

DIVERSIDAD HAPLOTÍPICA DEL CROMOSOMA Y EN CUATRO POBLACIONES MEXICANAS

Héctor Rangel-Villalobos,^{1,2} Lucila Sandoval,³
Bertha Ibarra^{2,3} y Luis E. Figuera^{2,3}

¹Laboratorio de Genética Molecular (CUGI-U de G), Ocotlán Jal., México

²Doctorado en Genética Humana (CUCS-U de G), Guadalajara, Jal., México

³División de Genética (CIBO-IMSS), Guadalajara, Jal., México

RESUMEN

La región no-pseudoautosómica del cromosoma Y constituye un registro genético de fácil interpretación que ofrece una valiosa información antropológica para evidenciar fenómenos poblacionales en todo el mundo. Mediante PCR y electroforesis se analizaron dos marcadores bialélicos (YAP y DYS199) y cinco STRs de la región no-pseudoautosómica del cromosoma Y en varones de cuatro poblaciones mexicanas: mestizos, huicholes, purépechas y tarahumaras. La distribución alélica de todos los marcadores se comparó en forma pareada entre poblaciones. No se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) para YAP, mientras que para el marcador exclusivo de amerindios (DYS199-T), los mestizos fueron diferentes ($p \leq 0.003$) a las etnias mexicanas, con lo que se estableció que el componente amerindio de la muestra mestiza es al menos 18.6%. La etnia tarahumara se distinguió por su menor frecuencia para DYS199-T (55%) respecto a las otras etnias. Los mestizos se diferenciaron de los huicholes, purépechas y tarahumaras en 5, 4 y 2 STRs, respectivamente. Se observaron 88 haplotipos diferentes entre 156 haplotipos completos obtenidos y se agruparon con base en los marcadores YAP (+/-) y DYS199 (C/T) en tres haplogrupos: +/C, -/C y -/T (amerindio). La mayor diversidad de haplotipos (D) se observó en mestizos (98.6%) y la menor en huicholes (87.2%). La variación haplotípica del cromosoma Y en poblaciones mexicanas se analizó mediante un análisis molecular de varianza (AMOVA). La variación inter-poblacional e intra-poblacional fueron significativas ($p < 0.001$) y constituyeron 78.5% y 21.5%, respectivamente. Se discuten los resultados respecto a un estudio previo en estas poblaciones con marcadores autosómicos (Rangel-Villalobos *et al.* 2000, 72: 983-95).

PALABRAS CLAVE: población mexicana, amerindios, STRs, cromosoma Y, haplotipos.

ABSTRACT

The non-pseudoautosomal region of the Y-chromosome constitutes a genetic record easily interpretable to obtain valuable anthropological information about the history of worldwide populations. Two bi-allelic loci (YAP and DYS199) and five STRs (DYS19, 389a, 390, 391 and 393) of the non-pseudoautosomal region of the Y-chromosome were analyzed in males from the largest and most widely distributed population in Mexico (Mestizos) and from three Mexican Amerindian tribes: Huichols, Purepechas and Tarahumaras. The allelic distribution of all seven loci was established and it was pairwise compared between populations. For YAP locus, any significant difference ($p > 0.05$) was observed among all four populations. The Amerindian-specific allele DYS199-T was more frequent in Mexican tribes than in Mestizos, establishing the minimum Amerindian component in the Mestizo sample as 18.6%. Tarahumaras were peculiar by its diminished frequency for DYS199-T respecting to Purepechas and Huichols. Mexican Mestizos were different ($p < 0.05$) to Huichols, Purepechas and Tarahumaras in five, four and two STRs, respectively. Eighty-eight different haplotypes were observed among the 156 haplotypes obtained. They were grouped in three haplogroups according to the markers YAP (+/-) and DYS199 (C/T): -/C, -/T and +/C. The greater haplotype diversity (D) was observed in Mestizos (98.6 %) and the lower in Huichols (87.17 %). The haplotype variation of the Y-chromosome in Mexican populations was analyzed by AMOVA. The inter-population and intra-population variations were significant ($p < 0.0001$) and constituted the 78.5% and 21.5%, respectively. We discuss our findings with previous results about the same populations using autosomal markers (Rangel Villalobos *et al.* 2000, 72: 983-995).

KEY WORDS: Mexican population, Amerindian, STRs, Y-chromosome, haplotypes.

ANTECEDENTES

El ADN mitocondrial (mtADN) y la región no-pseudoautosómica del cromosoma Y se caracterizan por su transmisión directa de una generación a otra sin pasar por el proceso de recombinación, por lo que los eventos mutacionales se registran en las líneas materna (mtADN) y paterna (cromosoma Y) a través de la evolución (Jobling

y Tyler-Smith, 1995). Mientras que el estudio de la variabilidad del mtADN para reconstruir la evolución genética humana está bien establecida, el análisis del cromosoma Y ha revelado hasta hace poco tiempo cuestiones importantes acerca de la historia demográfica del hombre. Desde el punto de vista antropológico, el cromosoma Y ha permitido estudiar los siguientes tópicos: 1) migración paterna dentro y entre continentes; 2) historia demográfica de poblaciones sencillas; 3) número de varones fundadores de poblaciones aisladas; 4) niveles de mezcla poblacional, y 5) patrones de reproducción de hombres y mujeres (Hammer *et al.*, 1997).

Esto ha sido posible gracias a que en los últimos años se ha reportado una gran cantidad de marcadores del cromosoma Y, que van desde polimorfismos bialélicos por sustitución de un par de bases (Underhill *et al.*, 1996a), inserciones-deleciones (Hammer y Horai, 1995), análisis de heterodúplex (Santos *et al.*, 1996), microsátélites o repeticiones cortas en tándem conocidos como STRs por sus siglas en inglés (Kayser *et al.*, 1997, Kniff *et al.*, 1997) y minisátélites, entre otros. Las sustituciones de bases suelen representar eventos mutacionales únicos, dicha estabilidad los convierte en la mejor opción para construir árboles filogenéticos, ya que suelen incorporar un gran número de haplotipos en los llamados "haplogrupos" que representan diferentes líneas ancestrales (Jobling *et al.*, 1997). Por su parte, los marcadores con una tasa de mutación mucho mayor, como los STRs, pueden dar más información acerca de la diversidad interna de cada haplogrupo. Además, conociendo la tasa de mutación de ambos marcadores es posible estimar el tiempo aproximado en que divergieron algunas poblaciones a partir de un ancestro común (Jobling y Tyler-Smith, 1995).

Respecto al proceso de poblamiento del Nuevo Mundo, la teoría de las tres migraciones de Greenberg *et al.* (1986) postula que cada uno de los tres grupos nativos de América, los Amerindios, Na-Denes y Aleuto-esquimales, llegaron en tres distintas ondas migratorias por el estrecho de Bering desde Asia. La mayoría de la evidencia arqueológica apunta a una migración inicial hace aproximadamente 12 000 años, la cual ha sido considerada por Greenberg como la de los amerindios, mientras migraciones subsecuentes trajeron a los antecesores de los grupos Na-Dene y Aleuto-esquimales al continente americano (Ruiz-Linares *et al.*, 1999).

largo y ancho de la Sierra Madre Occidental que se sitúa geográficamente en el norte de Jalisco, al oriente de Nayarit y al sur de Durango y Zacatecas. Entre ellos la poligamia se practicaba normalmente en la antigüedad, pero a la fecha ha caído en desuso. Aunque el matrimonio con mestizos no está prohibido, se casan mayormente entre huicholes (Diguët, 1992).

Más al norte se encuentra el grupo tarahumara, que reside en la sierra al suroeste de Chihuahua y al norte de Durango, en dos zonas geográficas: la alta y baja tarahumara, o sierras y barrancas, respectivamente (Scheffler, 1999). Si bien la mayoría de los tarahumaras han sido cristianizados, son gente muy conservadora, y junto con los huicholes, se les considera unos de los pocos pueblos indígenas en Norteamérica que han sido capaces de mantener su estilo de vida casi sin modificaciones durante más de tres siglos de contacto con las poblaciones europeas y mestizas. Entre las restricciones de matrimonio, está prohibido que se realice entre parientes colaterales de primer grado, así como entre parientes directos, y aunque no está prohibido con los mestizos, existen pocos matrimonios con no tarahumaras. El divorcio es frecuente y requiere poca formalidad, suele practicarse la poligamia (Lagace y Swanson, 1999). Lingüísticamente, huicholes y tarahumaras pertenecen al grupo nahua-cuitlateco del tronco yutnahua de la familia pima-cora (Scheffler, 1999).

Otro grupo indígena mexicano importante es el purépecha, que vive en el norte de Michoacán en un territorio que abarca la sierra, la cañada y algunos valles de la zona lacustre (Scheffler, 1999). En su cultura y tradiciones existe una gran influencia cristiana y es común el contacto con mestizos. Lo anterior se refleja en el uso de la lengua, ya que 75% de los purépechas son bilingües y hablan tanto el español como el purépecha, mientras sólo 25% hablan solamente el purépecha (Araujo, 1996). La unidad fundamental de su sociedad es la familia, practican la religión católica, son monógamos y se permite la unión con los mestizos. Actualmente se les clasifica dentro del grupo maya-totonaca, tronco purépecha (Scheffler, 1999).

A la fecha, los estudios con marcadores moleculares del cromosoma Y que incluyan grupos étnicos mexicanos son limitados, en particular para los grupos antes descritos, que resultan de interés por haber sido analizados previamente con marcadores autosómicos (Rangel-Villalobos *et al.*, 2000). En el presente trabajo, se estudiaron

mediante PCR dos marcadores bialélicos: el YAP (+/-) y DYS199 (C/T), y cinco STRs de la región no-pseudoautosómica del cromosoma Y en varones de cuatro poblaciones mexicanas: mestiza, huichol, purépecha y tarahumara. Se estableció la frecuencia y diversidad genética y haplotípica, se observó su grado de diferenciación y variabilidad mediante un análisis molecular de varianza (AMOVA), lo que permitió analizar la relación entre estas poblaciones mexicanas y el nivel de mestizaje para el cromosoma Y.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestra

Para los mestizos, se obtuvieron muestras de ADN de 86 varones voluntarios, no emparentados del noroeste de México, incluyendo los estados de Jalisco, Nayarit y Michoacán. Se captaron como donadores del banco de sangre del Centro Médico Nacional de Occidente (CMNO-IMSS) o como asistentes al servicio de Genética del CIBO (IMSS). Se clasificaron como mestizos mexicanos, ya que ninguno de ellos era extranjero o pertenecía a algún grupo étnico.

Para los grupos étnicos, se obtuvieron muestras de ADN de varones no emparentados de 34 huicholes originarios principalmente de los municipios de Santa Catarina y San Andrés Cohamiata en la Región de Mezquitic, Jalisco, además de algunos municipios de Nayarit, principalmente de El Nayar. De los tarahumaras, se obtuvieron 20 muestras de varones de diferentes localidades, pertenecientes a los municipios de Bocoyna y Guachochi en la Sierra de Chihuahua. De los purépechas se contó con 16 muestras de varones que habitaban, principalmente, las regiones de Puacuario y Janitzio, en Michoacán. Durante las entrevistas se consideró si hablaban la lengua de su etnia y sólo entre los purépechas se incluyeron individuos que hablaban únicamente español, en cuyo caso se descartó que sus padres y abuelos fueran mestizos; en todos los casos sus padres sí hablaban purépecha. Todos los participantes firmaron una carta de consentimiento antes de la inclusión en el estudio. El ADN fue extraído por los métodos de fenol-cloroformo (Sambrook *et al.*, 1989) y CTAB-DTAB (Gustincich *et al.*, 1991).

Análisis de PCR

Para analizar los STRs y la inserción YAP, se utilizaron los *primers* y condiciones reportadas previamente (Kayser *et al.*, 1997; Hammer y Horai, 1995). Para el marcador bi-alélico DYS199 se emplearon los *primers* y las condiciones sugeridas por Lell *et al.* (1997), donde el producto amplificado se digirió con la enzima *MunI* de acuerdo con el proveedor (Life Technologies, Inc.); el alelo C generó dos fragmentos (118pb y 30pb), mientras el alelo T permaneció intacto (211pb). En todos los casos se utilizaron controles positivos para la digestión y controles negativos para detectar posible contaminación. Las mezclas de la reacción se realizaron en tubos de 0.2 ml conteniendo lo siguiente: 1 ml de buffer 10X para PCR (Perkin Elmer Cetus), 0.25 ml de dNTPs a 2.5 mM, 0.3 ml de cada cebador a 20 mM, 0.5 unidades de Taq polimerasa (Gibco-BRL) aforados con agua HPLC a un volumen final de 10 ml con 50 a 100 ng de ADN genómico. Para DYS199 se aumentó el volumen total a 20 ml con el fin de tener producto suficiente para la digestión.

Todos los marcadores se analizaron individualmente por electroforesis en geles de poliacrilamida (PA) al 6%; para los STRs la proporción acrilamida:bisacrilamida fue 19:1 y para los marcadores bialélicos fue 29:1. La electroforesis se llevó a cabo en cámaras verticales de 15 x 20 x 0.8 cm (mod. DASG250, CBS Scientific) con buffer TBE 1X. Se aplicaron 5 ml de producto amplificado con 2 ml de buffer cargador. Los geles se corrieron a 300V durante 2 horas para YAP, DYS199 y DYS393, 3 horas para DYS19, 4.5 horas para DYS389a, DYS390 y DYS391, y para YAP y DYS199 los alelos fueron identificados por electroforesis con ayuda de un marcador de peso molecular (50pb ladder). Para los STRs, la identificación de los alelos se basó en la comparación de muestras control; la nomenclatura utilizada consiste en nombrar al alelo por el número de repeticiones en su interior. Finalmente, los geles se tiñeron mediante la técnica de tinción de plata rápida (Sanguinetti *et al.*, 1994).

Análisis estadístico

Las frecuencias alélicas se estimaron con el método de *gene counting*. Para los marcadores del cromosoma Y, la diversidad genética (h) de

cada marcador representa su “heterocigosidad teórica” y se calculó de la siguiente manera: $h = (n/n-1) \sum 1 - S f_i^2$, donde f representa la frecuencia del i th alelo y n es el tamaño de la muestra. Similarmente, la diversidad haplotípica no sesgada (D) se computó como: $D = (n/n-1) \sum 1 - S x_i^2$, donde x_i representó la frecuencia del i th haplotipo. La diferenciación de las distribuciones alélicas se estimó por comparación pareada mediante pruebas exactas. Se realizó un análisis molecular de varianza (AMOVA) para determinar el grado de diversidad del cromosoma Y en estas poblaciones mexicanas, con el fin de estimar un promedio de qué tan alejado se encuentra un individuo de otro en una muestra dada, en términos de eventos mutacionales. El análisis se realizó con ayuda del programa TFPGA para Windows versión 1.3 (Miller, 1997) y Arlequín versión 2.000 (Schneider *et al.*, 2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Distribución alélica

Se estableció la frecuencia alélica y diversidad genética (h) de los marcadores STRs analizados en cada población y en los tres grupos amerindios en conjunto (cuadro 1). Para DYS19, el rango de frecuencia del alelo 13 en estos grupos fue muy elevado (70 al 80%), destacando los huicholes y purépechas por tener sólo los alelos 13 y 14. En el caso de DYS389a, la similitud no fue tan evidente entre grupos amerindios, ya que hubo variaciones tanto en el alelo modal (alelo 10 en tarahumaras, 11 en los demás) como en la segunda moda. Cabe mencionar al alelo DYS389a-12 detectado en huicholes, el cual es poco común o ausente en la mayoría de las poblaciones del mundo (Kayser *et al.*, 1997; Knijff *et al.*, 1997). De manera similar, la distribución de DYS390 fue muy heterogénea destacando, por una parte, los huicholes por presentar una frecuencia elevada del alelo 24 (79.4%) y, por otra, los tarahumaras por contar con sólo dos alelos (23 y 24). Para DYS391, la moda en todas las poblaciones fue el alelo 10, donde nuevamente destacaron los huicholes por su alta frecuencia para este alelo (82.3%); las diferencias entre grupos se basaron en el segundo alelo modal. Por su parte, DYS393 resultó muy particular en

Cuadro 1

Frecuencias alélicas y diversidad genética (*h*) de 5 STRs ligados al Y en varones de cuatro poblaciones mexicanas

STR alelo	Población / Grupo étnico de México				
	Mestiza n= 86	Huichol n= 34	Tarahumara n= 20	Purépecha n= 16	Amerindios n= 70
DYS19					
13	30.2	<u>70.6</u>	<u>80</u>	<u>81.3</u>	<u>75.7</u>
14	<u>43</u>	29.4	10	18.7	21.7
15	22.1	-	5	-	1.4
16	2.3	-	5	-	1.4
17	2.3	-	-	-	-
	<i>h</i> = 67.7	<i>h</i> = 42.1	<i>h</i> = 35.4	<i>h</i> = 31.4	<i>h</i> = 38
DYS389 I)					
9	22.1	2.9	30	37.5	18.6
10	<u>60.5</u>	<u>58.8</u>	30	<u>50</u>	<u>48.6</u>
11	17.4	35.3	<u>40</u>	12.5	31.4
12	-	2.9	-	-	1.4
	<i>h</i> = 55.8	<i>h</i> = 53.6	<i>h</i> = 67.7	<i>h</i> = 61.3	<i>h</i> = 63.1
DYS390					
21	2.3	-	-	-	-
22	10.5	-	-	-	-
23	26.7	8.8	40	12.5	18.6
24	<u>48.8</u>	<u>79.41</u>	<u>60</u>	<u>37.5</u>	<u>64.3</u>
25	9.3	11.8	-	<u>37.5</u>	14.3
26	2.3	-	-	12.5	2.9
	<i>h</i> = 67.32	<i>h</i> = 35.3	<i>h</i> = 49.2	<i>h</i> = 71.0	<i>h</i> = 53.1
DYS391					
9	3.5	5.9	10	31.3	12.9
10	<u>54.7</u>	<u>82.3</u>	<u>60</u>	<u>56.2</u>	<u>70</u>
11	39.5	5.9	30	12.5	14.3
12	2.3	5.9	-	-	2.9
	<i>h</i> = 54.6	<i>h</i> = 31.6	<i>h</i> = 55.4	<i>h</i> = 58.9	<i>h</i> = 47.2
DYS393					
11	1.2	-	-	-	-
12	17.4	-	20	-	5.7
13	<u>64</u>	<u>100</u>	<u>80</u>	<u>81.2</u>	<u>90</u>
14	15.1	-	-	-	-
15	2.3	-	-	18.8	4.3
	<i>h</i> = 54.0	<i>h</i> = 0	<i>h</i> = 44.7	<i>h</i> = 41.9	<i>h</i> = 18.5

las etnias mexicanas, ya que los huicholes todos tuvieron el alelo 13, mientras tarahumaras y purépechas presentaron sólo dos alelos. La distribución alélica de los 5 STRs entre las etnias mexicanas concuerda con reportes previos referentes a otros grupos amerindios (Bianchi *et al.*, 1998; Rodríguez-Delfín, 1997), y sobresale DYS19 por diferenciar claramente a los mestizos los cuales presentan un patrón muy similar al de poblaciones hispanas y de algunas europeas (Rangel-Villalobos *et al.*, 2001).

Diversidad genética

La diversidad genética de los 5 STRs se estimó en cada una de las poblaciones estudiadas (cuadro 1). Respecto a los mestizos, los grupos amerindios en conjunto presentaron una menor diversidad genética para los STRs, excepto DYS389a. Para DYS19, la baja diversidad en amerindios se debe a que sólo presentan dos alelos (13 y 14) o a que éstos tienen frecuencias muy altas. Para DYS393, el grupo huichol resultó singular por presentar sólo un alelo. Entre las etnias mexicanas, los huicholes destacaron por tener la menor diversidad para todos los STRs, excepto para DYS19. Esta menor diversidad en Amerindios puede interpretarse como resultado de un menor tiempo de diversificación a partir de un grupo ancestral, del cual se propone que pobló la mayor parte del continente americano. Parece que los niveles de aislamiento y el tamaño de las poblaciones acentuaron el efecto de deriva génica en algunas poblaciones, como se observa en los huicholes en este estudio.

Marcadores bialélicos

Para los marcadores bialélicos, el alelo YAP(+) sólo se detectó en 10 individuos mestizos (11.6%) y estuvo ausente en todas las etnias mexicanas estudiadas, lo cual no representó una diferencia significativa entre mestizos-amerindios ($p > 0.05$). Para el alelo exclusivo de amerindios DYS199-T, los mestizos fueron diferentes a los grupos étnicos mexicanos ($p < 0.01$) por presentarlo en baja frecuencia (18.6%), mientras que en amerindios fue el alelo predominante: tarahumaras (55%), purépechas (93.8%) y en huicholes (100%).

Diferenciación genética

La diferenciación genética global y para cada STR entre las cuatro poblaciones analizadas (cuadro 2) se estimó con base en las frecuencias alélicas. Se observó una clara diferenciación de los mestizos con los purépechas y huicholes por ser diferentes en 4 y 5 STRs, respectivamente, que mientras los mestizos y tarahumaras fueron diferentes en sólo 2 STRs (DYS19, 389a). Entre los amerindios, los purépechas y tarahumaras se diferenciaron sólo en 2 STRs (DYS390 y DYS393), mientras que los huicholes presentaron diferencias con tarahumaras y purépechas para 3 y 4 STRs, respectivamente.

Cuadro 2

Comparación pareada de la distribución alélica de 6 STRs ligados al Y entre cuatro poblaciones mexicanas

Población STR	Mestiza vs.			Huichol vs.		Purépecha vs.
	huichol	purépecha	tarahumara	purépecha	tarahumara	tarahumara
DYS19	***	**	***	p= 0.5145 SE ± 0.007	p= 0.061 SE ± 0.006	p= 0.8944 SE ± 0.004
DYS389 I)	**	p= 0.4409 SE ± 0.01	*	**	*	p= 0.250 SE ± 0.008
DYS390	*	*	p= 0.3424 SE ± 0.01	**	*	**
DYS391	***	**	p= 0.4549 SE ± 0.02	*	p= 0.0516 SE ± 0.006	p= 0.2757 SE ± 0.010
DYS393	***	*	p= 0.3116 SE ± 0.01	*	*	*

En todos los casos, la diferenciación global entre poblaciones para los 5 STRs fue significativa ($p < 0.005$).

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Análisis de haplotipos

En un total de 156 haplotipos completos de las cuatro poblaciones mexicanas analizadas, se observaron 88 haplotipos diferentes que se agruparon en tres haplogrupos de acuerdo con los alelos de los marcadores bialélicos analizados (YAP y DYS199): -/C, -/T y +/C

(cuadro 3). Dentro del haplogrupo -/C se observaron 50 haplotipos diferentes en 70 individuos de la muestra, de los cuales 60 fueron mestizos (85.7%), 9 tarahumaras (12.9%) y uno purépecha (1.4%). Del haplogrupo exclusivo de amerindios -/T, se observaron 28 haplotipos diferentes en 76 individuos, de los cuales 34 fueron huicholes (44.7%), 15 purépechas (19.7%), 11 tarahumaras (14.5%) y 16 mestizos (21.1%). En el haplogrupo +/C se identificaron 8 haplotipos en 10 individuos, todos mestizos.

Si consideramos que la muestra de mestizos fue de 86 individuos, con los datos antes presentados podemos estimar que el componente amerindio en las líneas paternas de la población mestiza mexicana muestreada es al menos 18.6% (16/86). Sin embargo, hay que considerar al segundo haplotipo ancestral (YAP-/199-C) implicado en amerindios, a partir del cual se postula que se derivó el YAP-/DYS199-T. La evidencia más consistente de la existencia de este segundo haplotipo se obtuvo al constatar la homología en alelos STRs entre los haplotipos del Y de poblaciones amerindias (Ruiz-Linares *et al.*, 1999), por lo que es recomendable la inclusión de otros marcadores que permitan diferenciar a los haplotipos amerindios dentro del haplogrupo YAP-/199-C, para establecer con más certeza el componente amerindio en nuestra población. Un STR que podría ser informativo en este sentido es DYS392, pues presenta una distribución particular en amerindios con diferencia en alelos modales con respecto a caucásicos (Kayser *et al.*, 1997; De Knijff *et al.*, 1997; Rodríguez-Delfín *et al.*, 1997; Bianchi *et al.*, 1998). Este nivel de mestizaje para el cromosoma Y es mayor al reportado en poblaciones sudamericanas predominantemente caucásicas, donde los cromosomas Y amerindios podrían llegar a ser del 10% (Pena *et al.*, 1995; Bianchi *et al.*, 1997) o tan bajas como el 1% en poblaciones de Colombia (Carvajal-Carmona *et al.*, 2000).

Se estableció el número de haplotipos diferentes y la diversidad haplotípica (*D*) que presentó cada población y cada uno de los tres haplogrupos (cuadro 3). Como era de esperarse, la población mestiza tuvo una mayor diversidad genética que los amerindios; en los tarahumaras fue ligeramente menor, seguida por los purépechas y los huicholes. Esta disminución de diversidad, con respecto a grupos raciales mayores, se ha observado en otros estudios tanto con marcadores del Y como autosómicos.

Cuadro 3

Diversidad haplotípica (*D*) y de haplogrupos formados por siete marcadores ligados al Y en varones de cuatro poblaciones mexicanas

Población/Haplogrupo	Haplotipos diferentes	Diversidad haplotípica (%)	
Mestizos	n= 86	64	D= 98.6 ± 0.65
Huicholes	n= 34	13	D= 87.17 ± 3.28
Purépechas	n= 16	13	D= 97.5 ± 2.95
Tarahumaras	n= 20	17	D= 98.42 ± 2.05
Haplogrupo -/A	n= 70	50	D= 97.6 ± 1.11
Haplogrupo -/T	n= 80	30	D= 93.96 ± 1.26
Haplogrupo +/A	n= 10	8	D= 93.33 ± 7.7

Se estableció la diversidad haplotípica de cada haplogrupo, donde la mayor fue la de YAP- /DYS199-C, significativamente mayor a la de YAP(-)/199-T, lo que evidencia la mayor y menor antigüedad de estos haplogrupos, respectivamente. La diversidad real del haplogrupo YAP(+)/199-C no pudo determinarse por lo reducido de la muestra, lo cual se hace evidente en el elevado error estándar estimado.

Por otra parte, se observaron haplotipos compartidos entre las poblaciones, los mestizos compartieron seis con los tarahumaras y cinco con las otras dos etnias. Entre los grupos étnicos, los huicholes compartieron cinco con los purépechas y cuatro con los tarahumaras, mientras tarahumaras y purépechas sólo compartieron dos. El haplotipo YAP(-)/199-T/19-13/389a-10/390-24/391-11/393-13 se distinguió por estar presente en todas las poblaciones mexicanas (cinco individuos). Este haplotipo se diferencia sólo por un evento mutacional en *DYS391* respecto al principal haplotipo ancestral amerindio YAP(-)/DYS199-T, el cual se compone de los alelos modales para los 5 STRs /13/10/24/10/13 y estuvo presente en 10 individuos de las diferentes poblaciones, con excepción de los tarahumaras. Cabe señalar que la mayor parte de los cromosomas Y de la muestra huichol (22/34; 62.74%) estuvo constituida por el principal haplotipo amerindio (siete individuos) y por otras dos derivaciones de este haplotipo por un solo evento mutacional (siete y ocho individuos, respectivamente), lo que sugiere un posible origen único de éstos

por efecto fundador o como resultado de poligamia, que se sabe era practicada por este grupo en la antigüedad (Diguët, 1992).

Respecto a los tarahumaras, aunque a primera vista los resultados presentados parecen indicar un elevado componente no-amerindio en este grupo, y por lo tanto un mayor flujo génico o mestizaje, con esta información no es posible asegurarlo, debido a la probable presencia de un segundo haplotipo relacionado con amerindios (Rodríguez-Delfín *et al.* 1997; Ruiz-Linares *et al.*, 1999). En este sentido, el microsatélite DYS19 resulta por demás informativo, ya que en éste y otros estudios con amerindios (Bianchi *et al.*, 1998) se ha observado la predominancia de los alelos 13 y 14. De los nueve tarahumaras con el haplotipo YAP-/DYS199-C, sólo dos presentaron los alelos DYS19-15 y 16, mientras los otros siete se relacionaron con el principal haplotipo amerindio con una diferencia máxima de tres eventos mutacionales (STRs), donde los alelos resultantes no son raros en amerindios (>0.05). Lo anterior sugiere que en tarahumaras podría existir una alta frecuencia de este segundo haplotipo amerindio, que en parte podría explicarse por efecto de deriva génica, aunque también se podría establecer un discreto nivel de mestizaje para este genoma paterno (2/20, 10%); considerando los alelos DYS19-15 y 16 encontrados en tarahumaras que son poco frecuentes en amerindios. La inclusión del marcador DYS392, que suele presentar también una distribución muy particular en amerindios, permitirá asegurar o descartar este punto de vista.

Cabe mencionar los resultados de un estudio anterior que incluye hombres y mujeres con cuatro marcadores STRs y 2 VNTRs (también conocidos como minisatélites) de estas mismas poblaciones (Rangel-Villalobos *et al.*, 2000), donde los tarahumaras fueron los más diferenciados con respecto a los mestizos mexicanos y, en menor medida, con purépechas y huicholes. Su mayor diferenciación fue resultado de sus elevadas frecuencias para algunos alelos y su baja diversidad, lo cual sugiere efectos de deriva génica, donde el nivel de aislamiento tanto geográfico como cultural apoyan esta interpretación.

Con respecto a los purépechas, en el trabajo anterior de Rangel-Villalobos *et al.* (2000), se sugiere un mayor componente español en este grupo, ya que no presentó diferencias significativas con los mestizos para ninguno de los seis marcadores analizados y filogenéticamente se acercaron más a los mestizos, además de la gran in-

fluencia mestiza reportada en este grupo que se refleja en su lenguaje, cultura y religión (Araujo, 1996), ayudado en gran medida por su ambiente menos aislado en la zona lacustre de Michoacán (Scheffler, 1999). Esto resulta controversial con la evidencia que presenta el cromosoma Y en este mismo grupo, ya que un solo haplotipo no tuvo la mutación exclusiva de amerindios (DYS199-T), y su haplotipo con STRs lo relaciona directamente con el segundo haplotipo amerindio. Hay que apuntar que sólo analizamos ocho varones purépechas, es decir, la mitad de la muestra analizada en este trabajo previo (16 individuos).

Entre las explicaciones posibles hay que considerar, por un lado, la menor tasa de migración de varones propuesta para el cromosoma Y (Seielstad *et al.*, 1998) que indica una tendencia mayor de las mujeres a emigrar a la localidad de sus parejas, la cual ha sido documentada en dos tercios de las poblaciones humanas. Por otra parte, es bien conocida la gran tasa de emigración de los purépechas, principalmente a Estados Unidos, para trabajar como asalariados (Scheffler, 1999). Lo anterior sugiere que la mayor parte del flujo génico, inferido en el estudio precedente por el aumento de diversidad genética y el mayor número de alelos observado con otros marcadores, podría estar determinado por matrimonios entre varones purépechas con mujeres no-purépechas, lo que explicaría la predominancia amerindia para este genoma heredado paternalmente. Estudios socioetnográficos más detallados podrían confirmar o descartar esta suposición.

Análisis molecular de varianza (AMOVA)

Para el AMOVA las poblaciones se agruparon como *amerindias*, incluidos los huicholes purépechas y tarahumaras, y en otro nivel se consideró a la *mestiza* (cuadro 4). Los resultados denotan que alrededor del 21.5 % de la varianza total es atribuible a diferencias entre las poblaciones mexicanas ($p < 0.001$), y la mayor parte de la varianza (78.5 %) se debe a diferencias intrapoblacionales. Esto contrasta con otros estudios, como el realizado en población alemana y holandesa, donde la varianza interpoblacional fue mucho mayor (66.8 %), lo que indica que los hombres de estas poblaciones se relacionan más con hombres de su misma población, principalmente como resultado del

Cuadro 4

Análisis molecular de varianza (AMOVA) en haplotipos ligados al Y en varones de cuatro poblaciones mexicanas

Tipo de comparación	Porcentaje de variación	Estadístico Φ	Valor de p
Entre grupos (mestizos <i>vs.</i> amerindios)	13.84	$\Phi_{CT} = 0.1384$	0.2014 ± 0.012
Entre poblaciones dentro de grupos	7.62	$\Phi_{SC} = 0.0884$	<0.001
Dentro de las poblaciones	78.54	$\Phi_{ST} = 0.2146$	<0.001

bajo nivel de flujo génico del genoma paterno entre estas poblaciones europeas (Roewer *et al.*, 1996). En las poblaciones mexicanas, tanto el componente amerindio de la población mestiza como el componente no-amerindio (principalmente español) podrían explicar la baja variación interpoblacional encontrada; esto sugiere un nivel de “mezcla” o mestizaje significativo en la población mexicana. En este contexto, la gran variabilidad del cromosoma Y en los varones de la misma población se puede atribuir a la variabilidad intrínseca de los marcadores y a los eventos históricos que originaron estas poblaciones, por ejemplo la fusión de amerindios con españoles que originó a los mestizos mexicanos. El estimado de 0.088 reveló que existe una apreciable cantidad de divergencia del cromosoma Y entre etnias del grupo *amerindio*, que en este caso podría atribuirse a efectos de deriva génica por el tamaño pequeño de estas etnias y el nivel de aislamiento geográfico y cultural que los caracteriza. De la variabilidad originada por el agrupamiento de amerindios, también se observa que ~14% de la varianza total se atribuye a diferencias entre los mestizos y las poblaciones amerindias de México, aunque ésta no fue significativa ($p = 0.2$). Finalmente, las comparaciones pareadas entre haplotipos por el número de alelos diferentes (F_{st}) mostraron una diferencia significativa entre todos los casos ($p < 0.000$), aunque entre huicholes y purépechas fue menos pronunciada, pero significativa ($p = 0.0091 \pm 0.0091$).

En conclusión, se estableció el componente amerindio mínimo que tiene el cromosoma Y de la muestra mestiza mexicana estudiada. En los grupos étnicos se observó la predominancia de haplotipos amerindios del Y. La diferenciación genética para el cromosoma Y fue significativa entre estas poblaciones mexicanas. En tarahumaras falta

por definir si existe, ya sea un gran nivel de componente no-amerindio o una elevada frecuencia del segundo haplotipo amerindio; en esta última propuesta estarían involucrados eventos de deriva génica y/o efecto fundador, los cuales sí fueron evidentes en el grupo huichol.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a los individuos que participaron en este estudio aportando muestras de sangre. Este trabajo se realizó con apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT, proyecto 33949).

REFERENCIAS

ARAUJO, M.

1996 Purépecha Indians (<http://www.azteca.net/prehisp/purepec2.html>).

BATISTA-DOS-SANTOS, S. E., J. D. RODRIGUES, A.K.C RIVEIRA-DOS-SANTOS Y M. A. ZAGO

1999 Differential contribution of indigenous men and woman to the formation of an urban population in the amazon region as revealed by mtDNA and Y-DNA, *American Journal of Physical Anthropology*, 109: 175-180.

BIANCHI, N.O., G. BAILLIET, C. M. BRAVI, R. F. CARNESE, F. ROTHHAMMER, V. L. MARTÍNEZ-MARIGNAC Y S. D. J. PENA

1997 Origin of Ameridian Y-chromosomes as inferred by the analysis of six polymorphic markers, *American Journal of Physical Anthropology*, 102: 79-89.

BIANCHI, N.O., C.I. CATANESI, G. BAILLIET, V. L. MARTÍNEZ-MARIGNAC, C. M. BRAVI, L. B. VIDAL-RIOJA, R. J. HERRERA Y J. S. LÓPEZ-CAMELO

1998 Characterization of ancestral and derived Y-chromosome haplotypes of New World native populations, *American Journal of Human Genetics*, 63: 1862-1871.

CARVALHO-SILVA, D. R., F. R. SANTOS, J. ROCHA Y S. D. J. PENA

2001 The phylogeography of Brazilian Y-chromosome lineages, *American Journal of Human Genetics*, 68: 281-286.

CARVAJAL-CARMONA, L. G., I. D. SOTO, N. PINEDA, D. ORTIZ-BARRIMIENTOS, C. DUQUE, J. OSPINA-DUQUE, M. MCCARTHY, P. MONTOYA, V. M. ÁLVAREZ, G. BEDOYA Y A. RUIZ-LINARES

2000 Strong amerind/white sex bias and a posible sephardic contribution among the founders of a population in northwest Colombia, *American Journal of Human Genetics*, 67: 1287-1295.

DIGUET, L.

1992 *Por tierras occidentales entre sierras y barrancas*, Centro de Estudios Mexicanos y Centroamericanos de la Embajada de Francia en México-Instituto Nacional Indigenista, México D.F.

GREENBERG, JOSEPH, H. CRISTY, G. TURNER II Y STEPHEN L. ZEGURA

1986 The settlement of the Americas: A comparison of the Linguistic, Dental and Genetic evidence, *Current Anthropology*, 27(5): 477-497.

GUSTINCICH, S., P. CARMINCI Y G. DEL SAL

1991 A fast method for high-quality genomic DNA extraction from whole human blood, *Biotechniques*, 11: 744.

HAMMER, M. F., A. B. SPURDLE, T. KARAFET, M. R. BONEER, E. T. WOOD, A. NOVELLETO, P. MALASPINA, J. MITCHELL, S. HORAI, T. JENKINS Y S. L. ZEGURA

1997 The geographic distribution of human Y chromosome variation, *Genetics*, 145: 787-805.

HAMMER, M. F. Y S. HORAI

1995 Y chromosomal DNA variation and the peopling of Japan, *American Journal of Human Genetics*, 56: 951-962.

JOBLING, M. A. Y C. TYLER-SMITH

1995 Fathers and sons: the Y chromosome and human evolution, *Trends in Genetics*, 11: 449-456.

JOBLING, M. A., A. PANDYA Y C. TYLER-SMITH

1997 The Y chromosome in forensic analysis and paternity testing, *International Journals of Legal Medicine*, 110: 118-124.

KARAFET, T. M., S. L. ZEGURA, O. POSUKH, L. OSIPOVA, A. BERGEN, J. LONG, D. GOLDMAN, W. KLITZ, S. HARIHARA, P. DE KNIJFF, V. WIEBER, R. C. GRIFFITHS, A. R. TEMPLETON Y M. F. HAMMER

1999 Ancestral Asian source(s) of New World Y-chromosome founder haplotypes, *American Journal of Human Genetics*, 64: 817-831.

KAYSER, M., A. CAGLIA, D. CORACH, N. FRETWELL, C. GEHRIG, G. GRAZIOSI, F. HEIDORN, S. HERRMANN, B. HERZOG, M. HIDDING, K. HONDA, M. JOBLING, M. KRAWEZAK, K. LEIM, S. MEUSER, E. MEYER, W. OESTERREICH, A. PANDYA, W. PARSON, G. PENACINO, A. PÉREZ-LEZAUN, A. PICCININI, M. PRINZ, C. SCHMITT, P. M. SCHNEIDER, R. SZIBOR, J. TEIFEL-GREDING, G. WEICHHOLD, P. DE KNIJFF Y L. ROEWER

1997 Evaluation of Y-chromosomal STRs: a multicenter study, *International Journal of Legal Medicine*, 110: 125-133.

KNIJFF, P., M. KAYSER, A. CAGLIA, D. CORACH, N. FRETWELL, C. GEHRIG, G. GRAZIOSI, F. HEIDORN, S. HERRMANN, B. HERZOG, M. HIDDING, K. HONDA, M. JOBLING, M. KRAWEZAK, K. LEIM, S. MEUSER, E. MEYER, W. OESTERREICH, A. PANDYA, W. PARSON, G. PENACINO, A. PEREZ-LEZAUN, A. PICCININI, M. PRINZ, C. SCHMITT, P. M. SCHNEIDER, R. SZIBOR, J. TEIFEL-GREDING, G. WEICHHOLD Y L. ROEWER

1997 Chromosome Y microsatellites: population genetic and evolutionary aspects, *International Journal of Legal Medicine*, 110: 134-140.

LAGACE, R. O. Y E. C. SWANSON. SOCIETY TARAHUMARA

(<http://lucy.ukc.ac.uk/EthnoAtlas/Hmar/cult-dir/culture.7872>).

LELL, J. T., M. D. BROWN, T. G. SCHURR, R. I. SUKERNIK, Y. B. STARIKOVSKAYA, A. TORRONI, L. G. MOORE, G. M. TROUP Y D. C. WALLACE

1997 Y chromosome polymorphisms in Native American and Siberian populations: identification of Native American Y chromosome haplotypes, *Human Genetics*, 100: 536-543.

MESA, N. R., M. C. MONDRAGÓN, I. D. SOTO, M. V. PARRA, C. DUQUE, D. ORTIZ-BARRIENTOS, L. F. GARCÍA, I. D. VÉLEZ, M. L. BRAVO, J. G. MÚNERA, G. BEDOYA, M. C. BORTOLINI Y A. RUIZ-LINARES

2000 Autosomal, mtDNA, and Y-chromosome diversity in Ameridians: Pre- and post-Columbian patterns of gene flow in South America, *American Journal of Human Genetics*, 67: 1277-1286.

MILLER, M. P.

1997 Tools for population genetic analysis (TFPGA) version 1.3. Department of Biological Sciences-Box 5640, Northern Arizona University, <http://herb.bio.nau.edu/~miller>

PENA, S. D. J., F. R. SANTOS, N. O. BIANCHI, C. M. BRAVI, R. F. CARNESE, F. ROTHHAMMER, T. GERELSAIKHAN, B. MUNKHUTUJA Y T. OYUNSUREN
 1995 A mayor founder Y-chromosomes haplotype in Ameridians, *Nature Genetics*, 11: 15-16.

RANGEL-VILLALOBOS, H., F. RIVAS, L. SANDOVAL, Z. Y. GARCÍA-CARVAJAL, J. M. CANTÚ Y L. E. FIGUERA
 2000 Genetic variation among four Mexican Populations (Huichol, Purepecha, Tarahumara and Mestizo) Revealed by two VNTRs and four STRs, *Human Biology*, 72: 983-995.

RANGEL-VILLALOBOS, H., A. R. JALOMA-CRUZ, I. SANDOVAL, J. S. VELARDE-FÉLIX, M. P. GALLEGOS-ARREOLA Y L. E. FIGUERA
 2001 Y-chromosome haplotypes for six STRs in a Mexican population, *Archives of Medical Research*, 32: 232-237.

RODRÍGUEZ-DELFIN, L., S. E. B. SANTOS Y M. A. ZAGO
 1997 Diversity of the Y chromosome of south american amerindians: a comparison with blacks, whites and japanese from Brazil, *Annals of Human Genetics*, 64: 439-448.

ROEWER, L., M. KAYSER, P. DIELTJES, M. NAGY, E. BAKKER, M. KRAWCZAK Y P. DE KNIJFF
 1996 Análisis of molecular variance (AMOVA) of Y-chromosome-specific microsatellites in two closely related human populations, *Human Molecular Genetics*, 5(7): 1029-1033.

RUIZ-LINARES, A., D. ORTIZ-BARRIENTOS, M. FIGUEROA, N. MESA, J. G. MÚNERA, G. BEDOYA, I. D. VÉLEZ, L. F. GARCÍA, A. PÉREZ-LEZAUN, J. BERTRANPETIT, M. W. FELDMAN Y D. B. GOLDSTEIN
 1999 Microsatellites provide evidence for Y chromosome diversity among the founders of the new world, *Proceedings National Academy Sciences USA*, 96: 6312-6317.

SAMBROOK, J., E. F. FRITSCH Y F. MANIATIS
 1989 *Molecular cloning: A laboratory manual*, N. Ford, C. Nolan, M. Ferguson (eds.), Cold Spring Harbord Laboratory Press, New York, USA.

SANGUINETTI, J. C., DÍAS N. E. Y A. J. SIMPSON
 1994 Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels, *Biotechniques*, 17: 914-921.

- SANTOS, F. R., N. O. BIANCHI Y S. D. J. PENA
1996 Worldwide distribution of human Y-chromosome haplotypes, *Genome Research*, 6: 601-611.
- SANTOS, F. R., A. PANDYA, C. TYLER-SMITH, S. D. J. PENA, M. SCHAFIELD, W. R. LEONARD, L. OSIPOVA, M. H. CRAWFORD Y R. J. MITCHELL
1999 The central Siberian Origin for Native American Y chromosomes, *American Journal of Human Genetics*, 64: 619-628.
- SCHEFFLER, L.
1999 *Los indígenas mexicanos*, Editorial Panorama, México, D.F.
- SCHENEIDER, M. T., D. ROESSLI Y L. EXCOFFIER
2000 ARLEQUIN version 2000: a software for population genetic analysis, Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Geneva.
- SEIELSTAD, M. T., E. MINCH Y L. L. CAVALLI-SFORZA
1998 Genetic evidence for higher migration rate in humans, *Nature Genetics*, 20: 219-220.
- TARAZONA-SANTOS, E., D. R. CARVALHO-SILVA, D. PETTENER, D. LUISELLI, G. F. DE STEFANO, C. MARTÍNEZ-LABARGA, O. RICKARDS, C. TYLER-SMITH, S. D. J. PENA Y F. R. SANTOS
2001 Genetic differentiation in south Ameridians is related to environmental and cultural diversity: evidence from the Y chromosome, *American Journal of Human Genetics*, 68: 1485-1496.
- TORRONI, A., Y. CHEN, O. A. SEMINO, A. S. SANTACHIARA-BENECERETTI, C. R. SCOTT, M. T. LOTT, M. WINTER Y D. C. WALLACE
1994 mtDNA and Y-chromosome polymorphisms in four Native American populations from Southern Mexico, *American Journal of Human Genetics*, 54: 303-318.
- UNDERHILL, P. A., L. JIN, A. A. LIN, S. Q. MEHDI, T. JENKINS, D. VOLLRATH, R. W. DAVIS, L. L. CAVALLI-SFORZA Y P. J. OEFNER
1996a Detection of numerous Y chromosome biallelic polymorphisms by denaturing high-performance liquid chromatography, *Genome Research*, 7: 996-1005.

- UNDERHILL, P. A., LI JIN, R. ZEMANS, P. J. OEFNER Y L. CAVALLI-SFORZA
1996b A pre-Columbian Y chromosome-specific transition and its implications for human evolutionary history, *Proceedings National Academic Science USA*, 93: 196-200.
- VALLINOTO, A. C., I. M. V. CAYRES-VALLINOTO, A. K. C. RIBEIRO-DOS SANTOS, M. A. ZAGO, S. E. B. SANTOS Y J. F. GUERREIRO
1998 Heterogeneity of Y chromosome markers among Brazilian Amerindians, *American Journal of Human Biology*, 11: 481-487.