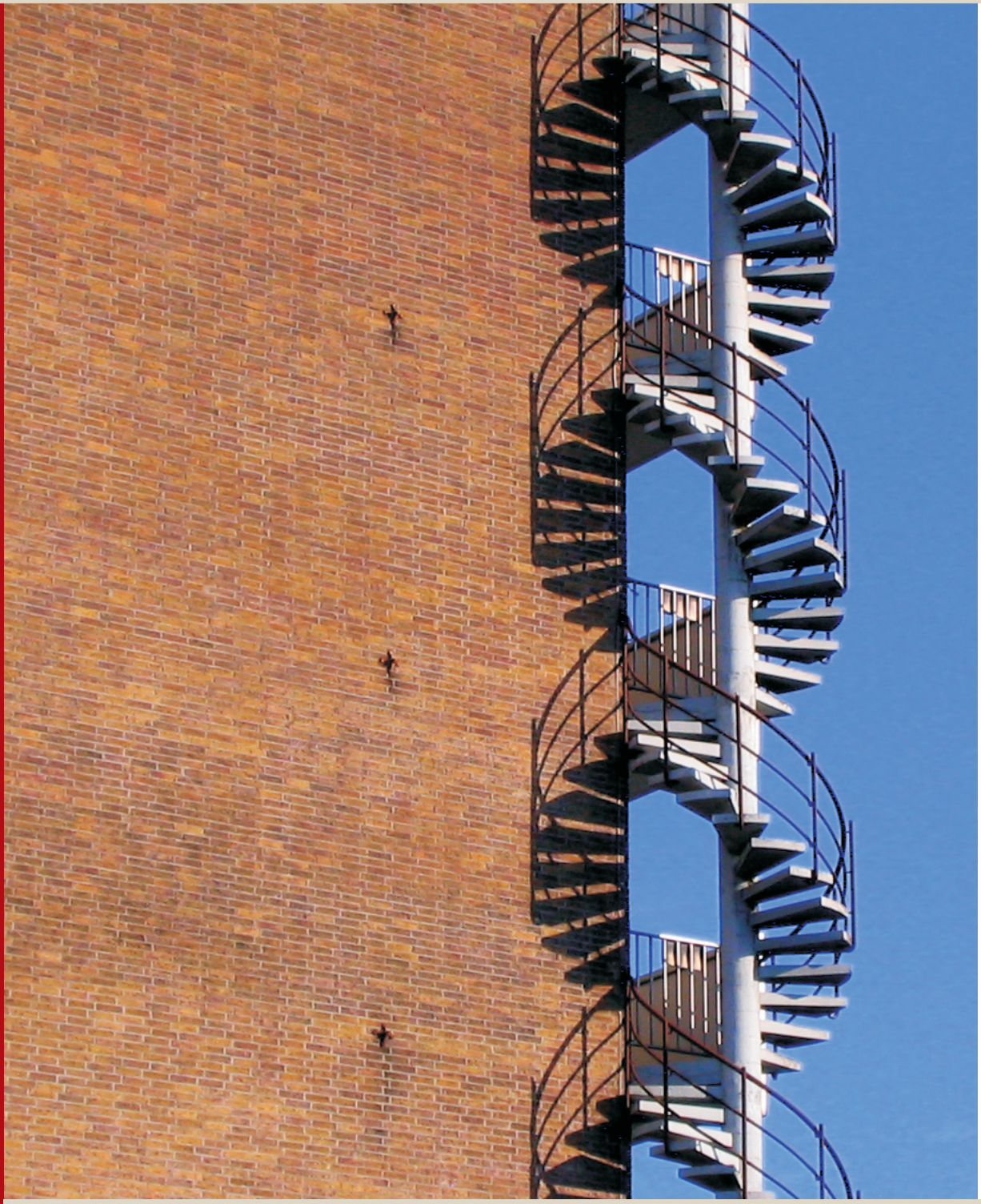
VIAJANDO CON GENES:

Una metodología molecular aplicada a interrogantes arqueológicos

Cristian Marcelo Crespo



Colección TESIS

RÍO NEGRO UNIVERSIDAD NACIONAL

IIDyPCa Instituto de Investigaciones en Diversidad Cultural y Procesos de Cambio

CONICET

Viajando con Genes

Una Metodología Molecular Aplicada a Interrogantes Arqueológicos

Cristian Marcelo Crespo

2011

Crespo, Cristian Marcelo
Viajando con Genes : una metodología molecular aplicada a interrogantes arqueológicos.
- 1a. ed. - San Carlos de Bariloche : IIDyPCa - Universidad Nacional de Río Negro - CONICET, 2011.
120 p. ; 28x21 cm.

ISBN 978-987-26198-3-1

1. Arqueología. 2. ADN. I. Título.
CDD 930.1

Fecha de catalogación: 23/06/2011

Viajando con genes:
Una metodología molecular aplicada a interrogantes arqueológicos.

Primera Edición Julio 2011.
©2011 Cristian Marcelo Crespo.

Derechos reservados para todas las ediciones.

Diseño de tapa: Sebastián Hourçouripé
Área de Comunicación Institucional
Universidad Nacional de Río Negro - Sede Andina

Instituto de Investigaciones en Diversidad Cultural y Procesos de Cambio
Universidad Nacional de Río Negro - CONICET
Sarmiento Inferior 3974
R8403BNH, San Carlos de Bariloche
Río Negro – Argentina

Teléfono (+ 54 2944) 441809 Fax (+ 54 2944) 442698

iidypca@unrn.edu.ar

ISBN: 978-987-26198-3-1

Queda prohibida la reproducción, total o parcial, por cualquier medio de impresión, en forma idéntica, extractada o modificada, en castellano o en cualquier otro idioma.

Crespo, Cristian Marcelo
2011 *Viajando con Genes: Una Metodología Molecular Aplicada a Interrogantes Arqueológicos*. IIDyPCa-UNRN-CONICET, Colección Tesis. Bariloche.

Agradecimientos *i*

Introducción *1*

Estudios de ADN *7*

El ADNmt y su Estudio en Poblaciones Americanas *15*

Metodologías Moleculares Aplicadas en Contextos Arqueológicos *23*

Estudios de Poblamiento Americano *29*

Objetivos e Hipótesis *57*

Materiales y Métodos *59*

Resultados y Discusión *77*

Conclusiones *83*

Bibliografía *85*
Apéndice de Tablas *109*
Anexo *119*

Agradecimientos.

Siempre es difícil recordar a todas las personas e instituciones que participan en la gestación de una tesis, espero no olvidarme de nadie. Como siempre suele decirse en estos casos, el orden no es de tanta importancia, sino de un esfuerzo de la memoria.

Antes que nada, quisiera agradecer a mi mamá y papá, por estar siempre conmigo, apoyarme en todo sentido y ser siempre mis compañeros, a pesar que él no esté físicamente. A mi novia, por su constante e incondicional apoyo, cariño y compañerismo…se efectivamente que le han costado muchas de mis ausencias por campañas, congresos y demás cosas que los investigadores y especialmente los arqueólogos, hacen de su vida cotidiana y profesional, pero siempre ha estado a mi lado. A mis amigos, que siempre me incentivaron a seguir estudiando y me acompañaron, cada uno de ellos en momentos distintos, con sus proyectos y sueños.

Un muy especial agradecimiento a mi director, el Dr. José Luis Lanata. Por el año 2005, siendo un estudiante de mitad de la carrera, tuve la oportunidad de conocerlo y contarle mis inquietudes respecto a lo que "quería hacer de la arqueología". Desde el primer momento fue total su apoyo para tratar de ensamblar la genética de poblaciones con los datos arqueológicos, algo que aún está muy en pañales y esperamos poder hacerlo aunque sea gatear. De más está decir que todas las charlas, reuniones y comentarios siempre fueron muy fructíferos para mí, acompañados de pilas de libros y artículos interesantísimos.

Otro agradecimiento igual de especial es dedicado a mi codirectora, Cristina B. Dejean. Fue la iniciadora de mi vida entre pipetas, tips, soluciones, enzimas y centrífugas. Sin su paciente supervisión y amplios conocimientos me hubiera sido imposible articular todas las ideas teóricas que estaba incorporando. Más de una vez se ha quedado conmigo con el simple hecho de darme clases sobre cómo se trabaja en un laboratorio de genética. La idea de estudiar ADN antiguo es algo difícil y laborioso, y nunca se sabe cuál va a ser el resultado final. Pero ella siempre tuvo confianza y le agradezco todos esos momentos en los que "uno se tiene que parar a pensar".

De más esta agradecer a todos mis colegas de las campañas arqueológicas de los años 2006 y 2007, especialmente a Luis Garcia Albarido por su constante ánimo y a Arleen Garcia Herbst por su apoyo e insistencia para retirar las piezas estudiadas en esta tesis. También agradezco el apoyo a mis compañeros de laboratorio, ya que en un ambiente de trabajo ameno y ordenado todo es siempre mas fácil.

Agradezco a las autoridades del Museo Rosa Novak de la ciudad de Puerto San Julián, Provincia de Santa Cruz y sobre todo a su directora, Marcela Villegas, por confiar en mí y cederme las piezas para realizar mi tesis. Se puede extraer ADN sin romper huesos. El mismo agradecimiento está dirigido a toda la gente de la Secretaría de Cultura de Puerto San Julián y a su director Carlos Geadell por estar siempre pronto a gestionar todos los permisos correspondientes para los trabajos arqueológicos que allí venimos realizando y permitirme retirar las piezas analizadas en esta tesis. Un agradecimiento especial para la Fundación Félix de Azara y su director, Adrián Giacchino, por su apoyo institucional a nuestras investigaciones y todas las facilidades que siempre nos brindó.

Todos los análisis de esta tesis fueron realizados en las instalaciones del CEBBAD (Centro de Estudios Biomédicos, Biotecnológicos y Diagnóstico), Universidad Maimónides, y permitidos y apoyados por su director, Dr. Alfredo Vitullo, el cual siempre tuvo un trato ameno y cordial. De más esta agradecerle la posibilidad de haber utilizado las instalaciones y laboratorios de dicho centro de estudio para realizar esta ardua tarea.

Mi más sinceros agradecimientos a todo el equipo de Antropología Biológica de la Facultad de Filosofía y Letras, Universidad de Buenos Aires por permitirme trabajar con ellos. Todos estos trabajos fueron financiados por CONICET y UBACyT. Sin éstos todo hubiera sido imposible.

Capítulo 1

Introducción

La siguiente Tesis de Licenciatura es parte del proyecto "Variabilidad en los Paisajes Arqueológicos en el Paralelo 49º" dirigido por el Dr. José Luis Lanata. El mismo tiene como objetivo general conocer la variabilidad del registro arqueológico a través de la perspectiva del paisaje y a partir de ello discutir la dinámica de las diferentes poblaciones que habitaron el área (Lanata et al. 2008). Su tema principal es la aplicación de técnicas moleculares y el estudio de diferentes marcadores genéticos a restos esqueletales procedentes del Museo regional Rosa Novak (Pto. San Julián), Prov. de Santa Cruz, Argentina. Nos interesa en primera instancia, determinar si las muestras analizadas pertenecen a alguno de los haplogrupos mitocondriales amerindios descriptos por otros investigadores y, en segundo lugar, asignar molecularmente el sexo a los individuos muestreados, ya que dicha información es de gran importancia arqueológica y bioantropológica. Los resultados obtenidos serán comparados con otras investigaciones para verificar si son concordantes con las distribuciones esperadas de los haplogrupos mitocondriales propuesta por otros para la región. El análisis de la distribución de los linajes maternos a través del espacio patagónico ha sido utilizada para estudiar procesos evolutivos, migratorios, relaciones entre poblaciones, de ancestría entre grupos extintos e inferir los posibles procesos demográficos que atravesaron las poblaciones humanas en el pasado, los cuales son de gran utilidad para estudiar la dinámica de la dispersión en las Américas y el poblamiento de diferentes espacios en particular. Así podrá ser posible comenzar a modelar y analizar los procesos demográficos y evolutivos que pudieron atravesar las poblaciones y sus consecuencias en su acervo genético, capaces además de influir en su dinámica cultural. También se realizará una revisión bibliográfica sobre los trabajos que hayan utilizados ADN antiguo y su incumbencia en los estudios prehistóricos y en las distintas temáticas arqueológicas, exponiendo sus límites y alcances, a fin de sintetizar la información existente sobre el tema y sus posibilidades de explicación en la arqueología.

Siguiendo estos lineamientos, esta tesis se divide en dos: en la primer parte trataremos los antecedentes relacionados con la utilización de marcadores moleculares en genética de poblaciones y ADN antiguo, dando cuenta de su historia y de sus diferentes aplicaciones en antropología biológica y

en arqueología. También se realizará una revisión de la utilización de los mismos, sus alcances y limitaciones, en estudios de poblamiento americano, comparándolo con la información obtenida de otras disciplinas. En la segunda parte, se tratarán los temas relacionados con la extracción, amplificación y caracterización del ADN extraído de piezas dentales arqueológicas. También se realizará un resumen de los protocolos existentes en el trabajo con ADN antiguo, teniendo en cuenta sus características y dificultades particulares, y los utilizados en esta tesis.

1.1 Especificación del tema elegido.

Tradicionalmente, la arqueología ha centrado sus investigaciones en tratar de comprender y explicar la diversidad cultural de las poblaciones pretéritas y, describir y explicar los procesos que incentivan los cambios culturales (Shennan 2000, 2002). Para alcanzar tales metas se ha valido de la construcción de secuencias culturales elaboradas mayormente sobre bases tipológicas. Estas fueron tomadas muchas veces como un reflejo directo de las poblaciones "vivientes" del pasado, como de mediciones y comparaciones de los rasgos ambientales existentes en las distintas regiones. Esto, entre otras cosas, permitía dilucidar la influencia que el medio pudo tener en las adaptaciones de las diferentes culturas, y el papel del mismo como agente desencadenante del cambio cultural (Binford 1988, Dincauze 2000).

Estas vertientes teóricas –que aún siguen siendo mayoría- utilizaron como unidad de análisis tanto los artefactos, para diseñar las secuencias culturales, como el registro paleoclimático y geomorfológico, para reconstruir los ambientes pretéritos en los cuales se desenvolvieron las poblaciones humanas (Dikov 1987, Morlan 1987, Goebel 1999). Pero pocas veces se ha tomado en cuenta la influencia de los factores demográficos y la dinámica de las poblaciones como un factor causal importante, tanto del cambio, como de las diferencias culturales de las poblaciones (Shennan 2000, 2002, Lanata 2009). Una de las formas para estudiar este tipo de cambio y la inter-relación entre factores tanto culturales como genéticos, dentro de las corrientes neo-darwinianas, es la teoría de la herencia dual (Cavalli Sforza y Feldman 1981, Boyd y Richerson 1985, Durham 1991). Esta puede ayudarnos a investigar diferentes problemáticas que son difíciles de abordar desde el registro arqueológico –i.e. migraciones, movimientos poblacionales, patrones demográficos y relaciones entre poblaciones. La descendencia con modificación puede ocurrir de generación en generación cuando se realiza un intercambio de información y puede producirse por diversos factores. Dicha información

puede ser tanto cultural -memes- como genética -genes. Si bien esta información es de diferente índole, muchas veces puede estar relacionada (Smith 2000 y Shennan 2002). En ambos casos la modificación puede darse por procesos microevolutivos (mutaciones, flujo génico, deriva o selección natural).

El análisis de este tipo particular de registro, el ADN, se constituye en una herramienta válida para abordar dicho problema, ya que permite estudiar la dinámica de las poblaciones y los factores demográficos que las afectan (Ginther et al. 1993, Stone y Stoneking 1993 y 1998, Villablanca 1994), como una línea complementaria a las investigaciones tradicionales para tratar estas temáticas (arqueológica, lingüística y bioantropológica).

1.2 Relevancia del tema.

En las últimas tres décadas, la antropología biológica comenzó a utilizar datos moleculares en sus intentos por responder interrogantes específicos; entre ellos las historias y trayectorias de la dispersión global de nuestra especie así como sus migraciones internas y su evolución en el sentido más amplio. Actualmente, la mayoría de la información de la Antropología Genética o Molecular proviene del ADN de poblaciones humanas actuales y en menor cantidad, estudios realizados utilizando ADN antiguo (Jones 2003). Esta nueva línea de investigación puede denominarse de diferentes maneras -i.e. Antropología Genética, Antropología Molecular- y cuando las muestras son arqueológicas, Arqueogenética, dando por sentado que además se la integra con la información procedente de esa disciplina. La Arqueogenética ha sido propuesta como un nuevo campo disciplinar y marco teórico, dentro de la genética de poblaciones (Renfrew et al. 2000). Este tipo de investigaciones son importantes dado que integra diversas especialidades y disciplinas permitiendo así aplicar y analizar diferentes líneas de evidencias que estudian la evolución humana (Kaestle y Horsburg 2002, Hummel 2003).

Los estudios paleogenéticos probaron ser útiles en diversas problemáticas de difícil y/o ambigua resolución en el registro arqueológico. Como ejemplo; se establecieron filiaciones y se reconstruyeron procesos demográficos y evolutivos entre distintas poblaciones extintas, se determinaron procesos de domesticación de plantas y animales, se realizaron reconstrucciones

climáticas, se identificaron especies extintas y no extintas en el registro arqueológico, se analizaron los patrones culturales relacionados con el acceso a recursos, y se aplicaron a paleo-diagnósticos de parásitos o microbios relacionadas con la salud y la paleoepidemiología de distintas poblaciones -ver detalles en O´Rourke 2000, Kaestle y Horsburg 2002-. A su vez, también fueron utilizadas para modelar el origen del género Homo, su dispersión global y la relación con el *Homo neanderthalensis* y *sapiens* (Krings et al. 1999, Ovchinnikov et al. 2000, Krings et al. 2000, Green et al. 2010).

Recientemente, desde la Arqueogenética, se han diseñado diferentes protocolos y metodologías a fin poder extraer ADN de restos esqueletales de manera exitosa, sin correr riesgos de contaminación (Cooper y Poinar 2000, O´Rourke 2000, Hofreiter et al. 2001, Poinar 2003, Pääbo et al. 2004, Carnese et al. 2010), e integrarlos interdisciplinarmente. Los mismos han sido aplicados en diferentes contextos e investigaciones, demostrando su factibilidad y su importancia para el análisis de poblaciones extintas (Lalueza et al. 1997, Stone y Stoneking 1998, Demarchi et al 2001, Keiser-Tracqui et al. 2003, Crespo et al. 2009, Carnese et al. 2010, Rasmussen et al. 2010).

Muchos estudios clásicos en arqueología, en relación al poblamiento americano, han hecho hincapié en problemáticas tales como la relación entre poblaciones y su evolución y adaptación a diferentes ambientes, posibles rutas migratorias y tiempo de arribo al continente, procesos demográficos que atravesaron y su distribución por los distintos ambientes (Yi y Clark 1985, Butzer 1988, Meltzer 1992, Dillehay 1999 y 2000, Fiedel 2000, Goebel et al. 2008, etc.). Pero por las mismas limitaciones que posee el registro arqueológico, su grado de integridad y preservación -que en ciertas áreas y/o rangos temporales puede ser muy bajo-, ha sido difícil contestar los interrogantes mencionados. Otros investigadores han tratado de explicar el proceso de poblamiento en Sudamérica y, particularmente su extremo sur, a través de los hallazgos de sitios tempranos y la construcción de tipologías basadas en puntas de proyectiles (Politis 1991, Dillehay 2000, Borrero 2001a, Pearson 2004), tratando de rastrear este proceso y unir histórica, biológica y tecnológicamente a los primeros pobladores del Cono Sur con aquellos que ingresaron al continente inicialmente. Todos se han enfrentado con las mismas limitaciones mencionadas anteriormente, en cuanto a la calidad, cantidad, resolución e integridad de la información disponible en el registro arqueológico con fechas tempranas, y la metodología para establecer dichas comparaciones (Politis 1991, Pearson 2004). Las discontinuidades y fragmentariedad del registro arqueológico puede deberse a un problema de

muestreo o explicarse por la dinámica del proceso de dispersión de una población y por su entrada a un nuevo espacio, lo que podría dar lugar a cuellos de botella y eventos del tipo de efecto fundador, lo cual puede haber afectado las características demográficas, tecnológicas y biológicas de dichas poblaciones (Lanata 1996, Borrero 2001a y b, Pearson 2004).

Diferentes investigadores han analizados marcadores genéticos tanto de poblaciones actuales como precolombinas -i.e. Torroni et al. 1992, Horai et al. 1993, Ginther et al. 1993, Bailliet et al. 1994, Merriwether et al. 1994, Kolman et al. 1995, Fox et al. 1996, Monsalve et al. 1996, Ribeiro-Dos-Santos et al. 1996, Easton et al. 1996, Lorenz y Smith 1996, Bonatto y Salzano 1997a y b, Stone y Stoneking 1998, Moraga et al. 2000, Schurr 2004, Carnese et al. 2010- para estudiar cómo pudo darse éste proceso y dar cuenta de tópicos como: a) dispersión general, b) rutas y número de migraciones, c) áreas geográficas y recursos disponibles con los cuales pudieron estar en contacto los primeros colonos, d) cronología de los eventos migratorios, y e) mínima población viable de la migración. Se ha utilizado en pocas ocasiones (Fox et al. 1996, Lalueza et al. 1997, Demarchi et al. 2001, Crespo et al. 2009, Carnese et al. 2010) la aplicación de técnicas moleculares (ADN antiguo y/o arqueogenética) sobre restos arqueológicos del territorio argentino para el estudio del poblamiento y demografía. Hasta ahora, ninguno de ellos ha sido realizado en su totalidad en laboratorios de nuestro país. Su desarrollo local puede ser de mucha utilidad para resolver diferentes interrogantes arqueológicos y para el inicio de trabajos con ADN antiguo. Los datos genéticos pueden integrarse multidisciplinariamente y formar parte de investigaciones arqueológicas, ya que dichos datos forman parte, en última instancia, del propio registro arqueológico dejado por las poblaciones prehistóricas.

Capítulo 2

Estudios de ADN

2.1 Características del ADN.

Como sabemos, las células son las unidades básicas de todos los organismos vivos. Están formadas por el núcleo celular y varias organelas, entre ellas las mitocondrias. En el núcleo celular se encuentra el ácido desoxirribonucleico (ADN), que es una macromolécula con una estructura de doble hélice, la cual ha sido heredada de nuestros ancestros. El ADN codifica para todos los rasgos genéticamente determinados de los organismos vivos y a su vez transmite esa información a la descendencia (Cavalli-Sforza 1993). Puede verse como un lenguaje químico, en donde su sentido está contenido en una secuencia de símbolos o letras. Dentro del lenguaje genético existen cuatro símbolos. Estos son nucleótidos formados por tres moléculas bioquímicas distintas: bases, azúcar y fosfatos. Con el azúcar y los fosfatos como soporte de la molécula, la misma se conforma con una sucesión de cuatro nucleótidos, estos son la Adenina (A), Citosina (C), Guanina (G) y Timina (T). Esos cuatro elementos están dispuestos juntos en una larga cadena que constituye el ADN y son siempre complementarios, A con T y C con G (Cavalli-Sforza 1993).

Al conjunto de ADN presente en el núcleo celular se lo denomina genoma y está dividido en estructuras llamadas cromosomas. Dentro del genoma hay un número exacto de cromosomas que suele ser el mismo para cada especie. El humano posee 23 pares de cromosomas, 22 pares son autosómicos que se distinguen de los cromosomas X e Y, que definen el sexo de los individuos. Las mujeres tienen un par de cromosomas X y los hombres tienen un cromosoma X y un cromosoma Y.

Dentro de los cromosomas están contenidos los genes, que tienen una ubicación específica en ellos. Lo que llamamos “gen” es un segmento de ADN que tiene cierta función particular y suele estar formado por varios cientos de nucleótidos colocados en un orden especial. Siempre están las cuatro mismas letras básicas, pero su secuencia cambia en cada segmento y determina la función de cada gen. El conjunto de todos cromosomas contiene aproximadamente 30.000 genes. Existen entre los individuos de la misma especie diferencias en la secuencia nucleotídica presente en los genes. Esas variantes de un gen se denominan alelos. Estas variaciones suelen producirse cuando la célula se

divide. El ADN es copiado a cada célula hija recibiendo el conjunto completo de instrucciones. Debido a la complementariedad de las bases nombradas anteriormente, la secuencia debería quedar idéntica. Este mecanismo de división celular y copia de ADN se conoce con el nombre de mitosis, en el caso de células somáticas. Las células encargadas de generar a las gametas (espermatozoide y óvulo), se llaman germinales y son generadas por el proceso de meiosis que incluye la reducción del número de cromosomas a la mitad. En estas células germinales esta contenido el ADN que combinado formará al nuevo individuo. Este proceso es lo que posibilita que cada persona posea su propio y único acervo genético, el cual ha sido heredado de sus padres. Cada ser humano posee un único y característico genoma, con variaciones y recombinaciones (Cavalli-Sforza 1993).

Ambos procesos (mitosis y meiosis) son exactos, pero pueden ocurrir errores ocasionales llamados mutaciones, definidas como el cambio, la pérdida o la ganancia de algunos de los nucleótidos en la secuencia de ADN. Estos cambios se producen al azar dentro de la molécula de ADN y generan polimorfismos, que son los que los bioantropólogos analizan para comparar poblaciones. No se comparan las diferencias de un individuo a otro, sino que se comparan las frecuencias génicas de los alelos de distintos genes a nivel poblacional.

Además del ADN nuclear existen en la células humanas, dentro de sus mitocondrias, el llamado ADN mitocondrial (ADNmt de ahora en más), cuyo estudio resulta muy útil para los análisis de filiación poblacional dada su herencia exclusivamente materna que detallaremos más adelante.

2.2 Historia de los estudios de ADN.

Las primeras investigaciones en poblaciones humanas modernas se dedicaron a realizar un reconocimiento detallado de diversos marcadores genéticos. Anderson y colaboradores publicaron por primera vez la secuencia completa del genoma mitocondrial humano (Anderson et al. 1981), revisada luego en 1999 (Andrews et al 1999). Meses después, fueron descubiertos los microsatélites del ADN -también llamados cadena de repeticiones cortas o STR- (Hamada et al. 1982) dando lugar a su utilización actual para genotipificar individuos, que luego fue denominado “huellas digitales genéticas”. Paralelamente, Jeffreys y colegas (1985) reconocieron e identificaron los patrones de minisatélites de ADN como únicos en cada individuo humano, estableciendo la posibilidad real de

identificar individuos a través de estos marcadores. En 1986, Wainscoat y col. (1986) lograron por primera vez extraer fehacientemente ADN nuclear para estudios filogenéticos. En 1987 utilizando muestras de sangre de poblaciones actuales de diferentes partes del mundo, se estudió el ADNmt para trazar la filogenia femenina a través de los continentes. Utilizando diferentes análisis estadísticos y tratamientos numéricos, propusieron que el origen de la humanidad podría estar en el continente africano (Cann et al. 1987). Tiempo después, estos postulados se transformaron en lo que actualmente se considera la "Hipótesis de la Eva Africana o mitocondrial" (Figura 2.1). Fue el primer trabajo en su clase que permitió modelar con esta metodología los orígenes de la humanidad.

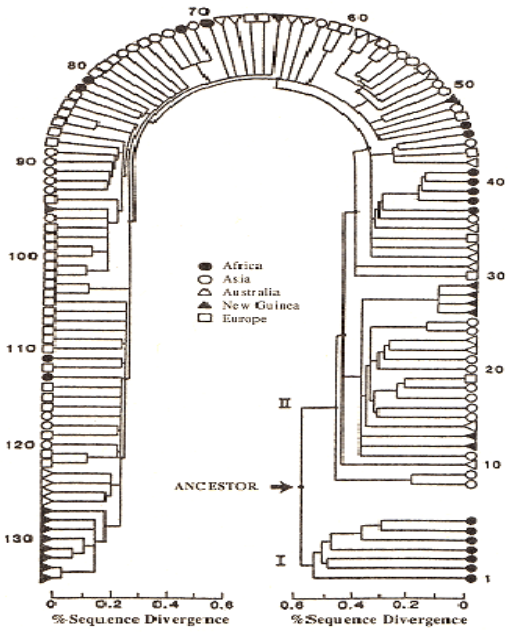


Figura 2.1. Filogenia mitocondrial realizada por Cann et al. 1987 a partir de muestras actuales. Nótese que la mayor divergencia se observa en poblaciones de origen africano, lo cual indica mayor profundidad temporal de estas poblaciones en comparación con cualquier otra.

En el campo del ADN antiguo los trabajos pioneros comenzaron en la década de 1980. Inicialmente, un grupo de investigadores chinos comprobaron que el ADN podía preservarse en tejidos corporales antiguos (Human Medical School 1980). Al mismo tiempo, diferentes investigadores publicaron el primer trabajo con resultados exitosos de la extracción de ADN de tejidos conservados. El espécimen elegido fue el Quagga, un linaje extinto perteneciente a la familia de las cebras (Higuchi et al. 1984). El mismo año, pero esta vez estudiando la especie humana, Pääbo (1984) demuestra la presencia de ADN en un infante momificado egipcio de 2.600 años A.P. Siguiendo la

misma línea de investigación, se logró extraer material genético de otra especie extinta, esta vez fue el turno de un mamut, también dando resultados positivos (Johnson et al. 1985). Un evento crucial en los estudios de genética y en la investigación de ADN antiguo fue la invención de la reacción en cadena de polimerasa -PCR de aquí en más- permitiendo amplificar y copiar los segmentos de ADN que se desee, según el interés de la investigación, de forma más sencilla y sensible que las demás técnicas moleculares que se venían aplicando (Saiki 1985, Mullis y Faloona 1987).

En 1989 Hagelberg y col. (1989) logran la primera extracción y amplificación de ADN procedente de huesos arqueológicos, lo cual representó un verdadero quiebre para la antropología debido a que los restos esqueletales, tanto humanos como animales, son uno de los elementos que mayormente se conservan en el registro arqueológico y, a su vez, pueden ser la fuente del material genético que posee la mejor conservación con el paso del tiempo (Lassen et al. 1994).

Estos primeros intentos en aplicar nuevos métodos en la investigación del ADN antiguo fueron puestos en prácticas en diferentes tipos de materiales, muestras y tejidos, variando el éxito de los mismos (Herrmann y Hummel 1994), pero sirvieron como base para las investigaciones de los años subsiguientes, desarrollando nuevas metodologías y técnicas que permitieron los resultados que actualmente se pueden obtener de muestras antiguas y degradadas con diferentes intereses científicos para diversas disciplinas. Las mismas herramientas y metodologías son utilizadas en escenas de crímenes (Hocmeister et al. 1995, Schneider y Neuhuber 1996, Foster y Eberspacher 1999, Laderer et al. 2001), identificación de víctimas de desastres en masa (Clayton et al. 1995, Goodwin et al. 1999), identificación de restos humanos desconocidos (Ginther et al 1992, Clayton et al. 1995, Corach et al. 1995, Whitaker et al 1995, Goodwin et al. 1999), y personajes históricos (Gill et al. 1994, Stoneking et al. 1995, Jehaes et al. 1998, Weichhold et al. 1998, Stone et al. 2001). Otros objetivos de los análisis de ADN antiguo son la conservación biológica y genética de animales y especímenes de museo (Persing et al. 1990, Cooper 1992) para muestrear su diversidad genética a través del tiempo. También se utiliza en aplicaciones médicas (Krafft et al. 1997, Asenbauer et al. 1998, Smith et al. 2000). Existe un aumento significativo de los estudios genéticos relacionados con poblaciones actuales, históricas y arqueológicas en temas tan diversos como la identificación de restos (Ginther et al 1992), la determinación de sexo (Stone et al. 1996, Faerman y Bar-Gal 1998), identificación de especies animales y vegetales (Hulbert et al. 1990, Burger et al. 2000), acceso y presencia de recursos

(Speller et al. 2005, Weinstock 2005, Larson et al. 2007, Storey et al. 2007), procesos de domesticación de planta o animales (Fernández et al. 2006, Marin et al. 2007a), reconstrucciones paleo ecológicas (Barnes et al. 2000) y parentesco (Hummel et al. 1999).

2.3 Marcadores biparentales utilizados en genética de poblaciones.

Se denominan marcadores biparentales a aquellos que se heredan de ambos padres siguiendo un patrón mendeliano. Originalmente analizados por técnicas clásicas (como la aglutinación, electroforesis, etc.) hoy reemplazadas por el análisis de los genes que los codifican. Los más utilizados en genética de poblaciones y bioantropología son:

a) Grupos sanguíneos: los genes que codifican para las diferentes proteínas que determinan el grupo sanguíneo ABO están localizados en el cromosoma 9. Las diferencias mundiales en las frecuencias de los grupos sanguíneos ABO están actualmente consideradas como respuestas inmuno genéticas diferenciales de los individuos que poseen dichos alelos a enfermedades infecciosas, o bien, por incompatibilidad fetomaterna. Aparte de los grupos ABO existen otros grupos sanguíneos que pueden emplearse en los análisis poblacionales, siendo los más importantes aparte de los grupos ABO, Rh, Diego y Duffy (Daniels 1995).

b) STRs autosómicos: son secuencias no codificantes de repeticiones cortas -Short Tandem Repeat-, también llamadas habitualmente microsatélites. Están distribuidas en todo el genoma humano. Se estima que conforma aproximadamente un 20% del genoma total. Está caracterizada por repeticiones de los mismos nucleótidos -entre dos y seis pares base. Están presentes en todos los cromosomas, incluyendo los sexuales. Son utilizados, entre otras cosas, para la investigación forense y para la identificación de individuos -huellas dactilares genéticas. No es muy utilizado en investigaciones de ADN antiguo debido a que necesita muchas cantidades de muestra para ser una herramienta significativa a la hora de realizar estudios poblacionales. A su vez, no se conoce aún de forma detallada cómo ocurren los eventos mutacionales y su periodicidad, debido a que es recombinante, por lo que es muy difícil realizar cálculos de coalescencia certeros.

c) Sistema HLA: el complejo de histocompatibilidad mayor (CHM) fue descubierto hace más de cincuenta años (Klein 1986). Se encuentran en el cromosoma 6. Con el advenimiento de la PCR se logró determinar su estructura, nombrándola como moléculas de clase I y clase II. Contiene aproximadamente 224 loci, dentro de los cuales se encuentran los genes de

antígenos leucocitarios humanos -HLA, por sus siglas en inglés-. Son genes extremadamente polimórficos y tiene la función de intervenir en la respuesta a agentes patógenos. Actualmente se conoce que dichos genes están expuestos a constantes presiones de la selección natural, ya que son los encargados en realizar múltiples funciones para el sistema inmunológico y resistir enfermedades infecciosas (Meyer y Thompson 2001). Estos polimorfismos suelen ser bastante específicos en número y posición, dando lugar a poder determinar diferentes haplotipos en cada uno de ellos. Esto también dio lugar a pensar en los HLA como buenos indicadores de diferentes tipos de procesos adaptativos que estarían seleccionando la presencia-ausencia o mantenimiento de esos polimorfismos (Meyer y Thompson 2001). Existen diferentes alelos, y los más importantes que fueron oficialmente llamados HLA-A, HLA-B y HLADRB1, pero fueron descubiertos muchos más con el paso de los años. Los genes de HLA constituyen una particular combinación de diferentes alelos o haplotipos, que poseen un alto grado de polimorfismo y están siendo ampliamente utilizados en el campo de la antropología y la genética de poblaciones debido a sus remarcables diferencias de distribución haplotípicas entre las diferentes poblaciones y áreas geográficas, ya que las mismas permite estudiar posibles diferentes procesos por los que pudieron pasar diferentes poblaciones (Casado et al. 2002, Tsuneto et al. 2003).

d) SNP´s autosómicos: conocido como polimorfismo de un solo nucleótido -*single nucleotide polymorphism*- es una variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base. Los SNP´s forman hasta el 90% de todas las variaciones genómicas humanas y aparecen cada 100 a 300 pares bases en promedio, a lo largo de todo el genoma humano. Dos tercios de los SNP corresponden a la sustitución de una citosina por una timina. Los SNP se consideran una forma de mutación puntual que ha sido suficientemente exitosa evolutivamente para fijarse en una parte significativa de la población de una especie. Estos polimorfismos se encuentran en todos los cromosomas, tanto en los autosómicos como en los sexuales y también dentro de ADNmt -para una completa revisión, ver Cann 2001. En la actualidad, su utilización es común en ámbitos forenses (Lessig et al. 2005), pero también se ha utilizado para investigar el origen y la dispersión del género *Homo* (Rosenberg et al. 2003), en investigaciones antropológicas (Seldin et al. 2007) y en relación a temas de salud y enfermedad de la población (Shastry 2002).

e) Amelogenina: es un gen de simple copia localizado en la posición Yp11.2 del cromosoma Y con su homólogo en la región Xp22.3-p.22.1 del cromosoma X. El gen codifica para una proteína que regula el esmalte dental. Debido a que es dimórfico, posee diferente cantidad de pares base en cada uno de los cromosomas en los que está presente. Dicho marcador se utiliza en casos forenses y es de gran importancia en arqueología, ya que permite sexar individuos sin la necesidad de poseer todas las partes esqueletales determinantes anatómicamente del sexo. En este caso, su tamaño en cromosoma Y es de 112 pares de bases y de 106 pares de bases en cromosoma X. Comparando los tamaños de los fragmentos obtenidos de su amplificación se puede realizar un sexado de las muestras que uno esté analizando.

2.4 Marcadores uniparentales utilizados en genética de poblaciones.

Dentro de los marcadores biparentales, los más utilizados en genética de poblaciones, y bioantropología son:

a) NRY: el cromosoma Y posee regiones recombinantes y no recombinantes. En las no recombinantes hay representados polimorfismos que representan haplotipos, ya que no tiene un homólogo en el cromosoma X. Se hereda únicamente por vía paterna, ya que el cromosoma Y es exclusivo del sexo masculino y aportado únicamente por el padre. Actualmente se utiliza para reconstruir toda la filogenia masculina de una población. Ha sido utilizado para la identificación de personas en casos forenses y de paternidad, pero actualmente su mayor utilidad esta en el campo de la genética de poblaciones.

b) ADN mitocondrial: el ADNmt es un pequeño genoma de configuración circular. Posee diferentes regiones, dentro de las cuales las más importantes para los estudios poblacionales son las no codificantes -llamadas también región control. Es heredada sólo de parte materna ya que son las mitocondrias presentes en el óvulo las únicas que pasan al feto en el momento de la concepción. Al ser heredado sólo por vía materna, puede ayudarnos a reconstruir toda la filogenia femenina de una población. En el capítulo siguiente se profundizará sobre este marcador genético, ya que es el más utilizado para estudios poblacionales y el que se investigará en este trabajo.

Capítulo 3

El ADNmt y su estudio en poblaciones americanas

Como ya señalamos, las mitocondrias son organelas localizadas en el citoplasma celular presentes en las células eucariotas. Están repartidas en todas las células de los organismos, tanto vegetales como animales. Su número varía dependiendo de la célula. Poseen una pequeña cantidad de ADN y tienen como función, intervenir en procesos bioquímicos relacionados con la generación de energía, en la forma de ATP -fosforilación oxidativa-, para el correcto funcionamiento celular. Una de las principales características es la de poseer un sistema genético propio. Cada mitocondria contiene entre dos y diez moléculas de ADN y a su vez, cada célula puede contener cientos de mitocondrias, con lo que el número de copias de este genoma en cada célula puede oscilar entre 1000 y 10.000 dependiendo del órgano y/o tejido.

3.1 Teoría biológica sobre el origen de las mitocondrias.

Las mitocondrias tienen muchas semejanzas con las bacterias. Pueden destacarse la forma y el tamaño, la presencia de ADN circular en la matriz mitocondrial, su reproducción por fisión binaria, así como el proceso de respiración que llevan a cabo, el cual es semejante al que presentan actuales bacterias aeróbicas. En base a estas características, diferentes investigadores (i.e. Margulis 1976) llegaron a proponer la teoría endosimbionte del origen de las mitocondrias. A lo largo de esta historia en común, la mayor parte de los genes presentes en el ADNmt han sido trasferidos al núcleo celular, de tal manera que la mitocondria no es viable fuera de la célula huésped y ésta no puede serlo sin la mitocondria. También este hecho influye en la generación de nuevas mitocondrias. Las mitocondrias no se generan ni se sintetizan nunca de *novo*, sino que siempre surgen por crecimiento y división de otras ya existentes.

3.2 Regiones del ADNmt.

El ADNmt, al igual que los bacterianos, es una molécula circular, cerrada y de doble hélice, con un tamaño aproximado de 16.570 pares bases. La secuencia completa y la organización de todo el genoma mitocondrial fue publicada por primera por Anderson et al. (1981) y fue conocida como secuencia de referencia de Cambridge, pero revisada y modificada en 1999 (Andrews et al. 1999). Las

cadenas complementarias tienen una proporción de nucleótidos C y G muy diferente, por lo que su peso molecular difiere. Existe una hebra rica en bases púricas, que es llamada cadena pesada o H – *heavy-*, y una cadena complementaria rica en pirimidinas conocida como cadena liviana o L -*light*. La cadena que se representa por convención y sobre la que se realiza la numeración del genoma mitocondrial es la cadena L, que va de 1 a 16569.

El ADNmt presenta una gran economía y su información está muy compactada, se disponen a continuación uno al lado del otro sin tramos intermedios no codificantes y algunos incluso llegan a solaparse. Posee 37 genes. Las demás proteínas necesarias para las mitocondrias están codificadas por genes nucleares, se sintetizan en el citoplasma y son transportadas posteriormente al interior de la mitocondria. Aproximadamente el 10% del ADNmt es no codificante -1.2 kb- y es conocido como región control. Contiene fundamentalmente los promotores de la transcripción de ambas cadenas, el origen de la replicación de la cadena pesada y secuencias de regulación (Anderson et al. 1981). La región control tiene la característica de ser muy polimórfica y presenta dos regiones hipervariables, la región hipervariable 1 (HVR I) y la región hipervariable 2 (HVR II). Se extienden desde la posición 16024 hasta la 16569 y desde la 1 hasta la 576. Adicionalmente, posee una región control muy pequeña llamada V y otra llamada citocromo B, en donde su secuencia es característica de cada especie.

Dentro del restante ADNmt se encuentran diferentes polimorfismos, los cuales son característicos de ciertas poblaciones y regiones geográficas. El estudio y reconocimiento de dichos polimorfismos es utilizado en la actualidad para realizar filiaciones y filogenias maternas de diferentes grupos humanos (Schurr 2004).

3.3 Herencia del ADNmt humano.

La utilización del ADN mitocondrial en estudios poblacionales se basa fundamentalmente, en que éste, a diferencia del ADN cromosómico o nuclear, se hereda únicamente por vía materna, sin recombinación genética. En el momento de la concepción, las mitocondrias presentes son las pertenecientes a la madre, ya que las paternas presentes en el espermatozoide no ingresan al óvulo (Cavalli-Sforza 1994, Hummel 2003), sólo las mitocondrias femeninas contribuyen al desarrollo del

nuevo individuo y su mapa genético. Es por este hecho que todos los miembros del linaje materno mostrarán el mismo ADNmt.

En 1980, a través del análisis de polimorfismos de secuencia mediante RFLPs, se observo en una filogenia que la progenie siempre presentaba la variante materna (Giles et al. 1980). Estudios posteriores confirmaron que las mitocondrias del esperma son selectivamente destruidas en el oocito (Sutovsky et al. 1999 y 2000, Walker y Awadalla 2001). Sin embargo, investigaciones ulteriores han dado a conocer la posibilidad de la heredabilidad del ADNmt paterno (Zsurka et al. 2005 y 2007). Si bien fueron reconocidos varios casos de heteroplasmías (Kraytsberg et al. 2004), dichos estudios han llegado a la conclusión de que el porcentaje de ADNmt paterno no superaba el 0,7 % del ADNmt total presente en los individuos estudiados. Sin embargo, otros investigadores (Bandelt et al. 2005) han minimizado estos resultados debido a problemas metodológicos y de contaminación. Todo esto ha llevado a concluir en que la aportación de ADNmt de parte paterna y/o la recombinación de la misma son casos aislados y extremadamente extraños. La herencia materna del ADNmt aún puede ser considerada como la normal, de manera que todos los individuos de un mismo linaje materno exhiben la misma secuencia del ADNmt (salvo en casos excepcionales en presencia de heteroplasmía o mutaciones puntuales a nivel germinal). La herencia uniparental del ADNmt y su naturaleza haploide son las grandes ventajas de este genoma.

3.4 Tasa de mutación del ADNmt.

La tasa de mutación en cualquier genoma depende de la velocidad en que surgen y se fijan las mutaciones en los linajes, permitiendo introducir una escala temporal en la evolución molecular y así construir estimaciones temporales sobre el ancestro común mas reciente entre dos linajes, en otras palabras, estimar el tiempo de divergencia entre ellos.

En lo que respecta al ADNmt, estudios comparativos entre las secuencias de ADN de diferentes organismos revelaron que la velocidad de sustitución de nucleótidos durante la evolución ha sido de cinco a diez veces mayor en los genomas mitocondriales que en los nucleares (Brown et al. 1979, Brown et al. 1982). Esta tasa de mutación puede deberse a la gran cantidad de radicales libres que son generados debido a la gran actividad metabólica que realizan las mitocondrias, ya que dichos radicales pueden poseer efectos mutagénicos.

Puede decirse que la tasa de mutación depende de dos procesos: la frecuencia con la que surgen nuevas mutaciones en la molécula y la probabilidad de que estas nuevas mutaciones se fijen en la población -tasa de fijación. Inicialmente, la tasa de mutación estimada para la región codificante es de 2% a 4% por millón de años (Cann et al. 1987, Stoneking et al. 1990) excepto la región control, en donde la tasa de mutación es mayor. Para estimar la tasa de mutación pueden utilizarse diferentes metodologías: a través del estudio de pedigríes o a través de la filogenia, por lo cual puede haber diferentes resultados para la tasa de mutación en relación a la utilización de uno u otro método.

Otras estimaciones filogenéticas basadas en comparaciones intra o interespecíficas han proporcionado tasas más similares entre si y por lo general inferiores a las obtenidas en estudios e investigaciones realizadas por observaciones directas de mutaciones familiares (Ward et al. 1991**,** Stoneking et al. 1992).

De todas maneras, es importante tener en cuenta los diferentes niveles de estabilidad que poseen cada una de las diferentes regiones. En el caso de ADNmt, existen posiciones dentro de la región control conocidas como "puntos calientes" -*hot spots*- en dónde diferentes estudios han demostrada que su tasa de mutación es cuatro o cinco veces mayor que la media (Pakendorf et al. 2005). Por este motivo es más práctico realizar investigaciones desde la metodología filogenética, ya que abarcan períodos evolutivos mucho más amplios en donde las estimaciones obtenidas terminan reflejando valores promedios de todas las posiciones del ADNmt y puede agregarse la estimación de la tasa de mutación de los "puntos calientes" (Sigurgardottir et al. 2000).

3.5 Características del ADNmt y su utilización en estudios poblacionales.

Dada la herencia del ADNmt, todos los miembros de grupos relacionados compartirían secuencias mitocondriales semejantes, haplogrupos con variantes menores que constituyen haplotipos. Por definición, un haplogrupo o grupo haplotípico, es un conjunto de haplotipos que tiene en común un cierto polimorfismo o mutaciones que son consecuencia de un estado de parentesco genealógico (Schurr 2004).

Como producto de estos cambios, las diferencias genéticas emergen más rápido, por lo que se puede calcular cuando dos poblaciones se separaron a partir de un antecesor común (tiempo de coalescencia), proporcionando una dimensión temporal para estudiar la evolución de las poblaciones, convirtiéndose en un reloj molecular. Se parte de la hipótesis de que el número de mutaciones que diferencian a dos individuos aumenta a razón del tiempo transcurrido desde el último antepasado común. El reloj de ADNmt puede potencialmente medir el tiempo transcurrido desde que dos o más poblaciones se separaron a partir de un ancestro común (Cann 2001, Kaestle y Horsburgh 2002, Hummel 2003, Jones 2003, Schurr 2004). Esta sencilla relación entre la divergencia evolutiva medida entre las dotaciones genéticas de distintas especies/individuos y el tiempo que ha tardado en acumularse se ha podido estudiar y es la base del reloj molecular, utilizado para calcular los tiempos de evolución a partir de las diferencias observadas entre dos organismos y para realizar sus correspondientes árboles evolutivos. Al estudiarlas se puede hacer un árbol genealógico basado en el criterio de que dos individuos que difieran poco genéticamente tienen ascendientes comunes más próximos en el tiempo que aquellos que poseen una mayor diferenciación en su acervo genético. Puede utilizarse en estudios a nivel poblacional debido a que posee las siguientes características:

- ✓ Las mutaciones se acumulan secuencialmente a través de la radiación de los linajes maternos.
- ✓ La variación se correlaciona altamente con el origen geográfico y étnico de las muestras existentes. Las nuevas mutaciones aparecen y pueden transmitirse espacialmente por la migración femenina.
- ✓ Todos los ADNmt provienen de un único linaje materno indicando un origen común para las poblaciones humanas actuales (Cann 2001, Foster 2004). Debido a esto, puede estimarse el tiempo de separación de una migración o separación poblacional -tiempo de coalescencia-, su posible lugar de procedencia, su proximidad genética con otras poblaciones que estén analizadas y así inferir los posibles procesos que afectaron la distribución haplotípica y su demografía -efectos fundadores, cuellos de botella o deriva.

3.6 Genética del ADNmt y la utilización de sus características en el poblamiento americano.

En la actualidad se han investigado y desarrollado diferentes modelos y cálculos para estimar la cantidad de olas migratorias, la cronología de la llegada y los procesos que atravesaron las

poblaciones (o la población) que ingresaron al continente americano (Ballinger et al. 1992, Ginther et al. 1993, Horai et al. 1993, Stone y Stoneking 1993, 1998, Baillet et al. 1994, Bonatto y Salzano 1997a, 1997b, Lalueza et al. 1997, Schurr y Wallace 1999, Schurr 2004, entre otros). Todas estas investigaciones se basan en el hecho de la existencia de haplogrupos reconocidos mediante RFLP o bien, haplotipos reconocidos mediante secuenciación de la región HVR I y II. Algunos de esos haplogrupos de origen asiático tienen haplotipos presentes sólo en poblaciones Amerindias. Dichas características son puntos de mutación -cambios en la secuencia de los nucleótidos base-, lo cual ha permitido reconocer diferentes haplogrupos mitocondriales. Estas mutaciones están presentes en diferentes sectores codificantes del ADNmt (Figura 3.1).

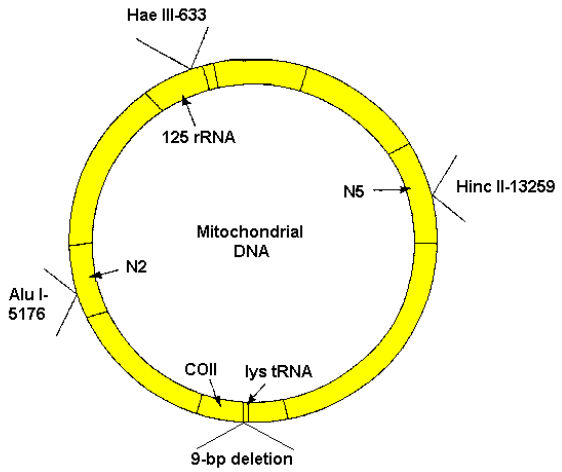


Figura 3.1. Puntos de mutación característicos para cada haplogrupo amerindio.

En América existen cuatro haplogrupos mayoritarios definidos por RFLP (largo del fragmento polimórfico de restricción). A cada haplogrupo amerindio le corresponde un polimorfismo en particular del ADN mitocondrial. Los mismos pueden definirse a través de enzimas de restricción mediante la técnica de RFLP como -ver Stone y Stoneking 1998, Schurr 2004- (Tabla 3.1):

Haplogrupo	Enzimas de restricción y lugares de corte.
A	Ganancia de sitio de corte en la posición 663 para la enzima *HaeIII*
B	Deleción de 9 pares bases en la región *COIII/t*RNA
C	Pérdida de sitio para la enzima *HincII* en posición 13259
D	Pérdida de un sitio de corte para *AluI* en posición 5176

Tabla 3.1. Enzimas de restricción y lugares de corte de los haplogrupos mitocondriales amerindios.

El ADNmt ha sido ampliamente estudiado en poblaciones nativas americanas actuales, por lo que se pueden establecer comparaciones con restos antiguos a fin de recrear los posibles procesos demográficos que atravesaron las poblaciones prehistóricas. Por estas razones, en este trabajo se intentará reconocer en restos esqueletales estos haplogrupos mitocondriales.

Capítulo 4
Metodologías moleculares aplicadas en contextos arqueológicos

Según Herrmann y Hummel (1994) y Kaestle y Horsburgh (2002) los estudios en restos humanos pueden aplicarse teniendo en cuenta diferentes niveles de análisis. El más simple de todos los niveles es el individual, donde los estudios de ADN antiguo se utilizan para determinar sexo, reasociar restos esqueletales desarticulados, rastrear enfermedades y también para identificar antepasados o descendientes (Stone et al. 1996; Gerstenberger et al. 1998, entre otros). Estos últimos casos pueden presentar dificultades cuando alguno de los linajes maternos o paternos se ha perdido, ya que se pierde la conexión genética que establecen dichos marcadores imposibilitando la identificación genealógica. Para su resolución suelen utilizarse marcadores nucleares –STRs-, pero no siempre están disponibles en muestras muy antiguas. Otro nivel son los estudios de filogenia para identificar líneas maternas o paternas con mayor profundidad temporal. Individuos de un mismo sitio o región mostrarán su relación genética dependiendo de la cantidad de generaciones y eventos mutacionales ocurridos. Este nivel se refiere a grupos pequeños, más amplios que los familiares. Se ha sugerido muchas veces que los grupos cazadores-recolectores tienen bajos valores de diversidad genética debido a su pequeño tamaño poblacional por el accionar de la deriva genética. Esos niveles de diversidad sugieren que es posible distinguir herencia común y patrones de residencia. Sin embargo, estudios de la región hipervariable del ADNmt de diferentes poblaciones no han demostrado una reducción marcada de la diversidad cuando se la compara con grupos modernos (Kaestle 1998, Stone y Stoneking 1998, Malhi 2001). El nivel más utilizado arqueológicamente es el poblacional, en donde se puede estudiar movimientos poblacionales prehistóricos y resolver interrogantes acerca de la continuidad o reemplazo poblacional. Debido a que la variación genética es heredada de generación en generación, las poblaciones modernas deberían tener frecuencias génicas similares al de grupos arqueológicos, cuando los mismos estén emparentados. Si las frecuencias son diferentes no serían grupos cercanos y sus diferencias podrían deberse probablemente a la acción de mecanismos microevolutivos o que se trata de grupos diferentes. Algunos marcadores genéticos tienen una distribución geográfica limitada la cual puede estar indicando relaciones ancestrales en alguna de las escalas nombradas anteriormente.

4.1 Utilización en restos no humanos.

Muchos estudios prehistóricos tienen como interés reconstruir el medio ambiente en el cual las poblaciones humanas se desarrollaron y vivieron. Entender el ecosistema en el cual las poblaciones existieron puede proveer herramientas para entender las adaptaciones culturales al medio, como la adquisición de comida, materias primas, movimientos estacionales, etc. Las reconstrucciones ambientales típicas se realizan identificando la flora y fauna en los sitios arqueológicos e infiriendo a través de las características de estas especies presentes y sus hábitats preferidos, cómo podría haber sido el ambiente en el momento en que las mismas fueron depositadas en el sitio arqueológico, ya sea por agentes humanos o no. Desafortunadamente, muchas veces es difícil realizar estas identificaciones a través del registro arqueológico debido a su fragmentación, descomposición y meteorización (Gobalet 2001). Además, puede ocurrir que diferentes especies no relacionadas, pero morfológicamente similares, tengan hábitats comunes, complicando aún más su reconocimiento. Muchas veces, determinar estas especies es vital para realizar cualquier tipo de reconstrucción paleoambiental.

Diferentes investigadores han logrado este cometido (Barnes et al. 2000, Speller et al 2005) identificando genéticamente diferentes especies, reconstruyendo de esta manera los diferentes hábitats preferidos por las mismas, y por ende, el paleoambiente existente en los sitios arqueológicos correspondientes.

4.2 Utilización en la investigación de prácticas culturales.

En los últimos años se han comenzado a aplicar metodologías moleculares a fin de reconstruir ciertos rasgos de las prácticas culturales pretéritas. Los principales aportes han sido:

- **Investigación de movimientos poblacionales estacionales:** con la identificación de especímenes y/o muestras provenientes del registro arqueológico se puede reconstruir el ambiente local prehistórico y por medio del mismo se puede discernir patrones de movilidad estacional. Si es posible asegurar que los restos orgánicos están presentes sólo en alguna estación específica y son recolectados únicamente en cierta época del año, -i.e. especies de

aves migratorias- un uso no permanente de ciertos espacios puede ser inferido (Kaestle y Horsburgh 2002).

- **Investigación en procesos de domesticación de plantas y animales y del tipo de dieta:** la meta de muchos estudios de ADN antiguo es la identificación de las especies animales y vegetales presentes en los sitios arqueológicos, lo cual también informa sobre el carácter dietario de las diferentes poblaciones o grupos que dieron origen a ese registro arqueológico (Barnes et al. 2000). Este tipo de estudios ha hecho hincapié en problemáticas como especies elegidas o preferidas para la caza (Butler y Bowes 1998), estudiar procesos de domesticación de plantas y animales (Brown et al 1994, Bailey et al. 1996) y distinguir qué animales han sido los cazados y cuales los domesticados a fin de inferir el aporte de cada una de estas especies en la dieta (Loreille et al. 1997). Uno de los temas de mayor interés arqueológico en casi todo el mundo ha sido el estudio, documentación y descripción del proceso de domesticación de diferentes especies de plantas y animales por parte de los seres humanos. Si bien ha habido diferentes acercamientos y marcos teóricos en estos temas de investigación (Redman 1990) siempre ha sido difícil interpretar en el registro arqueológico las especies y los cambios acaecidos en las mismas por el proceso de domesticación. Actualmente diversos investigadores han abordado el tema a través de enfoques moleculares para diferenciar y reconocer las especies que comenzaron a ser domesticadas en tiempos prehistóricos por parte de diferentes grupos humanos en diferentes partes del mundo. En América través del estudio de marcadores genéticos se pudo comenzar a estudiar este proceso en diferentes especies de camélidos diferenciando genéticamente las especies domesticadas y salvajes (Kadwell et al. 2001, Marín et al. 2007b, Marín et al. 2008) y también en importantes recursos vegetales (Besnard y Beville 2000, Burke et al. 2002, Matsuoka et al. 2002, Allaby y Brown 2003, Clark et al. 2005, Blanca et al. 2007, Lia et al. 2007), tratando de diferenciar y rastrear sus distintas variedades y posibles lugares de orígenes y momentos de domesticación.
- **Investigación de estratificación social:** dentro de los diferentes tópicos en la investigación prehistórica, uno de los más importantes en toda la historia de la arqueología ha sido la emergencia de la diferenciación y estratificación social. A través del análisis de las diferentes especies de pescado consumidas, Speller y colaboradores (2005) han llegado a proponer una adquisición diferencial de especies de salmónidos en poblaciones de la costa noroccidental de Canadá solamente consumida por algunos individuos de grupos Lillooet hacia el 1500 BP. Esta

estratificación económica también fue avalada por los restos arqueológicos encontrados en el sitio.

- **Investigación en restos de artefactos:** los instrumentos de piedra han sido identificados como fuentes de los cuales extraer ADN antiguo. En un esfuerzo por investigar dicha posibilidad se han realizado estudios de carácter experimental a fin de poder recuperar vestigios de ADN de diversos tipos de herramientas (Kimura et al. 2001), pudiéndose amplificar de manera exitosa restos de ADN. Siguiendo la misma línea de investigación, se logró verificar en otros experimentos, que dichos restos de ADN eran resistentes a varios tipos de lavados (Shanks et al. 2001), sugiriendo de esta manera que los vestigios presentes en los artefactos líticos son recursos posibles de estudiar a través de las técnicas de ADN antiguo.
- **Investigaciones en restos de coprolitos:** este tipo de vestigio ha sido utilizado para reconstruir la dieta de las poblaciones arqueológicas identificando varias especies de plantas y animales que fueron consumidas por humanos e identificar sus haplogrupos mitocondriales (Poinar et al. 2001). También se ha utilizado para realizar un sexado de dichos restos (Sutton et al. 1998).
- **Investigación en otros restos biológicos:** como se mencionó anteriormente, el ADN antiguo ha sido empleado para identificar diferentes restos biológicos de significación cultural. Varios investigadores, en proyectos experimentales, han logrado recuperar ADN de plantas de vasijas aztecas (Burger et al. 2000), identificar flora antigua (Rollo et al. 1994) y recuperar ADN de pictogrifos, ya que en el mismo se utilizó grasa animal para preparar los pigmentos (Reese et al. 1996; Mawk et al. 2002).
- **Investigación de animales como datos proxy de movimientos poblacionales humanos:** el ADN extraído de los restos de animales presentes en los sitios arqueológicos ha sido utilizado para trazar movimientos poblacionales prehistóricos. Los grupos humanos usualmente manipulan especies animales o vegetales, ya sea por domesticación o transporte. En diferentes investigaciones se ha comenzado a estudiar el movimiento de estas especies (Matisoo-Smith et al. 2001 a y b) y sus características en cuanto a la colonización de nuevos ambientes.
- **Investigación de enfermedades y decesos por las mismas:** las técnicas de ADN antiguo han comenzado a utilizarse en los patrones de mortalidad prehistórica. Diversos procesos

infecciosos pueden dejar marcas esqueletales difíciles de identificar. Algunos patógenos han podido ser identificados en restos arqueológicos (Salo et al. 1994, Braun et al. 1998), llegando a la conclusión de que la enfermedad conocida como tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*) podría haber estado presente en América antes de la llegada de los españoles. También ha sido utilizada esta metodología para estudiar epidemias históricas, como el virus de la influenza (Taunbenberger et al. 1997), la históricamente conocida como "peste negra" que azotó Europa en el siglo XIV (Raoult et al. 2000, Drancourt y Raoult 2002) y la lepra (Taylor et al. 2000).

Capítulo 5

Estudios de poblamiento americano

5.1 Antecedentes arqueológicos.

La dispersión del *Homo sapiens* en América dispone de un vasto número de líneas de investigación de diversa índole (Turner II 1986, Nichols 1990, Meltzer 1992, Horai et al. 1993, Bonatto y Salzano 1997a y b, Goebel 1999, Fiedel 2000 entre otros) los que contemplan distintos enfoques e información de diverso tipo. Diferentes arqueólogos han remarcado que dicha temática, por su complejidad y envergadura, debe ser tratada desde una perspectiva multidisciplinaria ya que atraviesa y puede ser encarada desde distintos campos, tanto de la arqueología, como los de la genética, la lingüística y la antropología biológica. El proceso de dispersión humana en las Américas no puede ser comprendido de manera integral desde una sola óptica y/o con la información generada uni-disciplinarmente (Clark et al. 2004, Schmitz 2004, ver Lanata et al. 2008). En realidad, es un tema de investigación en el cual deben confluir el aporte de un sinnúmero de disciplinas, cada una de ellas, aportando su información y limitaciones (Lanata com. pers. 2009).

Originalmente este tema ha sido considerado como un tópico de interés mayoritariamente arqueológico. Las primeras investigaciones académicas fueron a comienzos del Siglo XX. Inicialmente, Aleš Hrdlička logró reunir durante varias reuniones el consenso entre diferentes investigadores (sobre todo arqueólogos, biólogos e historiadores). Su resultado fue la conclusión de que las Américas habían sido ocupadas tardíamente y sólo por el hombre moderno unos 5.000-6.000 años antes del presente (Hrdlička 1920). En 1926, en Nuevo México, se descubrieron junto a un esqueleto de un bisonte gigante extinto las puntas de proyectiles llamadas posteriormente Folsom. En años siguientes diferentes arqueólogos y antropólogos demostraron la coexistencia hace 10.000 años de humanos y animales –megafauna- que se creía extintas en la "era del hielo". En la década siguiente, nuevos hallazgos de otras puntas de proyectiles muy similares, también asociadas a especies extintas –en este caso un mamut- fueron hechos también en Nuevo México, cerca de Clovis, el cual sería el nombre otorgado a estas nuevas puntas de proyectiles. El descubrimiento de las puntas Folsom y Clovis entre 1920 y 1930 en toda Norteamérica mostró la asociación de puntas de proyectiles y fauna extinta de bisontes y mamuts respectivamente. Esto permitió reflexionar sobre la profundidad

temporal de la ocupación inicial de las Américas y dejó en claro que los humanos modernos ya estaban presentes en las postrimerías de la última glaciación, hacia fines del Pleistoceno. A partir de allí, diferentes investigadores, sobre todo geólogos, comenzaron a sugerir la posibilidad de que el poblamiento pudo haber sido posible a través de una vía terrestre desde Asia por medio del estrecho de Bering. La posible aparición y desaparición de un puente terrestre continuo entre Alaska y el noreste siberiano podría estar supeditada a los diferentes ciclos glaciares y a la oscilación del nivel del mar que acompaño la constante inestabilidad climática de la transición Pleistoceno-Holoceno.

Los diferentes hallazgos de puntas de proyectiles asociadas con edades pleistocénicas se conocieron en todo el continente americano. Estas puntas de proyectiles se comenzaron a considerar las más antiguas del continente, teniendo la peculiaridad de estar asociadas a especies de fauna extinta. Diversos investigadores, sobre todo en Sudamérica, comenzaron a realizar hallazgos de puntas similares, que fueron bautizadas con el nombre de “cola de pescado”, y que se encontraron en algunos casos en asociación con caballos extintos (Bird 1938). A partir de la década de 1950, la posibilidad de realizar fechados radiocarbónicos demostró que la antigüedad de dichas puntas superaba muchas veces los 10.000 AP, llegando las puntas Clovis a obtener fechados de contexto cercanos a los 11.200 A.P. Haynes (1966) fue el primero que infirió a través de estos descubrimientos una imagen de la colonización humana inicial en América. Propuso que la “gente Clovis” fueron los primeros habitantes del continente, y que sus ancestros eran habitantes del noreste de Asia especializados en la caza de grandes mamíferos, que cruzaron el estrecho de Bering a pie y se dispersaron por todo el continente. Esta postura fue retomada años posteriores por Martin (1973), culminando en el diseño del modelo de poblamiento americano que postulaba que la “gente Clovis” eran grupos especializados en la caza de grandes animales extintos; los que habían sido perseguidos por todo el continente hasta su extinción, poblando así todo el espacio. Pronto las puntas Folsom y Clovis se convirtieron en el emblema del paradigma arqueológico llamado “Clovis First” (Clovis primero) a partir de la década de 1980. Según este, Clovis era la única imagen aceptable de los primeros pobladores americanos, cualquier sitio o resto arqueológico tenía que ser posterior a él para ser aceptado.

Esta tecnología fue asociada automáticamente a los primeros humanos en ingresar al continente, y así fue considerada la primera cultura. Ella fue caracterizada como perteneciente a

grupos cazadores recolectores especializados en grandes mamíferos extintos, con un conjunto lítico diseñado para esta tarea. Implícitamente, se los veía como grupos bien adaptados a su medio y a las diferentes presiones ambientales que proponía el medio ambiente (Martin 1973). Los sitios arqueológicos atribuidos a la cultura Clovis tienen un rango temporal acotado entre los 11.200 y 10.500 rcybp. Esta imagen comenzó, en años posteriores, a desmoronarse ya que nuevos hallazgos de sitios tempranos en toda América demostraron que la dispersión por el continente y las adaptaciones de los primeros grupos humanos fueron mucho más complejas de lo que se creía.

La investigación arqueológica moderna ha puesto énfasis en establecer los posibles lugares de procedencia de los primeros migrantes, la fecha en la cual se realizó dicha migración y la forma en la que esta migración fue posible, dando lugar y generando la polémica conocida como "Clovis vs. pre-Clovis". (Adovasio et al. 1983, Lynch 1983, 1991a, b y c, 1992, Politis 1991, Bryan y Gruhn 1992, Meltzer 1992, Adovasio 1993, Whitley y Dorn 1993, Hoffman y Graham 1998, Dillehay 1999 y 2000, Fiedel 2000, Schmitz 2004, Tankersley 2004). A través de la comparación tipológica de los conjuntos artefactuales líticos del Este y el Oeste de Bering se intentó establecer el momento, lugar de proveniencia e ingreso de las primeras poblaciones dentro del continente (Morlan 1987, Dikov 1987, Stanford 1991, Hoffecker et al. 1993, Goebel 1999). Si bien, las industrias del Paleolítico Superior del noreste de Asia han sido consideradas como evidencia arqueológica directa de los orígenes asiáticos de los nativos americanos por similitudes tecnológicas con conjuntos del Nuevo Mundo (Morlan 1987, Dikov 1987, Stanford 1991, Hoffecker et al. 1993, Goebel 1999), diversos autores han remarcado las dificultades que tiene este tipo de método para trazar posibles filiaciones poblacionales (Yi y Clark 1985, Clark 1991, Adovasio 1993, Fiedel 2000, Bever 2001, Dumond 2001). A esta problemática se suma el hecho de la imposibilidad de obtener fechados concretos de todos los conjuntos artefactuales, ya que muchos de ellos constituyen hallazgos aislados, y además en muchos de los casos no se cuenta con contextos datables (Yi y Clark 1985, Kunz y Reanier 1994, Tankersley 2004). La falta de contextualización y asociación (Yi y Clark 1985, Bever 2001) y los procesos de formación naturales que dieron origen a la mayoría de los sitios arqueológicos en cuestión (Yi y Clark 1985, Butzer 1988, 1991, Driver 1998, Bever 2001) también han sido remarcados, junto su falta de visibilidad arqueológica (Butzer, 1988, 1991, Adovasio 1993). A pesar de estos problemas, la información arqueológica es compatible con una migración de poblaciones con origen en el Norte de Asia durante el último máximo glaciar (Morlan 1987, Dikov 1987, Stanford 1991, Goebel 1999,

Dumond 2001), con posibilidad de que hayan existido varios eventos migratorios. Recientemente, se ha propuesto una posible conexión Atlántica con el conjunto artefactual europeo denominado Solutrense (Stanford y Bradley 2000), pero la misma ha sido rechazada debido a problemas de índole empírica y conceptual (Clark 2004).

Por su parte, otros (Politis 1991, Bryan y Gruhn 1992, Dillehay 1999 y 2000, Borrero 2001) han tratado de explicar cómo fue el proceso de poblamiento en el Sur del continente, la procedencia de los primeros pobladores y su tiempo de arribo, a través de los hallazgos de sitios tempranos, y la construcción de tipologías basadas en puntas de proyectiles (Pearson 2004), tratando de rastrear este proceso y unir tanto histórica como biológica y tecnológicamente a los primeros pobladores del Sur, con las poblaciones que ingresaron inicialmente al continente. Pero se han topado con las mismas limitaciones existentes en el norte del continente, en cuanto a la calidad, cantidad, resolución e integridad de la información disponible en el registro arqueológico con fechas tempranas, y la metodología para establecer dichas comparaciones (Politis 1991, Adovasio 1993, Pearson 2004). Estos autores, han propuesto que dichas discontinuidades en el registro arqueológico pueden deberse a un problema de muestreo o explicarse por la dinámica del proceso de migración y por la entrada a un nuevo espacio, dando lugar a cuellos de botella y efectos fundadores, lo cual puede haber afectado las características demográficas, tecnológicas y biológicas de dichas poblaciones (Borrero 2001, Pearson 2004, Lanata et al. 2008).

Es justamente en el extremo sur del continente donde la información arqueológica acumulada permite confirmar la presencia humana muy temprana, quizá hasta miles de años antes de la aparición de Folsom-Clovis. Diferentes sitios arqueológicos en toda Sudamérica, en especial en la Patagonia Argentina y Chilena –ver Tabla 5.1 en Apéndice de Tablas- se convirtieron lentamente en testimonios que pusieron en duda el paradigma “Clovis primero” como primera cultura americana, no sin tensiones académicas (Politis 2000). Diferentes propuestas han sido esbozadas en cuanto a cómo podría haber sido el poblamiento del extremo sur del continente americano. Diversos autores han remarcado las pocas investigaciones concernientes a modelar cómo pudo haber sido el poblamiento de la Patagonia (Borrero 2001b). Ésta fue estudiada sistemáticamente por diversos autores con diversos enfoques teóricos desde mediados del Siglo XX. Inicialmente, dentro de un enfoque conocido como histórico cultural (Lanata et al. 2002) y basado en series tipológicas de artefactos

líticos -sobre todo puntas de proyectiles- diversos investigadores llegaron a proponer el poblamiento como un proceso continuo y gradual utilizando la noción de tradiciones culturales (Imbelloni 1947, Menghin 1952, Gradin 1980, Orquera 1987, entre otros). Este proceso era visto como diferentes grupos o "razas" que llegaban a la Patagonia. No se veía interrumpida la continuidad cultural, por ende, tampoco la biológica. Las interrupciones en el registro arqueológico eran vistas como resultado de cambios y de distintos orígenes o "tradiciones", manteniendo cada una su continuidad (Gradin et al. 1979, Gradin 1980). Esta noción de continuidad fue remarcada como contradictoria por diversos autores, ya que las discontinuidades del registro arqueológico incluían implícitamente como forma de explicación la noción de reemplazo (Casamiquela 1970, Borrero 2001b).

El primer modelo de poblamiento de la Patagonia que buscó estudiar cómo podría haber sido la dinámica poblacional que ingresó en el extremo sur del continente fue realizado por Borrero (1994-1995). Dicho autor propuso un modelo ecológico de utilización del espacio, marcado por un ambiente sujeto a constantes transformaciones de las barreras geográficas presentes en el espacio, dentro del cual se esperaban tres etapas de ocupación; cada una explicando las diferentes características del registro arqueológico para los diferentes rangos temporales. La primera etapa estaría caracterizada por ser exploratoria, representando los primeros momentos del poblamiento, con baja visibilidad arqueológica, discontinuidad temporal e hiatos ocupacionales como reflejos de efectos fundadores - pocos sitios correspondientes a etapas tempranas. La estructura de los recursos presentes no permitiría un proceso continuo, por lo que es posible que haya habido extinción de poblaciones y fracasos en el proceso de entrada a los nuevos ambientes, acompañada con condiciones de aislamiento geográfico y baja demografía. La segunda etapa propuesta es la de colonización, en donde comenzaría a presentarse una utilización del espacio más regular y posibles interacciones entre los diferentes grupos humanos. Se percibe un incremento en la variabilidad del registro arqueológico. La tercera y última etapa se presenta como la ocupación efectiva del espacio, la cual refleja una mayor frecuencia de materiales y diferentes procesos de adaptación a los ambientes locales explotados más asiduamente. De todas maneras, en ninguna de las etapas se percibe en el registro arqueológico un aumento demográfico, explicado por el tipo de ambiente patagónico, el cual posee poca capacidad de carga.

Acompañando estos planteos, otros autores han investigado el poblamiento inicial desde el punto de vista económico (Politis et al. 1995), demostrando que los grupos cazadores recolectores pleistocénicos no estaban especializados en la megafauna, sino que era un grupo de recursos poco utilizado, contrastando con la visión tradicional de los defensores de la postura "Clovis primero" (Martin 1973, Lynch 1983, 1991a, 1991b y 1992). En los años posteriores, dentro de la discusión alrededor de los sitios tempranos, las investigaciones sostuvieron que la circulación de las poblaciones podría haber estado disponible, en términos ecológicos-geográficos, a partir de los 14-13.000 años antes del presente (Borrero 1999). Diferentes autores comenzaron a discutir estas problemáticas desde otras fuentes teóricas (Ammerman y Cavalli-Sforza 1984, Boyd y Richardson 1985, Shennan 2000, Borrero 2001a y 2001b) relacionadas con la posibilidad de que exista una continuidad biológica acompañada con discontinuidades culturales y viceversa, ya que el cambio ocurre con mucha mayor velocidad en el plano cultural que en el biológico (Lanata 1996, Shennan 2000, Borrero 2001b). Diferentes investigadores comenzaron a poner un fuerte énfasis en la relación entre lo cultural y lo biológico como forma de explicación del poblamiento y de las propiedades del registro arqueológico presente en la Patagonia (Miotti 1989, Borrero 1994, Borrero 2001a y b). Desde el punto de vista tecnológico estas inferencias han sido apoyadas por diferentes estudios en artefactos líticos (Civalero y Franco 2003). Investigaciones recientes (Borrero 2001b, Civalero y Franco 2003, Miotti y Salemme 2003, Miotti 2003) han apoyado estas posturas, llegando a la conclusión de que el modelo "Clovis primero" es insuficiente para explicar la gran variabilidad arqueológica en la mayoría de los sitios tempranos del sur de Sudamérica, suponiendo que de ser así, tendrían que estar todos éstos en un contexto similar a la cultura Clovis. Es posible una situación en la que haya habido poblaciones anteriores a las aceptadas por el modelo "Clovis primero" y que no haya habido una especialización económica y tecnológica que priorizara la explotación de fauna extinta, proponiendo un poblamiento y ocupación del espacio compleja, no unidireccional, con posibilidad de extinciones poblacionales, cuellos de botella y una baja demografía que podría haber persistido hasta tiempos históricos (Lanata 1996). Una estrategia de alta movilidad con la conformación de pequeños grupos o microbandas pudo haber sido una buena estrategia adaptativa en un ambiente como el de Patagonia.

Si bien la información arqueológica es de gran ayuda y ha aportado datos concisos sobre fechados y cronologías de arribo y de la dispersión de las poblaciones, así como también registro de las primeras tecnologías y adaptaciones culturales a un medio ambiente cambiante, sólo está

aportando una parte del rompecabezas. Actualmente es posible realizar una integración armónica de los datos arqueológicos con otras ciencias y disciplinas. Esta falta de interdisciplinariedad nos ha llevado a una visión que ha tenido en cuenta como primera fuente de explicación sólo la parte cultural del problema en donde la importancia de la construcción y perfeccionamiento de los estudios artefactuales, tafonómicos y cronológicos siguen primando. A su vez, siempre se ha priorizado lo más antiguo sobre lo moderno en cuanto a investigaciones arqueológicas, sin tener en cuenta que el proceso de dispersión inicial y las adaptaciones tanto culturales como biológicas que se fueron sucediendo luego están íntimamente relacionadas con los cambios en la estructura demográfico-poblacional y su desarrollo a través del tiempo. Si bien, esto aporta muchos datos, se sigue careciendo de un enfoque más "poblacional" que tiendan a tener modelos generales que sean contrastables con la evidencia de diferentes disciplinas dejando de lado modelos construidos a partir de un solo tipo de evidencia.

5.2 Antecedentes genéticos.

El primer estudio que incluyó poblaciones americanas dentro del análisis de polimorfismos mitocondriales fue realizado por Johnson et al. (1983). En este trabajo, utilizando una metodología llamada RFLP se llegó a la conclusión de que el ADNmt de las poblaciones americanas era diferente al presente en la mayoría de las poblaciones europeas y asiáticas actuales. Wallace et al. (1985), ampliando la cantidad de digestiones enzimáticas, demostraron que los nativos americanos poseían más afinidades con poblaciones asiáticas, proponiendo una conexión entre estos grupos con la posible existencia de un efecto fundador en amerindios. A su vez, se logró definir el haplogrupo C en poblaciones nativas norteamericanas. Schurr et al. (1990) confirmaron el haplogrupo C y otros marcadores asiáticos en poblaciones Pima, Ticuna y Maya, logrando caracterizar los haplogrupos B y A. Luego, Torroni et al. (1992) por medio de la técnica de PCR-RFLP de alta resolución, analizan 167 nativos americanos de diferentes etnias, confirmando los marcadores descriptos anteriormente y la separación de todos los grupos indígenas de América en cuatro grupos monofiléticos (A, B, C y D). Torroni y colaboradores (1993a y b) confirmaron los resultados anteriores a través de la secuenciación de la sección HVR I de 38 individuos americanos y 11 asiáticos. En el mismo año, Horai y colaboradores (1993) y Ghinter y colaboradores (1993), separadamente, ratificaron en sus análisis los haplogrupos amerindios antes nombrados. Por último, Foster et al. (1996) agregaron la denominación del haplogrupo X, descripto sólo para Norteamérica.

Haplogrupos mitocondriales fundantes propuestos en América.

Con el paso de los años ha sido posible ordenar toda esta información agrupando en cinco diferentes haplogrupos mitocondriales a los linajes americanos. Por definición y consenso, para ser considerado un haplogrupo fundante, el ADNmt candidato debe cumplir ciertos criterios:

- El haplogrupo fundante debe estar disperso en los amerindios y estar repartido entre las poblaciones debido a que precede a la diferenciación tribal.
- Los haplogrupos fundantes deben ser centrales -nodales- en la bifurcación de sus haplogrupos en los análisis de filogenia debido a que todos los nuevos haplotipos se originan de él.
- Los haplogrupos fundantes deben estar presentes en el Este de Asia y en las poblaciones siberianas debido a que él se originó en esa región geográfica y ha persistido luego de la división de las poblaciones nativas americanas.

En la actualidad, estos diferentes haplogrupos han sido designados por consenso como A, B, C, D y X (Schurr et al. 1990, Torroni et al 1992, 1993, Foster et al. 1996, Brown et al. 1998) Cada uno es definido por un conjunto específico de RFLP y secuencia polimórfica de la Región Hipervariable 1 del ADNmt.

A, B, C y D comprenden la mayoría de los haplogrupos mitocondriales presentes en poblaciones nativas americanas (Schurr et al. 1990, Ward et al. 1991, Torroni et al. 1992, 1993, 1994, Horai et al. 1993, Ginther et al. 1993, Bailliet et al. 1994, Santos et al. 1994, Batista et al. 1995, Kolman et al. 1995, Lorenz y Smith 1996, 1997, Easton et al. 1996, Green et al. 2000, Moraga et al. 2000, Malhi et al. 2001). Su distribución en las Américas tiene patrones específicos en sus frecuencias en ciertas regiones geográficas. En contraste, el quinto haplogrupo mitocondrial -haplogrupo X- (Foster et al. 1996, Scozzari et al. 1997, Brown et al. 1998, Smith et al. 1999) posee dos variantes, una asiática presente en América, y una europea sólo de esa región, siendo la asiática identificada exclusivamente en Norteamérica y difícilmente es encontrada en poblaciones extintas (Malhi y Smith 2002, Kuch et al. 2007). Estos haplogrupos comprenden casi el 100 por ciento de todo el ADNmt presente en las poblaciones indígenas del Nuevo Mundo.

Adicionalmente, algunos estudios han detectado la presencia de “otros” haplogrupos, lo cual implicaría la posible presencia de un linaje fundacional adicional a los cinco ya conocidos (Ward et al. 1991, Torroni et al. 1993, Merriwether et al. 1994, Bailliet et al. 1994, Lorenz and Smith 1996, Ribeiro-Dos-Santos et al. 1996, Rickards et al. 1999, Smith et al. 1999), mientras que otros (Merriwether et al. 1994, Easton et al 1996, Schurr 1997) han propuesto la posibilidad de que este resultado puede deberse a la evolución autóctona de los haplogrupos, luego del poblamiento inicial de América derivando los mismos de los haplogrupos C y D. Sin embargo, muchas de estas discrepancias fueron resueltas años después (Green et al 2000, Moraga et al. 2000) por RFLP para demostrar que muchos de los resultados obtenidos como “otros” eran pertenecientes al haplogrupo D. También cabe la posibilidad de que muchos de los resultados obtenidos como “otros” ADNmt pudieron haber sido adquiridos por flujo genético en tiempos históricos luego de 1492 (Scozzari et al 1997, Smith et al 1999). Estos mismos investigadores lograron reconocer una cierta mezcla genética en indios norteamericanos debido a la presencia de haplogrupos europeos conocidos como H, J y K. También se ha logrado reconocer la influencia histórica que ha causado el flujo genético proveniente de África dentro de las poblaciones amerindias, evidenciado por la presencia de haplogrupos Africanos conocido como L (Huoponen et al. 1997). Basados en estas investigaciones es razonable suponer y esperar que la gran mayoría de los haplogrupos mitocondriales denominados como “otros” dentro de las poblaciones nativas americanas pertenezcan, en realidad, a alguno de los haplogrupos no nativos mencionados anteriormente (Schurr 2004).

En cuanto al ADNmt de poblaciones americanas pre-históricas -ADN antiguo-, el mismo patrón es observado en cuanto a la presencia de los haplogrupos mitocondriales. En todos los estudios realizados hasta la fecha, las poblaciones prehistóricas analizadas exhiben los mismos conjuntos de linajes mitocondriales que presentan sus modernos descendientes. Sólo algunas de esas poblaciones arqueológicas presentan linajes que no corresponden exactamente a la distribución de los haplogrupos actuales (Merriwether et al. 1994, Fox et al. 1996, Monsalve et al. 1996, Ribeiro-Dos-Santos et al. 1996, Parr et al. 1996, Stone y Stoneking 1998, Carlyle et al. 2000, Kaestle y Smith 2001). Estos mismos autores, en base a estas diferencias, han propuesto que dichas discrepancias en los haplogrupos A, B, C, D y X, entre las poblaciones modernas y arqueológicas, estarían reflejando los linajes mitocondriales primarios de las poblaciones nativas americanas.

Actualmente, y luego de los debates ya mencionados sobre el número de haplogrupos mitocondriales fundacionales presentes en los nativos americanos, se ha llegado a la conclusión, basada en técnicas de RFLP y secuenciación de la región HVR 1 del genoma mitocondrial, de que existen únicamente cinco haplogrupos fundantes -A, B, C, D y X (Schurr 2004). De todas maneras, las últimas investigaciones han logrado dar cuenta de la presencia de un haplogrupo más en poblaciones prehistóricas, que podría ser también fundante y que está presente en el Este de Asia, conocido como M (Malhi et al. 2007).

Origen de los haplogrupos mitocondriales en el Este de Asia.

Basados en la presencia de los haplogrupos A, B, C y D en poblaciones de la región de Siberia, algunos investigadores han sugerido que Mongolia representa el área original de los ancestros de los nativos americanos (Kolman et al 1996, Merriwether et al 1996). Sin embargo, los haplogrupos A, B, C y D se encuentran juntos en poblaciones originadas más al Oeste, en la región de las montañas Altai, y más al Este de Korea y Japón. La región del Lago Baikal ha sido propuesta finalmente como el lugar de origen de dichas poblaciones (Ballinger et al. 1992, Torroni et al. 1994, Horai et al. 1996, Kolman et al. 1996, Merriwether et al. 1996, Sukernik et al 1996, Derenko et al. 1998, Schurr et al. 2000).

Los haplogrupos A, B, C y D representan la minoría de los linajes mitocondriales presentes en muchas poblaciones de Siberia y el Este de Asia. De hecho, muchas poblaciones Siberianas presentan sólo los haplogrupos A, C y D (Torroni et al. 1993, Sukernik et al. 1996, Derenko et al. 1998, Starikovskaya et al. 1998, Schurr et al 1999, Schurr 2003). Si bien el haplogrupo A está ausente -o en baja frecuencia- en la mayoría de las poblaciones siberianas tiene frecuencias más altas en el Noreste de Siberia (Sukernik et al. 1996, Derenko et al. 1998, Starikovskaya et al. 1998, Schurr et al 1999). Los haplogrupos mitocondriales C y D presentan altos valores en todas las poblaciones del Este de Siberia, desde el Río Yenisey hasta el Oeste del estrecho de Bering (Sukernik et al. 1996, Starikovskaya et al. 1998, Schurr et al 1999). En contraste, en casi todos los grupos Siberianos está ausente el haplogrupo mitocondrial B. Este hecho llevó a suponer que ese haplogrupo estaría ausente en el Sur de Siberia, adyacente a Mongolia y el Norte de China (Shields et al. 1992, 1993, Petrishchev et al. 1993, Kolman et al. 1996, Derenko y Shields 1998, Starikovskaya et al. 1998). La frecuencia de este linaje mitocondrial es relativamente baja en esas poblaciones, pero se incrementan hacia el Este y Sudeste de Asia (Horai y Matsunaga 1986, Ballinger et al. 1992, Harihara et al 1992, Melton et al. 1995, Redd

et al. 1995, Horai et al 1996). Además, y posteriormente, el haplogrupo B podría haberse perdido en las regiones próximas a Bering por deriva génica.

Las poblaciones de Siberia y el Este de Asia parecen no presentar el haplogrupo X (Horai et al 1996, Sukernik et al. 1996, Starikovskaya et al. 1998, Schurr et al 1999), el cual aparece en baja frecuencia en poblaciones europeas y Oeste de Asia (Comas et al. 1996, Richards et al. 1996, Torroni et al. 1996, Brown et al. 1998, Torroni et al. 1998, Macaulay et al. 1999), estando virtualmente ausente en las poblaciones del Este de Kazakhastan (Horai et al 1996, Kolman et al. 1996, Derenko et al. 2000). La única excepción son las poblaciones de la región de Altai, que exhiben un porcentaje de haplogrupo X de un tres a un cinco por ciento (Derenko et al. 2000). Este hecho, acompañado de la presencia de los haplogrupos A, B, C y D en las mismas poblaciones, dio lugar a muchos autores para sugerir que la región de las montañas Altay puede haber sido el área desde donde provinieron los nativos americanos (Derenko et al. 2000) –Figura 5.1-

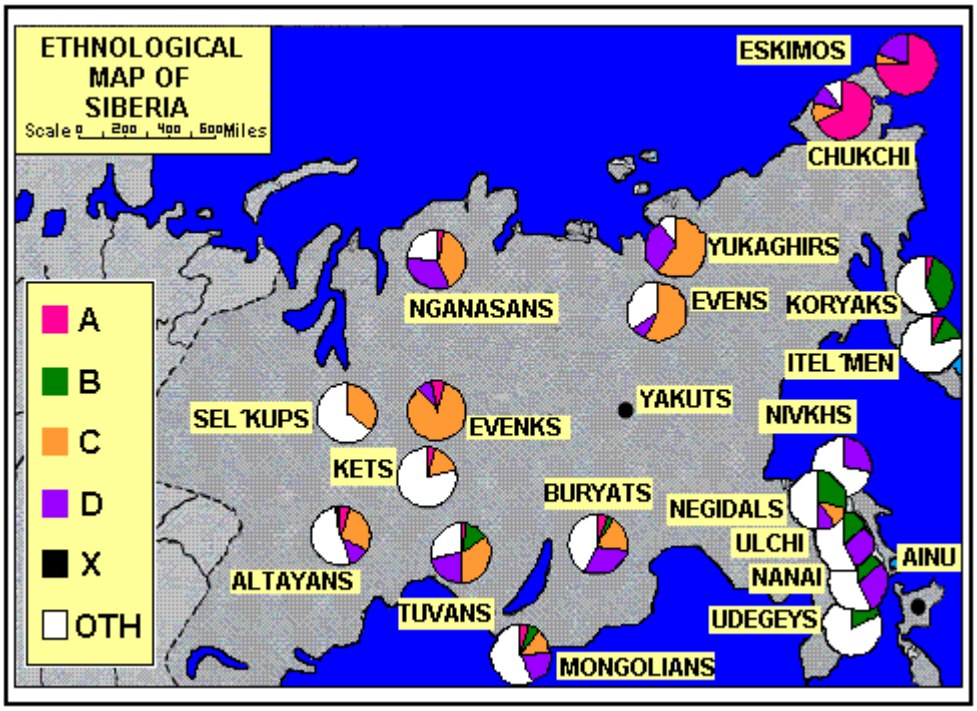


Figura 5.1. Distribución en poblaciones actuales del Este de Asia de los haplogrupos presentes en poblaciones americanas. Reproducido de Schurr 2004.

Antigüedad estimada de los haplogrupos mitocondriales.

Uno de los tópicos más debatidos concernientes al origen de los Nativos Americanos es la antigüedad de las poblaciones ancestrales que ingresaron al Nuevo Mundo. El ADN ha aportado al debate sobre la antigüedad, apoyando la postura de un ingreso más temprano que el propuesto por el paradigma arqueológico Clovis primero. Esta cuestión ha sido encarada por los estudios moleculares examinando la antigüedad y los patrones de diversidad de los cinco haplogrupos presentes en las Américas. Basados en los datos suministrados por RFLP, las edades de los haplogrupos A-D y X americanos han sido estimadas entre los 30.000 y 32.000 AP (Torroni et al. 1992, 1993, 1994, Brown et al. 1998). El tiempo estimado de divergencia para los haplogrupos B y X en el Nuevo Mundo es de 17.000 a 13.000 AP, considerablemente más jóvenes que los haplogrupos A, C y D -Tabla 5.2-.

Haplogrupo	Región Geográfica	Schurr et al. 1999 Tiempo de Coalescencia (B.P)	Bonatto y Salzano 1997 Tiempo de Coalescencia (B.P)	Brown et al. (1998) Tiempo de Coalescencia (B.P)
A	Siberia America	12.727-9.655 35.909-27.241	- 41.014-29.163	- 57.000-27.000
B	Asia America	30.454-23.103 17.727-13.448	- 39.017-26.791	- 41.000-16.000
C	Siberia America	19.545-14.828 55.545-42.069	- 40.680-27.933	- 41.000-13.000
D	Siberia America	50.455-38.276 25.909-19.655	- 46.778-32.121	- 51.000-19.000
X	America	17.000-13.000	n.d	n.d

Tabla 5.2. Edad de los haplogrupos en Siberia y en las Américas estimada por diversos autores. Reproducido de Schurr 2004.

Estas investigaciones sugieren que los haplogrupos B y X pudieron haber ingresado en las Américas en una o más migraciones separadas, posteriores al ingreso de los haplogrupos A, C y D.

La antigüedad de la mayoría de los haplogrupos americanos ha sido estudiada recientemente a través de la diversidad de la secuencia de la región HVR1 de los Nativos Americanos. Muchos han arrojado estimaciones cronológicas de los cinco haplogrupos entre 45.000 y 23.000 años antes del presente (Bonatto y Salzano 1997 a y b, Brown et al. 1998, Stone y Stoneking 1998). En contraste con los estudios basados en RFLP, esas estimaciones para el haplogrupo B lo admiten como presente en las Américas al menos hace 30.000 a 20.000 años (Bonatto y Salzano 1997 a y b, Stone y Stoneking

1998). La primera de estas aproximaciones es consistente con lo que se ha estimado para el haplogrupo B en Asia, en base a ambas metodologías, tanto RFLP como secuencia de HVR1 (Lum et al. 1994, Redd et al. 1995). De todas maneras, el haplogrupo B puede haber arribado al mismo tiempo que los haplogrupos A, C, D y X.

Al comparar los ADNmt antiguos de las muestras arqueológicas en Asia-Siberia y Europa se observa que los nativos americanos y las poblaciones siberianas no poseen mucho del ADNmt en común, teniendo diferencias en las secuencias de la región HVR 1 y en los resultados por RFLP (Starikovskaya et al. 1998, Schurr et al. 1999). Estos resultados implican que la edad estimada para cada uno de los haplogrupos refleja la diversidad genética que se ha acumulado en los brazos americanos del árbol genealógico de los linajes de ADNmt y, por lo tanto, aproximar el tiempo en el cual los humanos entraron en las Américas (Ward et al. 1991, Shields et al. 1993). Por su parte, otros investigadores han apoyado la idea de que dichas antigüedades para cada linaje de ADNmt representa la edad de divergencia de dichos haplogrupos en Asia, no la inicial migración dentro de América (Ward et al. 1991, Shields et al. 1993). Siguiendo estas premisas, los mismos investigadores han propuesto la posibilidad de una entrada tardía -14 a 12.000 años- para los ancestros del Nuevo Mundo, cayendo la fecha en las fronteras límite de los datos aportados por diferentes investigaciones arqueológicas en cuanto al poblamiento inicial del continente (Bonatto y Salzano 1997a y b). También ha sido criticado en cuanto al origen de las muestras, ya que las mismas fueron tomadas de poblaciones actuales circum árticas solamente (Bonatto y Salzano 1997a y b, Lorenz y Smith 1997, Schurr et al. 1999).

Distribución de los linajes fundadores en América.

La distribución de los linajes mitocondriales ha sido ampliamente analizada. A través de diversos trabajos, la mayoría de las investigaciones han notado ciertas tendencias en cuanto a su distribución espacial:

- Los cuatro mayores haplogrupos se encuentran en poblaciones de Norte, Centro y Sudamérica en concordancia con los tres mayores grupos lingüísticos americanos propuestos (Greenberg et al. 1987). Este patrón indica que los cuatro haplogrupos estaban presentes en la o las migraciones hacia el Nuevo Mundo. Sin embargo, esto

puede no ser cierto en las poblaciones Nadene y Eskimo-Aleutianos, debido a que ellas no poseen el haplogrupo B y a veces al haplogrupo C tampoco está presente (Shields et al. 1992, Starikovskaya et al. 1998, Rubicz et al. 2003 –ver Tabla 5.3 en Apéndice de Tablas.

- Se puede observar en los grupos amerindios de toda América patrones de distribución de los haplogrupos. El A muestra una disminución en su frecuencia con sentido Norte-Sur, mientras que C y D muestran un incremento en dirección Norte-Sur. En contraste, no se verifica una distribución clinal para el haplogrupo B, pero está en muy baja frecuencia en ciertas zonas del Norte de Norteamérica (Merriwether et al. 1994, 1995, Fox 1996, Lorenz y Smith 1996). Estas distribuciones podrían estar reflejando los patrones originales del poblamiento americano, la subsecuente diferenciación genética de las poblaciones nativas en ciertas regiones geográficas o aspectos de ambos procesos –ver Tablas 5.3 y 5.4 en Apéndice de Tablas.
- Los haplogrupos A, B, C y D parecen proceder juntos de una misma migración, pero en muchas poblaciones está ausente al menos uno de los linajes (Schurr et al. 1990, Torroni et al. 1992, 1993, 1994) Este patrón probablemente refleja una situación en la que la deriva genética y eventos de efecto fundador han influenciado una extinción estocástica o una fijación de ciertos haplogrupos mitocondriales.

Lo que se puede observar como generalidad en la distribución geográfica de los haplogrupos, es la idea de que la deriva genética, los movimientos poblacionales y los demás procesos estocásticos, han alterado en cierta medida la frecuencia de los mismos en cada población. Muchos investigadores apoyan esta idea, analizando las mismas áreas con diferentes muestras, de distintas edades, observando en algunos casos continuidad en la frecuencia (Fox 1996, O´Rourke et al. 2000, Saillard et al. 2000, Rubicz et al. 2003) y en otros casos discontinuidades (Kaestle y Smith 2001).

Hasta ahora, la información que se ha podido obtener de la extracción de ADNmt antiguo y de poblaciones actuales indica que – ver Tablas 5.3 y 5.4 en Apéndice de Tablas, y Figura 5.2-:

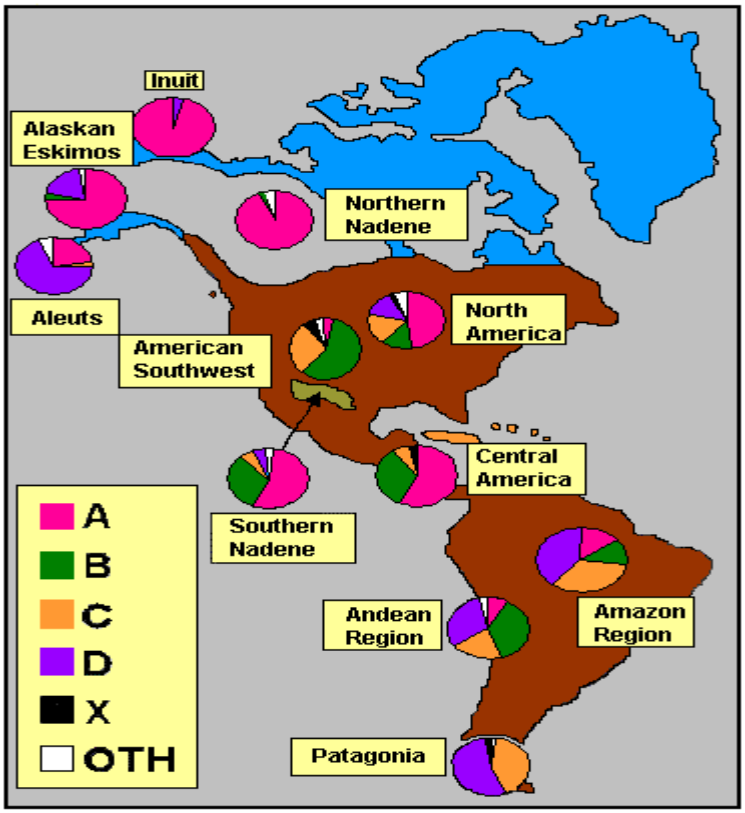


Figura 5.2. Distribución actual de los haplogrupos mitocondriales fundantes de poblaciones Nativas Americanas. Reproducido de Schurr 2004.

- En toda América se encuentra con seguridad y correctamente identificados cuatro haplogrupos fundantes -Cann 2001, Salzano 2002- sumado recientemente al descubrimiento del haplogrupo X sólo en Norteamérica (Mahli y Smith 2002, Kuch et al. 2007).
- Adicionalmente, se ha encontrado un individuo con el haplogrupo M en restos prehistóricos (Mahli et al. 2006) el cual es nodal del los haplogrupos C y D.
- Estos haplogrupos son originarios del Este de Asia, lo cual concuerda con la información arqueológica (Torroni et al. 1992, Horai et al. 1993, Schurr 1999, Schurr 2004).
- Se ha calculado, dada la diversidad genética existente en aborígenes, que el poblamiento inicial podría haber sido conseguido con una sola migración (Bonatto y Salsano 1997b, Hey 2005, Dejean et al. 2007, Kitchen et al 2008).

- El número de migrantes pudo haber sido muy reducido y aún así explicaría perfectamente la distribución y variabilidad genética existente, con posibilidad de que la población haya estado expuesta a un aislamiento geográfico muy marcado antes de ingresar al continente, con una rápida expansión geográfica posterior (Eshleman et al. 2003, Hey 2005, Tamm et al. 2007, Kitchen et al 2008).
- En algún momento existió otra migración relacionada con los grupos lingüísticos Nadene y Eskimo-Aleutiano (haplogrupo B) –ver Torroni et al. 1992 y Horai et al. 1993-.
- La fecha calculada para la separación de los grupos y el poblamiento americano ronda en los 20.000 años -dependiendo el autor y tipo de muestra. –Salsano 1997a y b-. Puede postularse un tipo de evolución clinal siguiendo un sentido Norte-Sur en la frecuencia de ciertos haplogrupos -C y D- en detrimento de los restantes, que puede ser causado por procesos que afectaron la demografía o por selección de esas características (Lalueza-Fox et al. 1997, Moraga et al. 2000, Salzano 2002, Schurr 2004, García Bour et al. 2004, Kemp et al. 2006, García et al. 2006, Goebel et al. 2008). Este patrón se observa claramente en la Patagonia (Lalueza-Fox et al 1997, Moraga et al. 2000, Salzano 2002, Kemp et al. 2006, García Bour et al 2004, García et al. 2006) -ver Tablas 5.3 y 5.4 en Apéndice de Tablas.
- En ciertas partes de Sudamérica –región andina y aledañas- se observan altas frecuencias de los haplogrupos A y B, lo cual puede estar relacionado con procesos micro evolutivos como el flujo genético, ambos efectos del surgimiento de los diferentes imperios -Inca sobre todo- y grandes sociedades prehistóricas (Mesa et al. 2000, Moraga et al. 2000, Rodríguez-Delfín et al. 2001, Bert et al. 2001, Demarchi et al. 2001, Moraga et al. 2005) -ver Tablas 5.3 y 5.4 en Apéndice de Tablas.
- Algunos autores han propuesto una distribución clinal de los haplogrupos en sentido Este a Oeste debido al crecimiento poblacional y flujo genético, el cual explicaría la presencia de mayor diversidad genética en los sectores andinos -sociedades estatales con un fuerte control en macro regiones- en detrimento de los sectores cercanos al Este del continente caracterizadas por ser cazadores-recolectores (Fuselli et al. 2003).

Número de ADNsmt migrantes en las Américas.

Basado en los datos obtenidos de ADNmt en Siberia y Asia, muchos investigadores han propuesto la región de las montañas Altai hacia el Sureste de Siberia y China como el área potencial de origen de las poblaciones nativas americanas. Sin embargo, no hay un acuerdo aún sobre el número de migraciones que ingresaron al Nuevo Mundo. Algunos investigadores han sugerido que las poblaciones ancestrales ingresaron al menos los haplogrupos A, C, y D durante la colonización inicial, representando el haplogrupo B una posible segunda migración independiente desde el Este de Asia (Starikovskaya et al. 1998, Torroni 1993). También ha sido sugerido esto por la presencia del haplogrupo X, que está virtualmente ausente en Siberia y en la mayoría de las Américas (Brown et al. 1998). Otros han sugerido migraciones separadas para todos los haplogrupos (Horai et al 193). La mayoría de los investigadores han concluido que los haplogrupos A, B, C y D ingresaron en una sola migración (Merriwether et al 1994, 1995, Foster et al. 1996, Kolman et al. 1996, Lorenz y Smith 1997). Según estos, los patrones de variación del ADNmt que se observan en las modernas poblaciones americanas pueden atribuirse a diferenciaciones *in situ* y movimientos poblacionales que ocurrieron luego de la colonización inicial. Diferentes estudios estadísticos basados en la secuencia de la región HVR 1 de los haplogrupos A-D, muestran generalmente una simple expansión demográfica dentro del nuevo mundo (Bonatto y Salzano 1997 a y b, Stone y Stoneking 1998, Kitchen et al. 2008).

5.3.1 Información lingüística.

Las primeras aproximaciones al estudio de poblamiento americano fueron muy tempranas. En 1786, Thomas Jefferson vinculó el parecido existente entre las lenguas de los nativos americanos y los habitantes del este asiático, aventurando la idea de que estos probablemente derivaran de aquellos. Esta hipótesis se basó en evidencia de la existencia de una mayor diversidad de lenguas en América que en Asia (Campbell 1998). El conocimiento y estudio de las diferentes lenguas ha avanzado mucho en el último siglo y actualmente se reconoce la existencia de unas 1.200 en América. La lingüística histórica o evolutiva ha intentado descubrir el origen de las lenguas y también su evolución. A través de diferentes metodologías se ha intentado reconstruir árboles filogenéticos y poder develar el origen u orígenes comunes de las diferentes lenguas. En la mayoría de los estudios, la reconstrucción de estos árboles se ha realizado a través la similitud homóloga, derivada de la existencia de un hipotético ancestro en común, de ciertas palabras y rasgos lingüísticos presentes en

las diferentes lenguas que están bajo estudio. Si bien es el método más utilizado, también es el que más inconvenientes presenta, ya que hay procesos como los préstamos lingüísticos entre las diferentes lenguas, el azar y diferentes procesos culturales, que pueden afectar esta filogenia.

En cuanto al estudio del poblamiento americano, el primer acercamiento de clasificación de las lenguas americanas fue realizado por Joseph Greenberg en 1956 en el Fifth International Congress of Anthropological an Ethnological Science (Greenberg 1960). Luego de años de recopilación y estudio, propone que la evidencia disponible permite reunir todas las lenguas habladas en el continente en tres grandes grupos genéticos (Greenberg 1987, Ruhlen 1987, Ruhlen 1991, Greenberg y Ruhlen 1992)-Figura 5.3:

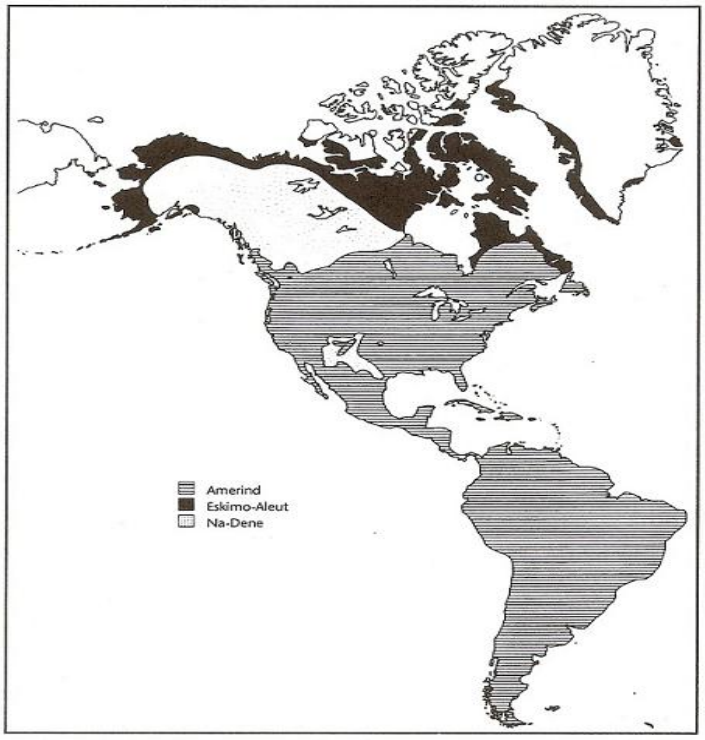


Figura 5.3. Agrupación de lenguajes de los nativos americanos según Greenberg 1987.

a) la familia Eskimo-Aleutiana, con unas 10 lenguas restringidas a las Islas Aleutianas y Commander, el extremo nordeste de Siberia, y las costas periárticas desde el sudoeste de Alaska hasta Groenlandia, pasando por Canadá;
b) la familia Nadene, formada por la reunión de 3 lenguas independientes (Haida, Tlingit y Eyak) y las 30 de la familia Athabaska. Las tres primeras se hablan o hablaron en las costas sudeste de Alaska y oeste de Canadá, mientras que la familia Athabaska tiene una distribución

disyunta, cubriendo en forma continua el interior de Alaska y el centro-oeste de Canadá, y reapareciendo como los aislados geográficos Navajo y Apache en el sudoeste de E.U.A., y otras en las regiones costeras del norte de California y Oregon;

c) la familia Amerindia, reunión de todas las demás lenguas habladas en el continente, desde el norte de Canadá hasta Tierra del Fuego.

Las tres familias lingüísticas serían el reflejo de diferentes migraciones en las Américas, las cuales habrían comenzado hace unos 12.000 años aproximadamente. Esta división es la que ha sido aceptada por todos los investigadores y tomada posteriormente para los estudios de genéticas de poblaciones, Antropología molecular y Arqueogenética (Torroni et al. 1992, Cavalli-Sforza 1997). Estudios posteriores (Ruhlen 1994) han propuesto diferentes hipótesis en base a la idea de que la clasificación de los leguajes de las Américas tiene importantes incumbencias en el poblamiento americano:

a) Los lenguajes indígenas del nuevo mundo pertenecen a tres familias distintas (Esquimo-Aleutiano, Nadene y Amerindio).
b) Cada una de estas familias está relacionada con diferentes migraciones provenientes del Viejo Mundo a las Américas.
c) La distribución y la diversidad interna de esas tres familias sugieren fuertemente que la primera migración fue realizada por poblaciones Proto-Amerindias, la segunda por Nadene y la tercera por Proto-Eskimo-Aleutianas.
d) Los subgrupos amerindios definidos por Greenberg caen agrupados geográficamente en Norte, Centro y Sudamérica.
e) Sudamérica parece haber sido poblada por una simple migración desde el Norte del continente.

Sin embargo, Nichols (1997 y 1998) han sostenido que es imposible establecer relaciones genéticas conclusivas entre las diferentes lenguas. Por otro lado, se ha reconocido ampliamente que el continente americano posee una enorme diversidad lingüística, pero las opiniones y explicaciones de éste fenómeno no han sido unánimes. De los 250 stocks de lenguajes presentes en todo el mundo, aproximadamente unos 150 estarían en las Américas, el último continente en ser poblado. Nichols (1990 y 1992) ha propuesto una explicación alternativa a este fenómeno, ya que esta diversidad de

lenguas sería consecuencia de múltiples migraciones de poblaciones con lenguajes ya diferenciados con antigüedades de hasta 35.000 años y no de diferenciaciones posteriores. La misma información y datos que utilizan estos autores fueron re-analizados por otros investigadores (Nettle 1999) proponiendo una fecha de colonización más reciente y acorde con otras cronologías propuestas por otras disciplinas. Por este motivo, otros autores y especialistas (Hill 2004) han desestimado estas investigaciones e hipótesis debido a sus falencias metodológicas y falta de evidencia empírica para tal profundidad temporal.

5.3.2 Información bioantropológica.

Diferentes aproximaciones han sido propuestas desde la Antropología Biológica para estimar posibles fechas de entradas, número de migraciones y probables áreas de proveniencia de las poblaciones americanas basados en características dentales, cráneométricas y craneofaciales, apoyando la información arqueológica en cuanto al origen de los primeros pobladores -ya que se detectaron caracteres asociados a diferentes sectores de Asia- proponiendo diferentes hipótesis en cuanto a los ítems nombrados anteriormente.

Estudios sobre piezas dentales.

La utilización de los caracteres morfológicos de las piezas dentales, más específicamente, de la corona y la raíz dental, y su variación en los diferentes grupos humanos ha sido siempre un foco de estudio del pasado (Turner 1986, Scott 1988, Scott y Turner II 1988).

El pionero en este tipo de estudios en poblaciones americanas fue Hrdlička (1920) en base a los rasgos de las dentales. Luego Turner II (1983a) propuso la existencia de dos patrones morfológicos en las piezas dentales de las poblaciones mongoloides, las cuales ya poseen un patrón que las diferencia del resto de las poblaciones:

a) el patrón llamado sundadonte (poca incidencia de incisivos en forma de pala) perteneciente al sudeste asiático, y
b) el sinodonte (incisivos en forma de pala, doble pala, y cresta dental accesoria en los caninos) perteneciente al nordeste asiático y que es propio de todos los nativos americanos.

Posteriormente (Turner II 1983b) propone tres posibles olas migratorias de Asia a América. La primera podría haber sucedido entre los 40.000 y 16.000 años, conformando lo que se conoce actualmente como “paleoindios”, la segunda hace 14.000 y 12.000 años, dando lugar a las poblaciones Nadene y la última hace unos 9.000 años, perteneciente a poblaciones Eskimo-Aleutianos.

Años después, el mismo autor, a través de análisis estadísticos de los rasgos dentales en nativos americanos, del viejo mundo y poblaciones del pacífico, llegó a la conclusión de que los nativos americanos tiene más similitudes con las poblaciones del noroeste de Asia que con otras poblaciones, apoyando aún más la idea de que los nativos americanos son originarios de esa la región (Turner II 1994 y 2002).

Estudios sobre restos esqueletales.

Fue durante el siglo XVIII cuando comenzaron a estudiarse las características físicas de las diversas poblaciones. Varios investigadores de la época llegaron a la conclusión de que las diferencias físicas entre los distintos lugares del mundo eran reflejo de las condiciones de atraso o adelanto cultural de cada sociedad y, a su vez, demostraba que el concepto de raza era válido metodológicamente para realizar una taxonomía de los diferentes grupos humanos de todo el mundo. Fue así como se llegó a la tipología clásica de: mongoloides -poblaciones asiáticas y americanas- caucasiodes -poblaciones europeas- australoides -poblaciones de Oceanía- y negroides-congoloides -poblaciones africanas. Fue a partir de la segunda mitad del siglo XX que el concepto de raza fue puesto en duda para su utilización en el género homo, pasando solamente a identificar ciertos rasgos fenotípicos de los diferentes grupos humanos de cada región en particular, teniendo en cuenta que dichos rasgos no estaban relacionados pura y exclusivamente con factores genéticos sino también con factores ambientales (Powell 2005). Muchos han sido los estudios y análisis, métricos y no métricos, realizados a restos esqueletales (mayoritariamente cráneos) que han demostrado la afinidad de rasgos entre las poblaciones asiáticas y americanas (Howells 1989, Ossenberg 1994, Brace 2001, entre otros). Inicialmente, los estudios no métricos realizados sobre restos craneales permitieron llegar a la conclusión de que las poblaciones americanas derivan directamente de un stock poblacional de características mongoloides del Noreste de Asia durante la última glaciación (Ossenberg 1994). Siguiendo la misma línea de investigación, diferentes autores han llegado a la

conclusión de que la entrada al continente americano debe haber sido reciente (Steele y Powell 1994).

De todas maneras, no parece ser tan sencillo el acuerdo. Diferentes estudios de restos humanos antiguos han llevado a la conclusión de la existencia de una discontinuidad biológica entre los primeros habitantes de América y las subsiguientes poblaciones presentes en el continente (Steele y Powell 2002). Esta discontinuidad está aún mas apoyada por estudios realizados en restos esqueletales antiguos sobre poblaciones sudamericanas, ya que las mismas presentan más afinidades morfológicas con poblaciones de origen australiano y africano que con asiáticas, postulando que en el momento inicial del poblamiento americano existía una morfología craneal generalizada que no poseía evidencia alguna de rasgos mongoloides (Neves y Pucciarelli 1989, 1991; Neves et al. 1999; Powell y Neves 1999; Powell et al. 1999).

Otros investigadores, utilizando una matriz de correlación y muestras pertenecientes a la Patagonia, llegaron a la conclusión de la existencia de una correlación entre la distancia geográfica y los rasgos craneales no métricos. De esta manera, la evidencia indicaría que existe una heterogeneidad morfométrica presente en amerindios y que los grupos al Sur del continente conservarían la morfología de los primeros habitantes de las Américas (González et al 2001). Por su parte, diferentes autores, tomando los mismos rasgos en sus análisis, llegaron a la conclusión de que existe la posibilidad de migraciones diferentes de distintas poblaciones, la cual explicaría la variabilidad de los rasgos físicos (Turner 1986, Brace et al. 2001, 2004).

En una de las últimas investigaciones de este tipo se realizó una comparación morfológica de cráneos de nativos Sudamericanos muy antiguos con otros de diversas partes del mundo, demostrando que los mismos tienden a exhibir una morfología craneal similar a los australoides, melanesios y africanos sub-saharianos, mientras que los cráneos correspondientes al Holoceno tardío poseen características propias al Norte de Asia -mongoloides. De esta manera, los primeros sudamericanos son prueba de dos poblaciones biológicas distintas, que pudieron haber colonizado el nuevo mundo durante la transición Pleistoceno/Holoceno (Neves y Hubbe 2005). Esta postura fue muchas veces criticada debido a que hay muchos rasgos craneales fenotípicos que pudieron haber sido afectados por selección natural y presiones ambientales interrelacionadas con factores genéticos

(Kaestle y Housburg 2002). Estas críticas han sido minimizadas por los autores, ya que los mismos patrones craneales están en lugares distantes y ecológicamente diferentes, lo cual imposibilitaría que dichos rasgos fueran el resultado de un proceso de macroevolución. De esta manera, los rasgos craneométricos de los nativos sudamericanos pueden ser el resultado de dos hipótesis: a) un proceso micro evolutivo local que transformó in situ la morfología paleo americana dentro de los que hoy son los nativos americanos, o b) América fue ocupada sucesivamente por dos stocks humanos diferenciados morfológicamente y la morfología propia de los paleo americanos fue la primera.

5.4 Modelos de poblamiento americano.

Para entender el poblamiento americano resulta de suma utilidad contar con modelos que intente explicarlo (Sauer 1944, Martin 1973, Greenberg 1987, Steele et al. 1998, Anderson y Gillam 2000, Brace et al. 2004, Lanata et al. 2008). Un modelo puede ser definido como una representación simple y/o más accesible -de las relaciones, hipotéticas u observables, que puede haber en un proceso o sistema complejo; siendo su finalidad poder generar predicciones sobre la información y/o datos que se tienen actualmente y generar nuevas hipótesis y/o modelos –ver Winterhalder 2002 para mayores detalles. A medida que se logren nuevos datos posibles de ser anexados al modelo, se ganará terreno en el entendimiento de la problemática tratada, con lo cual el modelo puede generar más y mejores predicciones e hipótesis (Winterhalder 2002). Por este motivo, los modelos presentados a continuación, si uno sigue un orden cronológico, tienden a hacerse más complejos, ya que cada vez más información y variables están contenidas dentro de los planteos de cada uno de los autores. A fin de estructurar de forma ordenada la discusión, se expondrán y comentarán brevemente los diversos modelos predictivos existentes hasta el momento, sus metodologías y la información que utilizan para la construcción de sus propuestas.

El poblamiento de América siempre ha sido causa de interés e incertidumbre. Desde el arribo en el siglo XVI de los españoles, muchas han sido las teorías presentadas tanto científicas como no científicas (Beals 1957). En una primera instancia se pensó que los primeros pobladores podrían llegar a ser las tribus perdidas de Israel, gente de la Atlántida o grupos que, a través de los océanos, habían llegado desde Europa o Asia (Allen 1949). En el siglo XVIII comenzó a pensarse en la posibilidad de

que hubieran provenido desde el Norte de Asia. Ya a mediados del siglo XX se identificó la ruta Asia-Alaska -pasando por el estrecho de Bering, que durante la época del último máximo glaciar era un puente terrestre entre ambos continentes- como la explicación más lógica de la procedencia de los americanos. Las diferentes disciplinas que investigan la dispersión humana en las Américas han producido distintos modelos que se focalizaron en distintos aspectos de la misma. Entre ellos se destacan: a) rutas migratorias, b) número de migraciones, c) áreas geográficas y recursos disponibles, más recientemente aspectos paleoecológicos de la dispersión d) cronología de los eventos migratorios, e) tecnología presentes, y f) número de emigrantes.

Correlativamente, también se formularon modelos de simulación que incorporaron los datos generados por las diversas líneas de investigación antes tratadas, (Sauer 1944, Martin 1973, Mosimann y Martin 1975, Steele et al. 1998, Anderson y Gillam 2000, Lanata et al. 2008). Cada uno de los modelos enfatiza uno o más aspectos de los mencionados, utilizando diferentes tipos de información y metodologías para contestarlas. Uno de los primeros modelos de poblamiento fue diseñado por el geógrafo Carl Sauer (1944) para inferir las posibles rutas de colonización de América, teniendo en cuenta, como variables que afectaron a dicho proceso, la geografía regional, la extensión de los mantos glaciares y la estructura de recursos que presentaban las diversas zonas. En él, las planicies, las áreas pluviales, los lagos y los principales ríos fueron tomados como corredores preferenciales de movimiento de las poblaciones humanas, con poca mención de algún otro tipo variable significativa en la dinámica poblacional. A mediados de la década de 1970, el modelo de colonización más difundido era el de Martin, (Martin 1973, Mosimann y Martin 1975) más conocido como "modelo de avances en olas y sobrematanza" –*Blitzkrieg*. Martin (1973) supone que la población entrante se movió constantemente por todos los ambientes de forma semejante y relativamente constante, de manera rápida debido a la propia presión demográfica. Esta era producto de una alta tasa de crecimiento poblacional lográndose el poblamiento de todo el continente en sólo mil años. Económicamente, estas poblaciones estaban especializadas en la caza de grandes animales –megafauna- transformándose en sus principales predadores y posibles agentes de su extinción. Este modelo se ajustaba a los primeros sitios arqueológicos antiguos, asociados a la cultura-tecnología Folsom y Clovis mencionada anteriormente. Hoy en día, esta propuesta puede ser criticada por varios motivos, ya que no toma en cuenta otro tipo de variables, como aspectos paleoecológicos, las barreras geográficas existentes y que no todas las regiones podían ofrecer la misma capacidad de sustento para las poblaciones (Steele et al. 1998). Por otro lado, las evidencias

de matanzas masivas de animales no se encuentran en las Américas, así como tampoco hay una predominio de animales extintos en toda la evidencia arqueológica, sino que estos se focalizaban en animales pequeños y/o modernos, por lo cual la extinción se pudo haber extendido a través de milenios y por un conjunto diverso de factores (Fiedel 2000, ver por ejemplo el caso de Meadowcroft Rockshelter, US.). Además, ha sido también cuestionado debido a que utiliza una analogía etnográfica inadecuada para cazadores-recolectores (Hassan 1981), ya que en éstos es esperable una baja tasa de crecimiento (Whitley y Dorn 1993) de acuerdo con los datos etnográficos y etnoarqueológicos contemporáneos.

El primero de los modelos que tuvo en cuenta múltiples variables es el realizado por Steele y colaboradores (Steele et al. 1998, ver desarrollos posteriores en Lanata et al. 2005, 2006 y 2008). Se basa en una simulación de la dispersión de los primeros humanos en América teniendo en cuenta las posibles barreras geográficas al movimiento y la variedad paleovegetacional, definiendo categorías de hábitats en los cuales era posible que la población se expandiera exclusivamente en Norteamérica. Es la primera simulación en la cual la superficie no es considerada como homogénea y donde la tasa de crecimiento demográfico y espacial está controlada como una variable a elección y puede ser modificada por los diferentes valores de la capacidad de carga de los hábitats locales. Como control de la densidad demográfica resultante del modelo se tomaron en cuenta las distribuciones de densidades de las puntas acanaladas en Norteamérica. El resultado de esta comparación no apoya el modelo de avance por oleadas, ya que cuando se suman los datos paleoambientales no concuerdan los lugares de expansión poblacional posibles con las distribuciones de densidades de puntas. La simulación se inicia al sur del corredor libre de hielos. El modelo deja como consecuencia importante la naturaleza del crecimiento poblacional -dependiente de la densidad y disposición de la estructura de recursos y la capacidad de carga de los distintos ambientes, ya que se asume que estas variables son las principales determinantes de la mortalidad y fertilidad de las poblaciones humanas. Incorpora información demográfica de cazadores-recolectores actuales, presuponiendo que las poblaciones ingresantes al continente ya estaban adaptadas al nuevo ambiente. El trabajo demuestra que la distribución de puntas de EE.UU. es consistente con una colonización tardía desde el Noroeste americano.

El modelo de simulación que se desarrollo años después es el propuesto por Anderson y Gillam (2000). En su diseño se trabajó en un entorno de SIG (Sistema de Información Geográfica) con la distribución de recursos a fin de establecer cuáles fueron las rutas preferidas. Supone que estos migrantes optarían por tomar las rutas o caminos de menor costo y de fácil acceso y movimiento. Dentro de este planteo se eligieron los sitios arqueológicos al azar a fin de cubrir la mayor parte del continente y las diferentes áreas del mismo para entender cómo pudieron desplazarse de un sitio a otro, viendo además las posibles rutas de menor costo. A su vez, también se utilizaron datos demográficos de cazadores-recolectores etnográficos y datos arqueológicos a fin de evaluar la posible escala temporal en la que se pobló el continente, tomando como variables el tamaño de la población fundadora y del grupo, la tasa de crecimiento posible, el rango espacial de acción y la cantidad de individuos necesarios para la fisión del grupo. A fin de evitar el error de asumir que todos los territorios estuvieran disponibles para un nuevo grupo y dado que sería irreal que todos los ambientes soportaran la misma cantidad de población, diseñaron dos escenarios distintos de movimiento sobre la base de los modelos de Binford (1980 y 1982). Estos son: i) línea de perlas y ii) salto de rana para estimar los rangos espaciales y territoriales de los grupos. En el primero y luego de la fisión de los grupos, el nuevo grupo se mueve a otro espacio, contiguo, y genera un nuevo rango de acción; estos son tangentes el uno con el otro. En el segundo, los grupos recorren una distancia considerable luego de la fisión, resultando así que los rangos de acción están separados por una distancia que es más o menos semejante al del rango de uso. El modelo de salto de rana generaría un patrón similar al que actualmente tiene la distribución de sitios arqueológicos tempranos. Una de las críticas más fuertes a este modelo ha sido la manera en que se emplean los datos etnográficos (Moore y Moseley 2001).

Otros investigadores (Surovell 2003) han producido simulaciones con el objetivo de vislumbrar las posibles rutas de ingreso para las primeras poblaciones, llegando a la conclusión de que una costera habría sido dificultosa, ya que los corredores más productivos y generalizados para la supervivencia de los grupos humanos, en algunas partes de América, son interiores y no costeros. A su vez, la simulación de migración costera es incapaz de explicar la discrepancia espacio-temporal entre sitios tempranos en Sudamérica. De todas maneras, esta simulación incorpora datos arqueológicos, los cuales muchas veces pueden estar sesgados por las propias características del registro y su poca visibilidad en períodos muy tempranos.

El último modelo sobre poblamiento americano que tuvo en cuenta múltiples variables es el realizado por Lanata y colaboradores (2008, ver también 2007). Las variables tenidas en cuenta son las utilizadas por Steele et al. (1998), pero el planteo de las relaciones presentes en cuanto a la demografía es diferente, ya que tiene como premisa que la dispersión humana como proceso general es afectada por la variabilidad medioambiental a través del tiempo y el espacio. La fórmula matemática inicial utilizada por Steele et al. (1998) fue modifica para lograr que el proceso fuera más estocástico y real (Martino et al. 2007). A su vez, plantea diferentes escenarios y condiciones demográficas en los cuales la dispersión humana y colonización del continente pudo haberse realizado exitosamente. Como conclusión se plantea una dinámica poblacional para la dispersión diferente a los modelos anteriores. A través del mismo logró explorar las diferentes condiciones demográficas bajo las cuales la dispersión humana pudo tener éxito en colonizar las Américas. La simulación muestra dos escenarios principales: a) un único proceso de dispersión con dos tiempos, o b) dos diferentes procesos de dispersión, uno desde Beringia hasta el estrecho de Panamá y la otra para Sudamérica. Estos resultados arrojan datos concisos sobre la diferente dinámica que habría tenido el proceso de dispersión y poblamiento de las Américas. También marca que estas poblaciones están signadas por diferentes historias demográficas, migraciones, movimientos poblacionales y procesos que deben haber modificado continuamente su estructura. Finalmente considera cuál podría ser un rango posible en las tasas de crecimiento poblacional plausibles para que la colonización del espacio haya sido posible.

En las últimas simulaciones (Dejean et al. 2007), se anexaron diferentes frecuencias de los haplogrupos presentes en Sudamérica. Dicha simulación, en la progresión temporal y geográfica a través del continente, demostró ser concordantes con la información disponible actualmente sobre la distribución de los diferentes haplogrupos mitocondriales en las Américas. Esta simulación arrojó que el resultado de los diferentes procesos demográficos y evolutivos que atravesaron las poblaciones habrían llevado a una reducción de las frecuencias de los ADNsmt con una dirección Norte-Sur, estando en el Cono Sur una reducción muy marcada de la diversidad genética, resultando en una reducción de la cantidad de haplogrupos mitocondriales, estando muy representado solo dos de los mismos (Figura 5.4 y 5.5).

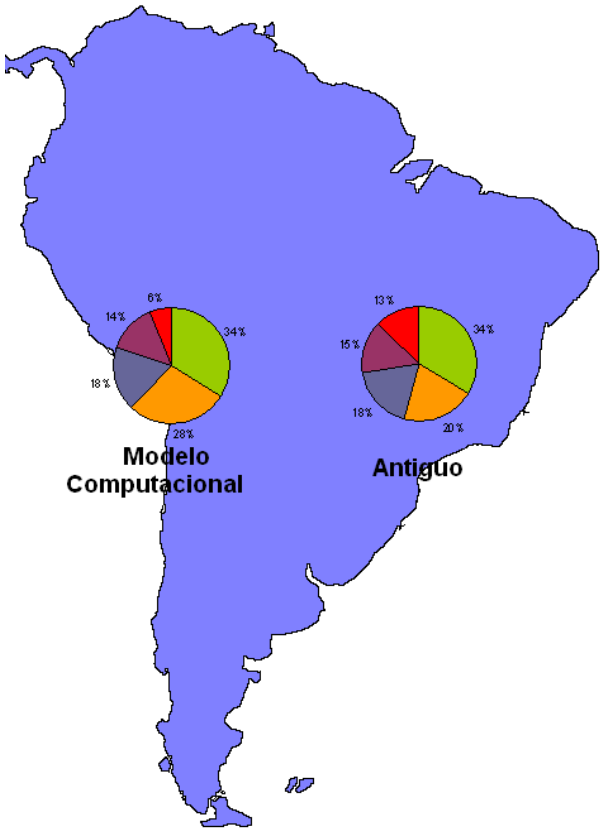


Figura 5.4
Contrastación de las distribuciones de haplogrupos mitocondriales existentes y modelados para América del Sur.
(Dejean et al. 2007)

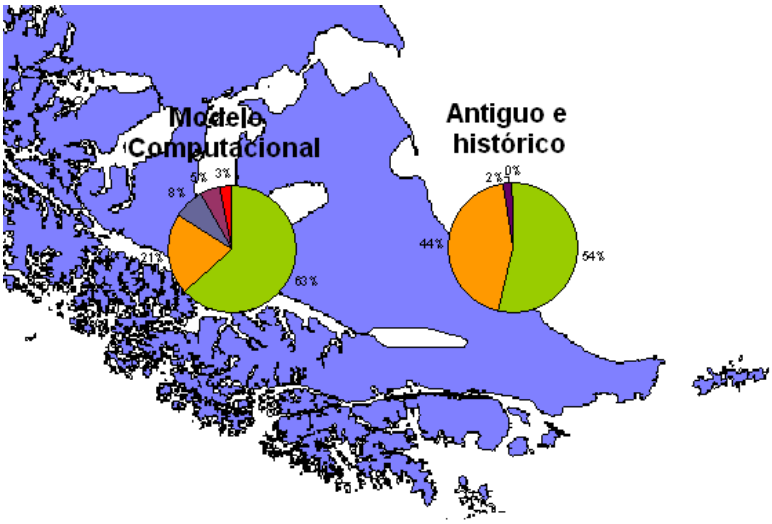


Figura 5.5
Contrastación de las distribuciones de haplogrupos mitocondriales existentes y modelados para Tierra del Fuego.
(Dejean et al. 2007)

Capítulo 6

Objetivos e Hipótesis

Esta Tesis de Licenciatura tiene como objetivo específico iniciar y desarrollar técnicas de extracción y tipificación de ADN antiguo a partir de piezas arqueológicas y tratar temas relacionados con la conservación de dicho registro utilizando métodos de análisis poco invasivos.

6.1. Objetivos

Para dicho estudio, será necesario cumplir con los siguientes objetivos:

- Realizar una revisión de los estudios de ADN antiguo en investigaciones arqueológicas y bio-antropológicas, y su aplicación en estudios de poblamiento americano.
- Desarrollar un protocolo poco invasivo para extraer y tipificar ADN de restos esqueletales, determinar el sexo de los individuos analizados e inferir la procedencia de su línea materna.

6.2 Hipótesis

Considerando todo lo expuesto anteriormente, se proponen como hipótesis generales:

H1) los individuos muestreados pertenecen a alguno de los linajes maternos amerindios ya que las poblaciones prehistóricas presentes en el extremo Sur de Sudamérica (Patagonia Argentina más exactamente) derivan genealógicamente de las primeras poblaciones que ingresaron a Norteamérica atravesando diferentes procesos demográficos.

H2) como hipótesis secundaria, dichos linajes maternos, de acuerdo con los datos de ADN de poblaciones originarias actuales y/o históricas, estarían representando mayoritariamente los haplogrupos C y D, estando los restantes haplogrupos en muy baja frecuencia debido a que la estructura poblacional, la demografía y los factores geográfico-ambientales de estos grupos habrían favorecido procesos microevolutivos como cuellos de botella y efectos fundadores por sobre otros procesos.

Capítulo 7

Materiales y métodos

7.1 Las muestras.

Las muestras analizadas fueron tomadas del Museo Rosa Novak, Puerto San Julián, Santa Cruz (Figura 7.1).

Figura 7.1. Mapa geográfico del lugar de donde fueron tomadas las muestras analizadas.

Las muestras son parte de las dos colecciones que posee el museo donadas por coleccionistas privados para su estudio y conservación -ver Figura 7.2. Una de ellas, denominada colección Hoffman, está conformada por varios cráneos y mandíbulas, en algunos casos con sus piezas dentales. A su vez, también posee diversos huesos largos y vértebras. Si bien la colección proviene de las inmediaciones de Pto. San Julián, el museo no posee registro sobre el contexto en el que se halló.

La otra colección ha sido donada por Eduardo Walker, y es también de la zona de San Julián. La misma fue recolectada mientras se realizaban trabajos de mantenimiento de alambrados en una estancia. Hasta donde se sabe, dichos restos estaban enterrados en el momento del hallazgo, y luego fueron donados al museo para su estudio en el año 1987. Está conformada por varios cráneos y mandíbulas, algunas con sus piezas dentales, y posee algunos huesos largos.

Figura 7.2. Parte de una de las colecciones que posee actualmente el Museo regional Rosa Novak.

Ambas colecciones presenta un estado de conservación bueno. En ambos casos no se posee ningún fechado de las muestras. Tampoco hay registro sobre objetos o materiales, de origen natural o cultural, que hayan estado acompañando a los restos esqueletales. Por este motivo, las muestras son consideradas históricas, ya que es imposible actualmente tener un control cronológico de las mismas.

Según las autoridades del museo, los restos no fueron estudiados sistemáticamente por ningún investigador. Al momento, no se ha encontrado ninguna bibliografía ni trabajo que haga mención a ellos. De las cinco piezas dentales -molares y premolares- y un hueso largo (fémur) sólo se analizaron tres, ya que presentaban las mejores condiciones de preservación y posibilidades de extracción de su material genético (Tabla 7.1).

Tipo de muestra	Colección	Codificación	Observaciones
Segundo pre-molar izquierdo perteneciente a individuo rotulado como Cráneo 3.	Hoffmann.	DA1	Con coronas desgastadas, pero en buen estado de preservación.
Segundo pre-molar derecho perteneciente a individuo rotulado como 2.	Walker.	DA2	Con coronas desgastadas, pero en buen estado de preservación.
Tercer molar superior derecho perteneciente a individuo rotulado como 8.	Hoffmann. Caja de 06 a 09.	DA3	Con coronas desgastadas, pero en buen estado de preservación.

Tabla 7.1. Muestras seleccionadas para la extracción y tipificación por medio de marcadores moleculares.

Para dicha tarea se siguieron dos criterios: a) su estado de constitución, verificando que no tuvieran fracturas, mellas o quebraduras, con el objetivo de evitar cualquier tipo de contaminación foránea que pudiera haber ingresado en la parte interna del diente y b) que no tuvieran presencia de caries o lesiones infecciosas provocadas por desgaste, ya que podrían llegar a afectar la constitución interna de la pieza y modificar los resultados moleculares que se quieren obtener de las mismas. Inicialmente, se realizaron diferentes pruebas de extracción con piezas dentales actuales a fin de poder verificar la viabilidad del método de extracción.

7.2 Consideraciones éticas en el tratamiento de las piezas.

La aplicación de métodos y estudios de ADN antiguo son de gran utilidad para muchas disciplinas y para contestar diversos interrogantes científicos. Sin embargo, como ocurre con cualquier estudio sobre restos humanos, es importante considerar las implicancias éticas, legales y sociales de estas investigaciones.

Actualmente es posible extraer ADN de huesos largos con un daño mínimo, o remontarlos para que la destrucción de la pieza sea mínima. Con las piezas dentales ocurre lo mismo, ya que al trabajar con la pulpa dental, no es necesario realizar ningún daño externo a la pieza, teniendo la posibilidad de rellenarla luego de la extracción. De todas maneras, cabe la posibilidad de que las piezas arqueológicas analizadas sufran algún tipo de daño –i.e. fracturas o fisuras por la fragilidad de la pieza o algún otro tipo de desgaste. En este caso, es importante tener en cuenta la obligación primordial de preservación que debe tener cualquier investigador en la materia por sobre cualquier proyecto o interés científico.

Debido a que los recursos arqueológicos son escasos e irremplazables, creemos que los análisis que puedan llegar a implicar alguna acción destructiva sobre la/s pieza/s, sólo deben realizarse en los casos en donde los resultados puedan llegar a ser informativos o resolutorios de importantes debates o que puedan proveer nuevos datos a fin de comprobar hipótesis, siempre y cuando no reporte en una pérdida irreparable para el patrimonio cultural y arqueológico en su sentido amplio. Estas muestras pueden y deben ser conservadas para las futuras generaciones o

hasta que se desarrollen nuevos métodos de extracción que sean menos destructivos o invasivos para la pieza en sí.

Las piezas fueron obtenidas a través de los permisos municipales pertinentes, enmarcados dentro del proyecto de investigación "Paisajes Arqueológicos en el Paralelo 49º", declarado de interés provincial. Toda la metodología y proceso de extracción fue explicado a las autoridades municipales y del Museo Regional Rosa Novak, quienes amablemente cedieron las piezas. Dichas piezas fueron retiradas, previa aprobación del Director de la Secretaría de Cultura de la Ciudad de Puerto San Julián, Provincia de Santa Cruz.

Luego del proceso de extracción, la cavidad producto del acopio de la pulpa dental fue rellenada con un monómero auto-curable. Se seleccionó un matiz número 67 para conservar el mismo color de la pieza. Previa verificación con una pieza moderna, se previno que el mismo no se contrajera en su secado, a fin de evitar cualquier posible fractura o fisura de la pieza por la acción de dicho monómero.

Consideraciones legales.

En la actualidad, existen ciertos requisitos y normas legales a los cuales atenerse a la hora de realizar cualquier análisis sobre restos arqueológicos. Si bien, diversas leyes han sido aprobadas en cuanto a la utilización, análisis y estudio de restos arqueológicos, tanto naturales y culturales, el análisis sobre restos humanos debe tener una cuota extra de respeto y cuidado. Para este fin, disponemos de una ley (Ley 25.517)- ver Anexo.

Siguiendo lo establecido en dicha Ley, el préstamo de las piezas para realizar todos los análisis fueron aprobados por las autoridades de la ciudad de origen de las muestras. Esto se realizó de esta manera debido a que los restos humanos presentes en el Museo Rosa Novak no fueron reclamados por ninguna comunidad aborigen, por lo que son parte de las piezas que este alberga, siendo el organismo que vela por su cuidado y protección. Por otro lado, en los últimos años y en vista de las crecientes investigaciones del registro bio-cultural, la Asociación de Antropología Biológica Argentina ha expedido recomendaciones para el tratamiento y el quehacer en la investigación con este tipo de registro (AABA 2007). Dicha acta apoya el estudio de los restos humanos teniendo en cuenta el

respeto y responsabilidad que ello merece, sumado a la obligatoriedad de trabajar con las comunidades de origen a fin de evitar cualquier inconveniente ante la posibilidad de algún pedido de repatriación a futuro de dichos resto. Asimismo, aconseja una adecuada gestión y manejo de los restos humanos de las colecciones disponibles para su correcta catalogación, estudio y preservación.

7.3 Características del trabajo de laboratorio con muestras de ADN antiguo.

Son numerosos los protocolos relacionados con la extracción de ADN antiguo y cuáles son sus problemas en relación a distintos materiales de dónde se obtiene (Pääbo 1989, O´Rourke et al. 2000, Montiel et al. 2001, Hofreiter et al. 2001, Kaestle y Horsburg 2002, Hummel 2003, Yao y Zhang 2003, Pääbo et al. 2004, Gilbert et al. 2005, Willerslev y Cooper 2005, Mulligan 2006). Los autores han hecho hincapié no sólo en los métodos de toma de muestra, sino también en el proceso de extracción de ADN de los diferentes tipos de tejidos, sus posibles focos de contaminación, su preservación a través del paso del tiempo, así como también analizar, verificar y convalidar que los resultados, provengan realmente del ADN de la muestra y no de cualquier contaminante presente en la misma o de algún agente exógeno, como podría ser el material de laboratorio o los operadores involucrados en el trabajo (Pääbo 1989, O´Rourke et al. 2000, Montiel et al. 2001, Hofreiter et al. 2001, Kaestle y Horsburg 2002, Hummel 2003, Yao y Zhang 2003, Pääbo et al. 2004, Gilbert et al. 2005, Willerslev y Cooper 2005, Mulligan 2006). Siguiendo los mismos podríamos decir que son cuatro las dificultades que presentan y que deben ser consideradas: a) las probabilidades de extracción y las características del ADN que se pueda recuperar de las muestras; b) los cuidados empleados para prevenir la contaminación con ADN exógeno; c) los controles utilizados en todos los procesos de extracción y tipificación del ADN antiguo para asegurar su correcto procesamiento y evitar contaminación o inhibición y d) la corroboración de los resultados obtenidos.

Éstos investigadores aconsejan ciertos criterios a fin de preservar las muestras de cualquier foco de contaminación posible dentro del trabajo de laboratorio. Las recomendaciones seguidas en este trabajo son las siguientes:

- Antes de la extracción, las superficies de las muestras deben ser tratadas con hipoclorito de sodio a fin de remover la posible contaminación con ADN exógeno. Todos los materiales con los cuales se las analiza o que tienen contacto con las mismas deben estar libres de ADN.

- Tratar con hipoclorito de sodio e irradiar con UV accesorios, herramientas, mesadas, etc.
- Asegurar que todos los instrumentos, reactivos, enzimas y soluciones sean utilizados sólo en la extracción de ADN antiguo y que los mismos se almacenen en lugares sin contacto con ADN moderno o fuentes de contaminación.
- Los laboratorios de ADN antiguo deben estar aislados físicamente y logísticamente de otra investigación biológica. Hay que asumir que todo en el laboratorio es potencialmente una fuente de contaminación y que la muestra siempre llega contaminada.
- El personal involucrado en todas las tareas debe tener extremo cuidado en la manipulación del material. Emplear guantes, barbijos, mascarillas y guardapolvos descartables en todos los pasos de la extracción.

Conservación del ADN en restos antiguos.

Los huesos están compuestos de materia orgánica y minerales: colágeno y osteocalcítas. Diversas investigaciones (Collins et al 2002) han llegado a la conclusión de que existen tres tipos de deterioro del material óseo: 1) deterioro de la fracción orgánica (colágeno); 2) deterioro de la parte mineral del hueso y; 3) biodegradación general. Estos diferentes tipos de alteraciones de las piezas óseas conllevan a la degradación del ADN contenido en los tejidos orgánicos (Garzón 2003). La cantidad de ADN remanente en las muestras antiguas depende, según Willerslev y Cooper (2005), de constantes bajas temperaturas.

La inestabilidad post-mortem de los ácidos nucleídos representa un problema en la investigación de ADN antiguo. Luego de la muerte, las células comienzan un proceso instantáneo de hidrólisis y oxidación y, en consecuencia, el ADN amplificable se daña y sólo quedan disponibles pequeños fragmentos de éste. Actualmente, existen diferentes métodos para dar cuenta de la posibilidad y alcances que dichos procesos degenerativos pudieron haber creado en muestras antiguas (Poinar y Stankiewicz 1999). Sin embargo, Salamon et al. (2005) han demostrado la perdurabilidad del ADN entre los cristales óseos. En lo que respecta al ADNmt, el hecho de que existan numerosas copias del mismo en las células aumenta las posibilidades del éxito de su recuperación en muestras antiguas (Thomas et al. 2003, Wandeler et al. 2003).

Controles de contaminación y corroboración de los resultados obtenidos.

Otro de los inconvenientes en el estudio de ADN antiguo es el problema de la corroboración de los resultados obtenidos. En este caso tampoco hay un protocolo unificado en cuanto a cómo controlar la conjunción de éstos posible errores (Montiel et al. 2001, Hummel 2003, Kaestle y Horsburgh 2002, Willerslev y Cooper 2005). Las recomendaciones seguidas en este trabajo pueden sintetizase en:

- Como primera medida resulta imprescindible la obtención de resultados idénticos para una misma muestra, provenientes de diferentes extracciones y amplificaciones.
- Como control se debe realizar un blanco (testigo negativo) que haya sido tratado con las mismas soluciones y materiales con los que fueron trabajados las muestras de ADN antiguo. Dicho blanco debe efectuarse a la par de la muestra analizada, para asegurar que toda la operación fue hecha de la misma manera y en las mismas condiciones.
- La utilización de blancos deben realizarse en las etapas de extracción y preparación de la PCR, para luego verificar la presencia de amplificaciones espúreas.
- La utilización de controles positivos y negativos conocidos para cada marcador estudiado puede ayudar a verificar los resultados y a mejorar la lectura de los mismos.
- Un criterio de corroboración ampliamente utilizado en ADN antiguo es la característica de supervivencia del ADN. Se supone que la muestra antigua debe estar fragmentada y degradada y no superar los fragmentos de ADN el tamaño de 300 pares bases.

7.4 Extracción de ADN de las piezas dentales

Siguiendo los protocolos y recomendaciones anteriormente mencionados, se procedió al trabajo de extracción y tipificación del ADN existente en las piezas dentales descriptas en el capítulo 7.1. Para toda la manipulación, tanto de las muestras, como de las herramientas utilizadas o que pudieran tener contacto con las muestras se siguieron todos los pasos explicitados en el capítulo 7.3.

Obtención de la pulpa de diente.

Como primera medida, las piezas dentales fueron puestas en un tubo cónico estéril con tapa de 15ml con hipoclorito de sodio 5,5grs/l por unos 15 minutos (Figura 7.3).

Figura 7.3. Limpieza superficial de la pieza dental antes de iniciar la extracción.

Una morsa fue utilizada para sujetar al diente durante el corte y extracción de su pulpa, tratando de evitar cualquier tipo de quiebre de la pieza por la presión ejercida por el taladro al momento del corte. Para ello se utilizaron felpas autoadhesivas en las paredes de la morsa para evitar cualquier contacto con superficies duras y exceso presión por el trabajo de extracción (Figura 7.4).

Figura 7.4. Morsa utilizada para realizar la extracción de la pulpa dental.

Inicialmente se cortó la raíz de la pieza dental con disco de corte fino Dremel a fin de tener cceso a la pulpa de la pieza (Figura 7.5).

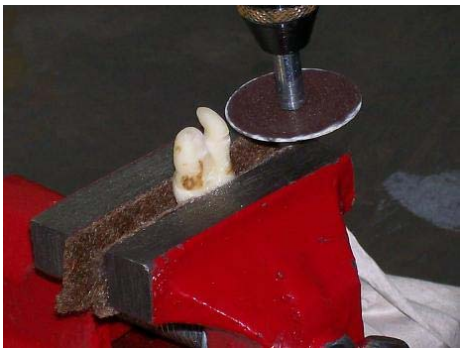


Figura 7.5. Remoción de las raíces dentales para acceder a su pulpa.

Como paso siguiente, la pulpa dental de todas las piezas se extrajo por desbaste empleando un taladro Dremel con punta número 111 y recolectada en otro tubo cónico estéril con tapa de 15ml (Figura 7.6).

Figura 7.6. Remoción de la pulpa dental mediante taladro.

La cantidad de polvo de pulpa obtenida fue de aproximadamente 200 mg en todos los casos. Se emplearon entre 60-70 mg de dentina en cada una de las extracciones como se sugiere en bibliografía (Kuch et al. 2007). En la Figura 7.7 se observan tres piezas dentales que se analizaron, el estado de la muestra DA1 durante el proceso de corte para la extracción de la dentina y el remontaje y reconstitución de la pieza empleando un monómero autocurable.

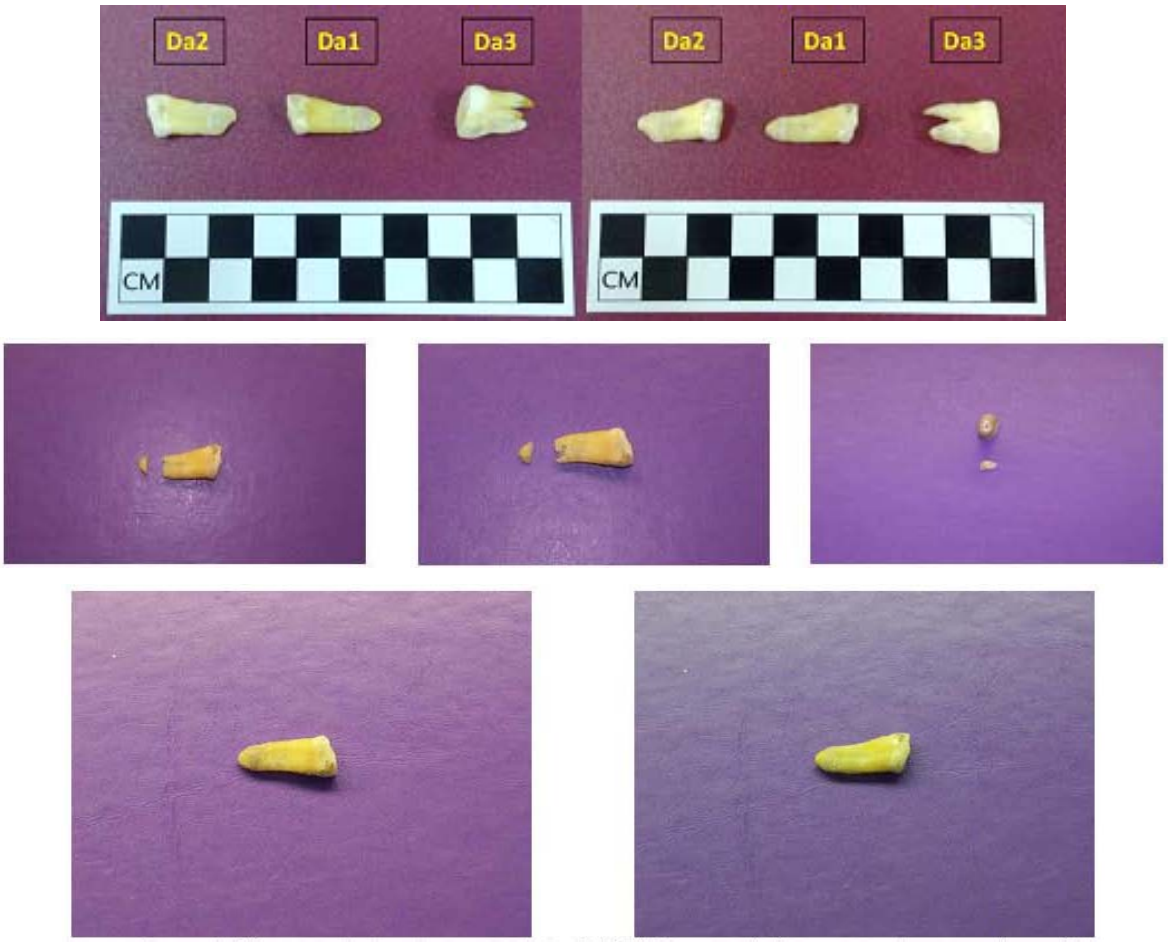


Figura 7.7 Arriba. Las tres piezas dentales analizadas (ambas caras)
Centro. Estado de la muestra DA1 durante las etapas de extracción de la dentina
Abajo. La pieza reconstituida (ambas caras).

Descalcificación.

Como paso siguiente, los 70 mg de polvo de pulpa fueron traspasados a un nuevo tubo cónico estéril y se les agrego 1 ml de EDTA 0,5 M a PH 8 con objeto de descalcificar la dentina y poder liberar el material orgánico presente. En paralelo se proceso un blanco de extracción como control de la misma. Se dejaron muestra y blanco en un rotador a temperatura ambiente en velocidad mínima durante toda una noche. Para evitar pérdidas se envolvieron las tapas en Parafilm.

Extracción de ADN.

Se quitaron los tubos cónicos del rotador luego de 20 horas aprox. Se centrifugaron las muestras durante 10 minutos a máxima velocidad. Se descartó el sobrenadante y tanto al pellet como al blanco se le agregó 1ml de solución de digestión (0,8ml de buffer de extracción –conteniendo cada 250 ml de H_2O, 1,25ml de tris Cl 2M, 2,5ml EDTA 0,5M, 10,2grs de acetato de sodio - 0,2ml de SDS 10% –dodecílsulfato de sodio- y 50µl de una enzima proteolítica –proteinasa K- a 0,2mg/ml). Se volvieron a colocar la muestra y el blanco en rotador dentro de una estufa a 55ºC por una noche. Para evitar pérdidas se envolvieron nuevamente las tapas en Parafilm (Figura 7.8).

Figura 7.8. Muestra y blanco en estufa y rotador a 55 ºC.

Seguidamente se realiza la extracción de ADN siguiendo protocolo de Fenol-Cloroformo Isoamílico en proporción 25:24:1 para 1ml de mezcla (Hummel 2003). Se agregan a ambos tubos 500 µl de Fenol y 500 µl de Cloroformo y se centrifugan durante 10 minutos a máxima velocidad. Luego se retira el sobrenadante -fase superior acuosa- que contiene el ADN en solución y se trasvasa a un tubo Eppendorf estéril e irradiado.

Concentración y purificación de la muestra.

Dada la escasa cantidad de ADN que habitualmente se obtiene a partir de muestras antiguas se recomienda su concentración previa a la amplificación del mismo. Para ello se emplean diferentes equipos comerciales que purificación y concentración.

Inicialmente se trabajo con el purificador de ADN Wizard PCR Preps DNA Purification System –ver boletín técnico de protocolo de utilización del equipo comercial ante cualquier consulta (www.promega.com)-, pero no se obtuvieron los resultados esperados en cuanto al rendimiento de la muestra. Se optó por utilizar el equipo comercial de purificación Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, Winsconsin, USA) –Ver Boletín Técnico de protocolo de utilización del Kit ante cualquier consulta (www.promega.com) siguiendo las instrucciones sugeridas por el fabricante-. Debido a que se está trabajando con ADN antiguo y es esperable que haya poco ADN y fragmentado, se utilizó el equipo de purificación que poseía mayor porcentaje de retención de fragmentos pequeños para poder luego amplificarlo.

7.5 Análisis del ADN extraído de las muestras.

Amplificación del ADN obtenido.

La reacción en cadena de polimerasa (PCR) es una técnica bien conocida y empleada en muchas disciplinas científicas, médicas y genéticas (Pääbo et al. 1989, Stone y Stoneking 1998, Kalmar et al. 2000, Hummel 2003). Permite realizar gran número de copias de la sección del genoma que se quiera estudiar. Para poder detectar trazas de ADN por amplificación de la secuencia de interés se lo somete repetidamente a diferentes temperaturas y reacciones enzimáticas. Si bien existen diversos protocolos de PCR para cualquier examen, en ADN antiguo y degradado, no hay algo estandarizado (Hummel 2003). La técnica de PCR consiste en una amplificación *in vitro* manejada por enzimas y es usualmente aplicada a secuencias de ADN relativamente cortas. La reacción se basa en 3 pasos:

- *Desnaturalización*: se realiza a una temperatura estándar (94°C). La doble cadena de ADN se separa por la ruptura de las uniones puente de hidrógeno.
- *Alineación*: se realiza a una temperatura variable que depende de los cebadores empleados. Los mismos flanquean el segmento de ADN que se intenta copiar.
- *Elongación*: se realiza a 72ºC, temperatura a la cual la Taq polimerasa copia el ADN extraído empleándolo como molde.

Estos tres pasos se repiten de manera cíclica para obtener múltiples copias de los segmentos de ADN que serán duplicados del original de la muestra (Figura 7.9).

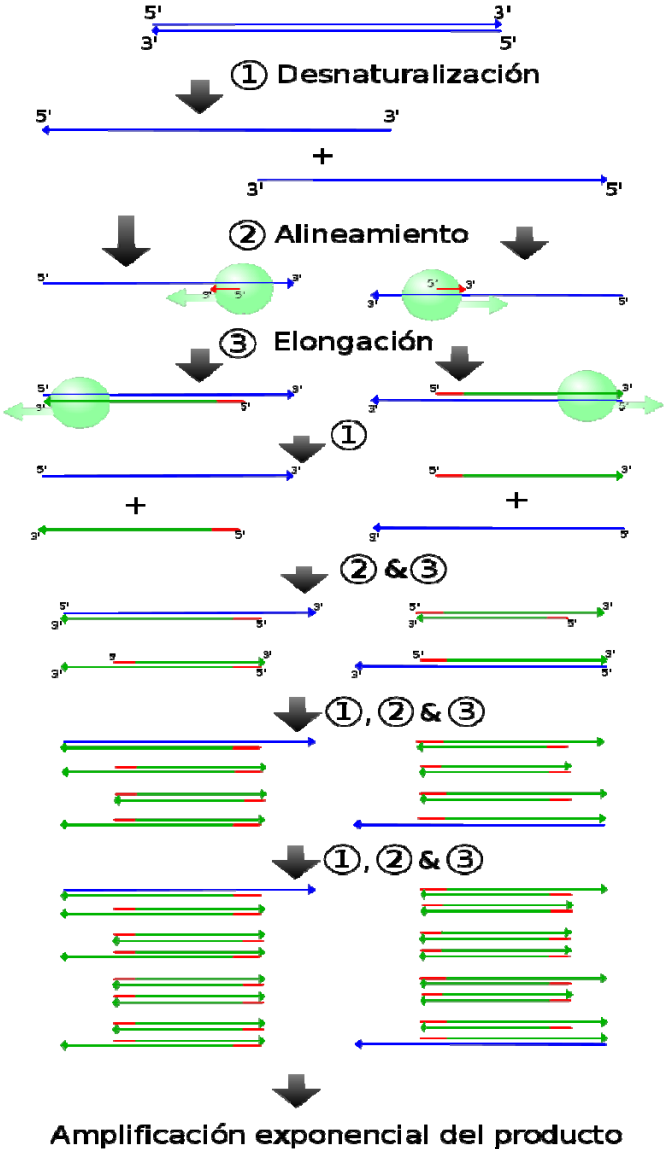


Figura 7.9. Funcionamiento y pasos de una reacción en cadena de polimerasas (PCR).

El número de ciclos usados para las amplificaciones es crucial para el éxito del análisis y son necesarios para evitar falsos resultados por contaminación -no puede evitarse con poca amplificación. El número de ciclos para muestras antiguas puede variar entre 35 y 40.

La inhibición de los reactivos y enzimas es la segunda causa más importante de la falla en la amplificación de ADN antiguo. Más comúnmente, los inhibidores pueden provenir del suelo, como es

el caso de los ácidos húmicos, tánicos, etc. Todos estos componentes se originan por descomposición de sustancias orgánicas del lugar en donde fue retirada la muestra o en donde fue guardada, y pueden inhibir la actividad de la Taq polimerasa.

La secuencia del cebador o primer es la que va a determinar que segmento particular del genoma se está amplificando. Actualmente se disponen de diferentes recursos bibliográficos y bases de datos de secuencias de diferentes marcadores genéticos a fin de establecer la secuencia adecuada de los fragmentos a amplificar –i.e. GeneBank, Mitomap. En este estudio se utilizaron dos conjuntos de cebadores. Los mismos corresponden a secuencias específicas de los fragmentos de ADN que se quiere hibridizar, y por ende, estudiar detalladamente.

PCR de determinación del sexo de los individuos.

Como se nombró anteriormente, se analizaron fragmentos de ADN biparental correspondiente al gen de la amelogenina. Los cebadores utilizados para este marcador se muestras en la Tabla 7.2.

Sitios de los cromosomas sexuales	Secuencia del cebador (5´a 3´)
Región Xp22.3-p.22.1 del cromosoma X y Región Yp11.2 del cromosoma Y.	ATCAGAGCTTAAACTGGGAAGCTG CCCTGGGCTCGTAAAGAA

Tabla 7.2. Sitios y cebadores utilizados para sexar los individuos.

Para realizar las PCR de este gen se empleó la siguiente mezcla de reacción:

- ✓ 18 µl de H_2O calidad Biología Molecular.
- ✓ 5 µl de Buffer Fidelio (Promega).
- ✓ 1 µl de Cl_2Mg 25 mM.
- ✓ 0,125 µl de deoxinucleótidos trifosfato 10 mM.
- ✓ 1 µl de mezcla de cebadores 10µM.
- ✓ 1 unidad de Go Taq.
- ✓ 5 µl de ADN antiguo.

Los ciclos de la PCR fueron (Tabla 7.3):

Paso	Temperatura	Tiempo
1	94.0	00:04:00
2	94.0	00:01:00
3	58.0	00:01:00
4	72.0	00:01:00
5	37 ciclos desde 2	
6	72.0	00:06:00
7	15.0	24:00:00
8	Final	

Tabla 7.3. Programa realizado en equipo de PCR para el sexado de las muestras antiguas analizadas.

Se analizaron los fragmentos amplificados en un gel de agarosa al 2% en Buffer Tris 100mM, EDTA 1mM y 90mM ácido bórico (buffer TBE). Para el sexo masculino se espera amplificar dos fragmentos de 106 (cromosoma X) y 112 pb (cromosoma Y) y para el sexo femenino solo se visualiza un fragmento de 106 pb correspondiente a la variable presente en el cromosoma X. Para su visualización los geles fueron teñidos con bromuro de etidio. El mismo se emplea a una concentración de 50 ug/100ml.

PCR de determinación de los haplogrupos mitocondriales.

Se realizaron cuatro PCR correspondientes a cada uno de los haplogrupos amerindios presentes en Sudamérica. Se realizó una mezcla para la PCR con los siguientes materiales y cantidades para cada muestra:

- ✓ 17 µl de H_2O calidad Biología Molecular.
- ✓ 2,5 µl de Buffer Fidelio (Promega).
- ✓ 1 µl de Cl_2Mg 25 mM.
- ✓ 0,5 µl de deoxinucleótidos trifosfato 10 mM.
- ✓ 1 µl de mezcla de cebadores 10µM.
- ✓ 1,25 unidades de Go Taq.
- ✓ 4 µl de ADN antiguo.

Los ciclos de la PCR empleados se resumen en la Tabla 7.4; en tanto que el tipo de cebadores y las enzimas utilizadas para la determinación de cada haplogrupo se detallan en la Tabla 7.5. que siguen a continuación.

Pasos	Temperatura	Tiempo
1	94.0	00:04:00
2	94.0	00:01:00
3	53.0	00:01:00
4	72.0	00:01:00
5	37 ciclos desde 2	
6	72.0	00:05:00
7	15.0	24:00:00
8	Final	

Tabla 7.4 Programa realizado en equipo de PCR para las muestras antiguas analizadas. En este caso se trata del gen de la amelogenina para realizar un sexado de los individuos.

Haplogrupo	**H*ae* III sitio 663**	**Deleción de 9 pb**	**H*inc* II sitio 13.259**	**A*lu* I 5176**	**Secuencia del cebador (5´ a 3´)**	**Tamaño del amplicón**
A	+	-	+	+	TGAAAATGTTTAGACGGCCTCACATC TAGAGGGTGAACTCACTGGAAC	176
B	-	+	+	+	ACAGTTTCATGCCCATCGTC ATGCTAAGTTAGCTTTACAG	122
C	-	-	-	+	ATTCGTAGCCTTCTCCACTTCA TCCTATTTTTCGAATATCTTGTTC	208
D	-	-	+	-	TAGGATGAATAATAGCAGCTCTACCG GGGTGGATGGAATTAAGGGTGT	149

Tabla 7.5. Enzimas de corte y cebadores utilizados para la determinación de los haplogrupos mitocondriales amerindios-ver Stone y Stoneking 1998.

Análisis de los polimorfismos de los segmentos amplificados.

En este caso, se utilizaron diferentes enzimas que cortaran la cadena de ADNmt en presencia o ausencia de los polimorfismo típicamente Amerindios a fin de reconocer sus haplogrupos. La técnica del análisis de polimorfismos de largo de fragmentos de restricción –RFLP-, en última instancia, consta de la separación de las moléculas de ADN de acuerdo con su peso molecular a través de un medio que pueda ser sometido a electroforesis.

Una vez amplificados los fragmentos para los haplogrupos A, C y D se digirieron con la enzima correspondiente (Tabla 7.5) para verificar la presencia o la ausencia de los sitios de corte

característicos de cada haplogrupos. Para esta determinación se realizó la siguiente mezcla de digestión:

- ✓ 18 µl de H_2O calidad biología molecular.
- ✓ 2 µl de Buffer de extracción.
- ✓ 0,5 µl de enzima específica para cada haplogrupo.

Se incubaron las reacciones a 37ºC durante 18 horas, al cabo de las cuales se analizaron los fragmentos de restricción en un gel de agarosa al 2% en el buffer TBE con la tinción anteriormente nombrada.

Para el caso del haplogrupo B, cuya característica es la deleción de 9 pb en la región amplificada, se analizaron los fragmentos obtenidos en un gel de agarosa al 3% para verificar su talla. En caso de presencia de la deleción (haplogrupo B) el mismo tiene un tamaño de 113 pb, cuando no hay deleción la talla del fragmente es de 122 pares de base.

Detección de inhibidores.

En el caso de que una muestra no amplifique, se analizarán mediante el empleo de un equipo de PCR Real Time. El mismo permite detectar la presencia de ADN y visualizar su amplificación en cada ciclo de la PCR. De esa manera es posible identificar las muestras que poseen inhibidores que impiden la amplificación del ADN presente.

Capítulo 8

Resultados y Discusión

8.1 Resultados

El ADN fue extraído exitosamente en dos de las tres piezas dentales muestreadas.

Amelogenina.

Se pudo determinar que las muestras DA2 y DA3 poseían los fragmentos esperados en individuos de sexo femenino (Figura 8.1). La muestra DA1 no pudo ser amplificada en ninguna de las PCRs realizadas. Dichos resultados fueron repetidos dos veces, a partir de dos diferentes extracciones de ADN, obteniendo siempre el mismo resultado. Además se corroboró, como control adicional y con la misma metodología, el mismo marcador sexual para el operador que realizo todos los procesos de extracción y amplificación, dando como resultado una tipificación de sexo masculino -amplificación de dos bandas-, lo cual apoya aún más la autenticidad de los datos. Nunca se obtuvieron amplificaciones para los blancos realizados a la par de la muestra.

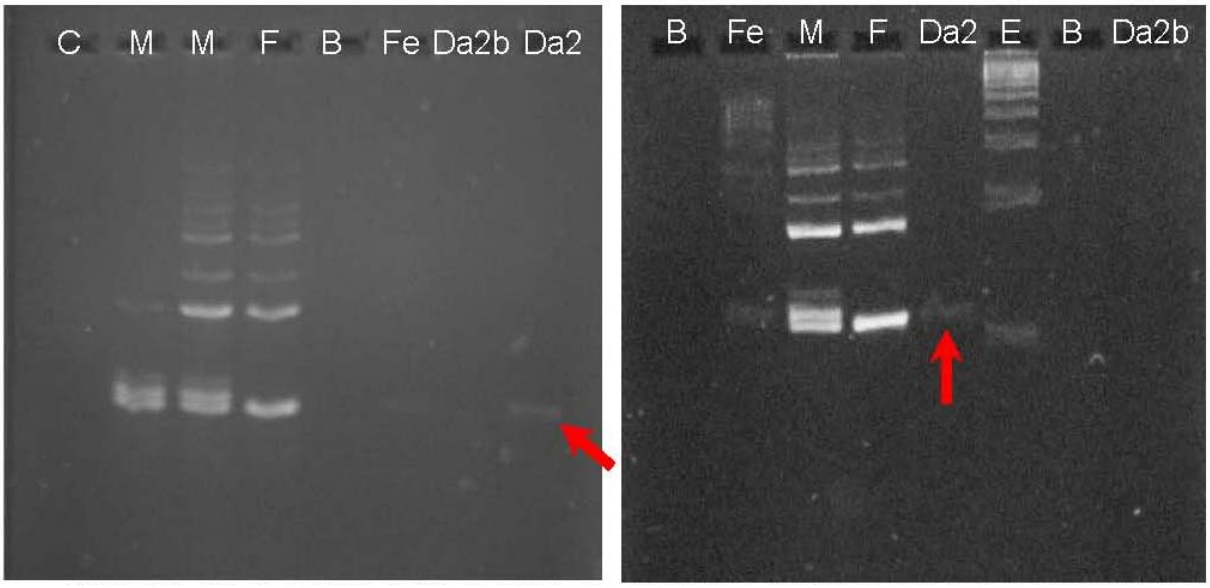


Figura 8.1. Gel de agarosa al 2% en donde se corrieron las amplificaciones para el marcador de la amelogenina. Véase la amplificación de una sola banda para la muestra Da2. Orden de siembra: gel izquierdo (en orden de izquierda a derecha): C: control de reacción; M: muestra masculina moderna; M: muestra masculina moderna; F: muestra femenina moderna; B: blanco que acompaño la muestra; Fe: muestra antigua; Da2b: blanco que acompaño la muestra; Da2: muestra antigua analizada en esta tesis. Gel derecho (en orden de izquierda a derecha): B: blanco que acompaño la muestra; Fe: muestra antigua; M: muestra masculina moderna; F: muestra femenina moderna; Da2: muestra antigua; E: escalera de peso molecular; B: blanco que acompaño la muestra; Da2b: blanco que acompaño la muestra.

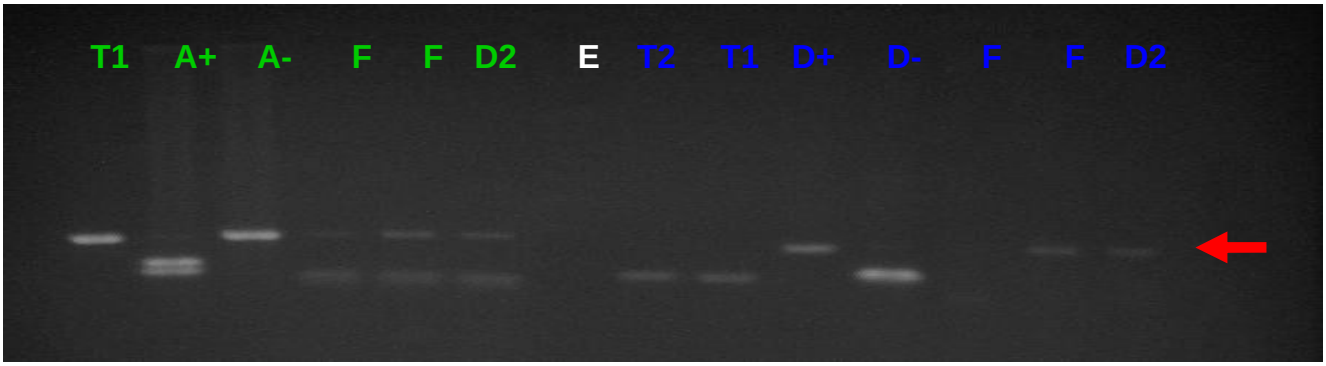


Figura 8.2 Gel de agarosa al 2,5% en donde se corrieron las amplificaciones para los haplogrupos mitocondriales A (verde) y D (Azul). Véase la amplificación de una banda en donde se observa la pédida de sitio de corte para la enzima A*lu* I característica del haplogrupo D. Orden de siembra: T1: control negativo para haplogrupo A; A+: control positivo para haplogrupo A; A-: control negativo para haplogrupo A; F: muestra antigua; F: muestra antigua; D2: muestra antigua; E: escalera de peso molecular; T2: muestra negativa para haplogrupo D; T1: muestra negativa para haplogrupo D; D+: control positivo para haplogrupo D; D-: Control negativo para haplogrupo D; F: muestra antigua; F: muestra antigua; Da2: muestra antigua analizada en esta tesis para haplogrupo D positivo.

Haplogrupos de ADN mitocondrial.

Para este marcador, se pudo determinar en dos de las tres muestras analizadas - DA2 y DA3-, la presencia del haplogrupo D (Figura 8.2). La muestra DA1 no pudo ser amplificada en ninguna de las PCRs realizadas. Dichos resultados fueron repetido dos veces, a partir de dos diferentes extracciones de ADN, obteniendo siempre el mismo resultado. A su vez, como otro método de control se comprobó que ninguno de los operadores poseía este haplogrupo.

Presencia de Inhibidores en la muestra DA1.

Inicialmente se supuso que los resultados de amplificación negativa podrían deberse a la posibilidad de que la muestra no tuviera la cantidad de ADN necesaria para poder tipificarla o que el mismo estuviera degradado o contuviera inhibidores de la Taq polimerasa. Con el análisis de la muestra empleando una PCR Real Time se pudo comprobar que la muestra DA1 poseía ADN en buena cantidad, por lo que se propuso que la imposibilidad de poder tipificarla y amplificarla se debe a la presencia de algún inhibidor indeterminado presente en la pieza dental.

8.2 Discusión

El estudio del poblamiento de un continente es un tema complejo y dependiente de múltiples variables, escalas y resolución del registro aportado por las diferentes disciplinas. Cómo los humanos se dispersaron en el continente americano es una compleja relación entre el paisaje, las estructura ambiental, procesos de adaptación al medio, demografía, fisiogeografía de los diferentes hábitats y la disponibilidad de los recursos, así como también las respuestas individuales, grupales, sociales y poblacionales a los cambios ambientales y temporales acaecidos durante las postrimerías del Pleistoceno y todo el Holoceno. Otras investigaciones han llegado a la conclusión de que la dispersión humana es el resultado de la relación entre períodos de contracción o expansión espacial, crecimiento o declinación, diversificación u homogeneización genética o cultural y aislamiento o continuidad geográfica (Lanata et al. 2008). La interrelación entre esos procesos es lo que moldea el tiempo y modo de los cambios culturales, genéticos y sus diferentes trayectorias. Las características del mosaico medioambiental de cada región moldea e impone bajo qué condiciones la dispersión inicial y posteriores son posibles.

Diferentes investigadores han aplicado a estas problemáticas una perspectiva metapoblacional -parte de una población interactuando en tiempo y espacio- (Borrero 2001b, Lanata et al. 2008) para entender la variabilidad interna de las poblaciones humanas y los rasgos de sus respuestas a las presiones ambientales selectivas. Estamos de acuerdo en que los pulsos ambientales pueden tener diferentes efectos en las poblaciones, provocando reorganizaciones y acomodamientos de los ecosistemas que pueden tener consecuencias genéticas o culturales, pudiendo ser viable a partir de éstos la supervivencia de los grupos humanos o provocar escenarios de extinciones locales (Borrero 2001b, Lanata 1996, Lanata et al. 2008). Todo el continente americano, desde el punto de vista de la especie *Homo sapiens* es la última masa terrestre en ser colonizada durante tiempos Pleistocénicos y tiene la particularidad de ser el único continente donde el hombre moderno fue el único en arribar, sin discusiones de reemplazo o coexistencia con otras especies *Homo* (Borrero 2001, Lanata et al. 2008). Estos grupos humanos que ingresaron en el continente debieron cruzar barreras ecológicas para explotar muy diversos y homogéneos ambientes. Actualmente está aceptado el hecho de que exista la posibilidad de una entrada al continente anterior a la propuesta por el paradigma “Clovis primero” – 11.500 rcybp-, y que las adaptaciones humanas fueron mucho más

diversificadas tecnológicamente, siendo muchos los recursos con los cuales los grupos humanos lograron sobrevivir –Politis et al. 1995, Miotti y Salemme 2003, Miotti 2003-, en contrapartida a la supuesta especialización en la explotación de la megafauna (Martin 1973).

En Patagonia terminó el proceso de dispersión humana en espacios continentales (Lanata 2006) sobre el planeta, estando todavía Tierra del Fuego unida al continente. La Patagonia se libró de hielo hace aprox. 14.000 AP y hay presencia humana segura hace 11.000 AP en diversos ambientes, formándose el estrecho de Magallanes hace unos 8.000 AP. Si bien hubo sectores que pudieron estar intransitables, había otros por los que la dispersión era posible (Borrero 2001, Lanata et al. 2008). No es necesario pensar que toda la Patagonia fue poblada al mismo tiempo, es probable que inicialmente se poblaran sólo los lugares más accesibles ecológicamente hablando. Las investigaciones arqueológicas han aportado evidencia para diferentes períodos. En cuanto a la fase Pleistocénica de la dispersión, se ha podido comprobar que eran poblaciones con gran sofisticación tecnológica en donde las puntas de proyectil formaban parte de los repertorios más tempranos. La baja visibilidad arqueológica en este período temporal ha sido interpretada como la evidencia de una muy baja demografía y en algunos casos, ausencia de poblaciones. Diversos investigadores han propuesto que la baja demografía es una condición necesaria por la inestabilidad de los ambientes pleistocénicos patagónicos (Borrero y McEwan 1997, Borrero et al 2001). A su vez, son grupos cazadores recolectores los que primaron en estas regiones, siendo siempre reducidos en el número de individuos, lo cual es una característica cultural que habría sido adaptativa, ya que en ecosistemas en donde los recursos están muy dispersos en grandes extensiones de terreno o si son marcadamente estacionales, la formación de grupos de gran tamaño puede resultar poco ventajoso (Borrero y McEwan 1997, Borrero et al 2001).

Hacia el Holoceno se perciben ciertos cambios en el registro arqueológico. Se observa un aumento de sitios el cual es interpretado como un aumento demográfico, pero también es interpretado como un resultado de una mayor depositación de restos arqueológicos en lugares que eran visitados con mayor frecuencia. A su vez, se terminaron de conformar todas las barreras biogeográficas actuales –estrecho de Magallanes y canales fueguinos- los cuales fueron un determinante para aislar ciertas zonas, y con ellas, a las poblaciones que allí habitaban. A partir de este momento se registra una ocupación más sistémica y mayor variabilidad tecnológica,

posiblemente como respuesta al stress ambiental debido a los cambios climáticos (Borrero y McEwan 1997, Borrero et al. 2001). En general, no hay postulado un aumento demográfico para estas poblaciones, por lo que es posible que las condiciones de aislamiento en un contexto de grupos pequeños muy móviles[1] podría haber sido la regla en un ambiente como el patagónico. Recién hacia los 4.500 AP algunos autores han postulado un cambio en el registro arqueológico, en donde se perciben divergencias tecnológicas en algunas áreas como respuestas adaptativas al medio ambiente (Mena 1997). De todas maneras, sólo hace unos 600 años se ve claramente marcado una adaptación muy diferente –i.e. adaptaciones plenamente marítimas en Tierra del Fuego- en lugares específicos de la Patagonia (Borrero 1997).

En conclusión, debido a los constantes cambios ecológicos no se registra arqueológicamente un desarrollo demográfico lineal continuo hasta llegar a la saturación del espacio. Muchos sectores de la Patagonia estuvieron alternativamente vacios y llenos de grupos presentando una discontinuidad en el uso del espacio y en la distribución de poblaciones humanas.

El análisis de la distribución de los linajes maternos puede verificar estas conclusiones, ya que dichos procesos paleoambientales, geográficos y demográficos pueden influir en la variabilidad genética de las poblaciones patagónicas. Todos los procesos detallados anteriormente pueden inducir a hipotetizar la existencia de fenómenos microevolutivos responsables de la disminución en la diversidad de haplogrupos presentes en esta región. Mecanismos como la deriva genética, por efecto fundador o cuellos de botella, traen aparejada una disminución en el acervo génico de poblaciones humanas de pequeño tamaño como se registra en grupos cazadores-recolectores. Tampoco puede descartarse que los procesos de selección natural hayan tenido alguna influencia en la eficacia biológica de algunos de los individuos que poblaron esas latitudes.

Al respecto, la tipificación de los linajes maternos mitocondriales realizados en este trabajo permite avalar la hipótesis H1, ya que los individuos muestreados pertenecen a alguno de los cuatro linajes maternos amerindios (haplogrupo D) presentes en poblaciones americanas. Siguiendo estos planteos, también podemos decir que la hipótesis H2 es correcta, ya que el linaje hallado es uno de

[1] Esto se ve reflejado en el movimiento de ciertas materias primas, como la obsidiana negra, proveniente de Pampa del Asador, muchas veces a cientos de kilómetros de los lugares de hallazgo– García-Herbst et al. 2007-

los más frecuentes en Patagonia, tanto en poblaciones actuales, históricas y antiguas. Otros investigadores (Lalueza et al. 1997) han identificado también el haplogrupo C en una frecuencia del 38,8% y el D en una frecuencia de 61,2% en un total de 75 individuos de diferentes sitios arqueológicos y museos de Chile y Argentina, siendo el segundo más frecuente en muestras antiguas de Patagonia. Adicionalmente, Moraga y Col. (Moraga et al. 2009) han identificado el haplogrupo C, D y B en distintas frecuencias, variando las mismas en relación a la antigüedad de las muestras, en un total de 40 individuos de diferentes sitios arqueológicos de Fuego-Patagonia de Argentina y Chile. Estas investigaciones son las primeras en descubrir el haplogrupo B en poblaciones prehistóricas de Patagonia. Si bien los individuos muestreados en el presente trabajo y los que están disponibles en bibliografía son un conjunto pequeño aún, la baja o ausente frecuencia de los haplogrupos A y B puede entenderse debido a la estructura poblacional, la demografía y los factores geográfico-ambientales anteriormente nombrados.

Por otro lado, el análisis del ADN de las piezas dentales permitió determinar el sexo de los individuos muestreados. Se pudo confirmar en diferentes extracciones y determinaciones la reproducibilidad de estos resultados. Tradicionalmente, la determinación del sexo de los individuos en bioantropología y arqueología se realiza a través de rasgos morfométricos y por comparaciones osteológicas (Campillo y Subirá 2004). En general ha sido difícil realizar esto debido a que no siempre están disponibles todas las parte esqueletales necesarias para su determinación y en ocasiones no se observa un claro dimorfismo sexual. Debido a estos inconvenientes, el estudio del marcador amelogenina parece ideal para establecer el sexo de los individuos debido a que su determinación es independiente de la representación de todas las partes esqueletales y de la expresión del dimorfismo sexual. Al independizarse del grado de dimorfismo sexual puede utilizarse en individuos subadultos.

Capítulo 9

Conclusiones

En esta tesis logramos obtener y tipificar material genético a partir de piezas dentales procedentes del Museo Regional Rosa Novak de la ciudad de Pto. San Julián, Prov. de Santa Cruz. El análisis de las amplificaciones obtenidas nos permitió determinar el sexo femenino y el haplogrupo mitocondrial D en dos de las tres muestras analizadas.

Si bien, como ha sido expuesto en el presente trabajo, el análisis de ADN antiguo es sumamente laborioso creemos que la información que se obtiene es muy valiosa y de aplicabilidad en diversas disciplinas. El aporte de la información genética y el marco teórico de la genética de poblaciones pueden ayudarnos a resolver múltiples interrogantes arqueológicos. Por ejemplo, en aquellos casos donde los procesos de formación de sitio implican alteraciones tanto antrópicas como no antrópicas, y han modificado la supervivencia de los restos arqueológicos.

En síntesis, estos análisis abren la posibilidad de realizar estudios moleculares en restos arqueológicos a partir de piezas dentales procedentes de museos de manera menos invasiva y preservando dicho material. Por último, queremos señalar que actualmente las muestras continúan siendo analizadas con el fin de determinar otros marcadores moleculares y que se han incorporado nuevas muestras con el objeto de aportar más datos a la problemática del poblamiento americano.

Bibliografía

AABA.
2007. Declaración de la Asociación de Antropología Biológica Argentina en relación con la ética del estudio de restos humanos. Disponible en: www.fcny.unlp.edu.ar/aabra

Adovasio, J.
1993. The ones that will not go away. A biased view of pre-Clovis populations in the New World. En: O. Soffer y N.D. Praslov Eds. *From Kostenki to Clovis:* 199-218. Plenum Press. New York.

Adovasio, J. Donahue, J. Cushman, K. Carlisle, R. Stuckenrath, S. Gunn, J. and Hohnson, C.
1983. Evidence from Meadowcroft Rock shelter. En: R. Shutler Ed*. Early Man in the New World:* 163-190. Sage Publication. Beverly Hills.

Allaby, R. y Brown, T.
2003. AFLP data and the origins of domesticated crops. *Genome 46:448-453.*

Allen, D.
1949. The legend of noah: renaissance rationalism in art, science and letters. *Illinois studies in language and literature* 33:3-4. University of Illinois Press, Urban.

Anagnostopoulos, T. Green, P. Rowley, G. Lewis, C. y Giannelli, F.
1999. DNA variation in a 5.Mb region of the X chromosome and estimates of sex-specific/type.specific mutation rates. *American Journal of Human Genetics, 64:508-517.*

Anderson, D. y Gilliam, J.C.
2000. Paleoindian colonization of the Americas: Implications from an examination of phisyography, demography and artifact distribution. *American Antiquity,* 65:43-66.

Anderson, S. Bankier, A. Barrell, B. de Bruijn, M. Coulson, A. Crouin, J. Eperon, I. Nierlich, D. Roe, B. Sanger, F. Schereier, P. Smith, A. Staden, R y Young, I.
1981. Sequence and organization of human mitochondrial genome. *Nature* 290:257-265.

Andrews, R. Kubacka, I. Chinnery, P. Lightowlers, N. Turnbull, D. y N. Howell
1999. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for Human mitochondrial DNA. *Nature Genetic,* 23:147.

Ammerman, A. y Cavalli-Sforza, L.
1984. *The Neolithic Transition and the genetics of population in Europe*. Princeton University Press. Princenton.

Asembauer, B. McEntagart, M. King, M. Gallagher, P. Burke, M. y Farrell, M.
1998. Chronic active destructive herpes simplex encephalitis with recovery of viral DNA 12 years after disease onset. *Neuropadeatrics,* 29:120-123.

Bandelt, H. Kong, Q. Parson, W. y Salas, A.
2005. More evidence for non-maternal inheritance of mitochondrial DNA? *Journal of medical Genetics,* 42:957-960.

Baillet, G. Rothhammer, F. Carnese, F. Bravi, C. y Bianchi, N.
1994. Founder Mitochondrial Haplotipes in Amerindian Populations. *American Journal of Human Genetics,* 55:27-33.

Ballinger, S. Schurr, T. Torroni, A. Gan, Y. Hodge, J. Hassan, K. Chen, K. y Wallace, D.
1992. Southeast Asian Mitochondrial DNA analysis reveals genetic continuity of ancient mongoloid migratons. *Genetics,* 130:139-152.

Barnes, I. Young, J. y Doney, K.

2000. DNA-based identification of goose species from two archaeological sites in Lincolnshire. *Journal of Archaeological Science,* 27:91-100.

Bailey, J. Richards, M. Macaulay, V. Colson, I. James, I. Bradley, D. Hedges, D. y Sykes, B.
1996. Ancient DNA suggest a recent expansion of European cattle from a diverse wild progenitor species. *Proceedings: Biological Science,* 263:1467-1473.

Batista, O. Kolman, C. y E, Bermingham.
1995. Mitochondrial DNA Diversity in the Kuna Amerinds of Panama. *Human Molecular Genetics,* 4:921-929.

Beals, S.
1957. Father Acosta and the first peopling of the New World. *American Antiquity,* 23: 182-183.

Bert, F. Corella, A. Gené, M. Perez-Perez, A. y Turbón, D.
2001. Major mitocondrial DNA haplotype heterogeneity in Highland and Lowland Amerindian Population from Bolivia. *Human Biology,* 73:1-16.

Besnard, G. y Bervillé, A.
2000. Multiple origins for Mediterranean Olive (*Olea europaea L. ssp. Europaea*) based upon mitochondrial DNA polimorphisms. *R.C. Acad. Sci. Paris. Life Science* 323:173-181.

Bever, M.
2001. An overview of Alaskan Late Pleistocene Archaeology: historical themes and current perspectives. *Journal of World Prehistory* 15:125-191.

Bianchi, N. Bailliet, G. y Bravi, C.
1995. Peopling of the Americas as inferred through the analysis of mitochondrial DNA. *Brazilian Journal of Genetics,* 4:661-668.

Binford, L.
1988. *En busca del pasado.* Critica. Barcelona.

Bird, J.
1938. Before Magellan. *Natural History,* 41(1):16-28.

Blanca, J. Prohens, J. Anderson, G. Zuriaga, E. Cañizares, J. y Nuez, F.
2007. AFLP and DNA sequence variation in Andean domesticate Pepino (*Solanum muricatum,* Solanaceae): implications for evolution and domestication. *American Journal of Botany,* 94:1219-1229.

Bonatto, S. y Salzano, F.
1997a. Diversity and Age of the Four Major mtDNA Haplogroups, and their Implications for the Peopling of the New World. *American Journal of Human Genetics.* 61:1413-1432.

1997b. A single and early migration for the peopling of the Americas supported by mitochondrial DNA sequence data. *Proceedings of the National Academic of Science* Vol. 94:1866-1871.

Boyd, R y Richerson P.
1985. *Culture and the evolutionary process.* Chicago: University of Chicago Press. Chicago

Borrero, L.
1994-1995. Arqueología de la Patagonia. *Palimpsesto* 4:9-69.
1997. The origins of ethnographic subsistence patterns in Fuego-Patagonia. En: *The Peopling of Patagonia: natural history, prehistory and ethnography at the uttermost end of the Earth.*Edited by McEwan, C. Borrero, L. and Prieto, A. Princenton University Press, Princenton, New Jersey. Pp. 60-81.
1999. The Prehistoric Explotation and Colonization of Fuego-Patagonia. *Journal of World Prehistory* 3: 321-355.

2001a. *El poblamiento de la Patagonia: toldos, milodones y volcanes.* Emecé editores S.A. Buenos Aires.

2001b. Cambios, continuidades, descontinuidades: discusiones sobre arqueología Fuego-Patagónica. En: *Historia argentina Prehispánica.* Tomo II, Pp:815-838. E. Beberián y A. Nielsen Eds. Ed. Brujas. Córdoba.

Borrero, L. y McEwan, C.
1997. The Peopling of Patagonia. The First Human Occupation. En: *The Peopling of Patagonia: natural history, prehistory and ethnography at the uttermost end of the Earth.* Edited by McEwan, C. Borrero, L. and Prieto, A. Princenton University Press, Princenton, New Jersey. Pp. 32.45.

Brace, C. Russell Nelson, A. y Qinfeng, P.
2004. Peopling of the New World: a comparative craniofacial view. In: Barton, C. Clark, G. Yesner, D and Pearson, G (Eds.). *The settlement of the American continent: A multidisciplinary Approach to Human Biogeography.* University of Arizona Press. Tucson.

Brace, L. Nelson, A. Seguchi, N. Oe, H. Sering, L. Qifeng, P. Yongyi, L y Tumen, D.
2001. Old World source of the first New World human inhabitants: a comparative craniofacial view. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98: 10.017-10.022

Braun, M. Cook, D. y Pfeiffer, S.
1998. DNA from *Mycobacterium tuberculosis* complex identified in north American, pre-Columbian human skeletal remains. *Journal of Archaeological Science,* 25:271-277.

Brown, M. Hosseini, S. Torroni, A. Bandelt, H. Allen, J. Schurr, T. Scozzari, R. Cruciani, F. y Wallace, C.
1998. Haplogroup X: An Ancient Link Between Europe/Western Asia and North America? *American Journal of Human Genetics,* 63:1852-1861.

Brown, T. Allaby, R, Brown, K. O´Donoghue, K. y Sallares, R.
1994. DNA in wheat seedfrom European archaeological sites. *Experientia,* 50:571-575.

Brown, W. George, M. y Wilson, A.
1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceeding of National Academy of Science, USA.* 76: 1967-1971.

Brown, W. Prager, E. Wang, A. y Wilson, A.
1982. Mitochondrial DNA sequences of primates: Tempo and mode of evolution. *Journal of Molecular Evolution,* 18:225-239.

Bryan, A y Gruhn, R.
1992. La discusión sobre el poblamiento de América del Sur. *Revista de Arqueología Americana* 5: 234-240.

Burger, J. Hummel, S. y Herrmann, B.
2000. Paleogenetics and cultural Heritage. Species determination and STR genotiping from ancient DNA in art and artifacts. *Termochimica Acta* 365:141-146.

Burke, J. Tang, S. Knapp, S. y Rieseberg, L.
2002. Genetic analysis of Sunflower domestication. *Genetics,* 161: 1257-1267.

Butler, V. y Bowers, N.
1998. Ancient DNA from salmon bones: a preliminary study. *Ancient Biomolecular,* 2:17-26.

Butzer, K.
1988. A “marginality” model to explain major spatial and temporal gaps in the old and New World Pleistocene settlement records. *Geoachaeology,* 3: 193-203.
1991. An old world perspective on potential mid-wisconsin settlement of the americas. En: *The first americans: search and research.* Edited by T.D. Dillehay and D.J. Meltzer. Pp 137-156. CRC Press, Boca Raton.

Campbell, L.
1998. *American Indian Lenguages. The historical Linguistics of Native America.* Oxford University Press, New York.

Campillo, D. y Subirá, M.
2004. *Antropología física para arqueólogos.* Ed. Ariel, Barcelona, España.

Cann, R.
2001. Genetic Clues to Dispersal Human Populations: Retracing the Past from the Present. *Science,* 291: 1742-1748.

Cann, R. Stoneking, M. y Wilson A.
1987. Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature,* 325: 31-36

Carlyle, S. Parr, R. Hayes, M. y O´Rourke, D.
2000. Contexto f Maternal Lineages in the Greater Southwest. *American Journal of Physical Anthropology,* 113:85-101.

Carnese, F.R. Mendisco, F. Keyser, C. Dejean, C.B. Dugoujon, J. M. Bravi, C.M. Ludes, B. y Crubezy, E.
2010. Paleogenetical study of pre-Columbian samples from Pampa Grande (Salta, Argentina). *American Journal of Physical Antrhopology,* 141(3):452-462

Casado, E. Laso, J. Moscoso, J. Zamora, J. Villa, M. Blas, M. Santalla, M. Gramajo, P. Silvera, C. Lowy, E. y Villena, A.
2003. Origin of Mayans according to HLA genes and the uniqueness of amerindians. *Tissue Antigens,* 61:425-436.

Casamiquela, R.
1970. La realidad arqueológica de la Patagonia austral a la luz del panorama etnohistórico. *Relaciones* 5:105-115.

Cavalli-Sforza.
1997. Genes, peoples and lenguajes. *Proceeding of Natural Academy of Science. USA.* 94:7719-7724.

Cavalli-Sforza L. y Cavalli-Sforza F.
1993. *Quienes somos. Historia de la diversidad humana.* Crítica, Grijalbo Mondadori. Barcelona.

Cavalli-Sforza, L. y Feldman, M.
1981. *Cultural transmisión and evolution: A quantitative approach*. Princenton University Press, Princenton, New Jersey.

Civalero, T y Franco, N.
2003. Early Human Occupations in Western Santa Cruz Province, Southernmost South America. *Quaternary International,* 109-110, 77-86.

Clark, D.
1991. The Northern (Alaska-Yukon) fluted points. En: Bonnichsen, R y K Tummire Eds. *Clovis: origins and adaptations*: 35-48. Centre for Study of the First Americans, Oregon.

Clark, G.
2004. Deconstructing the North Atlantic connection. En: Barton, C. Clark, G. Yesner, D and Pearson, G (Eds.). *The settlement of the American continent: A multidisciplinary Approach to Human Biogeography.* University of Arizona Press. Tucson. Pp. 103-112.

Clark, G, Barton, C. Pearson, G. y Yesner, D.
2004. An Interdisciplinary perspective on long-term human biogeography and the Pleistocene colonization of the Americas. En: Barton, C. Clark, G. Yesner, D and Pearson, G (Eds.). *The settlement of the American continent: A multidisciplinary Approach to Human Biogeography,* Pp. 1-8. University of Arizona Press. Tucson.

Clark, R. Tavaré, S. y Doebley, J.
2005. Estimating a nucleotide substitution rate for maize from polimorphysm at major domestication locus. *Molecular Biology Evolution,* 22:2304-2312.

Clayton, T. Whitaker, J. y Maguire, C.
1995. Identification of bodies from the scene of mass disaster using DNA amplification of short tandem repeat (STR) loci. *Forensic Science International,* 76:7-15.

Collins, M. Marsh, C. Hiller, J. Smith, C. Roberts, J. Prigodich, R. Wess, T. Csapo, J. Millard, A. y Walker, G.
2002. The survival of organic matter in bone: a review. *Archaometry, 44:383-394.*

Comas, D. Calafell, F. Mateu, E. Perea-Lezaun, A. Bosch, E. Martinez-Arias, R. Clarimon, J. Facchini, F. Fiori, G. Luiselli, D. Pettener, D. y Bartranpetit, J.
1998. Trading Genes along the Silk Road: mtDNA Sequence and the Origin of Central Asian Population. *American Journal of Human Genetics, 63:1824-1838.*

Cooper, A.
1992. Seabird 12S sequence using feathers from museum specimens. *Ancient DNA Newsletter,* 1/2:20-21

Cooper, A. y Poinar, H.
2000. Ancient DNA: Do it Right or Not to All. *Science, 289: 1139.*

Corach, D. Sala A, Penacino, G. y Sotelo, A.
1995. Mass disasters: rapid molecular screening of human remains by means of short tandem repeats typing. *Electrophoresis,* 16:1617-1623.

Crespo, C. Dejean, C. Carnese, F.y Lanata, J.
2009. Extracción y tipificación de ADN a partir de piezas dentales de muestras arqueológicas de la Prov. de Santa Cruz, Argentina. Trabajo presentado en las Novenas Jornadas Nacionales de Antropología Biológica. Puerto Madryn,

Cullota, E.
2007. Ancient DNA Reveals Neanderthal with Red Hair, Fair Complexions. *Science,* 318:546-547.

Dalton, R.
2006. Neandertahl genome sees first light. *Nature,* 444:254-254.

Daniels, G.
1995. *Human Blood Groups*. Blackwell Science. Oxford.

Dejean, C. Keyser-Tracqui, C. Avena, S. y Carnese, R.
2008. Análisis genético de muestras esqueletales provenientes del Canal de Beagle. *Actas del X congreso de la Asociación Latinoamericana de Antropología Biológica.* La Plata.

Dejean, C. Keyser-Tracqui, C. Crubezy, E. y Carnese, R.
2006. Análisis paleogenéticos de tres individuos provenientes del sitio arqueológico Cortaderas Derecha, Salta (Argentina). *Actas del IX Congreso de la Asociación Latinoamericana de Antropología Biológica.* Ouro Preto, Brasil, Octubre de 2006.

Dejean, C. Lanata, J. Martino, L. Carnese, F. y Osella, A.
2007. Demografía y distribución de haplogrupos mitocondriales durante la dispersión inicial en las Américas. Simposio: Historia Evolutiva de las poblaciones aborígenes americanas. Trabajo presentado en: VIII Jornadas Nacionales de Antropología Biológica. Salta.

Dejean, C. Roy, B. Goicoechea, A. Avena, S. y Carnese, F.
2004. Genetic variability in amerindian populations of Northern Argentina. *Genetics and Molecular Biology,* 27: 489-495.

Demarchi, D. Panzetta-Dutari, G. Colantonio, S y Marcelino, A.
2001. Absence of the 9-bp Deletion of Mitochondrial DNA in Pre-Hispanic Inhabitants of Argentina. *Human Biology,* 73:575-582.

Derenko, M. Malyarchuk, B. Dambueva, I. Dorzhu, C. y Zakharov. I.
1998. Buryat and Tuva Populations from South Siberia Exhibit the Highest Percentage of New World mtDNA Haplogroups. *American Journal of Human Genetics. Supplement,* 63:A211.

Derenko, M. Malyarchuk, B. Dambueva, I. Shaikhaev, G. Dorzhu, C. Nimaev, D. y Zakharov, I.

2000. Mitochondrial DNA Variation in Two South Siberian Aboriginal Populations: Implications for the Genetic History of North Asia. *Human Biology,* 72:845-973.

Derenko, M. y Shields, G.
1998. Variability of Mitochondrial DNA in Three Groups of Indigenous Inhabitants of Northern Asia. *Genetika,* 34:676-681.

Dikov, N.
1987. *Beringia*. *Un gran puente intercontinental que unía Asia y América en la época prehistórica.* El Correo de la UNESCO. Nov 1987:32-34.

Dillehay, T.
1999. The Late Pleistocene cultures of South America. *Evolutionary Anthropology,* 7: 206-216.
2000. *The settlements of Americas. A new perspective.* Cap 5. South American regions: The pacific and Caribbean sides of the continent. Pp. 109-138. Perseus Basics Books. New York.

Dincauze, D.
2000. *Enviromental Archaeology. Principles and practice.* Cambridge University Pres.

Drancourt, M. y Raoult, D.
2002. Molecular insights into the history of plague. *Microbres Infection,* 4:105-109.

Driver, J.
1998. Human adaptation at the Pleistocene/Holocene boundary in Western Canada, 11.000 to 9.000 BP. *Quaternary International,* 49/50: 141-150.

Dumond, E.
2001. The archaeology of Eastern Beringia: Some contrast and connections. *Artic Anthropology,* 38: 196-205.

Durham, W.
1991. *Coevolution: genes, culture and human diversity*. Stanford University Press. Stanford.

Easton, R. Merriwether, D. Crews, D. y Ferrell, R.
1996. mtDNA Variation in the Yanomami: Evidence for Additional New World Founding Lineages. *American Journal of Human Genetics,* 59:213-225.

Eshleman, J. Malhi, R y Amiyh, D.
2003. Mitochodrial DNA Studies of Native Americans: Conceptions and Misconceptios of the Population Prehistory of the Americas. *Evolutionary Anthropology,* 12:7-18.

Faerman, M. y Bar-Gal, G.
1998. Determining the Sex of Infanticide Victims from de Late Roma Era through Ancient DNA Analysis. *Journal of Archaeological Science,* 25:861-865.

Fehren-Schmitz, L. Reindel, M. Cagigao, E. Hummel, S. y Herrmann, B.
2010. Pre-columbian population dynamics in coastal Southern Peru: a diachronic investigation of mtDNA patterns in the palpa region by ancient DNA analysis. *American Journal of Physical Anthropology,* 141:208-221.

Fernandez, H. Hughes, S. Vigne, J. Helmer, D. Hodgins, G. Miquel, C. Hanni, C. Luikart, G. y Taberlet, P.
2006. Divergent mtDNA lineages of goats in Early Neolithic site, far from the initial domestication areas. *Proceeding of National Academy of Science,* 103:15375-15379.

Fiedel, S.
2000. The peopling of the new world: present evidence, new theories and future directions. *Journal of Archaeological Research,* 8:39-103.

Foster, P.

2004. Ice Ages and the Mitochondrial DNA Chronology of Human Dispersals: A Review. *Philosophical Transaction of the Royal Society of London Biological Science,* 359:255-264.

Foster, P. Harding, R. Torroni, A. y Bandelt, H.
1996. Origin and Evolution of Native American mtDNA Variation: A Reappraisal. *American Journal of Human Genetics,* 59:935-945.

Foster, R. y Eberspacher, B.
1999. Evidence of DNA epithelial cells of the hand of suspect found on the tool of the crime. *Arch Krimiol,* 203: 45-53.

Fox, C.
1996. Mitochondrial DNA Haplogroups in Four Tribes from Tierra del Fuego-Patagonia: Inferences about the Peopling of the Americas. *Human Biology,* 68:855-871.

Fuselli, S. Tarazona-Santos, E. Dupanloup, I. Soto, A. Luiseli, D y Pettener, D.
2003. Mitochondrial DNA Diversity in South America and the Genetic History of Andean Hihglanders. *Molecular Biology Evolution,* 20:1682-1691.

Garcia, F. Moraga, M. Vera, S. Henriquez, H. Llop, E. Aspillaga, E. y Rothhammer, F.
2006. mtDNA Microevolution in Southern Chile´s Archipielagos. *American Journal of Physical Anthropology,* 129: 473-481.

Garcia Bour, J. Pérez-Pérez, A. Alvárez, S. Fernández, E. López Parra, A. Arroyo Pardo, E y Turbón, D.
2004. Early Population Differentiation in Extinct Aborigenes from Tierra del Fuego-Patagonia: Ancient mtDNA Sequence and Y-Chromosome STR Characterization. *American Journal of Physical Anthropology,* 123:361-370.

Garcia-Herbst, A. Sterrn, C. Neff, H. Lanata, J. y Garcia-Albarido, L.
2007. Laser ablation Laser ablation ICP-MS analysis of black obsidian nodules from Pampa del Asador and archaeological samples from southernmost Patagonia. En: *Arqueología de Fuego-Patagonia. Levantando piedras, desenterrando huesos... y develando arcanos.* Edited by Flavia Morello, Mateo Martinic, Alfredo Prieto y Gabriel Bahamonde, pp. 235-246. Fundación CEQUA, Punta Arenas.

Garzón, L.
2003. La degradación natural del ADN: el concepto de edad térmica. *Revista Española de Antropología Biológica,* 23:56-76.

Gerstenberger, J. Hummel, S y B. Herrmann.
1998. Assignment of an isolated skeletal element to the skeleton of Duke Christian II. *Ancient Biomolecular,* 2:63-68

Gilbert, M. Bandelt, H. Hofreiter, M. y Barner, I.
2005. Assessing ancient DNA studies. *Trends in Ecology and Evolution,* 20: 541-544.

Gilbert, M. Djurhuus, D. Melchior, L. Lynnerup, N. Worobey, M. Wilson, A. Andreasen, C. y Dissing, J.
2007. mtDNA from hair and nails clarifies the genetic relationship of the 15th century Qilakitsoq Inuit mummies. *American Journal of Physical Anthropology,* 133:847-853.

Gilbert, T. Kivisild, T. Gronnow, B. Andersen, P. Metspalu, E. Reidla, M. Tamm, E. Axselsson, E. Ghoterstrom, A. Campos, P. Rasmussen, M. Metspalu, M. Higham, T. Schwenninger, J. Nathan, R. De-Hooj, C. Koch, A. Moller, L. Andreasen, C. Meldgaard, M. Villems, R. Bendixen, C. y Willerslev, E.
2008. Paleo-eskimo mtDNA reveals matrilineal discontinuity in Greenland. *Science,* 320:1787-1789.

Giles, R. Blanc, H. Cann, H. y Wallace, W.
1980. Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proceeding of National Academy of Science, USA,* 11:6715-6719.

Gill, P. Ivanov, P. Kimpton, C. Piercy, R. Benson, N. Tully, G. Evett, I. Hagelberg, E. y Sullivan, K.
1994. Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis. *Natural genetics,* 6:130-135.

Ginther, C. Issel-Tarver, L. y King, M.
1992. Identifying individuals by sequencing mitochondrial DNA from teeth. *Natural Genetics,* 6:135-138.

Ginther, C. Corach, D. Penacino, G, A. Rey, J, A. Carnese, F, R. Hutz, M, H. Anderson, A. Just, J. Salzano, F, M. y King, M, C.
1993. *Genetic variation among Mapuche Indians from the Patagonia region of Argentina: Mitochondrial DNA sequence variation and allele frequencies of several nuclear genes.* En: Pena SDJ, Chakraborty R, Epplen JT, Jeffreys AJ (Eds) *DNA fringerprinting: state of the science.* Birkhauser Verlag, Basel. Pp. 211-219.

Gobalet, K.
2001. A critique of faunal analysis: inconsistency among experts in blind test. *Journal Archeological Science,* 28:377-386.

Goebel, T.
1999. Pleistocene Human colonization of Siberia and peopling of the Americas: an ecological approach. *Evolutionary Anthropology,* 208-227.

Goebel, T. Waters, M. y O´Rourke, D.
2008. The Late Pleistocene Dispersal of Modern Humans in the Americas. *Science* 319:1497-1502.

González-José, R., Dahinten, S. y Hernández, M.
2001. The Settlement of Patagonia: A matrix Correlated Study. *Human Biology,* 73:223-248.

Gonzalez-Oliver, A. Marquez-Morfin, L. Jimenez, J. y Torre-Blanco, A.
2001. Founding amerindian mitocondrial DNA lineages in ancient Maya from Xcater, Quintana Roo. *American Journal of Physical Anthropology,* 116:230-235.

Goodwin, W. Linacre, A. y Vanzis, P.
1999. The use of mitocondrial DNA and short tandem repeat typing in the identification of air crash victims. *Electrophoresis,* 20:1707-1711.

Gradín, C.
1979. Arqueología del área Río Pinturas. *Relaciones,* 13:183-227.
1980. Secuencias radicarbónicas del Sur de la Patagonia Argentina. *Relaciones,* 14:177-194.

Green, L. Derr, J. y Knight, A.
2000. mtDNA Affinities of the Peoples of North-Central Mexico. *American Journal of Human Genetics,* 66:989-998.

Green, R. Krause, J. Ptak, S. Briggs, A. Ronan, M. Simons, J. Du, L. Egholm, M. Rothberg, J. Paunovic, M. y Pääbo, S.
2006. Analysis of one mililon base pair of Neanderthal DNA. *Nature,* 444:330-336.

Green, R. Krause, J. Briggs, A. Maricic, T. Stenzel, U. Kircher, M. Patterson, N. Li, H. Zhai, W. Fritz, M. Hansen, N. Durand, E. Malaspinas, A. Jensen, J. Bonet, T. Alkan, C. Prüfer, K. Meyer, M. Burbano, H. Good, J. Schultz, R. Petri, A. Butthof, A. Höber, B. Höffner, B. Siegemind, M. Weihmann, A. Nusbaum, C. Lander, E. Russ, C. Novod, N. Affrourtit, J. Egholm, M. Verna, C. Rudan, P. Brajkovic, D. Kucan, Z. Gusic, I. Doronichev, V. Golovanova, L. Lalueza-Fox, C. de la Rasilla, M. Fortea, J. Rosas, A. Schmitz, R. Johnson, P. Eichler, E. Falush, D. Birney, E. Mullikin, J. Slatkin, M. Nielsen, R. Kelso, J. Lachmann, M. Reich, D. y Pääbo, S.
2010. A draft sequence of the Neandertal genome. *Science,* 328:710-722.

Greenberg, J.
1960. The General Classification of Central and South American Languagues. En: *Men and Cultures: Selected Pappers of the 5th International Congress of Anthropological and Ethnological Science, 1956.* Edited by A. Wallace, pp 791-94. University of Pennsylvania Press, Philadelphia.
1987. *Language in the Americas.* Stanford University Press, Stanford.

Greenberg, J. y Ruhlen, M.
1992. Linguistic Origins of Native Americans. *Scientific American,* 267:60-65.

Hagelberg, E. Sykes, B. y Hedges, R.
1989. Ancient bone DNA amplified. *Nature,* 342:485-485.

Hamada, H. Petrino, M. y Kakunaga, T.
1982. A novel repeated element whit Z-DNA forming potential is widely found in evolutionary diverse eukaryote genome. *Proceeding of National Academic of Science, USA* 79:6465-6469.

Harihara, S. Hirai, M. Suutou, Y. Shimizu, K. y Omoto, K.
1992. Frecuency of a 9-bp Deletion in the Mitochondrial DNA among Asian Populations. *Human Biology,* 64:161-166.

Harris, E. y Hey, J.
1999. X chromosome evidence for ancient human histories. *Proceeding of National Academy of Science, USA,* 96:3320-3324.

Hassan, F.
1981. *Demographic Archaeology.* Academic Press. New York.

Hauswirth, W. Dickel, C. Doran, G. Laipis, P. y Dickel, D.
1991. 8000 year old brown tissue from the Windower site: anatomical, cellular and molecular analysis. En: Ortner, Donald y Aufderheide, Arthur (Eds). *Human Paleopathology. Current Synthesis and future options.* Washington: Smithsonian Institute Press. Pp 60-72.

Haynes, C, Jr.
1963. Elephant-hunting in North America. *Scientific American,* 214:104-112.

Herrmann, B y Hummel, S.
1994. Introduction. En: *Ancient DNA: recovery and analysis of genetic material from paleontological, archaeological, museum, medical and forensic specimen.* Springer-Verlag. New York. Pp. 1-12

Hey, J.
2005. On the Number of New World Founders: A Population Genetic Portrait of the Peopling of the Americas. *Plos Biology*, 3:0965-0975.

Higuchi, R. Bowman, B. Freiberger, M. Ryder, O. y Wilson A.
1984. DNA sequences from the quagga, an extinct member of the horse family. *Nature,* 312:282-284.

Hill, J.
2004. Evaluating historical linguistic evidence for ancient human communities in the Americas. En: Barton, C. Clark, G. Yesner, D and Pearson, G (Eds.). *The settlement of the American continent: A multidisciplinary Approach to Human Biogeography,* Pp. 39-48. University of Arizona Press, Tucson.

Hochmeister, M. Haberl, J. Borer, V. Rudin, O. y Dirnhofer, R.
1995. Clarification of break-in theft crime by multiplex PCR analysis of cigarette butts. *Arch Kriminol,* 2:353-359.

Hoffecker, J. Power, W. y Goebel, T.
1993. The colonization of Beringia and peopling of the New World. *Science,* 259:46-53.

Hoffman, J y Graham, R.
1998. The paleoindian cultures of the Great Plains. En: *Archaeology of the Great Plains.* R. Wood Ed. Pp 87-139.

Hofreiter, M. Serre, D. Poinar, H. Kuch, M. y Pääbo, S.
2001. Ancient DNA. *Genetics,* 2:353-359.

Horai, S. Kondo, R. Murayama, K. Hayashi, S. Koike, H. y Nakai, N.
1991. Phylogenetic affiliation of ancient contemporary humans inferred from mitochondrial DNA. *Philosophical Transactions: Biological Science,* 333:409-417.

Horai, S. Kondo, R. Hattori, Y. Hayashi, S. Sonoda, S y Tajima, K.
1993. Peopling of the Americas, Founded by Four Major Linages of Mitochondrial DNA. *Molecular Biology Evolution,* 10:23-47.

Horai, S. y Matsunaga, E.
1986. Mitochondrial DNA Polimorphisms II. Analysis with Restriction of Four and Five Base Pair Recognition. *Human Genetics* 72:105-117.

Horai, S. Murayama, K. Hayasaka, K. Matsubayashi, S. Hatori, Y. Fucharoen, G. y Harihara, S.
1996. mtDNA Polymorphism in East Asian Populations, with Special Reference to the Peopling of Japan. *American Journal of Human Genetics,* 59:579-590.

Howells, W.
1989. Skull Shapes and the Map: craniometric analyses and the dispersion of modern man. En: *Pappers of the Peabody Museum*. Harvard University Press, Cambridge. Pp. 37-79.

Hrdlička, A.
1920. Shovel-shaped Teeth*. American journal of Physical Anthropology,* 3:429- 465.

Hulbert, S. Richter, T. Axtell, J. y Bennetzen, J.
1990. Gennetic mapping and characterization of sorghum and related crops by means of maize DNA probes. *Proceeding of National Academy of Science, USA, 87:4251-4255.*

Hummel, S.
2003. *Ancient DNA tiping. Methods, strategies and applications.* Springer-Verlag. Berlin Heidelber. New York.

Hummel, S. Schultes, T. Bramanti, B. y Herrmann, B.
1999. Ancient DNA profiling by megaplex amplifications. *Electrophoresis,* 20: 1717-1721.

Human Medical College.
1980. *Study of an ancient cadaver in Mawantui tomb no.1 of the Han dynasty in Changsha.* Beijing Ancient Memorial Press, Beijing.

Huoponen, K. Torroni, A. Wickman, P. Sellito, D. Gurley, D. Scozzari, R. y Wallace, D.
1997. Mitochondrial and Y Chromosome Specific Polymorphism in the Seminole Tribe of Florida. *European Journal of Human Genetics,* 5:25-34.

Imbelloni, J.
1947. El poblamiento de América. *Revista de la Universidad de Buenos Aires* 1:9-35.

Jeffreys, A. Wilson, V.y Thein S.
1985. Individual specific "fingerprints" of human DNA. *Nature,* 316: 76-79.

Jehaes, E. Decorte, R. Peneau, A. Petrie, J. Boiry, P. Gilissen, A. Moisan, J. Van den Berghe, H. Pascal, O. y Cassiman, J.
1998. Mitochondrial DNA analysis on remains of putative son of Louis XVII, King of France and Marie-Antoinette. *European Journal of Human Genetics,* 6:383-395*.*

Johnson, M. Wallace, D. Ferris, S. Rattazzi, M. y Cavalli-Sforza, L.
1983. Radiation of human mitochondrial DNA types analyzed by restriction endonuclease cleavage patterns. *Journal of Molecular Evolution,* 19:255-271.

Johnson, P. Olson, C. y Goodman, M.
1985. Isolation and characterization of deoxyribolucleic acid from tissue of the woolly mammoth, *Mammuthus primigenius*. *Comp Biochem Physiol* 81:1045-1051.

Jones, M.
2003. Ancient DNA in Pre-Columbian Archaeology. A Review. *Journal of American Science,* 30:629-635.

Kadwell, M. Fernandez, M. Stanley, H. Baldi, R. Wheeler, J. Rosadio, R. y Bruford, M.
2001. Genetic analysis reveals the wild ancestors of the llama and the alpaca. *Proceeding of the Royal Society of London British,* 268:2575-2584.

Kaestle, F.
1998. Molecular evidence for prehistoric Native American population: the numic expansion. PhD. dissertation Manuscript. Departament of anthropology, University of California, Davis, CA.

Kaestle, F. y Horsburgh, K.
2002. Ancient DNA in Anthropology: Methods, Apliccations and Ethics. *Yearbook of Physical Anthropology,* 45:92-130.

Kaestle, F. y Smith, D.
2001. Ancient Mitochondrial DNA Evidence for Prehistoric Population Movement: The Numic Expansion. *American Journal of Physical Anthropology,* 115:1-12.

Kalmar, T. Bachrati, C. Marcsik, A. y Rasko, I.
2000. A simple and efficient method for PCR amplifiable DNA extraction from ancient bones. *Nucleic Acid Research,* 28:E67.

Keiser-Tracqui, C. Crubezy, E. y Ludes, B.
2003. Nuclear and Mitochondrial DNA Analysis of a 2000 Year Old Necropolis in Egyin Gol Valley in Mongolia. *American Journal of Human Genetics,* 73:247-260.

Kemp, B. Malhi, R. McDonough, J. Bolnik, D. Eshleman, J. Rickards, O. Labarga, C. Johnson, J. Lorenz, J. Dixon, E. Fifield, T. Heaton, T. Worl, R. y Smith, D.
2007. Genetic analysis of early Holocene skeletal remains from Alaska and its implications for the settlement of Americas. *American Journal of Physical Anthropology,* 132:625-621.

Kemp, B. Monroe, C.y Smith, D.
2006. Repeat Silica Extraction: A Simple Technique for the Removal of PCR Inhibitors from DNA Extracts. *Journal of Archarological Science,* 33:1680-1689.

Kimura, B. Brandt, S. Hardy, B. y Hauswirth, W.
2001. Analysis of DNA from ethnoarchaeological stone scrapers. *Journal of Archaeological Science,* 28:45-53.

Kitchen, A. Miyamoto, M. y Mulligan, C.
2008. *A Three Stages Colonization Model of the Peopling of Americas.* Plos One 3:1-7.

Klein, J.
1986. *Natural History of the Major Histocompatibility Complex*. Wiley, New York.

Kolman, C. y Bermingham, E.
1995. Reduce mtDNA Diversity in the Ngöbé amerinds of Panamá. *Genetics,* 140:275-283.

Kolman, C. Sambuughin, N. y Bermingham, E.
1996. Mitochondrial DNA Analysis of Mongolian Populations and Implications for the Origin of New World Founders. *Genetics,* 142:1321-1334.

Krafft, A. Duncan, B. Bijward, K. Taubenberger, J. y Lichy, J.
1997. Optimization of the isolation and amplification of RNA from formalin-fixed, paraffin-embedded tissue: The Armed Forces Institute of Pathology experience and literature review. *Molecular Diagnosti,* 2:217-230.

Kraytsberg, Y. Schwartz, M. Brown, T. Ebralidse, K. Kunz, W. Clayton, W. Vissing, J. y Khrapko, K.
2004. Recombination of human mitochondrial DNA. *Science,* 304:981-983.

Krings, M. Capelli, C. Tschentscher, F. Geisert, H. Meyer, S. von Haeseler, A. Ghossschmidt, K. Possnert, G. Paunovic, M. y Pääbo, S.
2000. A view of Neanderthal genetic diversity. *Nature,* 26:144-146.

Krings, M. Geisert, H. Schmitz, R. Krainitzki, H. y Pääbo, S.

1999. DNA sequences of the mitochondrial hypervariable region II from the Neandertalspecimen. *Proceeding of National Academy of Science, USA,* 96:5581-5585.

Kuch, M. Grocke, D. Knyf, M. Thomas, M. Gilbert, P. Younghusband, B. Young, T. Marshall, I. Willerslev, E. Stoneking, M. y Poinar, H.
2007. A Preliminary Analysis of the DNA and Diet of the Extinct Beothuk: A Sistematic Approach to Acient Human DNA. *American Journal of Physical Anthropology*, 132:594-604.

Kunz, M y Reanier, R.
1994. Paleoindians in Beringia. Evidence from Artic Alaska. *Science,* 263:660-662.

Lalueza-Fox, C. Calderon, F. Calafell, F. Morera, B. y Bertranpetit, J.
2001. MtDNA from extinct Tainos and the peopling of Caribean. *Annals of Human Genetics,* 65: 137-151.

Lalueza-Fox, C. Gilbert, T. Martinez-Fuentes, A. Calafell, F. y Bertranpetit, J.
2003. Mitochondrial DNA from pre-Columbian Ciboneys from Cuba and the prehistoric colonization of the Caribean. *American Journal of Physical Anthropology,* 121:97-108.

Lalueza, C, Pérez, A, Prats, E. Cornudella, L. y Turbon, D.
1997. Lack of founding Amerindian mtDNA lineages in extinct Aborigines from Tierra del Fuego-Patagonia. *Human Molecular Genetics,* 6:41-46.

Lalueza, C. Perez, A. Prats, E. Moreno, P. Pons, J. y Turbon, D.
1993-1994. Ausencia de la deleción de 9 bp COII/tRNALys en aborígenes de Fuego-Patagonia mediante análisis de ADN antiguo. *Anales del Instituto de la Patagonia,* 22:181-191.

Laderer, T. Betz, P. y Seidl, S.
2001. DNA analysis of fingernail debris using different multiplex systems: a case report. *Intenational Journal of Legal Medicine,* 114: 263-266.

Lanata, J.L.
1996. Cambios para evolucionar: las propiedades del registro arqueológico y la evolución de los grupos humanos en Patagonia y Tierra del Fuego. En: *Arqueología. Solo Patagonia.* J. Gómez Otero Eds. Pp. 99-196. CENPAT-CONICET. Pto. Madryn.
2010. Discutiendo diferentes modelos de la dispersión humana en las Américas. En El Hombre Temprano en América, José Concepción Jiménez ed. Mexico DF. en prensa.

Lanata, J.L. y Garcia-Herbst, A.
2005. *Environmental corridors and early humans in South America.* Paper presented at the 70th Annual Meeting of the Society for American Archaeology. Salt Lake City.

Lanata, J.L., Guraieb, A. Cardillo, M. Pineau, V. y Rosenfeld, S.
2002. Corrientes teóricas en arqueología durante el Siglo XX. *Serie fichas de cátedra Fundamentos de Prehistoria. Oficina de publicaciones de la Facultad de Filosofía y Letras. Universidad de Buenos Aires.*

Lanata, J. Martino, L. y Osella, A.
2006. Explorando la dispersión humana en Sudamérica a través de simulaciones. *Paper presented at the IX Congreso de la Asociación Latino Americana de Antropología Biológica and Asociación Brasilera de Antropología Biológica. Ouro Pretto.*

Lanata, J. Martino, L. Osella, A. y Garcia-Herbst, A.
2008. Demographic conditions necessary to colonize new spaces: The case for early human dispersal in the Americas. *World Archaeology,* 40:520-537.

Larson, G. Albarella, U. Dobney, C. Rowley-Conwy, P. Schibler, J. Tresset, A. Vigne, J. Edwards, C. Schlumbaum, A. Dinu, A. Balacsescu, A. Dolman, G. Tagliacozzo, A. Manaseryan, N. Mirade, P. Bakker, L. Masseti, M. Bradley, D. y Cooper, A.
2007. Ancient DNA, pig domestication, and the spread of the Neolithic into Europe. *PNAS* 104:15276-15281.

Lassen, C. Humme, S. y Herrmann, B.
1994. Comparison of DNA extraction and amplification from ancient human bone and mummified soft tissue. *Intenational Journal of Legal Medicine,* 107:152-155.

Lessig, R. Zoledziewska, M. Fahr, K. Edelmann, J. Kostrzewa, M. Dobosz, T. y Kleemann, W.
2005. Y-SNP-genotiping – a new approach in forensic analysis. *Forensic Science International,* 154:128-136.

Lewis Jr. C. Tito, R. Lizárraga, B. y Stone, A.
2004. Land, Language and Loci: mtDNA in Native Americans and the genetic history of Peru. *American Journal of Physical Anthropology*, 127:351-360.

Lia, B. Confalonieri, V. Ratto, N. Hernandez, J. Alzogaray, A. Poggio, L. y Brown, T.
2007. Microsatellite typing of ancient Maize: insights into the history of agriculture in southern South America. *Proceeding of Royal Society British,* 274:545-554.

Loreille, O. Vigne, J. Hardy, C. Callou, C. Treinen-Claustre, F. Dennebouy, N. y Monnerot, M.
1997. First distinction of sheep and goat archaeological bones by the means of their fossil mtDNA. *Journal of Archaeological Science,* 24:33-37.

Lorenz, J. y Smith, D.
1996. Distribution of Four Founding mtDNA Haplogroups among Native North Americans. *American Journal of Physical Anthropology,* 101:307-323.
1997. Distribution of Sequence Variation in the mtDNA Control Region of Native North Americans. *Human Biology,* 69:749-776.

Luciani, S. Fornaciari, G. Rickards, O. Labarga, C. y Rollo, F.
2006. Molecular characterization of a pre-columbian mummy in situ cropolite. *American Journal of Physical Anthropology,* 129:620-629.

Lum, J. Rickards, O. Ching, C. y Cann, R.
1994. Polynesian Motichondrial DNAs Reveal Three Deep Maternal Lineage Cluster. *Human Biology,* 66:567-590.

Lynch, T.
1983. *The paleo-indians.* En: Ancient South Americans. Edited by J.D. Jennings and W.H. Freeman, San Francisco. Pp 87-137.
1991a. Lack of evidence for glacial-age settlement of South America: reply to Dillehay and Collins and Gruhn and Bryan. *American Antiquity 56*: 348-355.
1991b. Paleo Indians in South America: a discrete and identificable cultural stage? En: *Clovis: origins and adaptations.* Edited by R. bonnichsen and K.L. Tummire. Center for the study of the first Americans, Oregon State University, Corvallis. Pp. 255-259.
1991c. Buscando a los primeros americanos: problemas y polémicas en Monte Verde. *Revista de arqueología americana, 3*:12-36.
1992. La realidad del concepto paleoindio en contra de las protestas de MacNeish, Bryan y Gruhn. *Revista de Arqueología Americana,* 5:249-261.

Macaulay, V. Richards, M. Hickey, E. Vega, E. Cruciani, F. Guida, V. Acozzari, R. Bonné-Tamir, B. Sykes, B. y Torroni, A.
1999. The Emerging Tree of West Eurasian mtDNAs: A Synthesis of Control Region Sequence and RFLPs. *American Journal of Human Genetics,* 64:232-249.

Malhi, R.
2001. Investigating prehistoric population movements in North America with ancient and modern mtDNA. Ph.D. dissertation. Manuscript on file, Department of Anthropology, University of California, Davis, CA.

Malhi, R. Kemp, B. Eshleman, J. Cybulski, J. Smith, D. Cousins, S. y Harry, H.
2007. Mitochondrial haplogroup M discovered in Prehistoric North Americans. *Journal of Archaeological Science,* 34:642-648.

Malhi, R y Smith, D.
2002. Brief Comunication: Haplogroup X Confirmed in Prehistoric North America. *American Journal of Physical Anthropology,* 119:84-86.

Margulis, L.
1976. Genetic and evolutionary consequences of symbiosis. *Exp. Parasitol,* 39:277-249.

Marín, J. Zapata, B. Gonzalez, B. Bonacic, C. Wheeler, J. Casey, C. Bruford, M. Palma, R. Poulin, E. Alliende, M. y Spotorno, A.
2007. Sistemática, taxonomia y domesticación de alpacas y llamas: nueva evidencia cromosómica y molecular. *Revista Chilena de História Natural,* 80:121-140.

Marín, J. Casey, C. Kadwell, M. Yaya, K. Hoces, H. Olazabal, J. Rosadio, R. Rodriguez, J. Spotorno, A. Bruford, M.y Wheeler, J.
2007. Mitochondrial phylogeograhy and demographic history of the Vicuña: implications for conservation. *Heredity,* 99:1-11.

Marín, J. Spotorno, A. Gonzalez, B. Bonacic, C. Wheeler, J. Casey, C. Bruford, M. Palma, R. y Poulin, E.
2008. Mitochondrial DNA variation and systematics of the Guanaco *(Lama Guanicoe, Artiodactyla: Camelidae). Journal of Mammalogy,* 89:269-281.

Martin, P.S.
1973. The discovery of America. *Science,* 179:969-74.

Martino, L. Osella, A. Dorso, C. y Lanata, J.
2007. Fisher equation for anisotropic diffusion simulating South American Human dispersal. *Physical Review,* E. 76.

Matisoo-Smith, E. Allen, J. Ladefoged, T. Roberts, R. y Lambert, D.
1997. Ancient DNA from Polynesian rats: extraction, amplification and sequence from single small bones. *Electrophoresis,* 18:1534-1537.

Matisoo-Smith, E. y Allen, J.
2001a. Name that rat: molecular and morphological identification of the Pacific rodent remains. *International Journal of Osteoarcheology,* 11:34-42.

Matisoo-Smith, E. Horsburgh, K. Robins, R. y Anderson, A.
2001b. Genetic variation in archaeological *Rattus exulans* remains from the Emily Bay settlement site, Norfolk Island. *Rec. Aus. Mus. [Suppl]* 27:81-84.

Matsuoka, Y. Vigouroux, Y. Goodman, M. Sanchez, J. Buckler, E. y Doebley, J.
2002. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceeding of National Academy of Science, USA, 99: 6080:6084.*

Mawk, E. Hyman, M. y Rowe, W.
2002. Re-examination of ancient DNA in Texas rock paintings. *Journal of Archaeological Science* 29:301-306.

Melton, T. Peterson, R. Redd, A. Saha, N. Sofro, A. Martinson, J. y Stoneking, M.
1995. Polynesian Genetic Affinities with Southeast Asian Populations as Identified by mtDNA Analysis. *American Journal of Human Genetics,* 57:403-414.

Meltzer, D.
1992. Pleistocene peopling of the Americas. *Evolutionary Anthropology,* 1: 157-169.

Mena, F.
1997. Middle to late Holocene adaptations in Patagonia. En: *The Peopling of Patagonia:natural history, prehistory and ethnography at the uttermost end of the Earth.*Edited by McEwan, C. Borrero, L. and Prieto, A. Princenton University Press. Princenton, New Jersey. Pp. 46-59.

Menghin, O.
1952. Fundamentos cronológicos de la prehistoria de Patagonis. *Runa,* 5:23-43.

Merriwether, D. y Ferrell, R.
1996. The four founding lineague hypothesis for the new world: a critical reevaluation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 5:241-246.

Merriwether, D. Hall, W. Vahine, A. y Ferrell, R.
1996. mtDNA Variation Indicates Mongolia May Have Been the Source for the Founding Population for the New World. *American Journal of Human Genetics,* 59:204-212.

Merriwether, A. Reed, D. y Ferrell, R.
1997. Ancient and contemporary mitochondrial DNA variation in the Maya. En: *Bones of ancient Maya: estudies of ancient skeletons.* Whittintong, Steve y Reed, David (Eds.). Washington DC, Smithsonian Institute press, pp. 208-217.

Merriwether, D. Rothhammer, F. y Ferrell, R.
1994. Genetic Variation in the New World: Ancient Teeth, Bone, and Tissue as Sources of DNA. *Experientia,* 50:592-601.
1995. Distribution of the four founding lineage haplotypes in native Americans suggest a single wave of migration for the new world. *American Journal of Physical Anthropology*, 4:411-430.

Mesa, N. Mondragón, M. Soto, I. Parra, M. Duque, C. Ortíz-Barrientos, D. Garcia, L. Velez, I. Bravo, M. Munera, J. Bedoya, G. Bortolino, M y Ruiz-Linares, A.
2000. Autosomal, mtDNA and Y-Chromosome Diversity in Amerinds: Pre and Post-columbian Patterns of Gene Flow in South America. *American Journal of Human Genetic,* 67:1277-1286.

Meyer, D. y Thomson, G.
2001. How selection shapes variation of the human major histocompatibility complex: a review. *Annals of Human Genetics,* 65:1-26.

Miotti, L.
2003. Patagonia: A Paradox for Building Images of the First American During Pleistocene/Holocene Transition. *Quaternary International* 109-110:77-86.

Miotti, L y Salemme, M.
2003. When Patagonia Was Colonized: People Mobility at High Latitudes During Pleistocene/Holocene Transition. *Quaternary International,* 109-110: 77-86.

Monsalve, M. Cardenas, F. Gruhl, F. Delaney, A. y Devine, D.
1996. Phylogenetic Aalysis of mtDNA Lineages in South American Mummies. *Annals of Human Genetics,* 60:293-303.

Montiel, R. Malgosa, A. y Francalacci, P.
2001. Authenticating Ancient Human Mitochondrial DNA. *Human Biology, 73:689-713.*

Moore, J y Moseley, M.
2001. How many frogs does it take to leap around the Americas? Comments on Anderson and Gillam. *American Antiquity,* 66:526-529.

Moraga, M. Aspillaga, E. Santoro, C. Standen, V. Carvallo, P. y Rothhammer, F.
2001. Análisis del ADN mitocondrial en momias del Norte de Chile avala la hipótesis del origen amazónico de las poblaciones andina. *Revista Chilena de Historia Natural*, 74:719-726.

Moraga, G. Mena, F. Reyes, O. Barrientos, G. Goñi, R. Franco, N.y Borrero, L.
2009. Linajes mitocondriales fundadores en restos humanos prehistóricos de Patagonia y Tierra del Fuego. Trabajo presentado en las Novenas Jornadas Nacionales de Antropología Biológica. Puerto Madryn.

Moraga, M. Rocco, P. Miquel, J. Nervi, F. Llop, E. Chkraborty, R. Rothhammer, F. y Carvallo, P.
2000. Mitochondrial DNA Polymorphisms in Chilean Aboriginal Populations. Implications for the Peopling of the Southern Cone of the Continent American. *American Journal of Physical Anthropology,* 113:19-29.

Moraga, M. Santoro, C. Standen, V. Carvallo, P y Rothammer, F.
2005. Microevolution in Prehistoric Andean Populations: Chronologic mtDNA Variation in the Desert Valleys of Northern Chile. *American Journal of Physical Anthropology,* 127:170-181.

Morlan, R.
1987. The Pleistocene archaeology of Beringia. En: *The evolution of human hunting.* M. Nitecki y D. Nitecki Eds. Plenum Press. New York. Pp 267-307.

Mosimann, J.E. y Martin, P.
1975. Simulating overkill by paleoindians. *American Scientist,* 63:305-313.

Mountain, J y Cavalli-Sforza, L.
1997. Multilocus genotypes, a tree of individuals and human evolutionary history. *American Journal of Human genetics,* 61:705–718.

Mulligan , C.
2006. Anthropological applications of ancient DNA: problems and prospects. *American Antiquity, 71:386-380.*

Mullis, K. y Faloona, F.
1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polumerase-catalysed chain reaction. *Methodology Enzymology,* 155:335-350.

Neves, W. y Hubbe, M.
2005. Cranial Morphology of Early Americans from Lagoa Santa, Brazil: Implications from the Settlement of the New World. *Proceeding of the National Academy of Science,* 102:18309-18314.

Neves, W. y Pucciarelli, H.
1989. Extracontinental Biological Relationships of Early South American Human Remains: A Multivariate Analysis. *Ciencia e Cultura,* 41:566.575.
1991. Morphological Affinitiesof the Firts Americnas: An Exploratory Analysis Based On Early South American Human Remains. *Journal of Human Evolution,* 21:261-273.

Nettle, D.
1999. Linguistic diversity of the Americas can be reconciled with a recent colonozation. *Proceedings of the National Academy of Science,* 96:3325-3329.

Nichols, J.
1990. Linguistic diversity and the first settlement of the New World. *Language,* 66: 475–521.
1992. *Linguistic diversity in space and time.* University of Chicago Press, Chicago.
1997. Modeling Ancient Population Structure and Movement in Linguistic. *Annual Review of Anthropology,* 359-384
1998. The first four discoveries or America: Linguistic evidence. *Paper presented at the 1998 Annual Meeting of the American Association for the Advance of Science, Philadelphia.*

O´Rourke, D. Hayes, M. y Carlyle, S.
2000a. Ancient DNA Studies in Physical Anthropology. *Annual Review of Anthropology,* 29:217-242.
2000.b Spatial and Temporal Stability of mtDNA Haplogroup Frequencies in Native North America. *Human Biology,* 72:15-34.

Orquera, L.
1987. Advancese in the Archaeology of Pampa and Patagonia. *Journal of World Prehistory,* 1:333-413.

Ossenberg, N.
1994. Origins and Affinities of the Native Peoples of Northwestern of North America: The Evidence of Cranial Nonmetric Traits. En: *Method and Theory for the Investigating the Peopling of the Americas.* Ed. R. Bonnichsen and D. Gentry Steele. Corvallis OR: Center for the Study of the First Americans. Departament of Anthropology, Oregon State University. Pp.79-115.

Ovchinnikov, I. Götherström, A. Romanova, G. Kharitonov, V. Liden, K. y Goodwin, W.

2000. Molecular analisys of Neanderthal DNA from Northern Caucasus. *Nature,* 404:490-493.

Pääbo, S.
1984. Über den Nachweis von DNA in altägyptischen Mumien. *Das Altertum,* 30:213-218.

Pääbo, S. Higuchi, R. y Wilson, A.
1989. Ancient DNA and the Polimerase Chain Reaction. *The Journal of Biological Chimestry,* 264:9709-9712.
Pääbo, S. Poinar, H. Serre, D. Despres, V. Hebler, J. Rholand, N. Kuch, M. Krause, J. Vigilant, L. y Hofreiter, M.
2004. Genetic Analyses of Ancient DNA. *Annual Review of Genetics,* 38:645-679.

Pakendorf, B. y Stoneking, M.
2005. Mitochondrial DNA and human evolution. *Annual Review of Human Genetics,* 6:165-183.

Parr, R. Carlyle, S. y O´Rourke, D.
1996. Ancient DNA Analysis of Fremont Amerindians of Great Salt Lake Wetlands. *American Journal of Physical Anthropology,* 99:507-518.

Pearson, G.
2004. Pan-american paleoindian dispersal and the origins of fishtail projectile points as seen through the lithic raw-material reduction strategies and tool-manufacturing techniques at the guardiria site, Turrialbe valley, Costa Rica. In: Barton, C. Clark, G. Yesner, D and Pearson, G (Eds.). *The settlement of the American continent: A multidisciplinary Approach to Human Biogeography,* Pp: 85-102. University of Arizona Press. Tucson.

Persing, D. Telford, S. Rys, P. Dodge, D. White, T. Malawista, S. y Spielman, A.
1990. Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA in museum specimens of ixodes dammini ticks. *Science,* 249:1420-1423.

Petrishchev, V. Kutuyeva, A. y Rychkov, Y.
1993. Region V Deletions and Insertions in mtDNAs from Ten Mongoloid Populations of Siberia. *Genetika,* 29:1196-1203.

Poinar, H.
2003. The top 10 list: criteria of authenticity for DNA from ancient and forensic samples. *International Congress Series,* 1239:575-579.

Poinar, H. Kuch, M. Sobolik, K. Barnes, I. Stankiewicz, B. Kuder, T. Spaulding, W. Bryant, V. Cooper, A. y Pääbo, S.
2001. A molecular analysis of dietary diversity for three archaic Native Americans. *Proceeding of the National Academi of Science, USA,* 98:4317-4322.

Poinar, H. y Stankiewicz, B.
1999. Protein preservation and DNA retrieval from ancient tissues. *Proceeding of the National Academi of Science, Usa, 96:8426-8431.*

Politis, G.
1991. Fishtail projectile point in the southern cone of South America: an overview. Edited by R. Bonnichsen and K.L. Tummire. En: *Clovis.Origins and adaptations.* Center for the study of the first Americans. Pp. 287-301. Oregon.
1995. The Human Impact in Plistocene-Holocene Extinctions in South America. The Pampean Case. En: *Ancient Peoples and Landscapes.*E. Johnson Ed. Museum of Texas Tech University. Lubbock. Texas. Pp. 185-205.
2000. *La Estructura del Debate Sobre el Poblamiento de América*. Boletín de Fian Bogota.

Powell, J.
2005. *The First Americans. Race, Evolution and the Origin of Native Americans.* Cambridge University Press. Cambridge.

Powell, J. y Neves, W.
1999. Craniofacial Morphology of the First Americans: Pattern and Process in the Peopling of the New World. *American Journal of Physical Anthropology,* 29:153-158.

Powell, J. Neves, W. Ozolins, E. y Pucciarelli, H.

1999. Afinidades biológicas extracontinentales de los dos esqueletos más antiguos de América: implicaciones para el poblamiento del Nuevo Mundo. *Antropología Física Latinoamericana,* 2:7-22

Raoult, D. Aboudharan, G. Crubezy, E. Larrouy, G. Ludes, B. y Drancourt, M.
2000. Molecular identification by "suicide PCR" of *Yersinia pestis* as the agent of Medieval Black Death. *Proceeding of the National Academi of Science, Usa,* 97:12800-12803.

Rasmussen, M. Li, Y. Lindgreen, S. Pedersen J. Albrechtsen, A. Moltke, I. Metspalu, M. Metspalu, E. Kivisild, T. Gupta, R. Bertalan, M. Nielsen, K. Gilbet, T. Wang, Y. Raghavan, M. Campos, P. Kamp, H. Wilson, A. Gledhill, A. Tridico, S. Bunce, M. Lorenzen, E. Binladen, J. Guo, X. Zhao, J. Zhang, X. Zhang, H. Li, Z. Chen, M. Orlando, L. Kristianse, K. Bak, M. Tommerup, N. Bendixen, C. Pierre, T. Gronnow, B. Meldgaard, M. Andreasen, C. Fedorova, S. Osipova, L. Higham, T. Ramsey, C. Hansen, T. Nielsen, F. Crawford, M. Brunak, S. Pontén, T. Villems, R. Nielsen, R. Krogh, A. Wang, J. y Willerslev, E.
2010. Ancient human genome sequence of an extinct Paleo-Eskimo. *Nature,* 463:757-762.

Redd, A. Takezaki, N. Sherry, S. McGarvey, S, Sofro, A. y Stoneking, M.
1995. Evolutionary History of the COII/*t*RNA Intergenic 9-Base Pair Deletion in human Mitochondrial DNAs from the Pacific. *Molecular Biology and Evolution* 12:604-615.

Redman, C.
1990. *Los origenes de la civilización. Desde los primeros agricultores hasta la sociedad en el próximo Oriente.* Crítica, Barcelona.

Reese, R. Hyman, M. Rowe, M. Derr, J. y Davis, S.
1996. Ancient DNA from Texas pictoghraps. *Journal of Archaeological Science,* 23:269-277.

Renfrew, C.
2000. Archaeogenetics: Towards a Population Prehistory of Europe. En: *Archaeogenetics: DNA and the population prehistory of Europe*. Renfrew, C. y Boyle, K. (Eds). McDonald Institute Monographs. Cambridge UK.

Ribeiro Dos Santos, A. Santos, S. Machado, A. Guapindaia, V. y Zago, M.
1996. Heterogeneity of Mitochondrial DNA Haplotypes in Pre-Columbian Natives of the Amazon Region. *American Journal of Physical Anthropology,* 101:29-37.

Richards, M. Corte-Real, H. Forster, P. Macaulay, V. Wilkinson-Herbots, H. Demaine, A. Papiha, S. Hedges, R. Bandelt, H. y Sykes, B.
1996. Paleolithic and Neolithic Lineages in the European Mitochondrial Gene Pool. *American Journal of Human Genetics,* 59:185-203.

Richards, O. Martinez-Labarga, C. Lum, J. De Stefano, G. y Cann, R.
1999. mtDNA History of the Cayapa Amerinds of Ecuador: Detection of Additional Founding Lineages for the Native Americans Populations. *American Journal of Humans Genetics,* 65:519-530.

Rocco, P. Morales, C. Moraga, M. Miquel, J.P. Nervi, F. Llop. E. Carvallo, P. y Rotthammer, F.
2002. Composición genética de la población chilena. Distribución de polimorfismos de ADN mitocondrial en grupos originarios y en la población mixta de Chile. *Revista Médica de Chile,* 130(2):125-131.

Rodríguez-Delfín, L. Rubin-de-Celis, V y Zago, M.
2001. Genetic Diversity in Andean Population from Peru and Regional Migration Patterns of Amerindians in South America: Data from Y chromosome and Mitochondrial DNA. *Human Heredity,* 51:97-106.

Rogan, P y Salvo, J.
1990. Molecular genetics of pre-Columbian South American Mummies. UCLA, *Simposium of Molecular Cellular Biology,* 122:223-234.

Rollo, F. Asci, W. Antonini, S. Maroti, I. y Ubaldi, M.
1994. Molecular ecology of Neolithic meadow: the DNA of the grass remains from the archaeological site of the Tyrolean Iceman. *Experientia,* 50:576-584.

Rosenberg, N. Li, L. Ward, R. y Pritchard, J.
2003. Informativeness of genetic markers for inference of ancestry. *American Journal of Human Genetics,* 73:1402-1422.

Rothhammer, F. Moraga, M. Rivera, M. Santoro, C. Standen, V. Garcia, F. y Carballo, P.
2003. Análisis de ADNmt de restos esqueletales del sitio arqueológico de Tiwanaku y su relación con el origen de sus constructores. *Chúngara,* 35:269-274.

Rubicz, T. Schurr, T. y Crawford, M.
2003. Mitochondrial DNA variation and the origins of the Aleut. *Human Biology* 75:809-835.

Ruhlen, M.
1987. *A Guide to the World´s Lenguajes.* Vol. 1: Clasification. Stanford University Press, Stanford.

Ruhlen, M.
1991. The Amerind Phylum and the Prehistory of the New World. En: *Sprung from Some Common Source: Investigations into the Prehistory of Lenguajes.* Edited by S. Lamb and E. Douglas Mitchell. Stanford University Press. Stanford
1994. Linguistic Evidence for the Peopling of the Americas. In: *Method and Theory for the Investigating the Peopling of the Americas.* Pp: 177-188. Ed. R. Bonnichsen and D. Gentry Steele. Center for the Study of the First Americans. Departament of Anthropology. Oregon State University.

Saiki, P. Scharf, S. Faloona, F. Mullis, K. Horn, G. Erlich, H. y Arnheim, N.
1985. Enzymatic amplificacion of P-globulin genomic sequence and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science,* 230: 1350-1354.

Saillard, J. Forster, P. Lynnerup, N. Bandelt, J. y Norby, S.
2000. mtDNA Variation among Greenlad Eskimos: The Edge of the Beringian Expansion. *American Journal of Human Genetics* 67:718-726.

Salamon, M. Tuross, N. Arensburg, B. y Weiner, S.
2005. Relatively well preserved DNA is present in the crystal aggregates of fosil bones. *Proceeding of the National Academi of Science, Usa,* 102:13783-13788.

Salo, W. Aufderheide, A. Buikstra, J. y Holcomb, T.
1994. Identification of *mycobacterium tuberculosis* DNA in a pre-Columbian mummy. *Proceeding of the National Academi of Science, USA,* 91:2091-2094.

Salzano, F.
2002. Molecular Variability in the Amerindians: Widespread but Uneven Information. *Anais da Academia Brasileira da Ciencias,* 74:223-263.

Santos, M. Ward, R. y Barrantes, R.
1994. mtDNA Variation in the Chibcha Amerindian Huetar from Costa Rica. *Human Biology* 66:963-977.

Sauer, C.O.
1944. A Geographical Sketch of Early Man in America. *Geographical Review,* 34:543-554.

Schneider, H. y Neuhuber, F.
1996. Detection of saliva traces on perpetrator masks and their attribution to a particular criminal. *Arch Kriminol,* 198:31-37.

Schurr, T.
1997. The Nature of mtDNA Variation in Native Americans: Founding Lineages, “others” Haplotypes, and Genetic Diversity of Ancestral Populations. *Paper presented at the 66th Annual Meeting of the American Association of Physical Anthropology, St. louis, Mo.*
2003. Molecular Genetic Diversity of Siberian Populations: Implications for Ancient DNA Studies of Archaeological Populations from the Cis-Baikal Region. En:*Prehistoric Foragers of the Cis-Baikal, Siberia: Proceedings from the First*

Conference of the Baikal Archaeology Project. Edited by A. Weber, H, McKenzie, and R. Bettinger. Canadian Circumpolar Institute, Edmonton, Alberta.
2004. *An Anthropological Genetic View of the Peopling of the New World.* En: The settlement of the American continent: A multidisciplinary Approach to Human Biogeography. University of Arizona Press. Tucson. Pp, 11-27.

Schurr, T. Ballinger, S. Gan, Y. Hodge, J. Merriwether, D. Lawrence, D. Knowler, W. Weiss, K. y Wallace, D.
1990. Amerindian Mitochondrial DNAs Have a Rare Asian Variant at High Frecuencies Suggesting They Derived from Four Primary Maternal Lineages. *American Journal of Human Genetics,* 46:613-623.

Schurr, T. Starikovskaya, Y. Sukernik, R. Torroni, A. y Wallace, D.
2000. Mitochondrial DNA Diversity in Lower Amur River Populations, and its Implications for the Genetic History of the North Pacific and the New World. *American Journal of Physical Anthropology,* 30:274-275.

Schurr, T. y Wallace D.
1999. mtDNA variation in native Americans and Siberians and its implications for the peopling of the New World. En: Who were the first Americans: proceedings of the 58th Annual Biology Colloquiun, Oregon State University, edited by R. Bonnichsen, pp 41-77. Center for the study of the first Americans, Oregon State University, Corvallis.

Schmitz, K.
2004. A review of bioarchaeological thought on the peopling of the New World. En: Barton, C. Clark, G. Yesner, D and Pearson, G (Eds.). *The settlement of the American continent: A multidisciplinary Approach to Human Biogeography,* Pp: 94-75. University of Arizona Press. Tucson.

Scott G. y Turner II, C.
1998. *Dental Anthropology. Annual Review of Anthropology,* 17:99-126.

Scozzari, R. Cruciani, F. Santolamazza, P. Vona, G. Moral, P. Latini, V. Varesi, L. Memmi, M. Romano, V. DeLeo, G. Gennarelli, M. Jaruzelska, J. Villenms, R. Parik, J. Macaulay, V. y Torroni, A.
1997. mtDNA and Y-Chromosome Specific Polymorphisms in Modern Ojibwa: Implications about the Origins of Their Gene Pool. *American Journal of Human Genetics,* 60:241-244.

Seldin, M. Tian, C. Shigeta, R. Scherbarth, H. Silva, G. Belmont, J. Kittles, R. Gamron, S. Allevi, A. Palatnik, S. Alvarellos, A. Paira, S. Caprarulo, C. Guilleron, C. Catoggio, L. Prigione, C. Berbotto, G. Garcia, M. Perandones, C. Pons-Estel, B. y Riquelme, M.
2007. Argentine population genetic structure: large variance in Amerindian contribution. *American Journal of Physical Anthropology,* 132:455-462.

Scozzari, R. Cruciani, F. Malaspina, P. Santomalazza, P. Ciminelli, B. Torroni. A. Modiano, D. Wallace, D. Kidd, K. Olckers, A. Moral, P. Terrenato, L. Akar, N. Qamar, R. Mansoor, A. Mehdi, S. Meloni, G. Vona, G. Cole, D. Cai, W. y Novelletto, A.
1997. Differential structuring of human populations for homologous X and Y microsatellite loci. *American Journal of Human Genetics,* 61:719-733.

Shanks, O. Bonnichsen, R. Vella, A. y Ream, W.
2001. Recovery of protein and DNA trapped in stone tool microcracks. *Journal of Archaeological Science,* 28:956-972.

Shastry, B.
2002. SNP alleles in human disease and evolution. *American Journal of Human Genetics,* 47:561-566.

Shennan, S.
2000. Population, Culture History and Change. *Current Anthropology,* 41:811- 835.
2002. *Genes, Memes and human history, Darwinian archaeology and cultural evolution.* Thames & Hudson Ltd, London.

Shields, G. Hecker, K. Voevoda, M. y Reed, J.
1992. Absence of the Asian Specific Region V Mitochondrial Marker in the Native Beringians. *American Journal of Human Genetics,* 50:758-765.

Shields, G. Schmiechen, A. Frazier, B. Redd, A. Voevoda, M. Reed, J. y Ward, R.

1993. mtDNA Sequence Suggest a Recent Evolutionary Divergence for Beringian and Northern North American Populations. *American Journal of Human Genetics,* 53:549-562.

Shimada, I. Shinoda, K. Farnum, J. Corruccini, R. y Watanabe, H.
2004. An integrated analysis of pre-hispanic mortuary practices. *Current Anthropology,* 45:369-402.

Shinoda, K. Adachi, N. y Guillen, S.
2006. Mitochondrial DNA analysis of ancient Peruvian highlanders. *American Journal of Physical Anthropology,* 131:98-107.

Sigurdardottir, S. Helgason, A. Gulcher, J. Stefansson, H y Connelly, P.
2000. The mutation rate in the human mtDNA control region. *American Journal of Human Genetic,* 66:1599-1609.

Silva, A. Briceño, I. Burgos, J. Torres, D. Villegas, V. Gomez, A. Bernal, J. y Rodriguez, J.
2008. Análisis de ADN mitocondrial en ina muestra de restos óseos arcaicos del período Herrera en la sabana de Bogotá. *Biomédica,* 28:569-577.

Smith, D. Malhi, R. Eshleman, J. Redd, A. Voevoda, M. Reed, J. y Ward, R.
1999. Distribution of Haplogroup X among Native North Americnas. *American Journal of Physical Anthropology,* 110:271-184.

Smith, E. A.
2000. Three styles in the evolutionary analysis of human behaviour. En: *Adaptation and Human Behavior. An Athropological Perspective.* Ed. L. Cronk, N. Charnon y W. Irons, pp. 27-46. Aldine de Gruyter. New York.

Smith, K. Crandall, K. Kneissl, M. y Navia, B.
2000. PCR detection of host and HIV-1 sequence from archival brain tissue. *Journal of Neurovirology,* 6:164-171.

Sook, B. y Smith, D.
2008. Using ancient mtDNA to reconstruct the population history of Northeastern North America. *American Journal of Physical Anthropology,* 137:14-29.

Speller, C. Yang, D. y Hayden, B.
2005. Ancient DNA investigation of prehistoric salmon resource utilization at Keatley Creek, British Columbia, Canada. *Journal of Archaeological Science,* 32:1378-1389

Stanford, D.
1991. Clovis, origins and adaptations: an introductory perspective. En: *Clovis.Origins and adaptations.* Edited by R. Bonnichsen and K.L. Tummire. Pp, 1-13. Center for the study of the first Americans. Oregon.

Stanford, D y Bradley, B.
2000. The Solutrense solution. En: *The puzzle of the first Americans. Special report. Scientific American Discovering,* 54-55.

Starikovskaya, Y. Sukernik, R. Schurr, T. Kogelnik, A. y Wallace, D.
1998. Mitochondrial DNA Diversity in Chukchi and Siberian Eskimo: Implications for the Genetic Prehistory of Ancient Beringia. *American Journal of Human Genetics* 63:1473-1491.

Steele, D. y Powell, J.
1994. Paleobiológical Evidence of the Peopling of the Americas: A Morphometric View. En: *Method and Theory for the Investigating the Peopling of the Americas.* Ed. R. Bonnichsen and D. Gentry Steele. Pp, 141-164..Center for the Study of the First Americans. Departament of Anthropology. Oregon State University, Corvallis.
2002. Facing the Past: A View of the North American Human Fossil Record. En:Jablonski, N. Ed. *The First Americans: The Pleistocene Colonization of the New World.* Memoirs of the California Academy of Science 27. University of California Press. California.

Steele, J. Adams, J. y Sluckin, T.
1998. Modelling paleoindian dispersal. *World Archaeology,* 30:286-305.

Stone, A. y Stoneking, M.
1993. Ancient DNA from a Pre-Columbian Amerindian Population. *American Journal of Physical Anthropology,* 92:463-471.
Stone, A. Milner, G. Pääbo, S. y Stoneking, M.
1996. Sex determination of ancient human skeleton using DNA. *Am. J. Phys. Anthrop.* 99:231-238.

Stone, A. Starrs, J. y Stoneking, M.
2001. Mitochondrial DNA analysis of the presumptive remains of Jesse James. *Journal of Forensic Science,* 46:173-176.

Stone, A. y Stoneking M.
1998. mtDNA Analysis of a Prehistoric Oneota Population: Implications for the Peopling of the New World. *American Journal of Human Genetic,* 62:1153-1170.

Stoneking, M. Hedgecock, D. Higuchi, R. Vigilant, L. y Erlich, H.
1990. Population variation of human mtDNA control region sequence detected by enzymatic amplification and sequence-specific oligonucleotide probes. *American Journal of Human Genetics,* 48:370-382.

Stoneking, M. Melton, T. Nott, J. Baritt, S. Roby, R. Holland, M. Weedn, V. Gill, P. Kimpton, C. y Aliston, G.
1995. Establishing the identity of Anna Anderson Manahan. *Natural Genetics,* 9:9-10.

Stoneking, M. Sherry, S. Redd, A. y Vigilant, L.
1992. New approaches to dating suggest a recent age for the human mtDNA ancestor. *Philosophical Transaction of the Royal Society of London Biological Science,* 337:167-175.

Storey, A. Ramirez, J. Quiroz, D. Burley, D. Addison, D. Walter, R. Anderson, T. Hunt, T. Athens, J. Huynen, L. y Smith, A.
2007. Radiocarbon and DNA evidence for a pre-Columbian introduction of Polynesian chickens to Chile. *Proceeding of Natural Academy of Science,* 104:10335-10339.

Stringer, C.
1991. ¿Está en Africa nuestro origen? *Investigación y Ciencia.* 66-73. España.

Sukernik, R. Schurr, T. Starikovskaya, Y. y Wallace, D.
1996. Mitochondrial DNA Variation in Native Siberians, whit Special Reference to the Evolutionary History of American Indians: Studies on Restriction Endonuclease Polymorphism. *Genetika, 32:432-439.*

Surovell, T.
2003. Simulating Coastal Migration in New World Colonization. *Current Anthropology,* 44:580-591.

Sutovsky, P. Moreno, R. Santos, J. Dominko, T. Simerly, C. y Schatten, G.
1999. Ubiquiting tag for sperm mitochondria. *Nature,* 402:371.
2000. Ubiquitinated sperm mitochondria, selective proteolysis, and the regulation of mitochondrial inheritance in mammalian enbryos. *Biology Reproduction,* 63:582-590.

Sutton, M. Malik, M. y Ogram, A.
1998. Experiments on the determination of gender from coprolites by DNA analysis. *Journal of Archaeological Science,* 23:263:267.

Tamm, E. Kivisild, T. Reidla, M. Metspalv, M. Smith, D. Mulligan, C. Bravi, C. Rickards, O. Labarga, C. Khusnutdinova, E. Fedorova, S. Golubenko, M. Stepanov, V. Gubina, M. Zhadanovs, S. Ossipova, L. Damba, L. Voevoda, M. Dipierri, J. Villems, R. y Malhi, R.
2007. Beringia Standstill and Spread of Native American Founders. *PlosOne,* 2(9):1-6.

Tankersley, K.
2004. The concept of Clovis and the peopling of North America. En: Barton, C. Clark, G. Yesner, D and Pearson, G (Eds.). *The settlement of the American continent: A multidisciplinary Approach to Human Biogeography,* Pp: 49-63. University of Arizona Press. Tucson.

Taylor, G. Widdison, S. Brown, I. y Young, D.

2000. A medieval case of lepromatous leprosy from 13-14th century Orkney. *Scotland Journal of Archaeological Science,* 27:1133-1138.

Thomas, M. Gilbert, E. Willerslev, E. Hansen, A. Barnes, I. Rudbeck, L. Lynnerup, N. y Cooper, A.
2003. Distribution patterns of postmorten damage in human mitochondrial DNA. *American Journal of Human Genetics,* 72:32-47.

Tokunaga, K. Ohashi, J. Bannai, M. y Juji, T.
2001. Genetic link between Asians and Native Americans: evidence from HLA genes and haplotypes. *Human Inmunology,* 62:1001-1008.

Torroni, A. Bandelt, J. D´Urbano, L. Lahermo, P. Moral, P. Sellitto, D. Rengo, C. Forster, P. Savotaus, L. Bonnetamir, B y Scozzari, R.
1998. mtDNA Analysis Reveals a Major Late Paleolithic Population Expansion from Southwestern to Northwestern Europe. *American Journal of Human Genetics,* 62:1137.1152.

Torroni, A. Huoponen, K. Francalacci, P. Petrozzi, M. Morelli, L. Scozzari, R. Obinu, D. Salvontaus, L. y Wallace, D.
1996. Classification of European mtDNAs from an Analysis of Three European Population. *Genetics,* 144:1835-1850.

Torroni, A. Chen,Y. Semino, O. Santachiara-Benerecetti, A. Scott, C. Lott, M. Winter, M. y Wallace, D.
1994. mtDNA and Y-Chromosome Polymorphism in Four Native American Populations from Southern Mexico. *American Journal of Human Genetic,* 54:303-318.

Torroni, A. Schurr, T. Cabell, M. Brown, M. Neel, J. Larsen, M. Smith, D. Vullo, C, y Wallace, D.
1993. Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNAs. *American Journal of Human Genetics* 53:563-590.

Torroni, A. Schurr, T. Yang, C. Szathmary, E. Williams, R. Chanfield, M. Troup, G. Knowler, W. Lawrence, D. Weiss, K y Wallace, D.
1992. Native American mitochondrial DNA analysis Indicates that the Amerind and Nadene populations were founded by two independient migrations. *Genetics,* 130:153-162.

Torroni, A. Sukernik, R. Schurr, T. Starikorskaya, Y. Cabell, M. Crawford, M. Comuzzie, A. y Wallace, D.
1993. mtDNA variation of aboriginal Siberians reveals distinct genetic affinities with Native Americans. *American Journal of Human Gentics,* 53:591-608.

Tsuneto, L. Probst, C. Hutz, M. Salzano, M. Delfin, L. Zago, M. Hill, K. Hurtado, A. Ribeiro Dos Santos, A. y Erler, M.
2003. HLA class II diversity in seven Amerindian populations. Clues about the origins of the Ache. *Tissue Antigens,* 62:512-526.

Turner II, C.
1984. Advances in the Dental Search for Native Americans Origins. *Acta Anthropogenetic*, 8:23-78
1986. The first Americans: the dental evidence. *National Geographic Research,* 2:37-46.
1994. Relating Eurasian and Native American Populations Through Dental Morphology. En: *Method and Theory for the Investigating the Peopling of the Americas.* Pp: 131-140 Ed. R. Bonnichsen and D. Gentry Steele. Center for the Study of the First Americans. Departament of Anthropology. Oregon State University.
2002. Teeth, Needles, Dogs and Siberia: Bioarchaeological Evidence for the Colonization of the New World. En: Jablonski, NG, Eds. *The First Americans: The Pleistocene Colonization of the New World.*Pp: 123-158. Memoirs of the California Academy of Sciences 27, University of California Press. California.

Villablanca, F, X.
1994. Spatial and temporal aspects of populations revealed by Mitochondrial DNA. En: B. Herrmann and S. Hummel (Eds.). *Ancient DNA.Recovery and analysis of genetic material from paleontological, archaeological, museum, medical and forensic specimens.* Pp: 31-58. Springer-Verlag, New York.

Wainscoat, J. Hill, A. Boyce, A. Flint, J. Hernandez, M. Thein, S. Old, J. Lynch, J. Falusi, A. Weatherall, D. y Clegg, J.

1986. Evolutionary relationships of human populations from an analysis of thwe nuclear DNA polymorphisms. *Nature,* 319: 491-493.

Walker, A. y Awadalla, P.
2001. Does human mtDNA recombine? *J. Mol. Evol.* 53:430-435.

Wallace, Garrison, K. y Knowler, W.
1985. Dramatic founder effect s in Amerindian mitochondrial DNAs. *American Journal of Physical Anthropology,* 68:149-155.

Wanderler, P. Smith, S. Morin, P. Pettiford, A. y Funk, M.
2003. Patterns of nuclear DNA degradation over time. A case study in historic teeth samples. *Molecular Ecology,* 12:1087-1093.

Ward, R. Frazier, B. Dew-Jager, K. y Pääbo, S.
1991. Extensive Mitochondrial Diversity within a Single Amerindian Tribe. *Proc. Natl Acad. Sci USA* 90:10063-10067.

Watson, E. Foster, P. Richards, M. y Bandelt, H.
1997. Mitochondrial footprints of Human expansion in Africa. *American Journal of human genetics,* 61:691-704.

Weichhold, G. Bark, J. Korte, W. Eisenmenger, W. y Sullivan, K.
1998. DNA analysis in the case of Casper Hauser. *International Journal of Legal Medicine,.* 111:287-291.

Weinstock, J. Willerslev, E. Sher, A. Tong, W. Ho, S. Rubenstein, D. Storer, J. Burns, J. Martin, L. Bravi, C. Prieto, A. Froese, D. Scott, E. Xulong, L. y Cooper, A.
2005. Evolution, Systematics and Phylogeography of Pleistocene Horses in the new World: A Molecular Perpective. *PlosBiology,* 3:001-007.

Whitaker, J. Clayron, T. Urquhart, A. Millican, E. Downes, T. Kimpton, C. y Gill, P.
1995. Short tandem repeat typing of bodies from mass disaster: high success rate and characteristic amplification patterns in highly degraded samples. *BioTechniques,* 18:670-677.

Whitley, D. y Dorn, R.
1993. New perspectives on the Clovis vs. preclovis controversy. *American Antiquity,* 58:626-647.

Willerslev, E. y Cooper, A.
2005. Ancient DNA. *Proceeding of Real Society British,* 272:2-16.

Winterhalder, B.
2002. Models. En: *Darwin and Archaeology: A Handbook of Key Concepts.* Ed. J.P. Hart and J.E. Terrell, pp. 201-223. Bergin & Garvey, Westport, Connecticut.

Yao, Y. y Zhang, Y.
2003. Pitfalls in the analysis of ancient human mtDNA. *Chinese Science Bulletin, Vol. 48, Nº 8. Pp. 826.830.*

Yi, S y Clark, C.
1985. The Diuktai culture and the New World origins. *Current Anthropology,* 26:1-21.

Zsurka, G. Hampel, K. Kudina, T. Kornblum, C. Kraytsberg, Y. Elger, C. Khrapko, K. y Kunz, W.
2007. Inheritance of mitochondrial DNA recombinants in double heteroplasmic families: potential implications for phylogenetic analysis. *American Journal of Human Genetics, 80:298-305.*

Zsurka, G. Kraytsberg, Y. Kudina, T. Kornblum, C. Elger, C. Khrapko, K. y Kunz, W.
2005. Recombination of mitochondrial DNA detecte in skeletal muscle of individuals whit multiple mitochondrial DNA heteroplasmy. *Nature Genetics, 37:873-877.*

Apéndice de tablas

Sitio	Datación C14 A.P.	Tecnología asociada	Fauna Asociada	Actividad inferida	Referencia bibliográfíca
Sitios de Norteamérica con antiguedad Clovis					
Bluefish Cave	16.000/13.000	Buriles y bifaces pre Clovis	Extinta y actual	Procesamiento primario	Cinq-Mars (1979)
Batza Teana (complejo Nennana)	11.600-11.000	Puntas no acanaladas y cuchillos de edad clovis	Caribu	Diferentes tipos de sitios	Clark (1991)
Complejo Nennana	11.700/10.600	Bifaces en forma de lágrima sin micro hojas	Caribu	Diferentes tipos de sitios	Goebel et al. (1991)
Dry Creek, complejo Denali	11.000-10.500	Cuchillos, puntas y micro hojas	Bisonte, caballo, mamuth y caribu	Campamentos	Clark (1991)
Walker Road, Broken Mammoth y sitio Mesa	11.800/11.000	Cuchilos, puntas y grandes lascas	Elementos acuáticos y economía terrestre	Sitios de actividades específicas y campamentos	Goebel et al. (1991), Goebel (1999)
Cactus Hill	15.000/10.300	Similares a industrias Solutrenses con hojas y puntas Clovis	?	?	Goodyear (1999), Johnson (1997)
Meadowcroft	17.000/14.500	Bifaces y Hojas Preclovis. Puntas Clovis	Fauna actual	Campamentos	Adovasio (1993)
Lago Lubbok	11.000/10.000	Martillos y hojas tipo Clovis	Mamuth, caballo, bisonte y camélidos	Procesamiento	Johnson (1991)
Cueva Lago Charlie	10.800/10.100	Puntas acanaladas, hojas con retoque marginal e instrumentos en núcleos	Bisonte y pequeños mamíferos	Eventos de caza	Carlson (1991), Driver 1996, 1998)
Lubbok Clovis	11.500-11.000	Puntas Clovis, cuchillos y raspadores	Fauna actual y extinta	Actividades múltiples	Johnson (1991)
Black Water	11.200/10.500	Puntas Clovis y cuchillos	Mamuth, caballo, bisonte y camélidos	Campamento base	Johnson (1991)
Lindenmeier	10.800	Puntas acanaladas Folsom y raederas	Bisontes extintos	Campamento base	Johnson (1991)
Guila Naquitz	10.800/8.800	Puntas y raederas	Fauna actual	Campamento estacional	Flannery (1983)
Lago Alajuela	Sin datos	Puntas Clovis y cola de pescado	Sin asociación	Taller en superficie	Bryan (1978)
Los Tapiales	Sin datos	Puntas acanaladas Clovis	Sin asociación	Taller y campamento	Bird and Cooke (1979)

Sitios Sudamericanos					
Taima Taima	13.200	Puntas "el Jobo", bifaces y hojas retocadas	Mastodontes	Sitio de matanza	Bryan (1978)
Vegas	10.800/8.000	Hojas	Fauna actual	Campamento	Stothert (1985)
El Inga	9.500-9.300	Puntas cola de pescado, buriles, hojas y lascas	Sin asociación	Actividades múltiples	Mayer Oakes (1986)
El Abra	12.400-7.200	Hojas utilizadas	Caballos y mastodentes	Taller y campamento	Correal Urrego (1986)
Tibito	11.700	Raspadores y hojas	Mega fauna extinta	Sitio de matanza y procesamiento	Correal Urrego (1986)
San Isidro y Peña Reja	10.000	Instrumentos para procesamiento de vegetales	Palmeras	Localidad agrícola	Gnecco (1998)
Pedra Pintada	11.000	Puntas	Fauna actual	Actividades múltiples	Roosevelt (1996)
Pedra Furada	33.000-17.000	Lascas y raspadores	Sin asociación	Sin asignar	Guidon (1986), Gudion and Delebrias (1986)
Touro Passos	23.300-10.400	Choppers y lascas	Huesos de fauna extinta	Sin asignar	Prous y Fogaca (1999)
Paraiba	10.700-9.100	Lascas	Sin asociación	Campamento	Prous y Fogaca (1999)
Lagoa Santa	14.500-12.000	Lascas y choppers	Fauna actual y extinta	Enterratorio humano	Prous y Fogaca (1999)
Alice Boer	14.200-10.700	Puntas	Sin asociación	Sin asignar	Gruhn (1989)
Cerca Grande	10.400-9.700	Lascas, raspadores, puntas y hachas	No reconocida	Enterratorio humano	Prous y Fogaca (1999)
Lapa Vermelha IV	11.700-10.200	Huesos humanos femeninos	Huesos y coprolitos	Enterratorio humano	Prous y Fogaca (1999)
Talara	11.200-10.200	Tradiciones unifaciales	Sin discriminar	Campamento	Aldenderfer (1999)
La Cumbre, Quirihuac y Pampa de los Fósiles	Sin datos	Lascas, plantas y tradiciones unifaciales	Fauna extinta	Campamento	Richardson III (1978), Cahuchat (1998)
Cumbe	10.500	Pequeñas lascas	Cérvidos y roedores	Sin asignar	Cardich (1991)
Quebrada Tacahuay	10.000-8.000	Puntas lanceoladas	Pescados, conchas y aves marinas	Campamento	Aldenderfer (1999)
Quebrada de los Burros	10.000-9.500	Puntas	Moluscos marinos	Campamento	Lavallee et al (1999)
Telarmachay	12.000-8.000	Puntas lanceoladas	Ardillas y camélidos	Campamento base	Lavalle (1985)
Lauricocha I	9.500-8.000	Puntas lanceoladas y raspadores	Ardillas y camélidos	Actividades múltiples y enterratorios	Cardich (1980)
Pachamachay	11.800	Tecnología bifacial	Fauna actual	Campamento	Rick (1988)
San Lorenzo Tuina	11.000-8.000	Puntas lanceoladas y choppers	Ardillas, camélidos y roedores	Campamento y taller estacional	Santoro (1989)

Quebrada Seca III	10.400	Bifaces y choppers	Fauna actual	Campamento	Aschero (1988)
Tagua Tagua	11.800	Puntas cola de pescado y tecnología unifacial	Guanacos y mastodontes	Lugar de matanza	Nuñez et al. (1994)
Agua de la Cueva	10.200-9.200	Tecnología unifacial	Guanacos	Campamento estacional	García (1995)
Monte Verde	13.200-11.000	Tecnología uni y bifacial, y puntas lanceoladas	Mastodontes y paleo lama	Campamento-villa	Dillehay (1984, 1997)
Arroyo Malo 3	10.000	Lascas	Fauna actual	Campamento estacional	Neme (2001)
Gruta del Indio nivel inferior	8.500	Lascas y bifaces	Fauna actual y extinta	Campamento	Lagiglia y García (1999)
Arroyo del Tigre	11.200-10.400	Lascas y bifaces	Sin reconocer	Múltiples actividades y taller	Suarez y Lopez Mass (2003)
Pay Paso I	10.000-8.600	Herramientas unifaciales con abundante carbón. Puntas cola de pescado	Fauna actual y extinta	Múltiples actividades y taller	Suarez y Lopez Mass (2003)
Cerro La China 2	11.100-10.600	Puntas cola de pescado, nucleos y lascas	Sin asociación	Actividades relacionadas con la caza	Flegenheimer (1987, 1994)
Cerro La China 1	10.800-10.500	Puntas cola de pescado en diferentes estados de confección, uso y reavivamiento	Gliptodontes	Actividades múltiples	Flegenheimer (1987, 1994)
Cerro La China 3	10.600	Artefactos con retoque marginal, sin puntas, con gran diversidad tipológica	Sin asociación	Múltiples actividades y taller	Flegenheimer (1987, 1994)
El Sombrero cima y Abrigo 1	10.700-8.000	Tecnología bifacial, puntas cola de pescado, nucleos y ocre	Sin datos de fauna	Equipamiento y sitio de vigilancia	Flegenheimer (1987, 1994)
Los Pinos	10.500-8.800	Tecnología de hojas y puntas cola de pescado	Fauna local y extinta	Taller y campamento	Mazzanti (1997, 1999)
Cueva Tixi	10.400-10.000	Tecnología de hojas y puntas cola de pescado	Fauna local y extinta	Taller y campamento	Mazzanti (1997)
Paso Otero 5	10.200-9.500	Tecnología de hojas y puntas cola de pescado	Armadillos, caballos y guanacos	Sitio de matanza y desposte	Martinez (1997)
Arroyo Seco 2	9.000-8.500	Hijas y bifaces	Fauna actual y extinta	Campamento y enterratorio	Politis et al. (1995)
La Moderna	10.000-7.500	Hojas y cuchillos de filo natural	Gliptodontes y guanacos	Sitio de matanza	Politis y Gutierrez (1998)
Piedra Museo AEPI	12.900-9.300	Puntas cola de pescado y asociación con lascas bifaciales y herramientas unifaciales	Fauna actual y extinta	Procesamiento primario	Miotti (1992, 1996)
Los Toldos Cueva 3, Nivel 11	12.600	Cuchillos y raederas	Fauna actual y extinta	Campamento residencial	Cardich et al. (1973)

Cueva I, Cerro Tres Tetas	11.600-10.300	Tecnología unifacial en grandes lascas	Guanacos	Sin datos	Paunero (1993/94, 1996)
Cueva Casa del Minero	11.000-10.000	Tecnología unifacial en grandes lascas y lascas bifaciales	Paleo lama y fauna actual	Sin datos	Paunero en prensa
Los Toldos C3	8.300 para el fin de la ocupación	Puntas y tecnología de hojas	Fauna actual y extinta	Lugar de actividades limitadas	Cardich et al. (1973)
Rio Pinturas I: Arroyo Feo y Cueva de las Manos	9.300-8.500	Puntas bifaciales y triangulares, hojas y pinturas rupestres	Guanaco y fauna actual	Actividades múltiples	Gradin (1980)
CCP7	9.700-9.100	Pinturas rupestres, lascas y estructuras de combustión	Guanaco y fauna actual	Actividades domésticas	Aschero (1996), Civalero y Franco (2003)
Chorrillo Malo	9.200	Herramientas expeditivas	Fauna actual	Sin asignar	Civalero y Franco (2003)
Cueva del Medio	10.500-10.200	puntas cola de pescado, en corazón y tecnología de hojas	Fauna actual y extinta	Campamento base	Nami (1987)
Fell, Pali Aike	11.000-10.000	puntas cola de pescado, en corazón y tecnología de hojas	Fauna actual y extinta	Campamento, enterratorio	Bird (1988)
Cueva Lago Sofía	11.500	Sin puntas, lascas	Fauna actual y extinta	Sin datos	Prieto (1988)
Tres Arroyos	11.900-10.300	Puntas, raederas, y tecnología bipolar	Fauna actual y extinta	Campamento base	Massone (1984)

Tabla 5.1. Sitios arqueológicos mejor documentados considerados tempranos en Norteamérica y Sudamérica. En los mismos no se observa una predominancia en el consumo de animales extintos. También se observa la diversidad de herramientas encontradas y los diferentes tipos de actividad inferida. Reproducido parcialmente de Miotti y Salemne 2003.

Población	n	A	B	C	D	Indet.	Tipo de muestra	Region	Autores
Dobrig	154	90,9	0	2	0	7,1	Actual	Noroeste de Canadá.	Torroni et al. 1992 / Merriwether et al. (1995)
Haida	25	96	0	0	4	0	Actual	Norte América	Torroni et al. (1993a)
Navajo	48	58,3	37,5	0	0	4,2	Actual	Arizona y Nuevo México.	Torroni et al. (1993a)
Apache	25	64	16	12	8	0	Actual	Norte América	Torroni et al. (1993a)
Bella coola	25	60	8	8	20	4	Actual	Norte América	Torroni et al. (1993a)
Nuu-Chah-Nulth	15	40	6,7	13,3	26,7	13,3	Actual	Norte América	Torroni et al. (1993a)
Chippewa	15	26,7	13,3	33,3	0	26,7	Actual	Norte América	Torroni et al. (1993a)
Mohawk	18	16,4	10,5	13,8	0,6	28,7	Actual	Norte América	Merriwether et al. (1995)
Ojibwa	28	64,3	3,6	7,1	0	25	Actual	Norte América	Torroni et al. (1993a)
Oklahoma Muskoke	71	36,6	15,5	9,9	38	0	Actual	Norte América	Merriwether et al. (1995)
Pima	30	6,7	50	43,3	0	0	Actual	Sureste de Arizona	Schurr et al. (1990) / Torroni et al. (1992-1993a)
Zapotec	15	33,3	33,3	33,3	0	0	Actual	México.	Torroni et al. (1994)
Maya	27	51,9	22,2	14,8	7,4	3,7	Actual	México.	Torroni et al. (1992)
Guatuso	20	85	15	0	0	0	Actual	México.	Torroni et al. (1994)
Kuna	79	77,2	22,8	0	0	0	Actual	America central	Torroni et al. (1993a) / Batista et al. (1995)
Ngobe	62	67,7	32,3	0	0	0	Actual	America central	Torroni et al. (1993a) / Kolman et al. (1995)
Teribe	20	80	20	0	0	0	Actual	America central	Torroni et al. (1994)
Bribri/Cabecar	24	54,2	45,8	0	0	0	Actual	America central	Torroni et al. (1993a)
Ticuna	28	17,9	0	32,1	50	0	Actual	Colombia	Schurr et al. (1990) / Torroni et al. (1993a)
Mataco	28	10,7	35,7	0	53,6	0	Actual	Sudamérica	Torroni et al. (1993a)
Yanomama	24	0	16,7	54,2	29,2	0	Actual	Sudamérica	Torroni et al. (1993a)
Quechua	19	26,3	36,8	5,3	31,6	0	Actual	Sudamérica	Merriwether et al. (1995)
Aymara	172	6,4	67,4	12,2	14	0	Actual	Sudamérica	Merriwether et al. (1995)
Atacamenos	63	14,3	71,4	9,5	4,8	0	Actual	Sudamérica	Baillet et al. (1994) / Merriwether et al. (1995)
Huilliches	38	5,3	28,9	18,4	47,4	0	Actual	Patagonia	Baillet et al. (1994)
Mapuches	58	5,3	31	20,6	29,3	10,3	Actual	Patagonia	Baillet et al. (1994)
Peneunche	100	2	9	37	52	0	Actual	Sudamérica	Merriwether et al. (1995)
Peruvians	52	3,9	53,8	17,3	19,2	5,8	Actual	Perú (Pasco y Lima)	Rodriguez-Delfín et al. (2001)
Mexicans	60	65	21,7	13,3	0	0	Actual	México	Rodriguez-Delfín et al. (2001)
Embera	22	73	2,3	0	0	5	Actual	Colombia	Mesa et al. (2000)
Ingano	27	15	44	37	0	4	Actual	Colombia	Mesa et al. (2000)

Ticuna	54	13	15	39	33	0	Actual	Colombia	Mesa et al. (2000)
Wayuu	40	25	35	38	0	3	Actual	Colombia	Mesa et al. (2000)
Zenu	37	19	41	30	5	5	Actual	Colombia	Mesa et al. (2000)
Aymara	33	0	93,9	3	3	0	Actual	Dto. Beni. (Bolivia)	Bert et al. (2001)
Quechua	32	15,6	75	9,4	0	0	Actual	Dto. Beni. (Bolivia)	Bert et al. (2001)
Chimane	41	39	53,7	4,9	0	2,4	Actual	Dto. Beni. (Bolivia)	Bert et al. (2001)
Moseten	20	40	55	0	0	5	Actual	Dto. Beni. (Bolivia)	Bert et al. (2001)
Ignaciano	22	18,2	36,4	40,9	0	4,5	Actual	Dto. Beni. (Bolivia)	Bert et al. (2001)
Trinitario	35	14,3	40	37,1	2,9	5,7	Actual	Dto. Beni. (Bolivia)	Bert et al. (2001)
Movina	22	9,1	9,1	63,6	18,2	0	Actual	Dto. Beni. (Bolivia)	Bert et al. (2001)
Yuracare	28	39,3	32,1	21,4	3,6	3,6	Actual	Dto. Beni. (Bolivia)	Bert et al. (2001)
Aonikenk	4	0	0	50	50	0	Actual	Fueguinos-Patagónicos.	Garcia-Bour et al. (2004)
Kaweskar	11	0	0	36,3	63,6	0	Actual	Fueguinos-Patagónicos.	Garcia-Bour et al. (2004)
Selknam	3	0	0	100	0	0	Actual	Fueguinos-Patagónicos.	Garcia-Bour et al. (2004)
Yamana	6	0	0	83,6	16,3	0	Actual	Fueguinos-Patagónicos.	Garcia-Bour et al. (2004)
Aymara	172	7	68	11,9	13,1	0	Actual	Lago Titicaca.	Moraga et al. (2005)
Dobrig	30	100	0	0	0	0	Actual	Noroeste de Canadá.	Torroni et al. (1993a)
Tlingit	2	2	0	0	0	0	Actual	Alaska.	Torroni et al. (1992)
Hopi	1	0	100	0	0	0	Actual	Arizona.	Torroni et al. (1992)
Pomo	1	0	0	0	1	0	Actual	California.	Torroni et al. (1992)
Ticuna	28	17,8	0	32,2	50	0	Actual	Oeste Brasil-Amazonas	Torroni et al. (1992)
Mapuches	63	6,4	34,9	19	27	9,5	Actual	Patagonia	Bianchi et al. (1995)
Atacama	13	23,1	69,2	7,7	0	0	Actual	Sudamérica	Bianchi et al. (1995)
Huilliches	38	5,3	28,9	18,4	47,4	0	Actual	Sudamérica	Bianchi et al. (1995)
Pima	30	0	50	43,3	0	6,7	Actual	Sureste de Arizona (son de Mexico).	Santos et al. (1994)
Maya	28	50	21,4	14,3	7,1	7,2	Actual	Mexico	Santos et al. (1994)
Boruca	14	21,4	71,4	0	7,2	0	Actual	America central	Torroni et al. (1994)
Kuna	16	100	0	0	0	0	Actual	America central	Torroni et al. (1994)
Guaymi	16	68,8	31,2	0	0	0	Actual	America central	Torroni et al. (1994)
Piaroa	10	50	0	10	40	0	Actual	Sudamérica	Torroni et al. (1993a)
Makiritare	10	20	0	70	10	0	Actual	Sudamérica	Torroni et al. (1993a)
Macushi	10	10	20	30	40	0	Actual	Sudamérica	Torroni et al. (1993a)
Wapishana	12	0	25	8,4	66,6	0	Actual	Sudamérica	Torroni et al. (1993a)
Kraho	14	28,5	57,1	14,4	0	0	Actual	Sudamérica	Torroni et al. (1993a)
Marubo	10	10	0	60	30	0	Actual	Sudamérica	Torroni et al. (1993a)

Aymará	120	7	57	18	16	2	Actual	Arica, Chile	Rocco et al. (2002)
Atacamenos	23	9	61	26	4	0	Actual	San Pedro de Atacama, Chile	Rocco et al. (2002)
Chile	162	7	23,5	32	21,5	16	Actual	Santiago de Chile	Rocco et al. (2002)
Micmac	6	33,3	0	16,7	0	50	Actual	Nueva Escocia, Maine y Labrador	Lorenz y Smith (1996), Malhi et al (2001)
Ojibwa (Isla Manitoulian)	33	32,5	9,7	26,9	4	26,9	Actual	Canadá	Scozzari et al. (1997)
Ojibwa (Norte de Ontario)	26	64,3	3,6	7,1	0	25	Actual	Norte de Ontario, Canadá	Scozzari et al. (1997)
Chippewa (Turtle Mountain)	28	57,1	17,9	17,9	0	7,1	Actual	Belcourt, North Dakota	Malhi et al. (2001)
Chippewa (Wisconsin)	62	27,5	4,8	35,5	3,2	29	Actual	Dakota	Malhi et al. (2001)
Cheyene/Arapaho	35	34,4	11,4	34,3	14,3	5,7	Actual	Minnesota	Smith et al. (1999)
Sisseton/Wapheton Sioux	45	55,6	20	17,8	4,4	2,2	Actual	Dakota del Norte	Lorenz y Smith (1996), Malhi et al (2001)
Pawne	5	40	60	0	0	0	Actual	Kansas	Lorenz y Smith (1996), Malhi et al (2001)
Cherokee (Red Cross)	19	21,1	21,1	52,5	5,3	0	Actual	Oklahoma	Lorenz y Smith (1996), Malhi et al (2001)
Cherokee (Stillwell)	37	10,8	45,9	43,3	0	0	Actual	Oklahoma	Lorenz y Smith (1996), Malhi et al (2001)
Mohawk	123	57,7	17,1	23,6	1,6	0	Actual	Lago Ontario	Merriwether y Ferrell (1996)
Perú	33	9	52	18	21	0	Actual	Departamento de Ancash, Perú	Lewis et al. (2004)

Tabla 5.3. Las frecuencias correspondientes a muestras actuales avalan la hipótesis de la existencia de los cuatro principales linajes maternos (A, B, C, y D) más el X, que es marcado muchas veces como indeterminado. Se verifica la existencia de cierto gradiente en donde el A disminuye en poblaciones del Sur, mientras C y D aumentan en este sentido. El B parece conservar su frecuencia en todo el continente, excepto en el Sur, donde disminuye notablemente.

Población/sitio	n	A	B	C	D	X	Indet.	Región	Fechado	Autores
Norteamérica										
Windower	14	0	12	0	19	0	69	Windower, Central Coast, FL. EEUU.	Entre 7000 y 8000 AP.	Hauswirth et al. (1991)
Great Salt Lake Fremont	43	0	73	13	7	0	7	Great Salt Lake Fremont. EEUU.	Entre 500 y 1500 AP.	Parr et al. (1996) / O´Rourke et al. (2000)
Pyramid Lake	19	0	32	0	53	0	5	Pyramid Lake, Grat Basin. EEUU.	Entre 300 y 6000 AP.	O´Rourke et al. (2000)
Stillwater Marsh	22	5	36	0	55	0	4	Stillwater Marsh, Great Basin. EEUU.	Entre 300 y 6000 AP.	O´Rourke et al. (2000)
Anazasi	22	23	59	9	0	0	9	Anazasi, SW EEUU.	Entre 1010 y 2010 AP.	O´Rourke et al. (2000)
Hourglass Cave.	1	0	1	0	0	0	0	Western Colorado.	8000 AP.	Stone et al. (1996)
Grupo Oneota	108	31	12	43	8	0	6	Illinois, EEUU.	1300 DC.	Stone y Stoneking (1998)
Aleut	17	35	0	0	65	0	0	Aleut, Umnak y otras islas, EE.UU y Canadá.	Entre 2000 y 4000 AP.	O´Rourke et al. (2000)
Pyramid Lake	18	11	33	0	56	0	0	Western Nevada, EEUU.	Entre 800 y 9000 AP.	Kaestle y Smith (2001)
Stillwater Marsh	21	5	38	0	57	0	0	Western Nevada, EEUU.	Entre 290 y 3290 AP.	Kaestle y Smith (2001)
Hinds Cave	3	0	33	67	0	0	0	Texas. EE.UU.	Entre 2300 y 2200 AP.	Poinar et al. (2001)
Vantage	1	0	0	0	0	100	0	Washington, Columbia River near Vantage.	1340 AP.	Malhi and Smith (2002)
Cuzco	1	0	0	0	100	0	0	Perú.	Entre 980 y 1170 DC.	Luciani et al. (2006)
Inuit	8	100	0	0	0	0	0	Groenlandia.	1460 DC.	Gilbert et al. (2007)
Columbia Británica	3	33	0	0	0	0	67	Columbia Británica. Canadá.	5000 AP.	Malhi et al. (2007)
Alaska	1	0	0	0	100	0	0	Alaska, EE.UU.	10300 AP.	Kemp et al. (2007)
Beothuk	2	0	0	50	0	50	0	Newfoundland, Canadá	1770 DC.	Kuch et al. (2007)
Glacial Kame	18	17	61	17	5	0	0	Ontario, Canadá.	2900 AP.	Shook y Smith (2008)
Orendorf	11	46	0	27	27	0	0	Fulton, Illinois.	800 AP.	Shook y Smith (2008)
Morse	9	11	33	56	0	0	0	Fulton, Illinois.	2700 AP.	Shook y Smith (2008)
Great Western Park	6	40	0	60	0	0	0	Ontario, Canadá.	800 AP.	Shook y Smith (2008)

Saqqaq	1	0	0	0	100	0	0	Groenlandia.	Entre 3400 y 4500 AP.	Gilbert et al. (2008)
Centroamérica										
Maya	9	0	0	88	0	0	12	Copan, Honduras	Entre 1200 y 1600 AP.	Merriwether et al. (1997)
Maya	25	84	4	8	0	0	4	Quintana Roo, México	Entre 500 y 1400 AP.	Gonzalez-Oliver et al. (2001)
Tainos	27	0	0	75	25	0	0	La Caleta. República Dominicana.	Entre 670 y 1680 DC.	Lalueza Fox et al. (2001)
Ciboneys	47	7	0	60	33	0	0	Bahía Onda, Mogote y Canimar, Cuba	Entre 4700 y 1600 AP.	Lalueza Fox et al. (2003)
Sudamérica										
Kaweskar	19	0	0	16	84	0	0	Tierra del Fuego.	150 AP.	Lalueza Fox (1997)
Aonikenk	15	0	0	27	73	0	0	Tierra del Fuego.	150 AP.	Lalueza Fox (1997)
Yamana	11	0	0	91	9	0	0	Tierra del Fuego.	150 AP.	Lalueza Fox (1997)
No clasificado	2	0	0	0	100	0	0	Tierra del Fuego.	150 AP.	Lalueza Fox (1997)
Selknam	13	0	0	46	46	0	8	Tierra del Fuego.	150 AP.	Lalueza Fox (1997)
Colombia	6	50	16	34	0	0	0	Colombia	Entre 470 y 1800 DC.	Monsalve et al. (1996)
Indios Amazónicos	18	28	6	22	5	0	39	Indios Amazónicos. Brasil.	Entre 500 y 4000 AP.	Ribeiro dos Santos et al. (1996)
Chile	32	31	20	31	3	0	15	Valles de Azapa, Camarones y Lluta, Chile	Entre 2900 y 600 AP.	Moraga et al. (2001)
Tiwanaco	13	8	15	23	23	0	30	Tiwanaco, Bolivia	Entre 1000 y 2300 AP.	Rothhammer et al. (2003)
Sicán	28	21	25	4	25	0	25	Costa Nortes de Perú.	Entre 750 y 1375 DC.	Shimada et al. (2004)
Cortaderas Derecha	3	0	0	3	0	0	0	Salta, Argentina	1300 AP.	Dejean et al. (2006)
Lago Titicaca	14	50	36	7	7	0	0	Bolivia	Entre 6000 y 3900 AP.	Moraga et al. (2005)
Lago Titicaca	19	32	42	26	0	0	0	Bolivia	Entre 3900 y 1650 AP.	Moraga et al. (2005)
Lago Titicaca	15	20	53	20	7	0	0	Bolivia	Entre 1650 y 1000 AP.	Moraga et al. (2005)
Norte de Perú	57	5	40	14	2	0	39	Costa Norte de Perú	Entre 400 y 500 AP.	Shinoda et al. (2006)
Yamana	2	0	0	50	50	0	0	Canal de Beagle.	150 AP.	Dejean et al (2008)
Colombia	11	0	100	0	0	0	0	Planicies de altura de	2000 AP.	Silva et al. (2008)

								Este de Colombia		
Patagones	2	0	0	0	100	0	0	Puerto San Julián, Santa Cruz	150 años AP.	Crespo et al. (2009)
Paracas-Nasca	130	2	18	28	52	0	0	Costa Sur de Perú, región de Palpa.	Entre 800 AP y 800 DC.	Fehren-Schmitz et al. (2010)
Candelaria	21	11	47	0	42	0	0	Pampa Grande (Salta)	1310 AP.	Carnese et al. 2010

Tabla 5.4. Porcentajes de haplogrupos mitocondriales en muestras históricas y prehistóricas. El porcentaje correspondiente a indeterminados de Malhi et al. (2007) pertenece al haplogrupo M, nodal de los haplogrupos C y D. Rogan y Salvo (1990), Horai et al. (1991), Lalueza et al. (1993-1994), Merriwether et al. (1994) y Demarchi et al. (2001) no detectaron la deleción de los 9bp en momias del Norte de Chile, en tejido blando ni en dientes del Norte, Centro y Sur de la Argentina. García-Bour et al. (2004) secuenciaron 24 restos de los 60 estudiados por Lalueza et al. (1997) y confirmaron la ausencia de los haplogrupos A y B en Tierra del Fuego-Patagonia.

Anexo

El marco legal vigente para el tratamiento de restos humanos de origen arqueológico o de museos estipula que: “Establécese que, deberán ser puestos a disposición de los pueblos indígenas y/o comunidades de pertenencia que lo reclamen, los restos mortales de aborígenes, que formen parte de museos y/o colecciones públicas o privadas”. Esta ley fue sancionada el 21 de Noviembre de 2001 y promulgada de hecho el mes de Diciembre del mismo año. Dentro de la misma se encuentran diversos artículos que establecen:

- **Artículo 1º:** Los restos mortales de aborígenes, cualquiera fuera su característica étnica, que formen parte de museos y/o colecciones públicas o privadas, deberán ser puestos a disposición de los pueblos indígenas y/o comunidades de pertenencia que lo reclamen.
- **Artículo 2º:** Los restos mencionados en el artículo anterior y que no fueren reclamados por sus comunidades podrán seguir a disposición de las instituciones que los albergan, debiendo ser tratados con el respeto y la consideración que se brinda a todos los cadáveres humanos.
- **Artículo 3º:** Para realizar todo el emprendimiento científico que tenga por objeto a las comunidades aborígenes, incluyendo su patrimonio histórico y cultural, deberá contar con el expreso consentimiento de las comunidades interesadas.
- **Artículo 4º:** Se invita a las provincias y al Gobierno de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires a adherirse a la presente Ley.

Artículo 5º: Comuníquese al Poder Ejecutivo.

Colección
TESIS

Cristian Marcelo Crespo

Viajando con Genes:
Una metodología molecular aplicada a interrogantes arqueológicos.

Universidad Nacional de Río Negro - Sede Andina
San Carlos de Bariloche | Julio de 2011

RÍO NEGRO
UNIVERSIDAD NACIONAL

IIDyPCa
Instituto de Investigaciones en Diversidad Cultural y Procesos de Cambio

CONICET