macro Chibcha que se asentó en el atlántico nicaragüense y hondureño o bien por los grupos afrocaribeños emigrados de Jamaica o llevados como esclavos a Nicaragua por los españoles (Kinloch-Tijerino 2004).

Por otro lado, entre 1909 y 1926, ocurrió una prolongada intervención militar norteamericana en Nicaragua lo cual sugiere una posibilidad más para comprender que los individuos que forman el haplogrupo C, también pudieron estar relacionados con poblaciones norteamericanas, principalmente porque en el aspecto genético esta cultura ha influido mucho al vincularse genotípicamente por todo el mundo en tiempos relativamente cortos.

Es importante aclarar que la relación que existe entre todos los individuos del haplogrupo B es consecuencia de los genes heredados a través de la línea materna del gen mitocondrial *D-Loop*, el cual cuenta con una alta tasa de mutación, diez veces superior al ADN nuclear (2% cada millón de años) lo que sugiere que el ADNmt se conserva por mucho tiempo en diferentes generaciones; por lo que en este caso, los individuos que conforman este grupo aún mantienen secuencias del ADNmt a partir de sus antecesoras maternas aunque, en muchos casos la herencia materna de apellidos no suele ser evidente, debido a que en las sociedades occidentales existe mayor probabilidad de conservar los apellidos paternos. Sin embargo, a pesar de este obstáculo, la herencia materna suele ser fundamental para conservar secuencias genéticas de individuos que actualmente se encuentran extintos como los chiapanecas. Esto se evidencia en la baja variación entre el grupo denominado Familia, y en los altos niveles de diferenciación de este grupo con el resto de los individuos del estudio, que en todos los casos resultó fuerte (mayor a 0.5) tanto en los valores de  $F_{ST}$  y  $G_{ST}$ ; ambos índices indican los niveles de diferenciación siendo el  $G_{ST}$  una corrección que permite incluir un número ilimitado de variaciones por individuo, la cual es relevante cuando

se estudian pocos grupos o poblaciones (siete para este estudio) (Crow y Aoki 1984).

## Conclusiones

Como se señaló en el resumen, el presente estudio es de carácter exploratorio. Sus resultados indican la estrecha relación genética que existe entre los grupos de individuos, tanto nicaragüenses como chiapanecas y chiapanecas-nicaragüenses y las etnias indígenas del centro y norte de México. El análisis genético de ADNmt es una herramienta útil en las investigaciones sobre las migraciones humanas en Mesoamérica y en cualquier región del mundo, constituyéndose en un poderoso auxiliar de los estudios arqueológicos y lingüísticos para establecer relaciones históricas y culturales entre los pueblos.

Chiapas es un estado sujeto a diversos procesos de mestizaje de diferentes orígenes, lo que puede observarse en el arreglo de los individuos en la figura 2, en la que claramente se mezclan individuos tseltales, choles y chiapanecas; esto como evidencia de las migraciones de grupos de origen maya y la separación de los mismos con el grupo de origen otomangueano.

Las bajas distancias genéticas encontradas entre chiapanecas e individuos de Nicaragua (0.027) son las mismas que entre nicaragüenses y choles y nicaragüenses y tseltales, dejando clara la relación que existe entre la población centroamericana y los individuos de distribución en Chiapas. Además, la diferenciación encontrada entre los individuos de Nicaragua y los chiapanecas (0.030) y Nicaragua con individuos de origen chol (0.000) refuerzan la hipótesis de las migraciones del grupo de origen otomangue del centro de México hacia el sur, llegando hasta la península de Nicoya.

Para dar continuidad a esta investigación es necesario coleccionar muestras biológicas de individuos originarios de los grupos que forman el tronco lingüístico otomangue para determinar si constituye una unidad genética, llevando a cabo los estudios con microsátelites (ADN nuclear proveniente de padre y madre) y otro gen mitocondrial como el Acetil Coenzima A, para obtener la estructura genética, diferenciación genética y valores del flujo génico de cada una de las poblaciones. Las muestras deben ser de individuos en donde se identifique la información de por lo menos dos generaciones antecesoras (abuelos y padres), así como su distribución geográfica. Además, hay que recolectar muestras de individuos nicaragüenses originarios de pueblos en los que se tenga registro de lenguas otomangues, como el chorotega, el sutiaba y el mangue, de preferencia que tengan apellidos claramente indígenas.

## Bibliografía

Aguilar-Penagos, M. (2012). *Gramática de la lengua chiapaneca*. México: Fonca-Conaculta (2 tomos).

- Anderson, S., A. T. Bankier, B. G. Barrell, M. H. L. de Bruijn, A. R. Coulson, J. Drouin, I. C. Eperon, D. P. Nierlich, B. A. Roe, F. Sanger, P. H. Schreier, A. J. H. Smith, R. Staden and I. Young (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome, *Nature* 290, 457-465.
- Ávila-Blomberg, de A. (2008). La Diversidad Lingüística y el Conocimiento Etnobiológico. En *Capital Natural de México, vol. I: Conocimiento Actual de la Biodiversidad* (pp. 497-556). México: Conabio.
- Avice, J. C. (2004). *Molecular Markers, Natural History and Evolution* (2ª ed.). Sunderland: Sinauer Associates Inc. Publishers.
- Andrews, R. M., I. Kubacka, P. F. Chinnery, R. N. Lightowlers, D. M. Turnbull and N. Howell (1999). Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA, *Nature Genetics*, 23 (2), 147.
- Bandelt, H. J., P. Forster and A. Röhl (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16, 37-48.
- Barreto, G., A. R. Vago, C. Ginther, A. J. Simpson, S. D. Pena (1996). Mitochondrial *D-loop* "signatures" produced by low-stringency single specific primer PCR constitute a simple comparative human Identity test. *American Journal of Human Genetics*, 58 (3), 609-16.
- Becerra, E. M. (1937). Los Chiapanecas, Investigaciones Lingüísticas, reeditado por Manguen J. J. y Montesinos I. L. 1991. vol. I. Chiapas: Gobierno del Estado.
- Borden Eng, R. "Fuentes y estudios sobre las lenguas del grupo chiapaneco-mangue". Disponible en: [http://www.academia.edu/1693369/Fuentes\\_y\\_estudios\\_sobre\\_las\\_lenguas\\_del\\_grupo\\_chiapaneco-mangue](http://www.academia.edu/1693369/Fuentes_y_estudios_sobre_las_lenguas_del_grupo_chiapaneco-mangue). México: Universidad Nacional Autónoma de México [consulta: 29 de marzo de 2013].
- Brown, W. M., M. J. George and A. C. Wilson (1979). Rapid evolution of animal mitochondrial DNA (primates/restriction endonuclease cleavage maps/gel electrophoresis/DNA melting), *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76 (4), 1967-1971.
- Brown, W. M., E. M. Prager, A. A. Wang and C. Wilson (1982). Mitochondrial DNA sequences of primates: tempo and mode of evolution. *Journal of Molecular Evolution*, 18 (4), 225-39.
- Campbell, E. (2017). Otomanguean historical linguistics. Past, present and prospect for the future. *Language Linguistic Compass*, 11: e12240. <https://doi.org/10.1111/Inc3.12240>.
- Clement, M., M. D. Posada y A. Crandall (2000). TCS: a Computer Program to Estimate Gene Genealogies. *Molecular Ecology*, 9, 1657-1660.
- Comas, D., F. Calafell, N. Bendukidze, L. Fañanás and J. Bertranpetit (2000). Georgian and kurd mtD-

- NA sequence analysis shows a lack of correlation between languages and female genetic lineages, *American Journal of Physical Anthropology*, 112 (1), 5-16.
- Contreras García, G. I. (2001). *Las etnias del estado de Chiapas, castellanización y bibliografías*. México: Universidad Autónoma de México.
- Coskun, P. E., E. Ruiz-Pesini and D. C. Wallace (2003). Control region mtDNA variants: Longevity, climatic adaptation, and a forensic conundrum, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100 (5), 2174-2176.
- Costa, J. (2004). Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real, *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 22, 299-305.
- Crow, J. F. y K. Aoki (1984). Group selection for a polygenic behavioural trait: estimating the degree of population subdivision. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81, 6073-6077.
- Díaz-Couder, E. (2009). *Atlas sociolingüístico de pueblos indígenas en América Latina*, tomo 2, capítulo XI, "Mesoamérica". Cochabamba: Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo-FUNPROIEB Andes, UNICEF.
- Fernández-Domínguez, E. (2001). Polimorfismo de DNA mitocondrial en poblaciones antiguas de la cuenca mediterránea. Tesis. Barcelona: Universitat de Barcelona.
- García-Peláez, F. P. (1851). *Memorias para la historia del antiguo reyno de Guatemala*. Guatemala: Establecimiento Tipográfico de L. Luna.
- García-Vázquez, R. (2006). Periodización cronológica cultural para la Nicaragua precolombina. En Enrique B. Mántica D., *Los pueblos náhuatl de Nicaragua*. Managua: Museo Chorotega Nicarao.
- García-Vázquez, R. y S. Espinoza-Vallejos (2006). Evidencias de nuestra cultura chorotega-nicarao en el análisis de la colección arqueológica Betania. En Enrique B. Mántica D., *Los pueblos náhuatl de Nicaragua*. Managua: Museo Chorotega Nicarao.
- Gorostiza, L. A. (2011). Atlas topogenético de grupos indígenas mesoamericanos: una aproximación molecular. Tesis. Madrid: Universidad Complutense de Madrid.
- Hey, J. y C. A. Machado (2003). The study of structured populations, new hope for a difficult and divided science, *Genetics*, 4, 535-543.
- Hayassaka, K., G. Takashi y S. Horai (1988). Molecular Phylogeny and Evolution of Primate Mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution*, 5 (6), 626-644.
- Horai, S., R. Kondo, Y. Nakagawa-Hattori, S. Hayashi, S. Sonoda, K. Tajima (1993). Peopling of the Americas, Founded by Four Major Lineages of Mitochondrial DNA, *Molecular Biology and Evolution*, 10 (1), 23-47.
- Horai, S., K. Hayasaka, R. Kondo, Tsugane, K., Takahata, N. (1995). Recent African origin of modern humans revealed by complete sequences of hominoid mitochondrial DNAs, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92, 532-536.
- Josserand, J. K. (1983). A new model of oto-manguan diversification, en [www.academia.edu/6121071/Josserands\\_1983\\_A\\_New\\_Model\\_of\\_Otoman-gueanDiversification](http://www.academia.edu/6121071/Josserands_1983_A_New_Model_of_Otoman-gueanDiversification) [consulta: 3/04/16].
- Kaufman, T. (1974). *Idiomas de Mesoamérica*. Guatemala: Editorial de José de Pineda Ibarra.
- Kaufman, T. (2015). *Early Oto-Mangean Homelands and Cultures: some premature hypotheses*. New York: Institute for Mesaoamerican Studies, University at Albany, State University of New York. Disponible en: [http://www.albany.edu/ims/PDLMA\\_publications\\_new.html](http://www.albany.edu/ims/PDLMA_publications_new.html).
- Kinloch-Tijerino, F. (2004). *Historia de Nicaragua*. Managua: Instituto de Historia de Nicaragua y Centroamérica, Universidad Centroamericana.
- Kühl-Aráuz, E. (2004). *Nicaragua y su café*. Managua: Editorial Hispamer.
- Larkin, M. A., G. Blackshields, N. P. Brown, R. Chenna, P. A. McGettigan, H. McWilliam, F. Valentin, I. M. Wallace, A. Wilm, R. López, J. D. Thompson, T. J. Gibson y D. G. Higgins (2007). *Clustal W and Clustal X version 2.0*. *Bioinformatics* 23, 2947-2948.
- Lee, Th. (1986). La lingüística histórica y la arqueología de los zoque-mixe- popoluca. En *Memorias de la Primera Reunión de Investigadores del Área Zoque*. (7-36). Tuxtla Gutiérrez: Centro de Estudios Indígenas-Universidad Autónoma de Chiapas.
- Lee, T. (1994). La antigua historia de las etnias de Chiapas. En Armendáriz, María Luisa (comp.) *Chiapas, una radiografía* (55-69). México: Fondo de Cultura Económica.
- León-Portilla, M. (2007). México, un mosaico de lenguas y culturas. *Destiempos.com* 18, 8-25.
- Librado, P. y J. Rozas (2009). DnaSP v5: A software for comprehensive analyses of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25, 1451-1452.
- Lothrop, S. K. (2004). Las culturas indígenas de Nicaragua y Costa Rica. En A. Casco Guido (ed.): *Las culturas indígenas de Nicaragua*, tomo I, pp. 6-119. Managua: HISPAMER.
- Lothrop, S. K. (1927). Pottery types and their Sequence in El Salvador. *Indian Notes and Monographs*, 1 (4), 165-220.
- Maca-Meyer, N. (2002). Composición genética de poblaciones históricas y prehistóricas humanas de las Islas Canarias. Tesis. San Cristóbal de La Laguna: Universidad de La Laguna.
- Malyarchuk, B. A., I. B. Rogozin, B. V. Berikov, M. V. Derenko (2002). Analysis of phylogenetically reconstructed mutational spectra in human mitochondrial DNA control region. *Human Genetics* 111, 46-53.

- Markman, S. D. (1993). *Arquitectura y urbanización en el Chiapas colonial*. Tuxtla Gutiérrez: Gobierno del Estado de Chiapas.
- Navarrete, C. (1966). *The Chiapanecas History and Culture*. (Papers of the New World Archaeological Foundation, no. 21). Provo: Brigham Young University.
- Obara-Saeki, T. (2010). *Ladinización sin mestizaje. Historia demográfica del área chiapaneca 1748-1813*. Tuxtla Gutiérrez: Consejo Estatal para la Cultura y las Artes de Chiapas.
- Olivera, de V. y M. B. Sánchez (1965). *Distribución actual de las lenguas indígenas de México*. México: Instituto Nacional de Antropología e Historia.
- Pereira dos Santos, M. C. (2005). Estudio genético y biodemográfico del Archipiélago de las Azores, Portugal. Tesis. Barcelona: Universitat Autònoma de Barcelona. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10803/3666>.
- Pérez-Suárez, T. (2004). Las lenguas mayas: historia y diversidad. *Revista Digital Universitaria*, 5 (7), 2-11.
- Peña, V. P. J. (2008). *Relaciones entre africanos e indígenas en Chiapas y Guatemala*. México: Proyecto afroamérica, la tercera raíz. Programa Universitario, México Nación Multicultural, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Posada, D., K. A. Crandall, A. R. Templeton (2000). GeoDis: a program for the cladistics nested analysis of the geographical distribution of genetic haplotypes. *Molecular Ecology* 9, 487-488.
- Riley-Barrios, A. E., R. Anza-Vazquez, F. H. Hernández-Herrera, J. C. Pérez-Muñoz, G. A. de los Santos, N. I. Coutiño (1993). *Chiapa de Corzo, rescate y conservación de la imagen urbana*. Tesis. Tuxtla Gutiérrez: Universidad Autónoma de Chiapas.
- Rivet, P. (2007). *Los orígenes del hombre americano*. México: Fondo de Cultura Económica.
- Rodríguez, S. P. I. y S. H. A. Barrera. (2004). La reacción en cadena de la polimerasa a dos décadas de su invención. *Ciencia*, 6 (3), 323-335.
- Rondón, F., J. C. Osorio, A. V. Peña, H. A. Garcés, G. Barreto (2008). Diversidad genética en poblaciones humanas de dos regiones colombianas. *Colombia Médica*, 39 (2), 52-60.
- Ruz-Sosa, M. H. y M. C. Báez (2003). Las Lenguas del Chiapas Colonial. *Manuscritos*. Vol. 3, *Lengua Chiapaneca*. México: Instituto de Investigaciones Filológicas, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Sambrook, J., E. F. Fritsch y T. Maniatis (1989). *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sandoval-Forero, E. A. (2002). Grupos Etnolingüísticos en el México del siglo XXI. *Papeles de Población*, 34, 219-235.
- Shuster, R. C., A. J. Rubenstein, D. C. Wallace (1988). Mitochondrial DNA in a nucleate human blood cell. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 155 (3), 1360-15.
- Solórzano, N. E. (2006). *De la Mesoamérica prehispánica a la colonial: la huella del DNA antiguo*. Tesis. Barcelona: Universidad Autònoma de Barcelona.
- Stone, D. (1946). La posición de los chorotegas en la arqueología centroamericana. *Revista Mexicana de Estudios Antropológicos*, 8 (1, 2 y 3): 121-131.
- Tamura, K. y M. Nei (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10 (3), 512-526.
- Tamura, K., J. Dudley, M. Nei y S. Kumar (2007). Molecular Evolutionary Genetic Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24, 1596-1599.
- Templeton, A. R., K. A. Crandall and S. F. Sing (1992). A Cladistic Analysis of Phenotypic Associations with Haplotypes Inferred from Restriction Endonuclease Mapping and DNA Sequence Data III. Cladogram Estimation. *Genetics*, 132, 619-633.
- Tripp, V. M. A. (2009). Análisis de la estructura genética poblacional del Dorado (*Coryphaenohippurus; Linnaeus 1758*) en el noroeste del Pacífico mexicano y golfo de California mediante el uso de microsátelites. Tesis. La Paz: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste.
- Valverde, M. del C. (1992). *Chiapa de Corzo, épocas prehispánica y colonial*. Tuxtla Gutiérrez: Gobierno del Estado de Chiapas.
- Vos, J. de (1995). *La Batalla del Sumidero. Antología de documentos relativos a la rebelión de los Chiapanecas, 1524-1534*. México: Consejo Nacional para la Cultura y las Artes-Instituto Nacional Indigenista.
- Wakeley, J. (1993). Substitution rate variation among sites in hypervariable region 1 of human mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution*, 37, 613-623.
- Wichmann, S., D. Beliaev, A. Davletshin (2008). Posibles correlaciones lingüísticas y arqueológicas involucrando a los olmecas. En Uriarte, M.T. y González Lauck, R. (eds.), *Olmeca: Balance y Perspectivas, memoria de la Primera Mesa Redonda*, tomo II, pp. 667-684. México: Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Antropología e Historia y Brigham Young University.
- Williams, J. G., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski y S. V. Tingey (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18 (22), 6531.