

Estudio de la variabilidad mitocondrial en poblaciones prehistóricas de la Patagonia. Sus implicancias en el proceso de poblamiento regional.

Autor:

Crespo, Cristian M.


Tutor:

Lanata, José Luis

2015

Tesis presentada con el fin de cumplimentar con los requisitos finales para la obtención del título Doctor de la Facultad de Filosofía y Letras de la Universidad de Buenos Aires en Antropología

Posgrado



Estudio de la Variabilidad Mitocondrial en poblaciones prehistóricas de la Patagonia. Sus implicancias en el proceso de poblamiento regional.

Tesis para optar por el grado de Doctor en Filosofía y Letras.

Universidad de Buenos Aires

Lic. Cristian M. Crespo.

Director: Dr. José L. Lanata.

Co-director: Dr. Sergio Avena.

Consejero de estudios: Dr. Francisco R. Carnese.

Julio del 2015

Índice

Agradecimientos	4
Capítulo 1: Introducción.	7
1.1 Prólogo.....	7
1.2 Arqueogenética: nuevo campo transdisciplinar y su utilidad en arqueología.....	9
Capítulo 2. La Patagonia en contexto: el poblamiento de América.....	14
2.1. Información arqueológica.....	14
2.2. Teorías lingüísticas.....	22
2.3. Teorías desde la antropología biológica.....	25
2.3.1. Estudios sobre piezas dentales.....	26
2.3.2. Estudios sobre rasgos craneofaciales.....	28
2.4. Modelos generales de poblamiento Americano.....	33
2.5. Poblamiento de la Patagonia.....	40
2.5.1. Aspectos físico-geográficos y climáticos de la Patagonia.....	40
2.5.2. Paleoclimas de Patagonia.....	46
2.5.3. Hipótesis arqueológicas sobre el poblamiento de la región.....	50
2.5.4. Hipótesis bioantropológicas sobre el poblamiento de la región.....	58
Capítulo 3: el ADN mitocondrial.....	62
3.1. Propiedades del ADN mitocondrial.....	62
3.1.1. Regiones del ADNmt.....	63
3.1.2. Herencia del ADNmt.....	63
3.1.3. Tasa de mutación del ADNmt y el reloj molecular.....	65
3.1.4. Homoplasias, heteroplasmias y posiciones revertantes del ADNmt.....	67
3.2 Linajes de ADN mitocondrial en América: modelos de poblamiento.....	69
3.2.1. ADN mitocondrial de poblaciones actuales.....	71
3.2.2. Linajes mitocondriales de Patagonia.....	81
Capítulo 4: el ADN antiguo.....	85
4.1. Breve historia de los estudios de ADN antiguo.....	85
4.2. Selección, conservación y degradación de piezas esqueléticas.....	90

4.3. Conservación, daños e inhibición en el ADN antiguo.	93
4.4. La problemática de la contaminación y los criterios de autenticidad en estudios de ADN antiguo.	97
4.5. ADN mitocondrial de poblaciones humanas antiguas de América.	101
Capítulo 5: objetivos e hipótesis.	108
5.1. Objetivos generales.	108
5.2. Objetivos específicos.	108
5.3. Hipótesis de trabajo.	109
Capítulo 6: Materiales y métodos.	111
6.1. Cuestiones éticas en el estudio de restos humanos.	111
6.2. Los individuos analizados.	114
6.3. Selección de partes anatómicas.	118
6.4. Procedimientos del análisis de ADN antiguo.	120
6.4.1. Medidas de laboratorio para evitar la contaminación.	120
6.4.2. Controles de contaminación y corroboración de los resultados.	122
6.5. Proceso de extracción de ADN.	123
6.5.1. Obtención de la dentina.	123
6.5.2. Descalcificación.	124
6.5.3. Extracción de ADN.	124
6.5.4. Concentración y purificación del ADN.	125
6.5.5. Extracción a partir de equipos comerciales.	125
6.6. Protocolo de amplificación de ADN.	126
6.6.1 Caracterización genética: región codificante.	127
6.6.2. Análisis de los polimorfismos de los segmentos amplificados (RFLP).	129
6.6.3. Caracterización genética: secuenciación de la región hipervariable 1.	129
6.7. Análisis de las secuencias obtenidas.	131
6.7.1. Lectura y revisión de las secuencias.	131
6.7.2. Diversidad genética.	132
6.7.3. Análisis de diferenciación genética.	133
6.7.4. Análisis de correlación entre las distancias genéticas y geográficas.	133
6.7.5. Construcción de redes medianas de haplotipos.	134
Capítulo 7: Resultados.	136

7.1. Comparación de los métodos de extracción utilizados.	136
7.2. Región codificante (RFLP).	137
7.3. Secuencias de la RHV-I.	140
7.4. Análisis estadísticos.	143
7.4.1. Diversidad genética.....	143
7.4.2. Análisis de diferenciación genética (AMOVA).....	145
7.4.3 Análisis de correlación entre la variabilidad genética y geográfica (procrustes).	146
7.4.4. Red Mediana de Haplotipos.....	148
Capítulo 8: Discusión.....	154
8.1. Evaluación de los métodos de extracción en relación a los resultados obtenidos.....	154
8.2. Corroboración de hipótesis e interpretación de los análisis estadísticos, filogenéticos y poblacionales.	156
8.3. Implicancias para el poblamiento de América y de la Patagonia.	158
8.4. Aportes de los resultados en relación a otras disciplinas.	169
Capítulo 9: Conclusiones.....	172
Bibliografía citada.	176
Apéndice.	219
11.1. Tablas.	219
11.2. Figuras.....	232
11.3. Reactivos y soluciones utilizados.....	233

Agradecimientos

Muchas personas y contextos son los que de una u otra manera han colaborado con esta tesis de doctorado y con todos los procesos biológicos, sociales, familiares y sobre todo psicológicos que uno atraviesa para dar a luz esta suerte de hijo filosófico e intelectual.

En realidad esta tesis es parte de un continuum que comenzó hace muchos años de la mano de dos campañas arqueológicas realizadas en los alrededores de la ciudad de Puerto San Julián (Provincia de Santa Cruz) en el año 2006 y 2007, siendo mis objetivos e intereses en ese entonces (con GPS en mano) la arqueología distribucional. Sin embargo, siempre tuve la inclinación por temas relacionados con la biología, antropología biológica y la antropología forense (la carrera de medicina seguirá siendo un pendiente para otra vida seguramente). En estas campañas tuve la oportunidad de relevar algunos restos humanos depositados en el museo de la ciudad y con el permiso de las autoridades pertinentes, retirar algunas muestras para poder analizarlas.

Fue en ese momento, por el año 2008, cuando di mis primeros pasos por el mundo de las soluciones, reactivos, tips y pipetas de la mano de Cristina Dejean y Sergio Avena, siempre bajo la dirección de José Luis Lanata. Imaginar un arqueólogo en un laboratorio de genética y biología molecular...¡increíble! De esta interacción entre la bioquímica, la antropología biológica y la arqueología surgió mi tesis de licenciatura defendida en el año 2010. Ese fue un momento de inflexión para mí, ya que pudimos extraer y tipificar ADN antiguo de los restos esqueléticos obtenidos en las campañas arqueológicas y a su vez, echar a andar un laboratorio para este tipo de investigaciones. Estos pequeños logros fueron una tarea difícil y costosa, no solo por la necesidad de financiamiento, sino también por la especialización y las condiciones técnicas necesarias para llevarlas a cabo. En esto la constante capacitación y práctica es indispensable para obtener buenos resultados. En el año 2011 tuve la oportunidad de proseguir mis investigaciones gracias a la obtención de la Beca de Doctorado Tipo 1 del CONICET, las cuales se verán plasmadas en este trabajo (o por lo menos espero que sea así).

En este proceso el apoyo de mi familia fue fundamental, mi mamá, mi papá y mis hermanos siempre me alentaron para que siga con mis estudios. A mi mujer Laura le agradezco

con el corazón su apoyo y amor incondicional, además de muchas charlas y momentos en donde, ante mis dudas, siempre aparecía su frase alentadora ¡vos podés terminar todo, claro que podés hacerlo, te va a ir re bien! A la familia que me dio el destino y con la que no comparto ningún marcador genético, a mis amigos del camino, los cuales siempre estuvieron, están y estarán, mis mayores agradecimientos por su continua presencia.

Una parte fundamental fue el apoyo y confianza de mis directores José Luis, Cristina y Sergio. Aparte de las fructíferas discusiones y las charlas bibliográficas, sus consejos siempre fueron útiles y acertados. Demás está decir que he aprendido muchas cosas de sus correcciones para esta tesis y de los diversos trabajos publicados y presentados en distintos congresos. Mis agradecimientos para con ellos.

Un agradecimiento especial para mis compañeros de ruta del laboratorio, Francisco, Bárbara, Gabriela y Darío. Ellos saben muy bien (ya que tenemos temas de estudio similares) lo frustrante que es el trabajo con ADN antiguo y las insoportables repeticiones y re-análisis necesarios para decir ¡pude corroborar una muestra!....algo que mucha veces es un vaso de agua en el desierto. Sólo los que están en la trinchera saben lo duro del combate. También debo agradecerles a todos ellos las inacabables charlas sobre biología, estadística e historia y que son necesarias para realizar un trabajo transdisciplinario.

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 y al Museo Francisco P. Moreno de la ciudad de San Carlos de Bariloche y su director Eduardo Bessera y su curador Eduardo Pérez Navarro por confiar en mí y cederme las piezas para realizar este doctorado.

Un especial agradecimiento a los arqueólogos Cristian Favier Dubois, Alberto Pérez y Adam Hajduk por brindarme alguna de las muestras estudiadas en esta tesis y confiar en mí para realizar los análisis y ser el responsable de las piezas durante estos años. Un agradecimiento también para Claudio Bravi por ayudarme a ubicar en contexto las secuencias de los individuos analizados y por la frase “las tesis no se terminan, se abandonan”.

Otro 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 moleculares fueron realizados en las instalaciones del

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

También quiero agradecer al Dr. Roberto Carullo, director de la carrera de mecánica dental de la Universidad Maimónides, el cual amablemente me enseñó como realizar réplicas de piezas dentales y a remontarlas luego de su análisis. Otro agradecimiento debe hacerse a la Dra. Andrea Puebla, responsable técnica de la Unidad de Genómica del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria por sus recomendaciones y tratamiento especial para la secuenciación de las muestras remitidas a dicha unidad, paso crucial para la finalización de esta tesis.

Mi más sinceros agradecimientos a todo el equipo de Antropología Biológica de la Facultad de Filosofía y Letras, Universidad de Buenos Aires y sobre todo a su director, Dr. Francisco Raúl Carnese por permitirme trabajar con ellos y por las oportunas correcciones y comentarios realizados en esta tesis. Todos estos trabajos fueron financiados por CONICET y UBACyT. Sin éstos todo hubiera sido imposible.

Capítulo 1: Introducción.

1.1 Prólogo.

La presente tesis de doctorado tiene como objetivo principal arrojar luz sobre la diversidad y la variabilidad genética mitocondrial de poblaciones prehispánicas e históricas de la Patagonia argentina. Las investigaciones de este tipo son incipientes aún en esta región, por lo cual los datos aportados por este trabajo resultan novedosos desde diferentes puntos de vistas. Por un lado el metodológico, ya que actualmente pocas son las investigaciones y los proyectos de ADN antiguo o degradado (ADNa de ahora en más) desarrollados en su totalidad a nivel nacional y por investigadores argentinos, y por el otro lado, resulta el primer acercamiento a una temática poco explorada desde la genética de poblaciones con este tipo de registro, como es el tema del poblamiento de la Patagonia y las posibles vinculaciones biológicas de las poblaciones que evolucionaron en la región en diferentes sectores del espacio durante el Holoceno.

La investigación sobre el poblamiento de la Patagonia es una discusión compleja y que está relacionada con el poblamiento de América en general. Explicar cómo se pobló la región más austral del continente requiere poner en contexto e interrelacionar diferentes tipos de evidencias locales en conjunto con las presentes en otras regiones, ya que no puede explicarse la presencia de sitios tempranos patagónicos sin considerar las posibles rutas de acceso, los sitios de igual temporalidad en otras regiones y las constricciones ecológicas y geográficas que pudieron atravesar los diferentes grupos o el grupo humano que se asentó y se adaptó eficientemente al ambiente patagónico hasta la actualidad.

A su vez, es necesario prestar una gran atención a las diferentes líneas de evidencia disponibles. Si bien es un quehacer laborioso y agotador, para comprender este proceso resulta de suma utilidad manejar diferentes tipos de registro, ya que prescindir del contexto geográfico, geológico, ecológico, biológico o arqueológico sería realizar un sesgo de las variables que podrían haber tenido incidencia, en diferente magnitud, en este proceso. Actualmente cualquier investigación arqueológica que no tuviera en cuenta los cambios ambientales, geográficos o ecológicos (por nombrar algunas variables) carecería de poder explicativo en cuanto a las inferencias sobre procesos de cambio cultural, poblacional o demográfico a través del devenir

histórico de la población en cuestión. Lo mismo ocurriría con cualquier investigación enmarcada dentro de la genética de poblaciones.

Por este motivo en los primeros capítulos de esta tesis he intentado realizar un acercamiento comprensivo a las distintas evidencias disponibles y esbozadas por las diferentes disciplinas que estudian el complejo proceso del poblamiento de la Patagonia y de América. Si bien es un tema inagotable y con niveles de interrelaciones y complejidad elevados, una tesis es uno de los pocos momentos en que se puede realizar una extensa revisión bibliográfica y actualización de las diferentes teorías y modelos, que difícilmente pueda realizarse o encontrarse en algún artículo de una revista. Adicionalmente se realizó un exhaustivo análisis y revisión bibliográfica sobre la temática del ADN_a, ya que es un tema complejo de entender y son complejos también los protocolos, los criterios de autenticidad y la interpretación de los resultados obtenidos, todos temas en los cuales actualmente existen posturas diversas y hasta contrapuestas en cuanto a la utilidad, contextualización y asimilación de los datos aportados por este tipo de registro.

En cuanto a la información arqueológica, paleoambiental y geológica se intentó seleccionar los trabajos más representativos y vigentes para cada temática, ya que la información generada por estas disciplinas en relación al poblamiento de América y Patagonia es abundante y difícil de conmensurar. Adicionalmente debe hacerse una aclaración respecto a algunos datos arqueológicos. Muchos de los fechados radiocarbónicos de los sitios tempranos fueron realizados hace décadas, algunos de ellos fueron reanalizados y corregidos, y otros mas son modernos, por lo que existe una discrepancia entre los mismos debido su expresión y a las diferentes curvas de calibración que se utilizan en el hemisferio Norte y Sur para transformar los fechados expresados en años radiocarbónicos antes del presente (AP), modo en el cual lo informa cada laboratorio, en fechados calendáricos para que se vuelvan equiparables unos con otros. Debido a ello se optó por aplicar el criterio utilizado por Politis et al. (2008, p. 23):

“...sobre la definición de estas cronologías es importante hacer aquí un paréntesis y aclarar que las fechas expresadas en años radiocarbónicos antes del presente –años ¹⁴C AP- no son equivalentes a fechas calendáricas convencionales, sino que para ello debe aplicarse un factor de corrección o calibración que enmienda un error inherente al método de datación radiocarbónico...”

“...Para tener una idea de la magnitud de las diferencias entre ambas edades, se puede considerar de manera aproximada que una muestra de 12.000 años ¹⁴C AP tiene una antigüedad cercana a los 14.000 años calendáricos AP...”

Teniendo en cuenta estas aclaraciones, para esta tesis se utilizaron los fechados radiocarbónicos según fueron publicados por cada uno de los autores citados. En caso de poseer fechados expresados en años calendáricos, ya sea originales o convertidos por otro investigador, se optó por utilizar los mismos. En caso de no disponer de ellos, se utilizaron los fechados expresados en años AP, por lo que el lector tendrá que considerar que los mismos seguramente son más antiguos.

Los datos genéticos disponibles poseen un gran sesgo en favor de las poblaciones actuales y la mayoría de los modelos y teorías de poblamiento se encuentran estructuradas a partir de esa información. Los muestreos realizados sobre poblaciones arqueológicas son escasos aún, y la mayoría se encuentran concentrados en ciertas regiones y temporalidades debido, por un lado, a la disponibilidad de restos esqueléticos en buen estado de conservación y por otro, a la cantidad de investigaciones arqueológicas realizadas en cada país. Para Patagonia la utilización de los análisis de ADN, tanto para poblaciones actuales como prehispánicas, es pequeña e incipiente aún, por lo que cada nuevo dato aportado es de gran importancia y utilidad a la hora de poner a prueba y relacionarla con las hipótesis de poblamiento aportadas por otras disciplinas.

1.2 Arqueogenética: nuevo campo transdisciplinar y su utilidad en arqueología.

La utilización de los datos recopilados en investigaciones genéticas para contestar preguntas de índole arqueológica es un campo de estudio reciente. Hace tres décadas comenzó a incorporarse este tipo de datos en las investigaciones arqueológicas e históricas, pero aún no puede hablarse de marcos teóricos compartidos o de estudios o proyectos multidisciplinarios, sino que la aplicación de este tipo de datos se ha dado más asiduamente en la confrontación de los datos genéticos con las hipótesis arqueológicas.

Este campo de estudio transdisciplinar tuvo su inauguración en la publicación de Pääbo et al. (1989), titulada “*Ancient DNA and the polymerase chain reaction. The emerging field of molecular archaeology*”. La misma se produjo en realidad de la mano de la revolución metodológica provocada en biología molecular por la invención y aplicación de la reacción en cadena de polimerasas (PCR) como técnica rutinaria en las investigaciones genéticas. Lo cierto es que muy lentamente comenzaron a realizarse investigaciones sobre restos antiguos y durante la década de 1990 pocas publicaciones fueron realizadas, sobre todo en restos humanos.

Muchas de estas primeras investigaciones (tanto antropológicas como arqueológicas y forenses) fueron enmarcadas dentro de las aplicaciones del ADN, el cual fue definido por Hummel y Herrmann (1994, p. 2) como “*ADN antiguo es cualquier parte o traza de ADN procedente de un organismo vivo o de partes de él, así como ADN extracorpóreo, que sirva como material de partida en los estudios de biología evolutiva, antropología histórica o ciencia forense*”. Actualmente se utiliza el término ADN como un tipo de registro particular a estudiarse con cierto tipo de técnicas y metodologías precisas y con protocolos estrictos y definidos.

Fue nuevamente el equipo de Pääbo (Haeseler et al. 1995) el que realizó una definición para este tipo de estudios, llamándolos como “*arqueología genética*”, entendida como el estudio de la variación genética para reconstruir la historia de las poblaciones. Posteriormente, Stoneking propuso a la utilización de datos genéticos de poblaciones como antropología molecular, siendo la misma “*la utilización de técnicas de la genética molecular para responder cuestiones de evolución y diversidad humana*” (1997: p. 87).

Luego de la publicación de diversos trabajos, Renfrew (2000 y 2001) realizó una recopilación y síntesis de las diferentes líneas de investigación de ADN sobre restos arqueológicos, definiendo a este nuevo campo transdisciplinar con el nombre de “*arqueogenética*” para referirse a estudios que involucren el análisis de ADN, que junto a la información existente en poblaciones actuales incorpora la dimensión temporal a los estudios genético-poblacionales. Posteriormente Soares et al. (2008) toma esta definición de arqueogenética, pero proponiendo que la misma es la aplicación de los datos genéticos para discernir aspectos de la prehistoria humana.

Sin bien se han utilizados en diversas publicaciones estas definiciones, el campo del ADN parece ser mucho más complejo, tanto en su temática de estudio como en sus aspectos metodológicos en cuanto al tratamiento e interpretación de los datos y la forma de obtención de los mismos, lo cual se encuentra íntimamente relacionado a las dificultades técnicas vinculadas a los criterios de autenticidad de este tipo de investigaciones. Adicionalmente, muchas cuestiones éticas, legales e interpretativas de disciplinas como la antropología, la bioantropología, la arqueología y la genética se interceptan en un complejo entramado de conceptos y definiciones que no siempre tienen los mismos significados e interpretaciones en cada una de las mismas. Un ejemplo de esto es la problemática cuestión de los estudios genéticos en restos humanos y las implicancias que los resultados pueden tener en comunidades actuales (ver Kaestle y Horsburgh 2002, Hummel 2003 y 2014 y Matisoo-Smith y Horsburgh 2012), lo cual ha tomado relevancia en la Argentina en los últimos años.

Adicionalmente, Mulligan (2006) ha planteado las problemáticas asociadas a estos estudios en relación a la posibilidad de éxito de los mismos y a la necesidad de ciertas condiciones técnicas y financieras para llevarlos a cabo. Adicionalmente, ha llamado la atención sobre las interpretaciones de los resultados, sobre todo en estudios donde se trata de inferir reemplazos o continuidad poblacional, ya que muchas veces se utilizan las frecuencias de algún marcador molecular, generalmente el ADN mitocondrial (ADNmt de ahora en más) para apoyar cambios poblacionales, pero los mismos pueden ser difíciles de detectar en poblaciones con baja diversidad genética (como es el caso de las poblaciones americanas), siendo este problema más complejo aún en muestras antiguas, ya que los muestreos realizados en estas poblaciones suelen ser pequeños y tener pocas poblaciones comparativas. Dicho de otra manera, según la autora, desde una perspectiva genética la habilidad para determinar si los individuos están relacionados depende de la variación genética presente en la población y de la rareza de los haplogrupos presentes en los individuos de interés. Si la variación genética de la población entera es baja, puede no haber suficiente variación para determinar con significancia estadística si dos individuos pueden aleatoriamente poseer el mismo haplotipo y, si éste es común en la población general, puede ser difícil probar la relación entre esos individuos.

Otro problema metodológico radica en el cálculo de los tiempos de coalescencia, el cuál mide teóricamente a partir de los datos genéticos la separación de dos moléculas de ADN con la

que se infiere la separación poblacional. Esto muchas veces ha sido puesto en la misma línea que los fechados radiocarbónicos, pero en realidad ambos miden cosas diferentes (la segregación de nuevas variantes o polimorfismos por un lado, y la desintegración de átomos de carbono por el otro) y muchas veces no tienen por qué estar en relación o sincronía con fenómenos poblacionales como las migraciones o fisiones poblacionales (Meltzer 1995 y 2003). La solución para muchos de estos problemas es la utilización de la información arqueológica y su contexto, el cuál puede ser crucial a la hora de realizar y poner a prueba hipótesis, pero para ello los proyectos deben ser cuidadosamente planeados y debe existir una colaboración estrecha entre arqueólogos y genetistas.

Otros como Pluciennik (2006) han tenido una visión más dura en cuanto a la aplicación del ADN en problemáticas arqueológicas, llamando la atención sobre la hostilidad de muchos arqueólogos en aplicar datos genéticos en sus investigaciones y la postura de muchos genetistas en cuanto a considerar irrelevante la utilización de los datos generados desde la arqueología en investigaciones genéticas, ignorando muchas veces los procesos socioculturales, las interpretaciones y los debates arqueológicos. Afortunadamente recientes acercamientos han propuesto una síntesis para muchas de estas problemáticas planteando que los estudios arqueogenéticos deben incluir la provisión de datos de aspectos paleodemográficos, migraciones pasadas e historias poblacionales (Oliveira 2008). Su aplicación no sólo sería el estudio de humanos, sino también de plantas y animales económica y ecológicamente relevantes y a microorganismos infecciosos, todos fenómenos que pudieron afectar la vida de los humanos del pasado o tuvieron relación con él. Según Oliveira (2008), la arqueogenética no posee una problemática particular, su objeto de estudio es el ser humano en sí, por lo que este enfoque requiere de manera imprescindible información arqueológica e histórica, lo cual sería una característica propia y no un sub-campo de la genética humana. Para llevar a cabo esta propuesta en un campo que aún no posee un marco de referencia teórico propio, Oliveira (2008) propone: a) procurar mejorar la comunicación entre las ciencias sociales y naturales, especialmente con la arqueología, b) aumentar la interrelación entre los campos de investigación de la arqueología y la genética, c) definir y tener en cuenta las posibles consecuencias políticas y sociales de las investigaciones arqueogenéticas, d) tener presente los aspectos éticos y morales del estudio de los restos arqueológicos (especialmente restos humanos) y su relación con las comunidades actuales, e) definir los conceptos operativos en común y aplicar los conceptos de la genética a la

información arqueológica y, f) lograr un posicionamiento en el campo de la filosofía de la ciencia para lograr marcos teóricos con validez.

En la propuesta de Oliveira (2008), que compartimos en esta tesis, la arqueogenética se conforma como un campo de investigación con sus propias reglas y debe ser visto como un acercamiento multidisciplinario a la historia y evolución humana, que requiere aún formulación teórica y fuertes pisos epistemológicos y prácticos, en donde el dato derivado del análisis genético debe ser integrado con la información de la cultura material para construir una correcta narrativa del pasado. En esta misma línea Renfrew (2010) llamó la atención sobre la importancia de las características culturales y la organización social como factor explicativo de los patrones genéticos observados en muchos grupos humanos y los posibles impactos que los mismos pueden provocar en el acervo genético de la población estudiada (i.e. matrilocidad y patrilocidad, tipo de organización social, etc.), proponiendo a la arqueogenética como la confluencia interpretativa de estas diferentes líneas de evidencia. Algunos han propuesto el marco teórico de la teoría de la herencia dual como interfaz teórica válida para estudiar la interrelación entre genes y cultura (Collard 2010), pero aún no se registran muchas aplicaciones de este marco teórico.

De los trabajos expuestos puede concluirse en la necesidad de la interrelación de diversas disciplinas a la hora de interpretar los datos obtenidos en cualquier investigación que incluya en su agenda los análisis de ADN. Por muchas razones tanto teóricas y metodológicas, obtener secuencias de ADN no conlleva el mismo tipo de complejidad que obtener un dato radiocarbónico y su interpretación posee múltiples aristas a ser analizadas. Concordamos con Matisso-Smith y Horsburgh (2012) en que la información que puede proporcionar el ADN dice muy poco por sí solo, por lo que resulta necesario un planeamiento de proyecto y objetivos específicos, siendo esto un proceso dialéctico de comunicación entre diferentes disciplinas.

Capítulo 2. La Patagonia en contexto: el poblamiento de América.

2.1. Información arqueológica.

El estudio del proceso de poblamiento americano fue y es un tema en donde la arqueología es quizás la disciplina que más investigaciones ha realizado desde el comienzo de la indagación sobre el origen, la dispersión inicial y la temporalidad de la ocupación de las diferentes regiones del continente. En las últimas décadas, propuestas realizadas desde distintas disciplinas han apoyado o refutado algunos de los supuestos e hipótesis arqueológicas, las cuales serán expuestas en los siguientes apartados, pero en general los datos aportados por este registro se han conformado en el paradigma sobre el cual las demás disciplinas sustentan y ajustan sus propuestas (por ejemplo, la utilización de los fechados radiocarbónicos de los sitios de ocupación humana temprana como edades límite para los modelos de poblamiento).

Sin embargo, las hipótesis propuestas desde la arqueología distan de ser unánimes, muchas veces son contradictorias y plagadas de debates e interpretaciones disímiles, teñidas de conflictividad y tensiones académicas, sobre todo en referencia a los hallazgos tempranos de Sudamérica (ver Politis 2000). Un ejemplo claro de este tipo de problemáticas es el rechazo y tardía aceptación de muchos sitios de gran profundidad temporalidad, los cuales sólo recientemente comenzaron a formar parte de los modelos de poblamiento y se incorporaron a las nuevas teorías y revisiones sobre el tema (Politis et al. 2008).

Adicionalmente a estas problemáticas, los paradigmas arqueológicos (y esto es parte de la historia de la disciplina) han cambiado mucho teórica y metodológicamente desde el comienzo de las investigaciones. Inicialmente el marco teórico estuvo atado a concepciones histórico-culturales y ante la ausencia de fechados radiocarbónicos, las interpretaciones del registro arqueológico eran tipológico-descriptivas, lo cual limitaba el abanico explicativo sobre los procesos de poblamiento, cambio y adaptación de las poblaciones americanas. Un ejemplo de esto es la controversia Hrdlička-Ameghino de principios del Siglo XX. Actualmente la utilización de diversos marcos teóricos, en especial los evolutivos y el avance de diferentes técnicas han permitido ampliar el rango de preguntas que se le pueden hacer al registro

arqueológico y que el mismo puede contestar. Esto ha ayudado a modelar la dispersión y adaptación de las primeras poblaciones que ingresaron al continente y las trayectorias evolutivas particulares en las diferentes regiones ocupadas.

La historia de las teorías del poblamiento de América comienzan muy temprano, pero las propuestas académicas se inician a principio del Siglo XX. Fue el antropólogo físico Aleš Hrdlička (1920) el primero en lograr un relativo consenso en cuanto a la antigüedad del hombre en América, proponiendo una temporalidad cercana a los 6.000 AP y su la similitud craneométrica de los nativos americanos con las poblaciones asiáticas. El descubrimiento de puntas de proyectiles particulares en el año 1926, posteriormente bautizadas con el nombre Folsom, asociadas a costillas de bisontes extintos en Nuevo México comenzó a dar forma a la primera propuesta de poblamiento americano. Este descubrimiento permitió a arqueólogos y antropólogos proponer la coexistencia de humanos y megafauna que se creía extinta en la “última edad de hielo”, hace unos 10.000 años AP. El posterior hallazgo de otro tipo de puntas (bautizadas como Clovis), también en Nuevo México y asociadas a mamuts incentivó las investigaciones en las décadas venideras. El descubrimiento de las puntas Folsom y Clovis en toda Norteamérica entre 1920 y 1930 reforzó la asociación de puntas de proyectiles y fauna extinta, principalmente bisontes y mamuts, y dejó en claro que los humanos modernos ya estaban presentes en América en las postrimerías de la última glaciación, hacia fines del Pleistoceno (Fiedel 2000). Según esta visión, el poblamiento pudo haber sido posible a través de una vía terrestre desde Asia (posteriormente llamado corredor Alberta) por medio del estrecho de Bering. La 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 acompañó la constante inestabilidad climática de la transición Pleistoceno-Holoceno.

Diversos investigadores, sobre todo en Sudamérica, comenzaron a realizar hallazgos de puntas de proyectil, que fueron denominadas “cola de pescado”, y que se encontraron en algunos casos en asociación con taxones extintos (Bird 1938, Krieger 1964). 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 años AP, llegando las puntas Clovis a obtener contextos cronológicos cercanos a los 11.200 años AP. Haynes (1966) fue el primero que infirió a través de estos descubrimientos una imagen de la colonización humana inicial en América.

Sobre la base de los estudios de este investigador se postuló el paradigma que luego sería dominante hasta muy recientemente, en el cual la cultura material denominada “Clovis” se dispersa en Norteamérica y algunas regiones de Canadá y México, y que luego se transformaría en la representante de los primeros habitantes del continente, que se dispersaron desde Asia por el corredor libre de hielos a pie durante las postrimerías del Pleistoceno. Esta cultura estaría adaptada a las condiciones frías del momento y especializada en la caza de grandes mamíferos.

Esta postura fue retomada años posteriores por Martin (1973), culminando en el diseño del modelo de poblamiento americano que postula que la “gente Clovis” eran grupos cazadores recolectores de origen asiático que ingresaron al continente por el corredor libre de hielos hace unos 11.000 años AP. Éstos estaban especializados en la caza de grandes animales extintos, los que habían sido perseguidos por todo el continente hasta su extinción, poblando así todo el continente de Norte a Sur. Pronto las culturas Folsom y Clovis se convirtieron en el emblema del paradigma arqueológico llamado “Clovis First” (Clovis primero) a partir de la década de 1980, también llamado Paleoindio por su forma de adaptación. Según este, Clovis era la única imagen aceptable de los primeros pobladores americanos y los sitios con temporalidades similares o anteriores eran prontamente rechazados o cuestionados en cuanto a su posibilidad de ser considerados en las discusiones sobre la ocupación del continente. Actualmente se disponen de datos radiocarbónicos y calibraciones, las cuales permitieron redefinir las temporalidades de los sitios arqueológicos mediante métodos seguros. Waters y Stafford Jr. (2007) reanalizaron todos los fechados Clovis, estableciendo que dicha entidad cultural se encuentra en un rango acotado entre 13.250-12.800 años cal AP (11.050-10.800 años AP).

De todas maneras esta imagen cuasi decimonónica prontamente fue cuestionada por diversos investigadores a lo largo de todo el continente, demostrando que la dispersión y las adaptaciones de los primeros grupos humanos fueron mucho más complejas de lo que se creía. Este resquebrajamiento comenzó como una discusión estricta del campo arqueológico, pero luego otras disciplinas también aportaron información novedosa y contradictoria con el modelo impuesto.

El primer indicio de contradicción con el paradigma Clovis fue la dificultad de encontrar ancestros culturales directos en las regiones de Siberia y Alaska. Si bien algunos han considerado a las industrias del paleolítico superior asiático como evidencia directa del origen de los

americanos (Morlan 1987, Dikov 1987, Stanford 1991, Hoffecker et al. 1993, Göebel 1999), otros han criticado los enfoques tipológicos debido a sus dificultades metodológicas para trazar filiaciones poblacionales, optando por proponer como posibles predecesores Clovis al complejo Nenana en Alaska, al sitio Ushki en Kamchatka o al sitio Diuktai en el noreste de Siberia (Yi y Clark 1985, Clark 1991, Adovasio 1993, Fiedel 2000, Dumond 2001). Sin embargo, revisiones realizadas con la evidencia lítica han concluido que el registro arqueológico de Alaska es variado y complejo debido a diferencias culturales y funcionales, imposibilitando las conexiones a través de la tipología (Bever 2001). También se ha propuesto una posible conexión Atlántica con el conjunto artefactual europeo denominado Solutrense (Stanford y Bradley 2000 y Bradley y Stafford 2004), pero la misma ha sido rechazada debido a problemas de índole empírica y conceptual (Kelly 2003, Clark 2004, Guy-Strauss et al. 2005).

En los últimos años, diversos trabajos han hecho nuevos análisis comparando los fechados radiocarbónicos y la distribución de puntas Clovis, llegando a la conclusión que su utilización como datos proxy no es capaz de explicar el poblamiento inicial (Hazelwood y Steele 2004), pero sí avalar la dispersión de esta cultura por el corredor libre de hielos y su posterior divergencia en otros conjuntos tecnológicos (Buchanan y Collard 2007, Hamilton y Buchanan 2009).

Por otro lado, un conjunto de investigadores han propuesto una visión alternativa, en la cual las primeras poblaciones que ingresaron al continente estarían más asociadas a una tradición tecnológica marítima en el Océano Pacífico con probable utilización de botes producto de una adaptación a ambientes costeros. Estas costas podrían llegar a ser los corredores iniciales de la dispersión desde Alaska hasta el Sur, en donde Clovis sería una adaptación posterior derivada u otra migración independiente (Dixon et al. 1997, Dixon 2001 y 2013, Erlandson et al. 2005, 2007 y 2008, Faught 2008, Erlandson y Jew 2009, Erlandson y Braje 2011, Erlandson et al. 2011, Waters et al. 2011, Jenkins et al. 2012).

En Sudamérica algunos conjuntos arqueológicos tempranos de distintas regiones poseen la peculiaridad de compartir puntas de proyectil llamadas “cola de pescado” y las cuales han sido propuestas como características de la cultura de los primeros grupos humanos (ver revisión en Nami 2013), pero a su vez también se ha comprobado la convivencia de muchos rasgos culturales regionalizados, no existiendo una dominancia de un estilo sobre otro (Dillehay 1999 y

2009). Algunos han propuesto que este hecho pueda tratarse de similitudes en la cadena de reducción lítica más que a una cultura compartida (Nami y Castro 2014).

El segundo indicio de contradicción del paradigma Clovis radica en las reconstrucciones geológicas y la/s ruta/s inicial/es de dispersión. Tempranamente fue Dixon et al. (1997 y 2001) los que demostraron que el descenso del nivel del mar (entre 100 y 120 metros) habría propiciado la exposición de una amplia plataforma continental, la cual habría sido el lugar de la primera dispersión de los grupos humanos. En este sentido, estudios ecológicos y geográficos realizados por Mandryk et al. (2001) indicaron que la ruta costera pacífica habría estado disponible y habría podido soportar poblaciones humanas hace unos 13.000 años AP (2.000 años antes que el corredor Alberta), y que el corredor interior no habría sido habitable hasta momentos posteriores a 11.500 años AP. Esta última estimación no sería concordante con los fechados tempranos propuestos para Clovis. En este contexto, el interior del continente pudo estar vacío y el aumento progresivo del nivel del mar pudo implicar el desplazamiento al interior y el inicio de las características del modelo Clovis.

En los últimos años las reconstrucciones detalladas sobre la geología, geomorfología y la disponibilidad de ambientes para el momento del poblamiento, establecieron que la costa pacífica de Norteamérica habría estado disponible por lo menos desde los 18.000 años cal AP (Erlandson et al. 2007, Dixon 2013, Anderson et al. 2013) – figura 2.1.

En esta reconstrucción, el corredor Alberta se habría visto libre de hielos a partir de los 15.000-14.000 años cal AP, pero ecológicamente podría ser colonizado desde los 13.000 cal AP. Por su parte, la evidencia allí recopilada demuestra que el corredor pacífico posee sitios tempranos con restos de fauna variada, lo cual demostraría que tanto las islas como la costa pacífica poseían suficientes recursos para sostener poblaciones humanas, aún bajo las crudas condiciones climáticas impuestas durante el Último Máximo Glaciar (UMG- 20.000-16.000 cal AP) y el reavance glacial Younger Dryas temporalmente ubicado entre 13.000 y 12.000 años cal AP (Davis 2011).

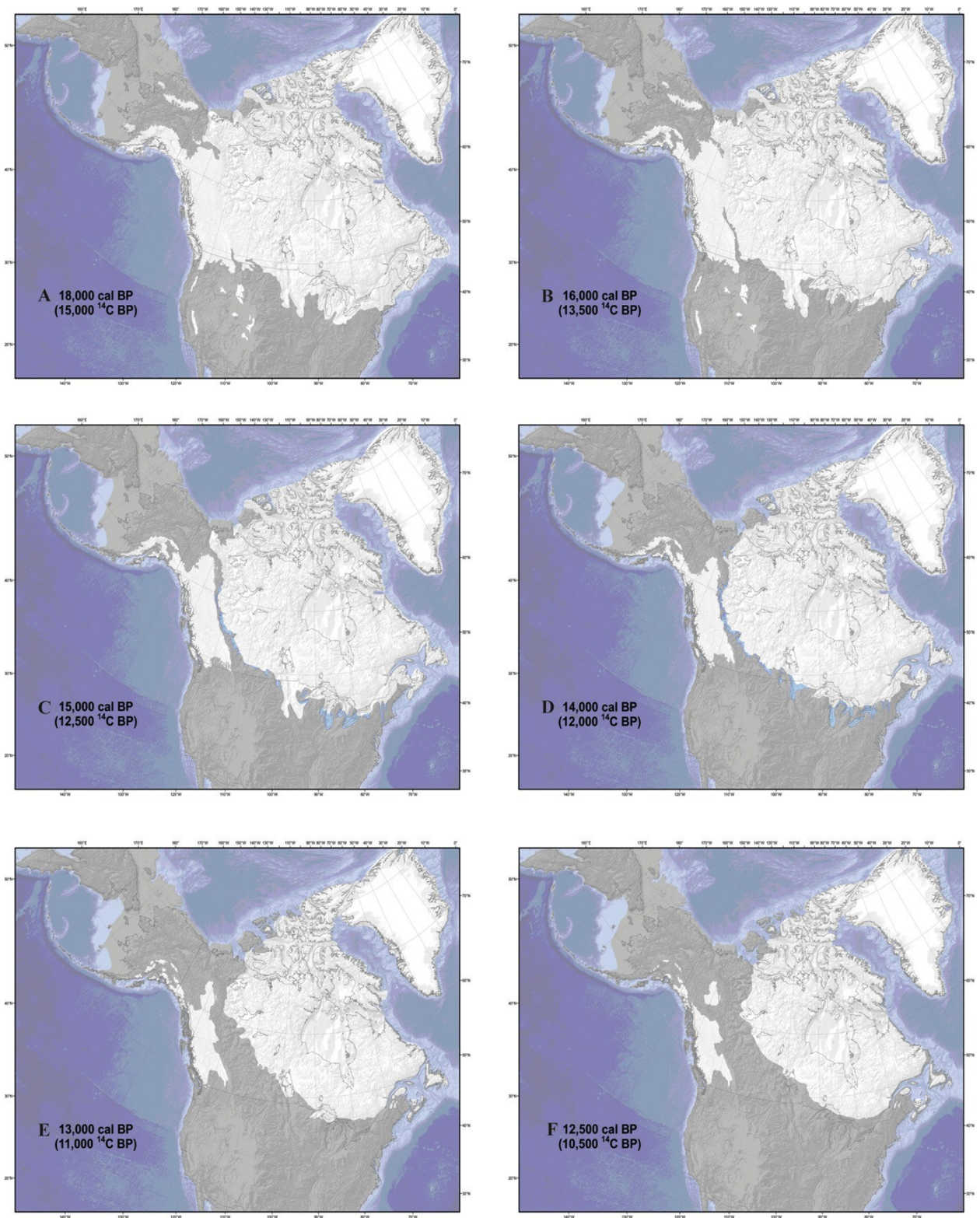


Figura 2.1. Reconstrucción de la secuencia de deglaciación y cambio en los niveles del mar durante el ingreso de poblaciones a Norteamérica según Dixon (2013). En la misma se observa la disponibilidad de los sectores costeros del Noroeste del continente anterior a la formación del corredor Alberta.

El tercer indicio de contradicción del paradigma Clovis es la supuesta especialización en la megafauna, la cual tendría una escala continental en los primeros momentos de poblamiento y habría provocado su desaparición. Tres hipótesis han sido esgrimidas para explicar este proceso; aquellas que hablan de la sobrematanza y posterior extinción por mano humana (concordante con el supuesto Clovis), las que proponen a la transición Pleistoceno-Holoceno y la inestabilidad climática como factor desencadenante del cambio en la fauna y las que relacionan la interacción medio ambiente/humanos como escenario propiciatorio para desaparición de muchos de estos taxones (hipótesis mixtas).

Diversos trabajos publicados han refutado la primera hipótesis. Alroy (2001) y Grayson y Meltzer (2002 y 2003) reanalizaron la evidencia disponible y concluyeron que la acción humana sobre la megafauna era menor. Sobre 35 géneros analizados y 76 sitios arqueológicos de Norteamérica muestreados, sólo 14 demostraban predación segura y sólo el mamut parecería ser la presa más aprovechada. A su vez, Cannon y Meltzer (2004) encontraron que muchos de estos sitios poseían mayor riqueza taxonómica que la supuesta, por la cual sería más compatible una estrategia más generalista y enfocada en animales de menor porte. Esto estaría en contra de un escenario de caza a gran escala, especialización en estos taxones y rápida matanza, por lo cual factores no humanos habrían intervenido en las extinciones.

Actualmente, la supuesta especialización ha sido casi rechazada, primando las posturas más “ambientales” (Krasinsky y Haynes 2010, Prado et al. 2012, Reumer et al. 2014, Abramson et al. 2015). Sin embargo otros han apoyado una visión más integradora, proponiendo que la combinación de los nuevos factores ecológicos ambientales y las modificaciones inducidas a los ecosistemas por la irrupción humana habría desencadenado cambios que propiciaron las condiciones para la extinción de estos mamíferos (Fiedel 2009, Cione et al. 2003 y 2008, Lima-Ribeiro et al. 2012, Prescott et al. 2012, Chichkoyan 2013). De todas maneras, Haynes (2007) y Borrero (2009a) han señalado las dificultades para apoyar o refutar alguna de las dos últimas hipótesis debido a la existencia de sesgos, proponiendo que lo único inequívoco de probar es la interacción humano/megafauna, siendo difícil aceptar la especialización en estos animales por parte de los primeros pobladores, sobre todo para distintas regiones de Sudamérica.

El último indicio de contradicción con el paradigma Clovis (y el más contundente) puede rastrearse en diversas publicaciones de sitios arqueológicos tempranos, los cuales poseen

fechados contemporáneos y hasta anteriores a Clovis, muchos de los cuales se encuentran en Sudamérica (ver tabla 11.1 en apéndice). El descubrimiento y publicación de sitios como Monte Verde (Dillehay 1984) llevó a tensiones y discusiones en relación con el paradigma Clovis First a partir de la década de 1980 (ver Politis et al. 2009 para una mayor discusión).

Prontamente muchos defensores del modelo comenzaron a realizar trabajos de revisión de las evidencia pre-Clovis, criticando principalmente la supuesta falta de evidencia inequívoca de estos sitios (Kelly y Todd 1988, Meltzer 1989), apoyando que la entidad cultural Clovis es la única innegable y resistente al escrutinio científico, estando la estratigrafía y fechados de los sitios tempranos erróneos o con problemas interpretativos en cuanto a la asociación de los restos culturales con la posición estratigráfica de los fechados (Kelly 2003, Fiedel y Kuzmin 2010). Adicionalmente, en el mismo momento histórico, otras líneas de investigación comenzaron a criticar la temporalidad impuesta del modelo Clovis First. Esto es claro con la evidencia generada desde la genética de poblaciones, que permite calcular tiempos de coalescencia para los haplogrupos mitocondriales superiores a la temporalidad Clovis y los modelos de la craneometría. Sin embargo, muchos arqueólogos pusieron en descrédito los postulados de estas disciplinas, aduciendo que la antigüedad del hombre en América es una discusión estrictamente arqueológica y que dicha temática no tiene relación con la historia biológica, ya que las divergencias moleculares no necesitan estar en relación con la divergencia cultural-poblacional (Meltzer 1995 y 2003).

La comunidad científica actual ha comenzado a abandonar estos escepticismos y muchos sitios arqueológicos antes criticados o denostados por cuestiones no estrictamente científicas comienzan a ser publicados en mayor detalle y considerados cada vez más para las problemáticas de poblamiento. Esto puede deberse a cuestiones metodológicas en cierta forma, y también a la evidente diferencia del registro arqueológico de momentos tempranos de Sudamérica. Dillehay (1999 y 2009) fue uno de los primeros en realizar una síntesis de las diferencias culturales y adaptativas de los modelos esgrimidos a partir del registro arqueológico. Según el autor, el poblamiento de este hemi-continente habría sido por una ruta costera pacífica y los vestigios tempranos se caracterizan por la ausencia de estilos compartidos continentalmente, una mayor movilidad de las poblaciones y una diferente dinámica ambiental, climática y geológica. El modo de vida Paleoindio planteado por Clovis no tiene paralelo en Sudamérica, los desarrollos

tecnológicos son más regionalizados, con un complejo mosaico de prácticas tecnológicas y de subsistencia, siendo importante los recursos de ambiente acuáticos imposibilitando la aplicación de modelos generales, los cuales han enmascarado la diversidad de los primeros cazadores-recolectores sudamericanos (Scheinson 2003). Esto puede verse en muchos sitios tempranos en donde se observa desde un primer momento diversidad de adaptaciones y tipos tecnológicos, con adaptaciones costeras (Jackson et al. 2007 y 2012), mixtas (Dillehay et al. 2008, López Mazz 2013) y de altura (Sandweiss y Rademaker 2011).

Por los motivos expuestos, el modelo Clovis First puede rechazarse en la actualidad. Tal vez una nueva interpretación de la evidencia recolectada pueda dar información para generar nuevas hipótesis y responder otros interrogantes, pero no puede considerarse a esta cultura el primer poblador de América, ni considerarse un modelo cultural de los contextos y características que tendrían que tener los primeros grupos humanos de todo el continente.

2.2. Teorías lingüísticas.

La lingüística histórica o evolutiva ha intentado reconstruir el origen y evolución de las lenguas en distintos grupos humanos. Para ello se ha valido de diversos enfoques en el intento de construir e interpretar árboles filogenéticos lingüísticos y poder develar el origen común de diferentes lenguajes para trazar la posible historia evolutiva de las poblaciones humanas y sus posibles relaciones.

La glotocronología (Swadesh 1972) es una metodología que se utiliza para calcular la temporalidad y el momento de divergencia entre grupos de lenguas que teóricamente comparten un ancestro en común (familias lingüísticas) a través del reconocimiento de polimorfismos de vocabulario, gramática y correspondencia sonora. En la mayoría de este tipo de estudios, la reconstrucción de árboles de lenguas se realiza a través de homologías entre algunas palabras y de allí se deriva la existencia de un hipotético ancestro común. Sin embargo, este método de estudio ha sido cuestionado en las últimas décadas, ya que diversos procesos culturales, como los préstamos lingüísticos entre diferentes grupos, el azar o procesos demográficos pueden afectar este tipo de filogenias.

En América, el primer acercamiento hacia una clasificación de las diversas lenguas presentes en los grupos Nativos Americanos fue realizado por Joseph Greenberg (1960). Posteriormente, sus estudios le permitieron concluir que las lenguas de todas las poblaciones de América están divididas en tres grandes grupos lingüísticos diferenciados (Greenberg 1987, Ruhlen 1987 y 1991, Greenberg y Ruhlen 1992), definiendo los mismos como:

1. El tronco Eskimo-Aleutiano, restringido a poblaciones del Norte de Norteamérica, desde el extremo Noreste de Siberia, pasando por las Islas Aleutianas, Sudoeste de Alaska y Canadá, hasta Groenlandia;
2. El tronco Na-dené, formado por cuatro lenguas: Haida, Tlingit, Eyak y Athabaska, cada una con subfamilias. Todas ellas son originarias y parecen estar presentes sólo en poblaciones de Norteamérica.
3. El tronco Amerindio, que forma todas las demás lenguas habladas en el continente, desde Canadá hasta Tierra del Fuego.

Esta división lingüística fue tomada por distintos investigadores de diferentes disciplinas y, sumada a algunos datos morfológicos y genéticos, se desarrolló la hipótesis tripartita del poblamiento de América (Greenberg et al. 1996, Ruhlen 1994). Según estos, las tres familias lingüísticas serían el reflejo de diferentes migraciones al continente americano desde su lugar de origen (continente asiático), hace unos 12.000 años AP aproximadamente. La primera de ellas estaría vinculada a poblaciones proto-Amerindias (distribuidas en toda América), la segunda por poblaciones Na-dené (Norteamérica) y una tercera por poblaciones Eskimo-Aleutianas (Norte de Norteamérica) –figura 2.2.

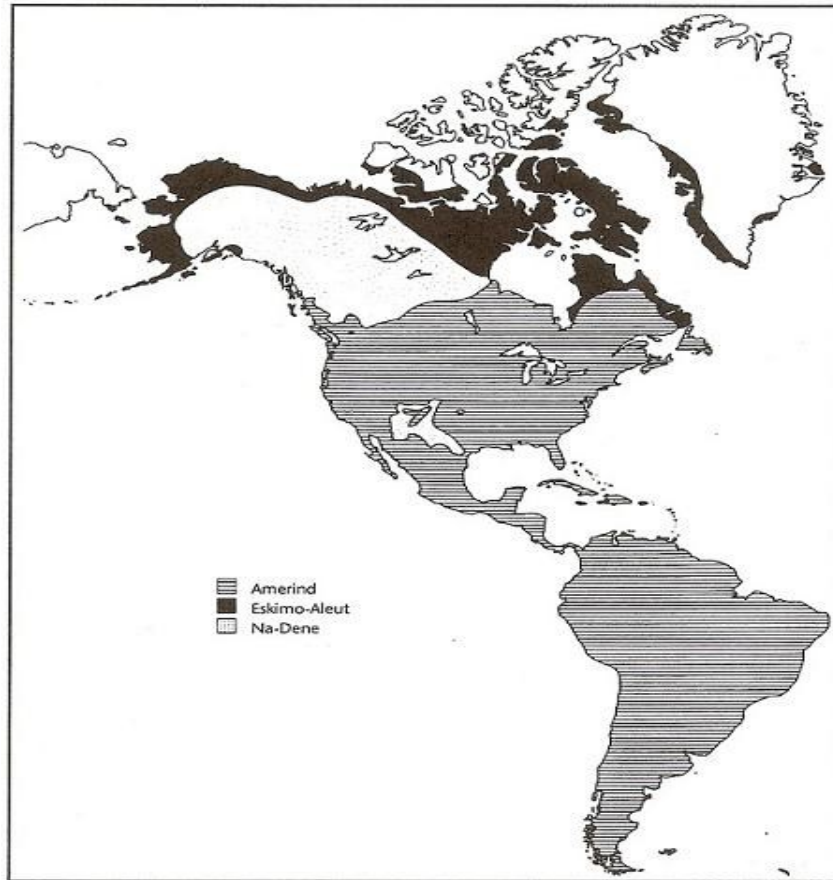


Figura 2.2. Mapa de distribución de lenguas en América propuesto por Greenberg (1987), el cual demostraría las tres oleadas poblacionales que ingresaron en diferentes momentos al continente.

Estas hipótesis fueron cuestionadas a partir de la década de 1990 por diferentes razones. Algunos (*i.e.* Nichols 1997 y 1998) han opinado que es imposible a través de esta metodología establecer relaciones genéticas conclusivas entre las diferentes lenguas. Adicionalmente, Campbell (1998) llama la atención sobre la diversidad lingüística existente en Sudamérica, la cual es mayor a la presente en Norte y Centroamérica, lo que resulta difícil de explicar en términos temporales y de segregación lingüística. Siguiendo estos planteos, se ha postulado que el continente americano posee una gran variedad de lenguas, y tiene la menor profundidad temporal en cuanto a ocupación humana, hecho que puede parecer contradictorio con los postulados de la lingüística evolutiva. Por este motivo, algunos investigadores (Nichols 1990 y 1992) han optado por proponer una temporalidad de 35.000 años AP y múltiples migraciones como origen de las lenguas de las poblaciones americanas.

De todas maneras, las revisiones de estos supuestos y modelos (Nettle 1999 y Hill 2004), han propuesto colonizaciones con temporalidades más recientes. Pero las investigaciones actuales con este tipo de registro han sido desestimadas debido a sus falencias metodológicas y falta de evidencia y posibilidad de corroboración empírica para tal profundidad temporal (Hill 2004).

Estos cuestionamientos hacen difícil hoy en día tener en consideración las hipótesis desarrolladas a partir de estudios lingüísticos para el poblamiento de América. Mucha de la información recopilada aún se sigue utilizando para cuestiones más regionales y establecer correlaciones entre grupos de ciertos troncos lingüísticos y otros marcadores de filogenia (mayoritariamente genéticos) a fin de establecer posibles procesos migratorios en una escala geográfica y temporalmente más acotada (Ward et al. 1993, Mazieres et al. 2007, Hunley et al. 2007, Sandoval et al. 2009, Kemp et al. 2010, Barbieri et al. 2011, entre otros), llegando a diversas conclusiones en cuanto a la correlación entre afinidades genéticas-lingüísticas en el continente americano.

2.3. Teorías desde la antropología biológica.

La Antropología Biológica surge de la unión e interrelación de dos áreas previamente consideradas como corrientes separadas: Antropogenia y Antropotaxia, preocupadas por el origen y la clasificación de las poblaciones humanas, respectivamente. Según señala Pucciarelli (1989), la primera estaba dada por la necesidad de estudiar y comprender el comportamiento y características bio-culturales de las poblaciones "exóticas— a los ojos de los conquistadores europeos, adoptándose así un criterio esencialmente taxonomista, ejemplificado en las cinco variedades fundamentales descritas por Blumembach en 1775. Luego, a mediados del siglo XIX, se opera un cambio fundamental con la irrupción del evolucionismo darwiniano. La revolución filosófico-científica que significó el pensamiento evolucionista en biología inicia la segunda vertiente de contenido de la antropología física clásica. Concierno a la causa y forma en que el hombre evoluciona y su inicio concreto debe situarse hacia el año 1871, época en que Darwin publica "The Descent of Man". A mediados del siglo XX se produce el reemplazo del concepto tipológico predominante por el de población antropológica. Esto permite pensar en

procesos adaptativos de las poblaciones humanas en su constante interacción con el medio. El enfoque tipológico comenzó a erosionarse hacia de los años 1960, a partir de nuevos elementos teóricos, entre ellos la genética de poblaciones (Avena 2011).

Afortunadamente, el uso de las categorías raciales en trabajos científicos fue disminuyendo, especialmente desde el fin de la segunda guerra mundial, no sólo por su carga etnocéntrica y discriminante (recordemos que muchas de estas características eran utilizadas para justificar falso el atraso o adelanto intelectual de los diferentes grupos humanos y por ende el sojuzgamiento de unos por otros), sino también por el descrédito y la dificultad en la utilización del concepto de raza para dar cuenta de la variabilidad biológica de las poblaciones humanas (ver Cartmill 1999 para una revisión).

El estudio y planteamiento de hipótesis sobre el poblamiento de América ha sido encarado por diversos investigadores a través del análisis morfológico para establecer no sólo la temporalidad, el número de migraciones y el área de proveniencia de los migrantes, sino también las posibles relaciones y afinidades biológicas que pudieron establecerse entre los diferentes grupos humanos que habitaron las distintas regiones de América en momentos holocénicos posteriores. El pionero en este tipo de análisis fue el antropólogo Aleš Hrdlička (1920), siendo el primero en postular la similitud y posible origen asiático para todas las poblaciones americanas a través de rasgos fenotípicos y dentales.

Mucho ha cambiado, y sobre todo se ha complejizado, en el estudio de restos humanos en relación al poblamiento de América en la actualidad, tanto teórica como metodológicamente, pero aún continúan utilizándose básicamente piezas dentales y rasgos craneofaciales para rastrear posibles relaciones de ancestría entre los Nativos Americanos y otras poblaciones.

2.3.1. Estudios sobre piezas dentales.

Los rasgos y características morfológicas de las piezas dentales y su variación a través de diferentes grupos humanos han sido utilizados para trazar relaciones de ancestría entre poblaciones de diferentes sectores geográficos. Para el caso del poblamiento de América,

diferentes investigadores (Turner II 1984, Scott y Turner II 1988, Rodríguez Cuenca 2003) han propuesto la existencia de dos patrones dentales diferenciados dentro del “Complejo Dental Mongoloide” característico del Este asiático:

1. Un patrón sinodonte (alto porcentaje de incisivos en pala -“*shovel shaped*”-, pliegue acotado en los molares inferiores, patrón cuspidal 6, protostílido y rotación de los incisivos superiores centrales), propio de poblaciones mongoloides del Noreste asiático y del cual son derivados todas las poblaciones Americanas y;
2. Un patrón llamado sundadonte (opuesto al anterior) perteneciente a poblaciones mongoloides del Sur asiático.

En años posteriores se desarrolló una propuesta más específica respecto a las hipótesis iniciales (Turner 1994, Turner 2002 y Turner y Scott 2007). El modelo general desarrollado postula la existencia únicamente de poblaciones con características sinodontes en el Nuevo Mundo, presentes en distintas morfologías craneales, con un origen exclusivamente del noroeste asiático, planteando que el número inicial de migrantes tendría que haber sido pequeño, ya que no representa toda la variabilidad genética presente en Asia. El lugar de ingreso de estas poblaciones habría sido el corredor Alberta, pero en un período “epi-Clovis” (pre-12.000 AP), y que en Alaska habrían sufrido una expansión poblacional en su ingreso.

Sin embargo, en los últimos años ha habido diferentes críticas a este modelo. En el 2003 se publicó el estudio realizado en uno de los esqueletos más antiguos descubierto en Sudamérica, llamada Luiza, encontrada en la región de Lagoa Santa, y asociada a dataciones que oscilan entre 11.960-9.500 AP (Neves et al. 2003) postulando, entre otras cosas, la ausencia de las características estrictamente sinodontes. En la misma línea, otros investigadores han criticado este modelo (Rodríguez-Cuenca 2003, Pucciarelli 2004 y Neves et al. 2004), proponiendo la existencia de una variabilidad biológica dental mayor a la supuesta en todas las poblaciones amerindias como para identificar un sinodontismo pleno, existiendo heterogeneidad y continuidad entre ambos extremos anteriormente nombrados.

La discusión sobre el origen de esta variabilidad biológica dental aún no está completamente comprendida, ya que algunos autores (Rodríguez-Cuenca 2003) optan por una explicación relacionada con las influencias ambientales como generadoras de esta variación,

mientras otros (Bernal et al. 2010) opinan que la forma y el tamaño dental y su variación estarían relacionados con factores microevolutivos aleatorios y no aleatorios, estando las diferentes variedades estudiadas más relacionadas con el tipo de dieta de las diferentes poblaciones que con las variantes ecológicas de las distintas regiones, sobre todo en poblaciones de Sudamérica.

2.3.2. Estudios sobre rasgos craneofaciales.

Los estudios craneofaciales sobre diferentes poblaciones humanas comenzaron a utilizarse a partir del Siglo XIX como una forma de establecer y comparar el origen de diferentes individuos e hipotetizar posibles relaciones de ancestro-descendiente de diferentes regiones geográficas. Para este propósito se han utilizado y actualmente se utilizan diferentes variables métricas y no métricas de diferentes sectores del cráneo, con lo cual se logró establecer la afinidad biológica existente entre las poblaciones asiáticas y americanas (Howells 1989, Ossenberg 1994).

A partir de estas investigaciones y en un trabajo de revisión, (Brace 2001) postuló que el poblamiento del continente americano se habría realizado hace unos 15.000 años AP desde el noroeste de Asia, habiendo una migración posterior con otras características craneométricas hace 5.000 años AP, característica de poblaciones del norte de Norteamérica.

Si bien actualmente todos los investigadores que trabajan esta línea de investigación están de acuerdo con el origen asiático de los Nativos Americanos, existe una discrepancia en cuanto a la temporalidad y las oleadas migratorias. En un análisis de los cráneos más tempranos de América (Lapa Vermelha IV, Lagoa Santa, Brasil con fechados de 11.600 años AP y Warm Mineral Springs, Florida, EE.UU, con una antigüedad de 10.000 años AP), se postuló (Powell et al. 1999) la existencia de dos poblaciones diferentes: a) una pre-mongoloide y sundadonte y; otra mongoloide (o derivada) y sinodonte, presentando ambos esqueletos tempranos una afinidad mayor con australianos y africanos, estando alejados de poblaciones asiáticas y Nativos actuales. Esto también ha sido apoyado por el estudio de restos antiguos descubiertos recientemente (Eggers et al. 2011) de un individuo masculino bautizado como Luzio, en el sitio Sambaqui Capelinha con una temporalidad de 10.000 años AP aproximadamente.

Este hecho ha añadido a la discusión la posibilidad de que haya existido una discontinuidad poblacional durante la ocupación de América, representando los valores craneométricos dos poblaciones diferentes: una temprana, relacionada con los primeros pobladores del continente y una más tardía en relación con las poblaciones actuales.

Esta propuesta es conocida como la teoría de los dos stocks poblacionales o dos componentes biológicos (Neves et al. 2003) y ha sido apoyada por diferentes estudios e investigadores a lo largo de las últimas dos décadas (Neves et al. 2004, Pucciarelli 2004, Neves y Hubbe 2005, Neves et al. 2007, Pucciarelli 2009, Hubbe et al. 2010, Hubbe et al. 2011, entre otros). Esta hipótesis propone que dos oleadas migratorias diferentes ingresaron al continente, la primera relacionada con poblaciones de características craneométricas no mongoloides (australoides y africanas) ingresando por una ruta costera pacífica hace 14.000 años AP y se dispersaron por todo el continente y una segunda, de características Mongoloides o “derivadas” que habría ingresado hace unos 10.000 años AP y habrían reemplazado a las poblaciones previas (figura 2.3).

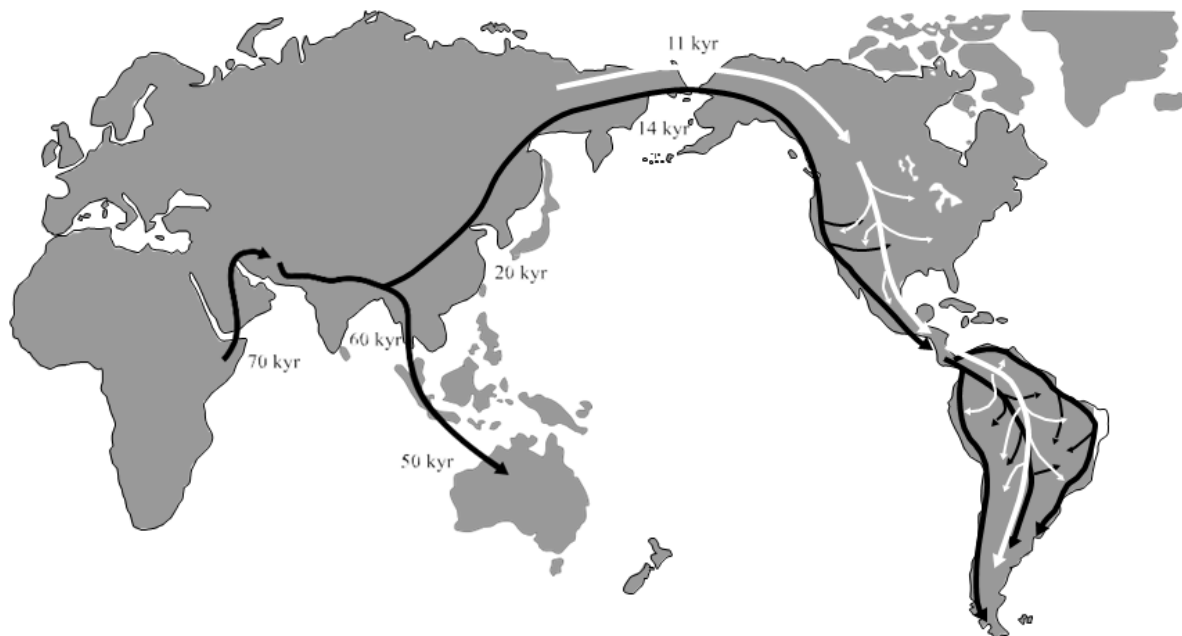


Figura 2.3. Modelo de Dos Componentes Biológicos propuesto por Neves et al. (2003). Las flechas negras indican la dispersión del componente biológico no mongoloide (14.000 años AP). Las blancas indican la dispersión del componente mongoloide (11.000 años AP).

Posteriormente, Pucciarelli (2004 y 2009) ha propuesto llamar a estos primeros habitantes con el término “paleoamericano” para distinguirlos de los Nativos Americanos posteriores con perfil craneométrico mongoloide o “derivado”, y para diferenciarlos a su vez, del término paleoindio, el cual refiere a un modelo de adaptación cultural que habría existido en los primeros momentos del poblamiento, pero dicha clasificación no ha sido muy utilizada hasta el momento.

Resta destacar que las teorías anteriormente nombradas han sido criticadas, sobre todo en relación a ciertos supuestos que el estudio e interpretación de los datos craneométricos propone. Ya tempranamente algunos investigadores rechazaron esta división en dos poblaciones diferenciadas fenotípicamente (Jantz y Owsley 2001) por dos cuestiones: a) si bien es verdad que las primeras poblaciones poseen perfiles craneométricos diferentes, las mismas no son equiparables con poblaciones australianas o africanas, y b) la heterogeneidad de cráneos antiguos no provee evidencia exacta de migraciones múltiples, sino que puede haberse dado el caso de que poblaciones de diferente ascendencia estuvieron relacionadas con los primeros pobladores, demostrando un amplio rango de variación.

Este último punto también ha sido apoyado por hallazgos recientes en sitios de la Patagonia Chilena (Manríquez et al. 2011), en donde datos craneométricos de restos tempranos (del sitio Baño Nuevo 1 fechado en 9000 años AP) demuestran una variabilidad biológica mayor, exhibiendo un amplio rango de valores craneales independientemente de la cronología y no adscribibles a los patrones “mongoloides o pre-mongoloides”. En este sentido, recientes investigaciones realizadas sobre un individuo femenino hallado en el Este de la península de Yucatán, fechado entre 12.910-11.750 cal AP con una morfología craneal y dental asignable a perfiles paleoamericanos (Chatters et al. 2014), presentó características genéticas propias de las poblaciones americanas, lo cual sugiere que no sólo los paleoamericanos representan una temprana expansión poblacional de origen Beringio, sino de que ambos perfiles (paleoamericano y nativos americanos) derivan de una sola población, postulando que las discrepancias craneométricas entre paleoamericanos y nativos son mejor explicadas por cambios evolutivos posteriores a la divergencia en Beringia desde sus ancestros siberianos.

Una cuestión a resolver radica en el momento de reemplazo, desaparición o absorción de las características pre-mongoloides por las derivadas. En un primer momento se propuso que los rasgos derivados comienzan a aparecer hace unos 8.000 años AP, sin observarse una transición

gradual de los mismos (Neves et al. 2004). Por su lado, otros (Pucciarelli 2004) han planteado que la evolución *in situ* de los mismos rasgos mongoloides en Asia y América es algo demasiado difícil de aceptar, por lo que un reemplazo poblacional es más factible como explicación, aunque posteriormente el mismo investigador propone una posible absorción de los paleoamericanos por los amerindios (Pucciarelli 2009). Esto ha sido apoyado por otros especialistas (Neves y Hubbe 2005), aceptando que es demasiado difícil que el mismo cambio evolutivo hacia una morfología generalizada ocurra en diferentes poblaciones de diferentes continentes o que los mismos procesos morfológicos microevolutivos locales ocurran al mismo tiempo en lugares y poblaciones diferentes. Según estas propuestas, el mecanismo más parsimonioso que permite explicar el surgimiento de la morfología craneofacial derivada en América es el reemplazo de una población por otra.

Enfoques más modernos (González-José et al. 2008 y De Azevedo et al. 2011) han aportado una perspectiva distinta a esta discusión. Analizando 576 muestras craneales de toda América, proponen que pueden interpretarse los valores craneométricos como prueba de continuidad en América. Según esta interpretación, la mayoría de los amerindios ocupan diversas posiciones entre perfiles extremos (mongoloides) y generalizados (paleoamericanos). Las categorías propuestas por el modelo de dos componentes biológicos estarían basadas en una asignación subjetiva asociada a alguno de los extremos de un *continuum* biológico. Bajo esta postura, si se acepta que hubo una fuerte expansión demográfica de una población de características generalizadas, es posible que ciertas características hayan evolucionado *in situ* y otras se hayan mantenido, lo que explicaría por qué las poblaciones modernas poseen un mosaico de rasgos. Vale también aclarar que dicha propuesta está apoyada en la existencia de poblaciones de características paleoamericanas en restos esqueléticos recientes de Patagonia (González-José et al. 2001). Según los trabajos de este investigador, el comienzo de las derivaciones morfológicas habría comenzado por efecto estocástico o adaptaciones al ingreso de las poblaciones en América, entre los 18.000-12.000 años AP, dándose la evolución de las mismas a partir de los 12.000 años AP, con importante acción del flujo génico en poblaciones del Norte de Norteamérica.

Siguiendo esta línea de pensamiento, el análisis de Pucciarelli et al. (2010) en restos esqueléticos del Holoceno Temprano y Medio de la Región Pampeana de Argentina (sitios

Arroyo Seco 2, Arroyo Chocorí, Arroyo la Tigra y Fontezuelas, con cronología desde los 8.000 a los 4.500 años AP) ha propuesto que muy posiblemente los cambios observados en la morfología craneal a través de la secuencia temporal de estos sitios se deban no a un cambio o reemplazo poblacional, sino a la activación de factores aleatorios y no aleatorios que habrían generado cambios morfológicos de forma rápida, lo cual daría cuenta de la variación craneofacial de las poblaciones humanas, al menos en ésta área.

Un último punto a tener en consideración es la crucial pregunta ¿es realmente la craneometría un reflejo de la filogenia e historia de una población?

Harvati y Weaver (2006) afirman que la morfología craneal no posee mucha utilidad en representar la señal de la historia poblacional de los grupos humanos. Los autores proponen que sólo una parte de la variación morfológica puede ser explicada en términos de diferencias genéticas neutrales, encontrando que los componentes craneales brindan diferente tipo de información, y que estarían asociadas a variables climáticas, sobre todo la forma facial. En este sentido, trabajos más recientes (Hubbe et al. 2009, De Azevedo et al. 2010) han dejado planteada la posibilidad de “ruido” ambiental en los análisis, discrepando sin embargo en las causas del mismo. Cambios alométricos¹ podrían haber ocurrido por modificaciones en la subsistencia (González et al. 2011), factores aleatorios y no aleatorios (Pérez 2011 y Pérez et al. 2011) y procesos ontogenéticos² relacionados con la dieta y el ambiente (Barbeito-Andrés et al. 2011), lo que habría influido en la variación craneofacial observada, sobre todo en poblaciones Sudamericanas.

Estos planteos son novedosos y aún no se ha llegado a un consenso aparente en cuanto a las disparidades de los resultados planteados anteriormente, pero sí es importante tener en cuenta los sesgos que se pueden generar a la hora de trazar filogenias y reconstruir historias poblacionales con este tipo de registro. En este sentido, algunos investigadores han propuesto para las poblaciones de Sudamérica que “...*los patrones de variación probablemente presenten mayor relación con factores ecológicos que con la historia de dispersión y divergencia de las poblaciones americanas...*” (Pérez 2011, p. 99). Quedará aún por comprender el posible impacto

¹ Alometría se refiere a las modificaciones en las dimensiones de las partes corporales relacionados con los cambios en el tamaño total.

² El término ontogenia se refiere a los cambios que se producen en un organismo durante toda su vida, la cual es propia y no es heredable a su descendencia.

o influencia de los factores ecológicos de los diferentes tipos de ambientes en las poblaciones humanas. Actualmente existe un consenso establecido sobre el origen asiático de las poblaciones amerindias, faltando aún por resolver la cantidad de migraciones que originaron la ocupación inicial del continente desde esta perspectiva de estudio.

2.4. Modelos generales de poblamiento Americano.

Actualmente se dispone de una gran cantidad de información producida por diversas disciplinas en cuanto al poblamiento de América. Dicho cúmulo de información hace cada vez más complejo realizar un acercamiento integral de los diferentes factores que intervienen en la dispersión inicial y la evolución de las poblaciones en el continente. Esto muchas veces dificulta la posibilidad de realizar hipótesis y contrastarlas con todas las diferentes conclusiones e interpretaciones de las diferentes líneas de investigación. Por este motivo resulta de utilidad la realización de modelos que contengan la mayor cantidad de información posible, o explorar las ventajas y limitaciones de alguno de los tipos de registros estudiados para establecer parámetros dentro de los cuales puedan generarse nuevas hipótesis contrastables.

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; su finalidad poder generar predicciones sobre la información y/o datos que se tienen actualmente y generar nuevas hipótesis y/o modelos (Winterhalder 2002). Algunos investigadores han encarado la temática del poblamiento de América tratando de integrar diferentes líneas de evidencia dentro de un modelo sintético. En líneas generales la información arqueológica (sobre todo los fechados radiocarbónicos) es la más utilizada como marco de referencia para todos ellos, sumada a la información generada desde otras disciplinas.

Puede decirse que para América se han utilizado dos tipos de modelos: a) los que intentan integrar distintas líneas de investigación y establecer concordancias y discrepancias entre los diferentes tipos de datos disponibles y a partir de ellos postular un consenso parsimonioso y b) los que se construyen a través de simulaciones computacionales y/o matemáticas, en gran medida basados en reconstrucciones ecológicas, tomando como marco de referencia ciertos límites

derivados de las investigaciones de otra disciplina (*i.e.* fechados radiocarbónicos, reconstrucciones paleoambientales, demografía, etc.), siendo su objetivo establecer condiciones mínimas y máximas y generar marcos de referencia para cada registro particular.

Los primeros modelos realizados para América corresponden a la primera aproximación propuesta. Sauer (1944) realizó un acercamiento desde la geografía para proponer las posibles rutas de los primeros ocupantes del continente teniendo en cuenta la estructura geológica y geográfica, aplicando la noción de corredores y caminos de menor costo para la dispersión como la variable más significativa. Heusser (1960) propuso a partir de información palinológica de Alaska la posible disponibilidad de un corredor costero pacífico que pudo haber sostenido poblaciones humanas y facilitado la dispersión. Estos postulados fueron retomados y refrendados posteriormente por Fladmark (1975) y Matson y Coupland (1995).

En la década de 1970, Martin (1973), y Mosimann y Martin (1975) proponen el “modelo de avances en olas y sobrematanza” (Blitzkrieg) bajo la suposición de que la población entrante se movió de manera rápida por todos los ambientes de forma semejante y relativamente constante. Este movimiento “explosivo” era provocado debido a la propia presión demográfica, producto de una alta tasa de crecimiento poblacional (3,4%) lográndose el poblamiento de todo el continente en sólo mil años. Económicamente, estas poblaciones estaban especializadas en la caza de grandes animales, transformándose en sus principales predadores y posibles agentes de su extinción. Este modelo se ajustaba a los primeros sitios arqueológicos antiguos descubiertos hasta ese momento y se asociaba a la cultura Folsom y Clovis.

Modelos posteriores fueron diseñados para Norteamérica, tratando de contestar la problemática del primer poblamiento y arrojar luz sobre discusión Clovis/pre-Clovis. Fueron Hazelwood y Steele (2004) y Waters y Stafford Jr. (2007) los que realizaron una revisión exhaustiva de los fechados radiocarbónicos de los primeros sitios arqueológicos para estimar la tasa de dispersión, expansión y migración poblacional de los primeros grupos humanos. Las variables utilizadas por ambos fueron la temporalidad, ubicación geográfica y características tecnológicas de cada sitio. Ambos llegan a conclusiones similares, proponiendo que estas variables no son capaces de explicar el poblamiento de América según el paradigma Clovis cuando se tienen en cuenta los sitios tempranos de Norteamérica y Sudamérica. Adicionalmente,

proponen la posibilidad de una dispersión anterior como explicación de los sitios tempranos con temporalidades pre-Clovis.

Para Sudamérica fueron propuestos dos modelos de estas características. Rothhammer et al. (2001) y posteriormente Rothhammer y Dillehay (2009) utilizaron información genética, geográfica, craneométrica, lingüística y arqueológica para establecer la temporalidad, rutas migratorias y cantidad de migraciones que explicarían el poblamiento de la región (Figura 2.3).



Figura 2.4. Rutas de migración propuesta por Rothhammer y Dillehay (2009) para Sudamérica. También se marcan en el texto los sitios arqueológicos tempranos pre-Clovis y para-Clovis citados por los autores.

Estos autores proponen una migración ingresando por el estrecho de Panamá, con una temporalidad de entre 15.000-13.000 años AP daría cuenta de los patrones encontrados en las diferentes evidencias. Tres rutas de dispersión direccionadas por barreras biogeográficas se habrían seguido: una hacia el Sur por el corredor pacífico y los Andes Centro-Sur, otra al Noreste por los actuales territorios de Colombia y Norte de Brasil y una tercera al interior de Venezuela. Dicho modelo resalta la importancia de tomar en cuenta las barreras biogeográficas y la variedad ambiental para explicar las diferencias regionales y adaptativas encontradas en el registro arqueológico temprano y la importancia de aplicar enfoques multidisciplinarios a problemáticas complejas como el poblamiento de Sudamérica.

El segundo conjunto de modelos propuestos son los realizados a partir de simulaciones en base a datos obtenidos principalmente a partir de la arqueología y la utilización de la ecuación de Fisher-Kolmogorov³. El primero de estos modelos fue presentado por Steele et al. (1998) quienes realizaron una simulación de la dispersión de los primeros humanos en Norteamérica desde el corredor libre de hielos 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. 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 Clovis. El resultado de esta comparación no apoya el modelo de avance por oleadas propuesto por Martin (1973), ya que cuando se suman los datos paleoambientales no concuerdan los lugares de expansión poblacional posibles con las distribuciones de densidades de puntas. 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

³ La ecuación de Fisher-Kolmogorov es usualmente utilizada para analizar la densidad, dinámica y difusión poblacional a partir de la capacidad de carga de los ambientes y su posibilidad de sustentar el crecimiento de una población.

ambiente. El trabajo demuestra que la distribución de puntas de EE.UU. es consistente con una colonización tardía desde el Noroeste americano.

Revisiones de este modelo fueron llevadas adelante posteriormente bajo los mismos supuestos, pero incorporando nuevos datos. Hamilton y Buchanan (2007) y Steele (2010) realizaron una revisión de la ubicación geográfica y temporal de los sitios Clovis llegando a conclusiones similares apoyando una rápida colonización en sentido Norte-Sur y hacia el Este, pero admitiendo la posibilidad de una migración pre-Clovis. Adicionalmente, los primeros autores detectaron un sesgo en favor de Clovis, ya que la mayoría de los sitios se asocian a condiciones ambientales y paisajes ecológicos y topográficos favorables, demostrando un uso repetitivo de ciertos sectores del espacio. El segundo autor, a su vez, destacó la problemática de estos modelos en relación a las posibles modificaciones de la demografía debido a los cambios ambientales caracterizados para la transición Pleistoceno-Holoceno, los cuales son difíciles de calcular.

El último modelo sobre poblamiento americano que tuvo en cuenta múltiples variables con aplicación a todo el continente fue realizado por Lanata et al. (2006 y 2008). 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 modificada para lograr que el proceso fuera más estocástico y real (Martino et al. 2007). A su vez, propone diferentes escenarios y condiciones demográficas en los cuales la dispersión humana y colonización del continente pudo haberse realizado exitosamente. Como conclusión observa una dinámica poblacional para la dispersión diferente a los modelos anteriores. A través del mismo se logró explorar las distintas condiciones demográficas bajo las cuales el movimiento humano 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 dinámica que habría tenido el proceso de dispersión y poblamiento de las Américas. También marcan 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 el rango en las tasas de crecimiento poblacional plausibles para que la colonización del espacio haya sido posible (figura 2.5).

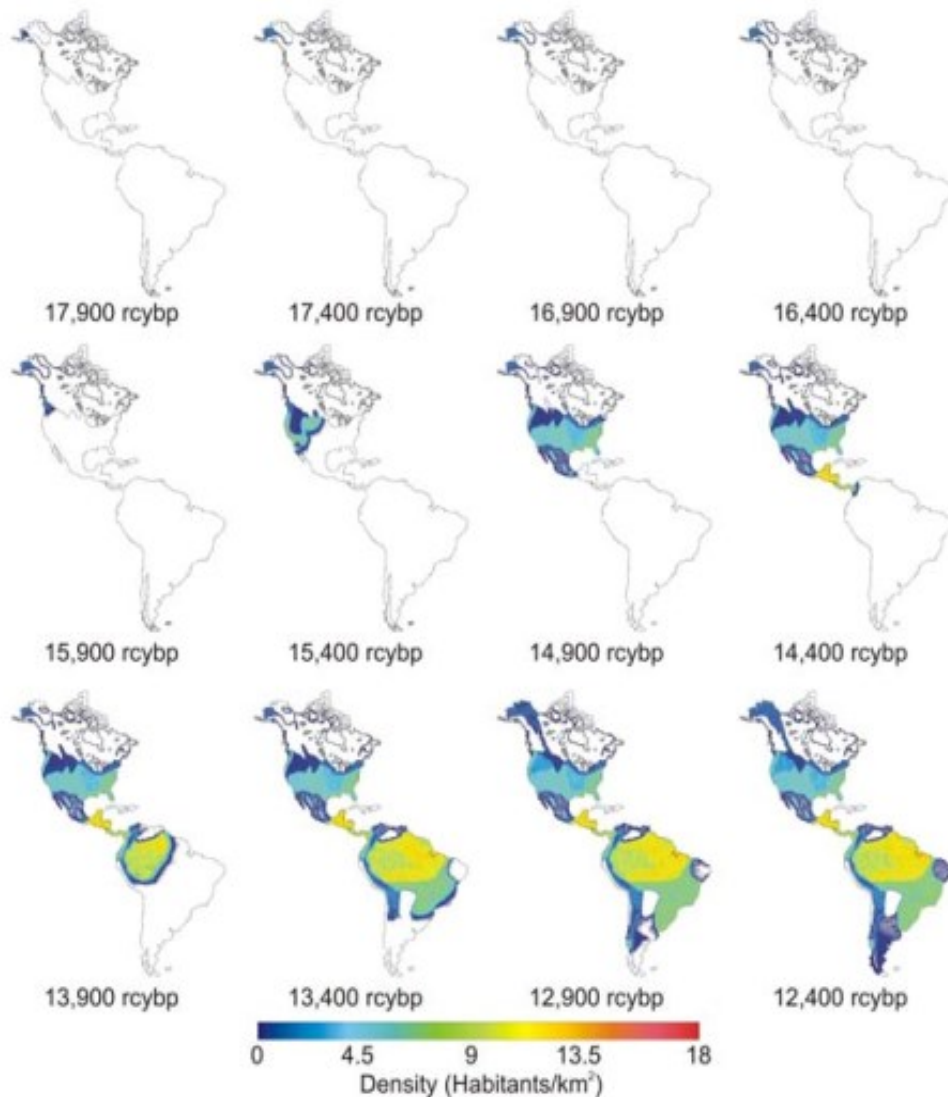


Figura 2.5. Resultado del modelo de simulación propuesta por Lanata et al. (2008). Se observa en la gráfica el avance y dispersión de las poblaciones humanas con un crecimiento poblacional del 4% anual, el cual resulta necesario para cubrir la mayoría de los sitios tempranos de Sudamérica y formar poblaciones biológicamente viables.

En otros modelos Anderson y Gillam (2000) han utilizado el Sistema de Información Geográfica y la distribución de recursos a fin de establecer cuáles pudieron ser las rutas preferidas. Suponen 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 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 uso del espacio 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 similares 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. Sin embargo, Anderson (2010) y Anderson et al. (2013) han señalado que uno de los problemas asociados a las simulaciones de rutas costeras es la desaparición de los sitios tempranos debido a la suba de los niveles del mar ocurridos a partir del Holoceno.

Estos modelos tienen la capacidad de sintetizar de manera concreta múltiples registros y estimar parámetros para construir marcos de referencia flexibles en donde los distintos tipos de

datos pueden incorporarse. Sin embargo la aplicación de estos modelos es novedosa aún, por lo que muchas veces no son incorporados a las discusiones arqueológicas.

2.5. Poblamiento de la Patagonia.

2.5.1. Aspectos físico-geográficos y climáticos de la Patagonia.

La Patagonia Argentina se extiende desde el Sur del Río Colorado incluyendo las provincias de Neuquén, Río Negro, Chubut, Santa Cruz y Tierra del Fuego⁴. Cubren un área aproximada de 786.595 km², representando el 28% del territorio argentino. Debido a su extensión, presenta una heterogeneidad muy marcada en cuanto a las diferentes características ecológicas. De acuerdo a la información morfológica, geológica y fisiográfica, se ha propuesto que puede dividirse en tres áreas principales: un área andina, una sub-andina y otra extra andina (Del Valle 1998) -ver figura 2.6.



Figura 2.6. Regiones de la Patagonia argentina propuesta por Del Valle 1998.

⁴ Cabe la aclaración que muchas veces la Provincia de la Pampa suele ser considerada, por sus características fisiográficas y ambientales como parte de la Patagonia como lo indican los mojones/señalizaciones de diferentes rutas de la región. En esta tesis se tomará la visión tradicional, considerando a la región patagónica como aquella presente al Sur del Río Colorado (Borrero y Mena 2007).

Puede decirse que la heterogeneidad climática presente en Patagonia está moldeada por dos gradientes (Paruelo et al. 1998):

1. Uno en sentido Este-Oeste, que es el que define las precipitaciones y la humedad disponible en las diferentes partes de Patagonia (Longitud).
2. Otro en Sentido Norte-Sur, que es el que define la temperatura (Latitud) -ver figura 2.7.

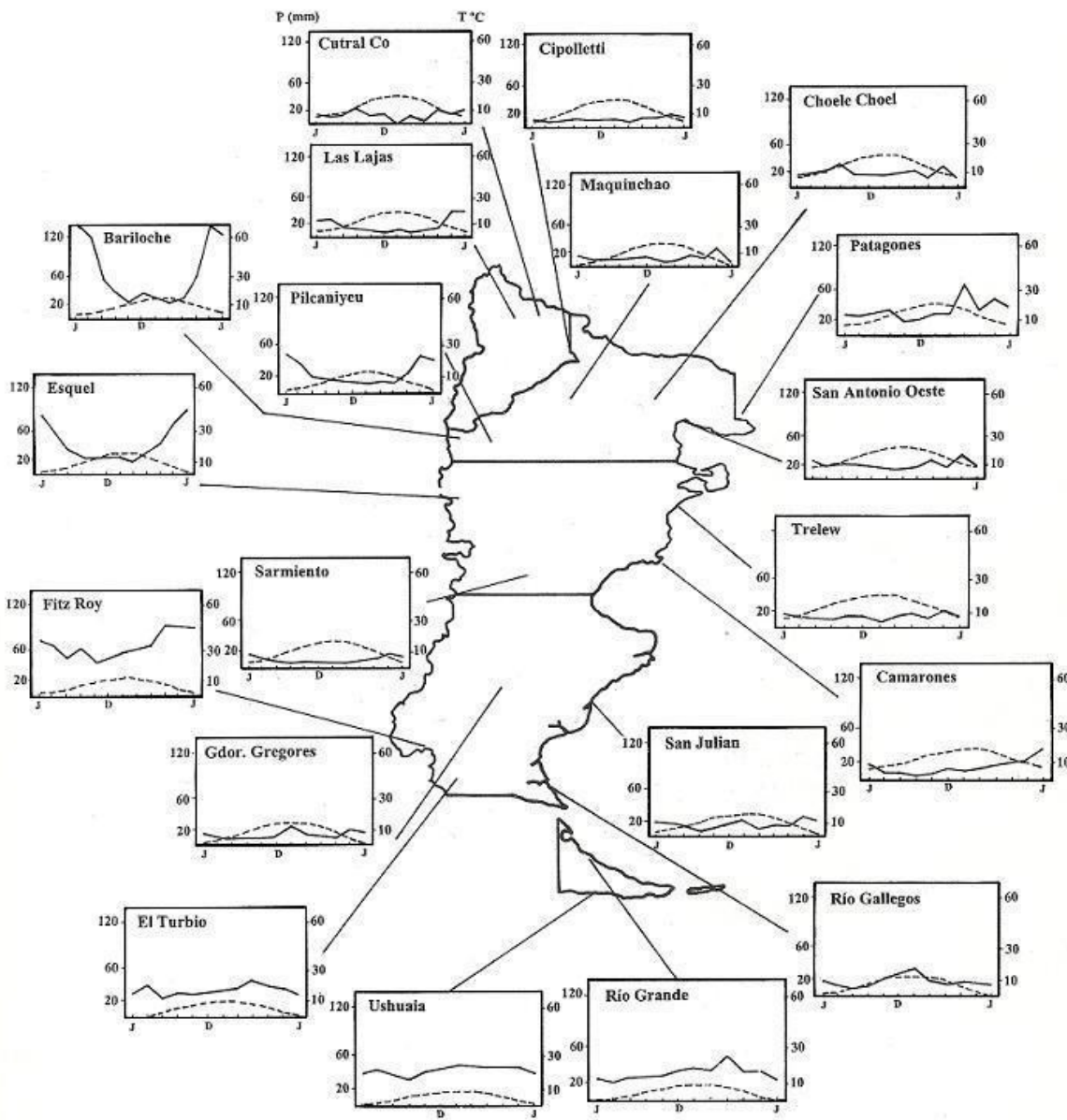


Figura 2.7. Distribución estacional de precipitación y temperatura en diferentes sitios de Patagonia. La línea punteada corresponde a la temperatura y la línea continua a la precipitación mensual.

Según este autor, en general, la mayor parte de Patagonia está dominada por masas de aire provenientes del océano Pacífico. La región patagónica se encuentra entre anticiclones semipermanentes de los océanos Pacífico y Atlántico, con vientos fuertes y constantes del Oeste -mayores a 25 km/h. Parte de la región (Sur de Santa Cruz, Tierra del Fuego, noreste de Chubut, noreste de Río Negro y Este de Neuquén) es afectada por masas de aire del océano Atlántico, lo cual influye en una mayor distribución estacional de las precipitaciones en esa parte de la Patagonia. Los Andes juegan un rol crucial en determinar el clima de Patagonia ya que la humedad transportada por los vientos se descarga en Chile, volviéndose el aire seco en la Argentina (Paruelo et al. 1998).

Adicionalmente, el clima regional está afectado por los vientos *westerly*, provocando diferencias en la pluviosidad, con precipitaciones anuales de entre 7.000-4.000 mm al Oeste de la cordillera, disminuyendo al Este de los Andes en un gradiente que va desde los 2.000 mm hasta los 200 mm anuales en los sectores costeros (McCulloch et al. 1997).

Los suelos presentes en Patagonia son heterogéneos y su extensión y variedad depende de las condiciones climatológicas y su amplitud, sumadas también a los diferentes sustratos geológicos y diferentes procesos que establecieron su conformación actual. Si bien gran parte de su formación se debe a procesos de origen tectónico, también son importantes los aportes realizados por las glaciaciones en algunas áreas (sobre todo las adyacentes a los cordones montañosos), de ingresiones marinas en otras (como los son diversas geoformas costeras) o de la acción combinada de ambos procesos (Del Valle 1998).

El sistema fluvial patagónico comprende el conjunto de ríos de la pendiente atlántica que atraviesan Patagonia, desde el río Colorado hasta el río Grande de Tierra del Fuego. Nacen en la cordillera, sus cauces corren encajonados entre terrazas y son alóctonos, por lo que no reciben ningún afluente en su curso medio e inferior y su caudal proviene de sus nacientes (Mondenutti et al. 1998). En general, el sistema hidrográfico de Patagonia está caracterizado por diferentes ríos ubicados en lugares relacionados con glaciares (pretéritos y actuales). La mayor parte de los recursos hídricos están representados por ríos, lagos y lagunas, en su mayoría relictos de las glaciaciones que tuvieron lugar en la era pleistocénica (Figura 2.8).

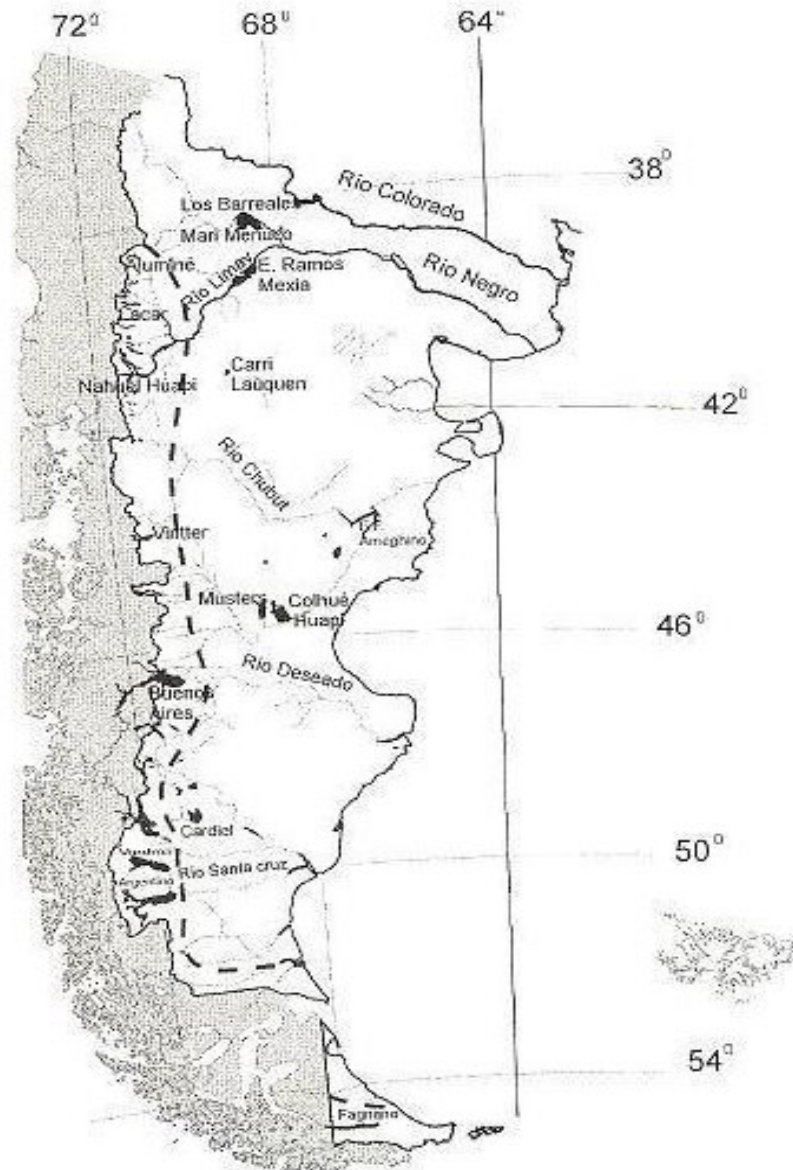


Figura 2.8. Mapa hidrológico de Patagonia propuesto por Mondenutti et al. (1998). La línea punteada muestra el límite de los lagos glaciares de la cordillera y las depresiones cercanas a ella.

En líneas generales la disponibilidad de agua dulce en el ambiente patagónico se encuentra acotada a los sectores andinos, depresiones extra andinas sin escurrimiento superficial y los principales sistemas hídricos (Río Negro, Río Chubut, Río Colorado, Río Senguerr, Río Chico, Río Deseado, Río Santa Cruz y Río Gallegos). Este hecho también tiene influencias en la biota local y regional y la distribución de poblaciones actuales y pretéritas las cuales también

están relacionadas con los avances y retrocesos glaciares de los últimos milenios (Mondenutti et al. 1998).

La flora presente en Patagonia tiene como una de sus principales características la heterogeneidad. Esta se debe a la diversidad presente en cuanto a sus diferentes climas, regímenes pluviales, tipos de suelo e hidrografía. A grandes rasgos, podría decirse que la Patagonia posee un gradiente vegetacional de Oeste a Este (bosque, estepa graminosa, estepa arbustivo-graminosa, estepa arbustiva y estepa erial) el cual configura diferentes distritos fisonómicos-florísticos en base a las especies allí presentes, por las características particulares de cada región. En líneas generales la mayor parte de la Patagonia tiene la característica de poseer escasa cobertura vegetal, predominando arbustos enanos y gramíneas en casi todas las regiones, excepto en los sectores boscosos adyacentes a la cordillera (León et al. 1998) – figura 2.9.

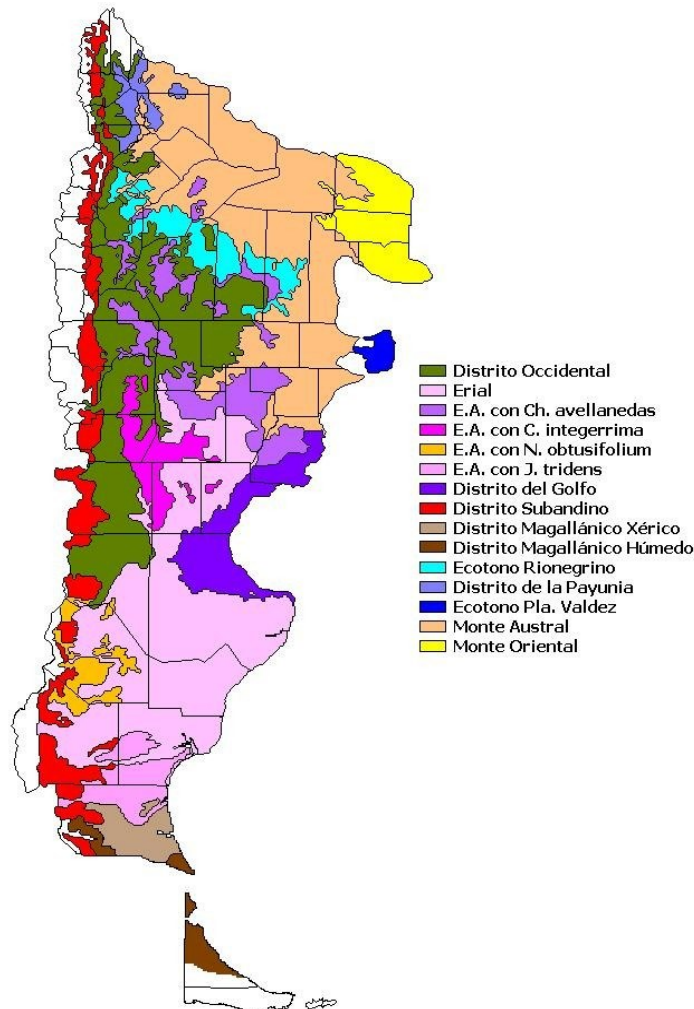


Figura 2.9. Mapa de la distribución de la flora presente en Patagonia. Reproducido de León et al. (1998).

Las principales especies están representadas por arbustos bajos achaparrados y gramíneas (mata negra –*Verbena tridens*-, diferentes variedades de *Berberis spp.*, coirón amargo –*Stipa spp.*-, neneo –*Mulinum spinosum*-, colapiche –*Nassauvia glomerulosa*-, quilimbay –*Chuquiraga avellanadae*-, etc.). Hay una ausencia total de árboles en casi toda su extensión, excepto por aquellos presentes en los delgados cordones boscosos que corren linderos a la cordillera y aquellos alóctonos sembrados en épocas de la instalación de las estancias ganaderas. Las zonas boscosas están caracterizadas por especies arbóreas *Nothofagus* (*alpina*, *dombeyi*, *obliqua*, principalmente al Norte, y *betuloides*, *pumilio* y *antartica* más al Sur) - McCulloch et al. 1997.

La diversidad faunística es baja en la mayor parte del territorio, especialmente en los mamíferos. Esa baja diversidad actual parece contradecirse con las muchas especies que se encuentran hoy extintas (megafauna) en la región, como los perezosos gigantes (*Mylodon Darwinii* y *listai*), diferentes géneros de caballos (*Onohippidium saldiasi* y *Macrauchenia sp.*), felinos (*Panthera mesembrina*), zorros (*Dusicyon avus*), camélidos (*Palaeolama* y *Lama gracilis*) y mastodontes (*Cuvieronius*) -McCulloch et al. 1997 y Borrero y McEwan 1997.

Principalmente se encuentran en la actualidad aves caminadoras o corredoras como el choique (*Pterocnemia pennata*), las agachonas (*Thinocorus rumicivorus*), inambúes (*Nothura maculosa*) y las camineras patagónicas (*Geositta antarctica*). Varias especies de mamíferos, aves, reptiles y anfibios son endémicas de esta región (en especial, pequeñas lagartijas –*Liolaemus sp.*- y ranas). Entre los mamíferos se destacan el piche patagónico (*Zaedyus pichiy*), el zorro gris o chilla (*Pseudalopex griseus*) y colorado o culpeo (*Pseudalopex culpaeus*). El guanaco es el principal mamífero (*Lama guanicoe*), seguido por el puma (*Felis concolor*), el zorrino patagónico (*Conepatus humboldti*), el hurón menor (*Lyncodon patagonicus*) y algunos roedores pequeños, siendo principal el tuco-tuco magallánico (*Ctenomys magellanicus*) - Bonino 2005.

En líneas generales, las condiciones esteparias son las dominantes en gran parte de la región patagónica. Todas estas variables tienen una gran importancia debido a que de ellas dependen todas las relaciones bióticas que están tanto actual como antiguamente presentes. Esto tiene vital importancia debido a que en su conjunto, constituyen el marco dentro del cual se

desarrolló la vida de los grupos cazadores-recolectores que habitaron estas regiones, tanto los prehistóricos como los históricos.

2.5.2. Paleoclimas de Patagonia.

En el contexto del poblamiento y ocupación del espacio por parte de las primeras poblaciones humanas en la región patagónica, es de central importancia establecer las condiciones paleoclimáticas y geológicas imperantes al momento de la dispersión. Dicha importancia radica en las limitaciones que pudieron tener algunas regiones para soportar una población efectiva biológicamente viable y permitir su paso o asentamiento, por un lado, y por otro las posibilidades de preservación diferencial del registro arqueológico en relación a las diferentes características de cada sector de Patagonia.

La Región Patagónica es poseedora de algunos de los fechados radiocarbónicos más antiguos de América (ver Miotti y Salemne 2004 y Prates et al. 2013 para una revisión de sitios tempranos). Dicha dispersión humana se produjo en momentos de la transición Pleistoceno-Holoceno (ca. 14.000 años AP), en el estadio isotópico 2 (Clapperton 1993a y b). Éste se caracteriza por un momento de grandes fluctuaciones climáticas e inestabilidad ambiental. Si bien es el comienzo del proceso que culminaría en la desglaciación de muchos sectores de Patagonia y las consecuentes modificaciones de los ecosistemas, pluviosidad, hidrografía y geografía hasta el establecimiento de las condiciones actuales, en el mismo se registran oscilaciones climáticas recurrentes.

Una de las principales oscilaciones en los primeros momentos del poblamiento es una fase fría observada a nivel mundial llamada Younger Dryas (*YD*) la cual habría conllevado un avance glacial a los 11.500 AP aproximadamente (Clapperton 1993b, Gilli et al. 2001) durante un rango temporal acotado. Sin embargo, en los últimos años su magnitud ha sido discutida ya que en Patagonia habría sido diferente a lo observado en otras partes del mundo y su impacto habría variado en los distintos sectores del paisaje patagónico (Rabassa et al. 2005). Actualmente muchos investigadores han propuesto que para el cono sur de Sudamérica este período de recrudescimiento climático estaría vinculado al fenómeno de Frío Antártico Reverso –*FAR*–

(McCulloch et al. 2000, Rabassa 2008). Recientes revisiones han identificado a la localización y velocidad de los vientos Westerly Sur como el fenómeno principal en regir la climatología de la región (Mancini et al. 2013). Dichos autores han propuesto, por lo menos para la región del Macizo Central de Deseado y la zona del Lago Argentino, ambos en Santa Cruz, la presencia de condiciones más secas que las actuales para los 12.900 años cal AP durante *FAR* y para el período posterior hasta los 11.000 años cal AP, momentos en donde culminaría el *YD*.

Vinculado con estos procesos se observan modificaciones en la cantidad de agua de los ecosistemas. Se han registrado en diferentes investigaciones realizadas en el Lago Cardiel a través del análisis de polen, diatomeas y sedimentos lacustres (Gilli et al. 2001, Markraf et al. 2003) condiciones secas al momento de la transición Pleistoceno-Holoceno. Luego habría tendido a un aumento de la humedad hasta los 5.000 años AP, en donde comienzan a producirse fluctuaciones relacionadas con cambios en los vientos Westerlies y el establecimiento de los patrones climáticos modernos relacionados con el establecimiento de *ENSO* (Oscilación Sur El Niño).

Estas fluctuaciones también impactaron en la retracción y avances glaciares y en los niveles del mar y la geomorfología costera, con las subsecuentes modificaciones de los principales desaguaderos y ríos patagónicos. El proceso de desglaciación habría comenzado hace 14.000 años AP aproximadamente, culminando hace unos 10.000 años AP, ubicándose en su posición actual (McCulloch et al. 2000) -ver figura 2.10.

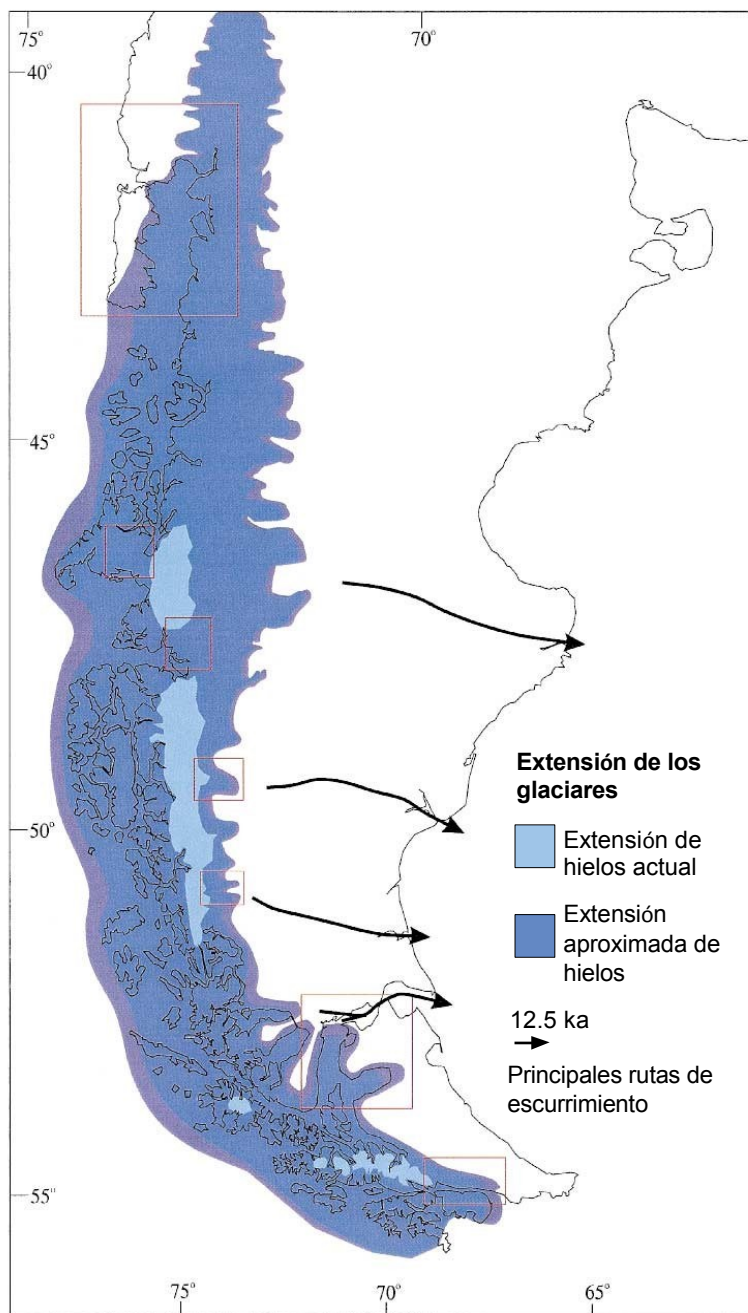


Figura 2.10. Reconstrucción aproximada de la extensión glacial hacia los ca. 14.600 ¹⁴C años AP. Los cuadrados rojos muestran las áreas estudiadas para realizar dicha reconstrucción. Modificado a partir de McCulloch et al. (2000).

La costa atlántica también registra fluctuaciones en los niveles de las aguas, encontrándose entre 100 y 140 metros más bajo que el nivel actual (Rabassa 2008), para posteriormente registrar eventos transgresivos a partir de los 9.000 años AP (Rabassa et al. 2009) propiciando el desarrollo de los sistemas de drenaje que corren hacia el Este desde la cordillera (Rabassa et al. 2011). Estos cambios produjeron grandes modificaciones en la fisonomía y

geografía del paisaje, siendo importante la rápida inundación de un amplio sector de la plataforma continental que estaba expuesta y disponible para diversas poblaciones y la separación definitiva de la Isla Grande de Tierra del Fuego del continente y la formación del Estrecho de Magallanes, el cuál habría comenzado hace unos 15.000 años calendáricos AP aproximadamente, culminando para los 10.200 años calendáricos AP (Ponce et al. 2011) -ver figura 11.1 en apéndice.

Hacia el Holoceno Medio las condiciones climáticas parecen mejorar por un aumento de temperatura, pero continuaron siendo fluctuantes en cuanto a la misma y a la cantidad humedad en los distintos espacios patagónicos, lo cual se ve reflejado en el registro de diferentes lagos, estudios polínicos y de diatomeas (Stine y Stine 1990, Markgraf et al. 2003, Recasens et al. 2012). A su vez, parecerían cobrar mayor dominancia fenómenos climatológicos relacionados con las oscilaciones climáticas de la región, como el establecimiento los vientos Westerlies, las *ENSO*, la Oscilación Antártica y las Oscilaciones Decadales Pacíficas (*PDO*) -ver MacDonald et al. (2008) y Moy et al. (2009).

En Holoceno Tardío se registran dos grandes fluctuaciones climáticas: la primera relacionada con una mayor temperatura y sequedad denominada Anomalía Climática Medieval (ACM); y la segunda caracterizada como un período frío, llamado Pequeña Edad de Hielo (PEH), la cual ha sido registrada a través del análisis lacustre y los anillos de los árboles, con temporalidades entre el siglo X y el XIV (ca. 1050-600 años AP) y el siglo XIV y el XIX (ca. 450-300 años AP) aproximadamente (Stine y Stine 1990, Stine 1994, Villalba 1994, Haberzettl et al. 2005, Moy et al. 2009, Meyer y Wagner 2009, entre otros).

Estas oscilaciones globales son cruciales para la estructura y dinámica de las poblaciones humanas de diferentes regiones áridas y semi-áridas de Argentina desde el momento de poblamiento hasta épocas más tardías (Morales et al. 2009). Para el caso de Patagonia, ha sido planteado que la ocupación humana, expansión o declinamiento poblacional está dada por la relación con el clima y el ambiente (Ariztegui et al. 2010), ya que dependiendo de las condiciones regionales, los grupos humanos seleccionan los lugares de asentamiento. Estas modificaciones ambientales seguramente posean correlatos poblacionales que pueden llegar a observarse en el acervo genético de los diferentes grupos cazadores-recolectores, por lo que

deben tenerse en consideración a la hora de realizar reconstrucciones y simulaciones sobre el proceso de poblamiento y la posterior dinámica poblacional.

2.5.3. Hipótesis arqueológicas sobre el poblamiento de la región.

La Patagonia argentina es un vasto territorio caracterizado por ambientes áridos/semiáridos. Es de actual consenso que la Patagonia (tanto en su porción argentina como chilena) fue el último territorio continental en recibir poblaciones humanas, durante las postrimerías del Pleistoceno Tardío y los inicios del Holoceno Temprano. Dicho proceso fue parte del movimiento humano que pobló América desde el estrecho de Bering, desplazándose por diversos paisajes y, en el caso de Sudamérica, diversificándose y adaptándose a cada ambiente en su derrotero hacia el Sur.

Arqueológicamente, la Patagonia argentina puede ser dividida en tres macro-regiones: una Norte comprendida entre las Latitudes Sur 39° 30' y 44°; una Sur comprendida entre las Latitudes Sur 44° hasta 52° (Estrecho de Magallanes); y una insular representada por la Isla Grande de Tierra del Fuego y archipiélagos comprendida entre las Latitudes Sur 52° y 54° (Borrero y Mena 2007 y Borrero 2008).

Tanto la profundidad temporal de su ocupación, como la diversidad de ambientes en donde aparecen (desde bosque pedemontanos hasta ambientes áridos y semi-áridos) han incentivado a diferentes investigadores a emprender un análisis y comprensión de las adaptaciones y los cambios que los grupos humanos prehistóricos tuvieron a través del Holoceno. La región patagónica es un área en donde se están analizando, a distintas escalas temporales y espaciales, fenómenos adaptativos, modificaciones paleoambientales y geológicas, modificaciones en la subsistencia, la tecnología, la movilidad, la organización y la cultura de los grupos humanos, así como también los cambios biológicos de las poblaciones.

La Patagonia tiene la peculiaridad de poseer una señal arqueológica muy temprana en diferentes sectores de su territorio. La última revisión realizada de los sitios antiguos patagónicos ha postulado un rango temporal entre los 13.000-12.000 años AP (15.500-13.900 años cal AP),

representada por los sitios Piedra Museo y Los Toldos, nivel 11 (Prates et al. 2013), aumentando la densidad de sitios tempranos en el rango de los 12.000-10.000 años AP (ca. 13.900-12.800 años cal AP) -ver tabla 2.1.

<i>Sitio</i>	<i>Latitud S</i>	<i>Longitud O</i>	¹⁴ <i>C años AP</i>	<i>Referencia</i>
Macizo Central del Deseado				
Piedra Museo AEP-1	-47,985	-67,8677	12.890	Prates et al. 2013
Los Toldos	-46,3666	-68,9666	12.600	Prates et al. 2013
Cueva Casa del Minero	-48,5594	-68,8552	10.999	Prates et al. 2013
Cerro Tres Tetras	-48,1661	-68,9333	10.915	Prates et al. 2013
La Gruta	-48,8261	-69,3961	10.845	Prates et al. 2013
Cueva El Túnel	-48,4575	-68,8725	10.510	Prates et al. 2013
Cueva Maripe	-47,8513	-68,9341	9.518	Prates et al. 2013
El Ceibo	-48,5166	-68,75	Ca. 9.500	Miotti y Salemme 2004
La Mesada	-48,0833	-69,8333	9.090	Prates et al. 2013
La Martita	-48,5	-69,25	8.050	Prates et al. 2013
Piedemonte y Cuencas Orientales y Occidentales de los Andes				
Baño Nuevo 1	- 45,2833	- 71,5333	11.480	Miotti y Salemme 2004
Cerro Casa de Piedra 7	-47,9552	-72,0947	10.690	Prates et al. 2013
Chorrillo Malo 2	-23,2297	66,4561	9.740	Prates et al. 2013
Cueva de Las Manos	-47,15	-70,75	9.320	Prates et al. 2013
Arroyo Feo	-46,9333	-70,5	9.410	Prates et al. 2013
Cuenca Magallánica y Tierra del Fuego				
Tres Arroyos	-53,3833	-68,7833	11.880	Miotti y Salemme 2004
Cueva Lago Sofía	- 51,5302	- 72,5666	11.570	Miotti y Salemme 2004
Fell I	-52,0666	-70	11.000	Miotti y Salemme 2004
Cueva del Medio	- 51,5769	- 72,5925	10.930	Miotti y Salemme 2004
Alero Marazzi	- 53,4666	-69,2833	9.590	Miotti y Salemme 2004
Patagonia Norte				
Cueva el Trébol	-41,0733	-71,4866	10.570	Prates et al. 2013
Cueva Epuján	-40,3891	-70,1944	9.970	Prates et al. 2013
Cuyín Manzano	-40,6833	-71,25	9.920	Prates et al. 2013
Cueva Huenul	-36,95	-69,9	9.531	Prates et al. 2013
Traful 1	-40,7176	-71,1138	9.430	Prates et al. 2013
Gruta del Manzano	-36,15	-69,7666	8.141	Prates et al. 2013

Tabla 2.1 Sitios arqueológicos más mencionados en la bibliografía consultada para la Patagonia argentina durante el período de la transición Pleistoceno-Holoceno.

Los primeros momentos de la investigación del poblamiento de la región estaban más vinculados a paradigmas históricos-culturales y a la conformación de secuencias tipológicas, muchas veces interpretadas como sucesivas poblaciones ingresando al territorio patagónico. Las investigaciones actuales han optado por enfoques más ecológicos, ambientales y biogeográficos. Sin embargo, muchas investigaciones han hecho hincapié en las dificultades del estudio de los primeros asentamientos (entendidos arqueológicamente en el momento de la transición

Pleistoceno-Holoceno, entre los 13.000-12.000 y 8.000 años AP aproximadamente -Borrero 1996 y Miotti y Salemme 2004) debido a la baja visibilidad arqueológica, la cual ha sido interpretada como la evidencia de una muy baja demografía y en algunos casos, ausencia de poblaciones. Esto habría sido favorecido por las condiciones ambientales imperantes y las oscilaciones climáticas propias de la transición Pleistoceno-Holoceno, lo que habría provocado poco atractivo ecológico y una baja posibilidad de sustentabilidad de algunos sectores (Borrero 2001).

Borrero (1989-1990, 1996 y 2001) fue el primero en proponer una síntesis de la información arqueológica y un modelo de poblamiento para la región. Dicho modelo se sustenta en la programación de una jerarquía de espacios ecológicos relacionados con la productividad ambiental. Según esta lógica, se darían 3 fases:

1. Una fase de exploración, en la cual se produce la dispersión inicial a zonas vacías. Esto implica movimiento a lo largo de rutas naturales y la utilización de localidades no óptimas. El correlato arqueológico de eso sería la ausencia de redundancia del uso de los sitios y los sitios deben ser inferiores en número a los creados por ocupaciones posteriores. Esta fase se caracterizaría por una discontinuidad ocupacional y una probabilidad baja de hallar sitios. Esto estaría acompañado por rangos de acción muy grandes.
2. Una fase de colonización, en la cual se produce la consolidación inicial de grupos humanos en sectores determinados del espacio, con rangos de acción especificados. El correlato arqueológico sería un uso más repetitivo de sitios y lugares localizados ópticamente. Se espera que se formen grupos más o menos discretos de sitios con una mayor visibilidad y resolución.
3. Una fase de ocupación efectiva del espacio, caracterizada por la utilización de todo el espacio ecológicamente productivo. El correlato arqueológico inmediato sería la aparición de mecanismos dependientes de la densidad, incluyendo ajustes poblacionales, deriva cultural o competencia por territorios de alta productividad. La visibilidad arqueológica tendería a ser alta, pero baja la resolución por superposición de rangos de acción motivada por la densidad. Los rangos de acción de las poblaciones deberían ser más pequeños.

En desarrollos posteriores este modelo planteó que la ocupación humana de la Patagonia no debe ser vista como un movimiento constante hacia el Sur y lineal en cuanto a la demografía, sino como un flujo multidireccional dependiendo de la jerarquía de espacios disponibles en cada sucesiva expansión, sobre todo vinculados a la disponibilidad de agua (la cual parece haber sido el recurso esencial hasta tiempos históricos) y los cambios ambientales (Borrero y Franco 1997, Borrero 1999 a y b, 2001, 2005 y Miotti y Salemme 2004). Si bien hubo sectores que pudieron estar intransitables (relacionados con espacios inmediatos a la cordillera o mesetas altas), había otros por los que la dispersión era posible (Borrero 2001). El mecanismo de dispersión debió combinar procesos de fisión de bandas con ampliación de radios de caza y una forma de distribución de grupos humanos (Borrero 1989-1990, 2001, Miotti y Salemme 2004), en otras palabras un enfoque metapoblacional y la acción de efectos fundadores parecería ser el escenario más adecuado para entender este proceso (Borrero 1996, 2001, Lanata et al. 2008).

En base al modelo de Borrero y la ubicación y temporalidad de sitios arqueológicos, Miotti y Salemme (2003 y 2004) y Miotti (2003 y 2006) han propuesto a la cuenca del Río Deseado, la cuenca magallánica y el Norte de Tierra del Fuego como núcleos poblacionales durante la transición Pleistoceno-Holoceno (ver tabla 2.1), acompañada de estrategias forrajeadoras (generalizadas y expeditivas) durante la fase de exploración, para optar por estrategias más especializadas (*collector sensu* Binford 1982), incremento de la estacionalidad y el comienzo de la consolidación de un paisaje social “patagónico” para la fase de colonización, la cual comenzaría hace unos 8.000 años AP. Según las autoras, es probable que el poblamiento se hubiera dado por una ruta costera atlántica, ya que dichos sectores poseen características ecotonales altamente productivas y el la ocupación interior se habría dado siguiendo los principales cursos de agua, estando los sitios iniciales de dispersión actualmente inundados.

El caso de la Isla Grande de Tierra del Fuego es particular, ya que sus sitios tempranos se registran en momentos donde dicha isla aún se encontraba unida al continente, por lo que es esperable que cambios biológicos y culturales comenzaran a actuar una vez implantada la barrera biogeográfica (Estrecho de Magallanes) producto del ascenso del nivel de las aguas (Borrero 1989-1990). Por este motivo, Borrero (2008) señala dos momentos diferentes de ocupación: uno con características de cazadores recolectores terrestres al Norte (ejemplificados por los sitios Tres Arroyos y Alero Marazzi) y uno posterior a partir de *ca.* 8.500 años AP, momento en el que

se completa la formación insular de Tierra del Fuego, en donde los sitios al Norte de la isla comienzan a escasear y se registran más ocupaciones al Sur. A partir de este momento, el grueso de los sitios arqueológicos comienza a registrarse en la costa Norte del Canal de Beagle, con temporalidades cercanas a los 7.800 años AP (Orquera y Piana 1999, Prates et al. 2013) y a partir de los cuales se detectan adaptaciones costeras. Estos grupos con adaptaciones costeras al Sur y terrestres al Norte coexistieron hasta la época de contacto (Morello et al. 2012).

Hacia el Holoceno Medio es donde se registra el momento de colonización, y comienzan a liberarse ciertos sectores para la ocupación humana, estando disponibles por lo menos estacionalmente cordilleras y mesetas, registrándose también un momento de transgresión marina que habría cambiado la morfología costera y ocultado la información arqueológica de los primeros sitios atlánticos (Miotti y Salemme 2003 y 2004 y Miotti 2003 y 2006). En líneas generales, arqueológicamente se percibe un aumento de sitios y mayor depositación de restos arqueológicos en lugares que comenzaron a ser visitados con mayor frecuencia (Borrero 2001). También se registra una ocupación más sistémica y mayor variabilidad tecnológica, posiblemente como respuesta al estrés ambiental debido a los cambios climáticos y al comienzo de las adaptaciones regionales (Borrero y McEwan 1997, Borrero 2001). Según los autores citados, en general no se puede apoyar un aumento demográfico para estas poblaciones en estos momentos, por lo que es posible que las condiciones de aislamiento en un contexto de grupos pequeños muy móviles pudiera haber sido la regla en un ambiente como el patagónico, en donde las sociedades humanas necesariamente se hubieran encontrado ligadas a ambientes con disponibilidad de agua.

Este momento de colonización puede verse reflejado en el registro arqueológico de muchas regiones patagónicas que han comenzado a investigarse sistemáticamente en los últimos años. En la región costera atlántica el sitio más temprano registrado es Arroyo Verde 1, costa de Río Negro, con un fechado de 7.400 años cal AP (Gómez Otero 2007, en Favier Dubois 2013), pero en general las ocupaciones comienzan a partir de los 6.000-5.000 años cal AP. Se ha detectado en el curso inferior del Río Colorado ocupaciones humanas débiles desde los 5.600 años cal AP, volviéndose más intensas a partir de los 3.200 años cal AP. Los análisis isotópicos realizados han demostrado una dieta combinada con recursos terrestres y peces, lo que implicaría posiblemente circuitos de movilidad que incluían sectores de diferentes nichos ecológicos

(Martínez 2008-2009 y Martínez et al. 2009 y 2013). La costa del Golfo de San Matías refleja una situación similar, ya que sus ocupaciones se detectan a partir de los 6.000 años cal AP y al igual que el caso del Río Colorado, se percibe un aumento hacia los 3.000 años cal AP (Favier Dubois 2013). Las investigaciones arqueológicas han demostrado que dichas poblaciones tendrían una adaptación marítima muy marcada hasta por lo menos los 1.500 años cal AP, momento en el cual tenderían a incorporar recursos terrestres (Favier Dubois et al. 2009). La costa de Chubut posee una temporalidad de ocupación cercana a los 6.000 años AP, representada por el sitio Cabo Tres Puntas 1, Golfo de San Jorge, el cual evidencia el consumo de recursos marinos (Gómez Otero et al. 1998). Dicho trabajo resalta la importancia de los sectores costeros para las primeras poblaciones humanas debido a sus características ecotonales, pero la mayor parte de la evidencia y los sitios arqueológicos se ubican posteriormente, a partir de los 4.000 años AP. La costa del Sur de Patagonia posee fechados desde los 5.500 años AP aproximadamente (Caracotche et al. 2005), pero en general las ocupaciones no superan los 1.700 años AP (Muñoz et al. 2009). Los últimos autores han señalado que los fechados tempranos ubicados en el Holoceno medio deben ser considerados como máximos, y que en general la señal arqueológica para la costa de Santa Cruz es tardía.

De todas maneras, algunos de los investigadores anteriormente nombrados (Gómez Otero et al. 1998, Favier Dubois y Kokot 2011, Favier Dubois 2013) han llamado la atención sobre estas temporalidades y la posibilidad de que la ausencia de sitios más tempranos se deba a problemas de visibilidad y obstrusividad. Principalmente sesgos de origen geológico y tafonómico habrían intervenido, ya que los procesos relacionados con los cambios en el nivel del mar (*i.e.* desglaciaciones y transgresiones marinas) podrían haber destruido la evidencia de ocupaciones más tempranas.

El sector Norpatagónico andino registra sitios tempranos (ver tabla 2.1) en donde las ocupaciones demuestran flujo entre poblaciones de ambos lados de la cordillera y con sectores de la estepa desde momentos muy tempranos, presentándose a partir del Holoceno Medio señales discontinuas y al parecer estacionales. Para la Provincia de Neuquén Barberena et al. (2015), han demostrado que el grueso de los sitios se presentan en sectores esteparios, habiendo cierta continuidad a partir de los 4.000 años AP. Según estos autores, la discontinuidad ocupacional de los sectores norpatagónicos andinos se explicaría por la ausencia de adaptaciones al bosque, ya

que este tipo de ecotono se habría utilizado en pulsos ambientales secos preferentemente. En la Provincia de Río Negro y Chubut, otras investigaciones han planteado un panorama similar, encontrando que la ocupación efectiva del bosque no puede establecerse a partir del registro arqueológico y que la misma presenta discontinuidad ocupacional (Bellelli et al. 2008).

Para el Noroeste de la Provincia de Santa Cruz, Goñi et al. (2004), han detectado ocupaciones esporádicas hacia el Holoceno Medio en el lago Argentino y el lago Cardiel, estando la mayoría de los sitios a partir de los 2.000 años AP. Una misma temporalidad ha sido propuesta para el Sur de esta provincia en las zonas cercanas al Estrecho de Magallanes, cuenca del Río Coyle y Pali Aike (Borrero y Barberena 2006, Borrero et al. 2008, 2009a, y 2011, Carballo Marina et al. 2011, Cassiodoro et al. 2013), siempre acompañado con una baja demografía.

Para el Holoceno Tardío la situación poblacional parece modificarse, ya que se registra una mayor cantidad y variabilidad de sitios arqueológicos, ocupando espacios anteriormente vacíos o visitados esporádicamente, interpretado en relación a la posibilidad de un aumento demográfico (Borrero 2001, Miotti y Salemne 2004). Algunos de los sectores patagónicos anteriormente nombrados comienzan a experimentar cambios visibles en el registro arqueológico. En la zona de la costa norpatagónica se comienzan a registrar mayores densidades demográficas, evidenciadas por un aumento de los sitios con fechados radiocarbónicos y posiblemente la saturación del espacio hacia los últimos 1.000 años (Favier Dubois 2013), proponiéndose procesos relacionados con concentraciones demográficas más densas y/o limitadas (*“demographic packing” sensu* Foley 1992, Lourandos 1997, Binford 2001, entre otros), constreñimientos espaciales, aparición de la territorialidad, intensificación en ciertos recursos y reducción de la movilidad con asentamientos más estables y prolongados (Martínez et al. 2013). Situación similar se da en ese momento en el Noroeste de Santa Cruz, en donde se evidencia una reacomodación y concentración poblacional en la cercanía del Lago Salitroso (Goñi et al. 2004, Goñi y Barrientos 2004) pero no necesariamente atado a una saturación del espacio, sino más vinculado a modificaciones en la movilidad y el asentamiento debido a las condiciones climáticas imperantes de sequedad impuesta durante la Anomalía Climática Medieval (Morales et al. 2009), las cuales muy probablemente obligaron a las poblaciones del área a asentarse en zonas con cuerpos de agua permanentes. Para la región Sur de Patagonia

Borrero et al. (2008, 2009a y 2011) han propuesto que a partir de los 2.000 años AP las ocupaciones pueden dividirse entre intensas y redundantes (costa central del Estrecho de Magallanes) y efímeras (asentamientos interiores), en donde las primeras serían nodos poblacionales. En éstos podría haberse dado una circunscripción espacial y ciertas aglomeraciones demográficas, favorecidas por la capacidad ecológica que poseen ciertos sectores del Estrecho para mantener altos niveles demográficos, pero sin llegar a la saturación del espacio. Adicionalmente se habrían dado complejas relaciones de interacción entre grupos culturales a niveles supra-regionales entre cazadores terrestres y marinos, propiciando sistemas de contactos y visitas.

En líneas generales, el poblamiento de Patagonia puede ser visto como una progresión en la ocupación de los ambientes más óptimos (nodos) hacia las regiones menos “deseables”, posiblemente visitadas para alguna tarea en particular o extracción de algún recurso. Este hecho, acompañado por las dificultades y sesgos acaecidos por las condiciones climáticas, geológicas y tafonómicas de cada región, ha hecho difícil postular o tomar registro de las posibles rutas de dispersión de las primeras poblaciones y el origen de estos grupos humanos.

En el Holoceno Tardío ciertas regiones y ambientes comienzan a evidenciar un aumento demográfico y la repetición en la ocupación de estos espacios con diversas adaptaciones, pero al parecer nunca se llegó a evidenciar grandes tamaños poblacionales efectivos. Diversos indicadores arqueológicos (materias primas, valvas y valores isotópicos) han evidenciado contacto o movilidad a grandes distancias entre grupos de diferentes regiones y la posibilidad de explotación de recursos de diferentes sectores del espacio. Este hecho posiblemente indique interacción entre grupos o poblaciones locales, pudiendo incluir o no flujo génico, pero poco puede decirse en realidad del carácter de los mismos y la lejanía o cercanía biológica de los grupos desde el estudio de la cultura material y los restos arqueológicos.

Por otro lado, como lo han planteado Borrero et al. (2011), es posible que muchos de estos grupos poseyeran barreras sociales flexibles y sistemas de intercambio de información bien establecidos, siendo difícil separarlos en entidades étnicas y culturales particulares. Este hecho podría estar apoyado por causas ambientales, en donde la poca capacidad de carga y la incertidumbre generada por este tipo de ambientes con condiciones climáticas oscilantes alentarían este tipo de contactos. La información generada desde el ADN dentro del marco de la

genética de poblaciones puede tratar de contestar algunas de estas hipótesis y arrojar un poco de luz sobre estos aspectos.

2.5.4. Hipótesis bioantropológicas sobre el poblamiento de la región.

Una cuestión central a la hora de inferir y analizar el poblamiento de esta región y que debe tenerse en consideración, es la ausencia de restos humanos tempranos bien conservados para analizar ya que la mayoría pertenecen temporalmente al Holoceno Tardío. Adicionalmente, muchas veces los restos analizados no se encuentran bien contextualizados, ya que pertenecen a colecciones de museos, habiendo sido excavados con metodologías de principios del siglo XX, muy diferentes a los enfoques y requerimientos científicos actuales, por lo que este registro desde el principio, al igual que los restos arqueológicos de índole cultural, se encuentra afectado por diferentes tipos de sesgos.

Desde fines del siglo XIX y las primeras décadas del siglo XX diferentes investigadores, atados a una metodología tipológica, identificaron y postularon diversas entidades biológicas en las poblaciones patagónicas. Autores como Outes, Imbelloni, Menghin y Bórmida (ver Cocilovo y Guichon 1999-2000 para una revisión) propusieron la existencia de sucesivas oleadas migratorias para diferentes sectores de Patagonia, difiriendo en la cantidad de migraciones que poblaron el territorio patagónico. Desde ese entonces hasta la actualidad, mucho ha cambiado en la investigación sobre restos humanos, no sólo por el abandono de la metodología tipológica, sino por la aplicación de métodos bioestadísticos a los valores craneométricos cada vez más complejos y robustos en el intento por establecer filogenias e historias poblacionales de los antiguos grupos humanos y la adopción de una perspectiva evolutiva moderna. Si bien existen diferentes acercamientos a la problemática desde el análisis del esqueleto post-craneal, mucha de la variación existente parece estar vinculada a la acción ambiental y al estrés mecánico (Beguelin y Barrientos 2006, Beguelin 2010), motivo por el cual actualmente priman los estudios craneométricos y dentales.

Una característica llamativa y varias veces nombrada de las poblaciones de Patagonia es su robusticidad y homogeneidad cuando se las compara con otras poblaciones del continente, lo

cual fue interpretado por la mayoría de los modelos de poblamiento como prueba de la existencia de los dos stocks poblacionales o componentes biológicos que ocuparon América y del carácter relictual de estos grupos humanos (ver apartado 2.3 de esta tesis). Hernández et al. (1997) plantearon que la robusticidad característica de estas poblaciones se debía más a una cuestión climática (adaptación al frío) y ecológico-cultural (estrés masticatorio y utilización de la mandíbula como herramienta) que a una marca filogenética, persistiendo a través del Holoceno debido al relativo aislamiento geográfico de estas poblaciones.

Hasta el momento son pocos los modelos de poblamiento propuestos para Patagonia exclusivamente y están muy vinculados a la ocupación de la Argentina en general. Cocilovo y Guichón (1999-2000), comparando rasgos craneométricos de diferentes poblaciones propusieron que el poblamiento pudo haber seguido dos direcciones: una andina, que habría llegado hasta la Región Central del país; y otra, más vinculada a la región Litoral, Río Paraná y posteriormente Patagonia y Tierra del Fuego. Como correlato de esto, el poblamiento habría tenido una vertiente Pacífica y otra Atlántica, llegando ambas hasta el cono Sur de Sudamérica, siendo las poblaciones cercanas al Canal de Beagle las más diferenciadas. Siguiendo estos lineamientos, González-José et al. (2001), analizaron 253 cráneos de siete poblaciones de Argentina a través de variables no métricas con el fin de poner a prueba estas hipótesis, llegando a la conclusión de que la solución más parsimoniosa para explicar la variación en Patagonia es aceptar un poblamiento pre-mongoloide. Sin embargo, en un estudio posterior González-José et al. (2002), con un mayor tamaño muestral, observan la afinidad y agrupamiento de todas las poblaciones patagónicas, pero diferenciándose las fueguinas del resto de la región y proponiendo dicho fenómeno como resultado del aislamiento y la forma de vida de las mismas.

En la última década los estudios craneométricos estuvieron enfocados en el estudio del origen de los grupos patagónicos. Frente a las dos hipótesis posibles acerca de la homogeneidad de las poblaciones de Patagonia (gran antigüedad pre-mongoloide o producto de mecanismos microevolutivos), Sardi et al. (2005) proponen la existencia de un ingreso temprano de grupos con una alta variación morfológica, un escenario en donde una población pequeña con altos niveles de dispersión y rangos geográficos fragmentados habría sido afectada por diversos procesos microevolutivos dando lugar a dicha homogeneidad. Sin embargo, Bernal et al. (2006) analizaron la variación craneal de cazadores-recolectores del Holoceno Tardío, estableciendo que

dentro de la robusticidad existe gran variación craneofacial y de tamaño en los grupos patagónicos, proponiendo a la latitud como explicación de estas diferencias o la existencia de dos componentes biológicos. Posteriormente, se propuso que la robusticidad se debía al accionar de la deriva, una población fundante pequeña y al aislamiento por distancia, reforzado por barreras biogeográficas (Pérez et al. 2007).

Los últimos análisis de estos investigadores (Bernal et al. 2010a y b) en cuanto a la variación dental en individuos del Holoceno Tardío han propuesto, al igual que los modelos de poblamiento americano basados en rasgos craneométricos, la acción de factores aleatorios y no aleatorios como las fuerzas que modelaron la variación de estas poblaciones. Adicionalmente, observan un gradiente en esta variación, el cual estaría vinculado a la distancia geográfica, resultado y demostración de que el poblamiento de la región estuvo caracterizado a efectos fundadores seriales. Este escenario plantea múltiples expansiones y sucesivas dispersiones de grupos pequeños de cazadores-recolectores como explicación de la correlación entre las distancias biológicas y geográficas dentro de sociedades con bajas densidades demográficas, por lo que cada una de ellas estaría reflejando sólo parte de la variación genética y morfológica del grupo primigenio. De todas maneras, es difícil descartar a la plasticidad fenotípica y a la dieta como factor vinculado a las diferencias morfométricas de los individuos analizados.

Por otra parte, Barbeito-Andrés et al. (2011) realizan una comparación entre poblaciones del Holoceno Tardío de Patagonia, del Noroeste argentino y de San Pedro de Atacama desde una perspectiva ontogenética. Proponen la existencia de una marcada diferencia entre los grupos cazadores-recolectores y los de subsistencia agrícola, planteando la posibilidad de que la incorporación de la producción de alimentos y la tecnología de cocción habrían sido un factor que propició la reducción del aparato masticatorio a través del tiempo. Cobos et al. (2012) han planteado cierta diferencia en los valores craneométricos de algunas poblaciones del Noroeste de Patagonia, la cual estaría influenciada por el ambiente.

A partir del análisis de las investigaciones que utilizan rasgos craneométricos realizadas hasta el momento surge predominante la postura que plantea la existencia de una similitud filogenética de las poblaciones de Patagonia. Muy posiblemente ésta pueda deberse a un origen común y a una sola inmigración, con una divergencia posterior y eventos de efectos

fundacionales seriales, los cuales explicarían las variaciones encontradas cuando se analiza los diferentes grupos patagónicos en su conjunto.

Este hecho resalta la importancia del análisis molecular de poblaciones prehistóricas de la región con el fin de conocer no sólo la diversidad genética prehispanica, sino también para verificar las posibles relaciones de ancestría de los diferentes grupos humanos y culturales del área a través de estudios de ADN.

Capítulo 3: el ADN mitocondrial.

3.1. Propiedades del ADN mitocondrial.

Las mitocondrias son organelas localizadas en el citoplasma celular, las cuales están presentes en las células eucariotas de todos los organismos eucariotas y en todos los tejidos del cuerpo. Poseen una pequeña cantidad de ADN y su función bioquímica es intervenir en la generación de energía, en forma de ATP (fosforilación oxidativa), utilizada para el funcionamiento celular. Una de las principales características de las mitocondrias es que poseen un sistema genético de replicación propio. Cada mitocondria contiene diversa cantidad de moléculas de ADN, la cual se presenta en forma circular, cerrada y de doble hélice (Giles et al. 1980, Pakendorf y Stoneking 2005). A su vez, cada célula puede contener entre 1000 y 10.000 mitocondrias dependiendo del tipo de tejido analizado.

El ADNmt posee 37 genes, de los cuales codifican para 22 ARN de transferencia y 2 ARN ribosomales⁵ y los 13 restantes para proteínas que intervienen en el proceso de respiración celular para la producción de ATP (Ballard y Whitlock 2004, Kivisild et al. 2006). Para el funcionamiento de las mitocondrias son necesarias otras proteínas que están codificadas por genes nucleares, se sintetizan en el citoplasma y son transportadas posteriormente al interior de la mitocondria.

En el año 1981 se obtuvo la primera secuencia completa del ADNmt perteneciente a un linaje europeo (Anderson et al. 1981) revisada posteriormente por Andrews et al. (1999): la que se denomina como la Secuencia de Referencia de Cambridge revisada (SRCr). Posee dos cadenas de ADN complementarias con una proporción de nucleótidos de citosinas y guaninas muy diferentes, por lo cual el peso molecular de cada cadena difiere. Existe una hebra rica en bases púricas⁶, que es llamada cadena pesada o H *-heavy-*, y una cadena complementaria rica en

⁵ El ácido ribonucleico es una molécula presente en todas las células eucariotas y procariotas y su función es dirigir las diferentes etapas de la síntesis proteica a través de la transferencia de información genética

⁶ Las bases púricas están definidas por una estructura química particular a las cuales pertenecen las adeninas (A) y guaninas (G) –Matisoo-Smith y Horsburgh (2012).

pirimidinas⁷ 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 desde posición 1 a la 16569 pares de bases.

3.1.1. Regiones del ADNmt.

El ADN mitocondrial está dividido en dos grandes regiones: una región codificante y una control. La primera contiene fundamentalmente los genes y 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 o hipervariable ocupa aproximadamente el 10%, unos 1100 pares de bases aproximadamente (Pakendorf y Stoneking 2005). Esta tiene la característica de ser muy polimórfica y presenta tres secciones definidas como región hipervariable 1 (RHV-1), desde la posición 16024 a la posición 16365, región hipervariable 2 (RHV-2), desde la posición 73 a la posición 340, y región hipervariable 3 (RHV-3), desde la posición 438 a la posición 574 (Malyarchuk et al. 2002).

El análisis de estas regiones ha permitido identificar que ciertas mutaciones o polimorfismos presentes pueden ser reflejo de la historia evolutiva y poblacional de los diferentes grupos humanos. Su estudio y reconocimiento puede utilizarse para hipotetizar filogenias entre diferentes poblaciones (Hummel 2003 y 2014, Schurr 2004, Brown y Brown 2011, Matisoo-Smith y Horsburgh 2012, entre otros), tanto pasadas como actuales.

3.1.2. Herencia del ADNmt.

La utilización del ADNmt para reconstruir historias poblacionales ha adquirido una gran importancia en las últimas décadas, ya que a diferencia del ADN nuclear, se hereda únicamente por parte materna. En uno de los primeros estudios se comprobó en diferentes familias que la progeie siempre presentaba la variante materna (Giles et al. 1980). Esta característica, junto con

⁷ Las bases pirimidinas están definidas por una estructura química particular a las cuales pertenecen las citosinas (C) y las timinas (T) –Matisoo-Smith y Horsburgh (2012).

la gran cantidad de material genético por célula, lo convierte en el marcador molecular más utilizado en genética de poblaciones. Una de las primeras utilidades de este marcador fue el trabajo de Cann et al. (1987), en el cual se postuló una filogenia entre diferentes poblaciones humanas en base a los polimorfismos de ADNmt, culminando con la conocida hipótesis de la Eva Mitocondrial Africana, postulado reconocido y aceptado en ese momento por diversas disciplinas científicas.

Los mecanismos por los cuales este pequeño genoma se hereda exclusivamente por línea materna han sido estudiados y puestos a prueba por diferentes investigaciones. Inicialmente se propuso que la proporción de ADNmt de herencia paterna no sería tan alta como para distribuirse en todos los tejidos a la próxima generación de manera estable, por lo que el porcentaje de ADNmt transmitido por línea materna sería ampliamente mayoritario (Shitara et al. 1998). Otra posibilidad sería que en el momento de la concepción, las mitocondrias presentes son únicamente maternas, ya que las paternas presentes en el espermatozoide no ingresan en gran cantidad al oocito (Cavalli-Sforza 1993, Hummel 2003). Sólo las mitocondrias femeninas contribuyen al desarrollo del nuevo individuo y su mapa genético.

Se ha estudiado experimentalmente la cantidad de ADNmt paterno presente en el oocito, dando como resultado una tasa de 1:1000 la relación de ADNmt paterno/materno, poniendo en duda la herencia de este genoma desde ambos progenitores (Danan et al. 1999). Otras investigaciones han propuesto la existencia de un proceso de destrucción proteolítica selectiva de las mitocondrias paternas al momento de la gestación en el oocito (Sutovsky et al. 1999 y 2000). Sin embargo, se ha registrado la asociación de este genoma con algunas condiciones patológicas (ver Taylor y Turnbull 2005) y en diversos estudios la presencia de ADNmt paterno en humanos podría estar asociada a miopatías u otras patologías (Schwartz y Vissing 2002, Kraytsberg et al. 2004, Zsurka et al. 2005 y 2007). De todas maneras, estos pocos casos parecerían ser la excepción más que la regla en cuanto a la heredabilidad del ADNmt (Ballard y Whitlock 2004).

También se ha propuesto la recombinación con material genético paterno o nuclear para explicar ciertas incongruencias en algunas posiciones en las secuencias de ADNmt (Awadalla et al. 1999), ya que este fenómeno ha sido descrito para diferentes especies de ostras –*Mytilus Galloprovincialis*- (Ladoukakis y Zouros 2001), peces –*Platichthys Flesus*- (Hoarau et al. 2002) y aves –*Parus Major*- (Kvist et al. 2003). También ha sido detectado en humanos, pero asociado

a condiciones patológicas (Bromham et al. 2003, Kraytsberg et al. 2004) y solo a tejidos musculares (Zsurka et al. 2005).

Esto provocaría errores al establecer relaciones biológicas entre grupos e individuos, además de provocar errores en las tasas de mutaciones calculadas, dando como resultado la interpretación errónea de los árboles evolutivos (Innan y Nordborg 2002). Sin embargo diversas investigaciones han puesto en duda estos postulados, ya que la evidencia esbozada en favor de la recombinación no es robusta hasta el momento (Eyre-Walker y Awadalla 2001) y puede ser errónea debido a la existencia puntos hipervariables en ciertos sectores del ADNmt con altas tasas de mutación (Innan y Nordborg 2002, Rokas et al. 2003).

Una crítica importante respecto a los postulados en favor de la herencia paterna y recombinación del ADNmt es la utilización de las bases de datos públicas para obtener los datos analizados. Diversos trabajos en la última década han subrayado la importancia de llevar a cabo controles de calidad de las secuencias publicadas (Bandelt et al. 2001, Yao et al. 2004), ya que muchas de ellas contienen errores de diversos tipos, siendo en algunos casos los polimorfismos artificiales o “fantasmas” (Bandelt et al. 2004), producto de diferentes fallas de lectura de las secuencias (Bandelt et al. 2002) o se encuentran atados a las condiciones específicas del trabajo de cada laboratorio (Brandstätter et al. 2005), concluyendo que las bases de datos son limitadas para reconocer estos errores o nuevos polimorfismos (Bandelt et al. 2006). Debido a estos inconvenientes y en base a la falta de pruebas contundentes en favor de la recombinación y herencia paterna, el consenso actual se ha inclinado hacia el lado de la herencia exclusivamente materna del ADNmt.

3.1.3. Tasa de mutación del ADNmt y el reloj molecular.

La tasa de mutación de un genoma está dada por la velocidad en que surgen nuevas variantes (polimorfismos) y la capacidad de fijación que tienen en una población y ambiente dado, permitiendo de esta manera introducir un cálculo de temporalidad en la evolución molecular y poder construir o modelar una edad para el ancestro común más reciente entre dos individuos, linajes o poblaciones. Esto se ha denominado como reloj molecular, el cual mide a

través de modelos matemáticos y evolutivos, el tiempo de divergencia o coalescencia entre dos moléculas presuponiendo que alguna vez estuvieron emparentadas por un ancestro en común (ver Matisoo-Smith y Horsburgh 2012).

Para el ADNmt se ha propuesto tempranamente la presencia de una alta tasa de mutación, de cinco a diez veces mayor que en los genomas nucleares y con una alta preponderancia de transiciones por sobre las transversiones⁸ (Brown et al. 1979, Giles et al. 1980, Brown et al. 1982, Cann y Wilson 1983, Malyarchuk et al. 2002). Diversos mecanismos han sido formulados para explicar dicha velocidad mutacional, proponiéndose una falla en la fidelidad de replicación, mecanismos deficientes de reparación o por la presencia de radicales libres, los cuales producen altos niveles de daños oxidativos con efectos mutagénicos importantes (Cann et al. 1984). Adicionalmente a este hecho, las tasa de mutación en cada región del ADNmt parecen ser diferentes, ya que la RHV poseen una tasa de mutación superior a la región codificante (hasta 31 veces mayor) siendo las transiciones más comunes que las transversiones, inserciones y deleciones⁹ (Malyarchuk et al. 2002).

Se han utilizado diferentes metodologías para estimar la tasa de mutación de los distintos sectores del ADNmt: a través del estudio de pedigríes o a través de la filogenia, por lo cual puede haber diferentes resultados para esta tasa en relación a la utilización de uno u otro método y a su calibración (Ward et al. 1991, Stoneking et al. 1992, Sigurgardottir et al. 2000, Howell et al. 2003, Ho et al. 2006, Henn et al. 2008). De todas maneras, con el avance en el estudio de secuencias de ADNmt, se ha descubierto la existencia de sitios hipervariables o “puntos calientes” (hot spots), principalmente en RHV 1 y 2, proponiendo la necesidad de agregar a los cálculos del reloj molecular la tasa evolutiva de cada posición (Meyer et al. 1999, Stoneking 2000, Pakendorf y Stoneking 2005, Ho y Larson 2006, Soares et al. 2008).

Sin duda se han logrado muchos avances en las últimas décadas, pero muchos interrogantes aún continúan tratando de responderse. El reloj molecular, que establece la divergencia evolutiva entre las dotaciones genéticas de distintas especies o individuos y a partir de allí conforma árboles evolutivos infiriendo relaciones de ancestría, depende de la adscripción

⁸ Una transición es una mutación puntual en una cadena de ADN caracterizada por la sustitución de una base púrica por otra base púrica (A-G o G-A) o una base pirimidínica por otra base pirimidínica (C-T o T-C).

⁹ Una inserción es definida como el agregado de una base (púrica o pirimidínica) en una cadena de ADN. La deleción es lo contrario, ya que se define como la pérdida de una base en una cadena de ADN.

a ciertos supuestos evolutivos: acumulación secuencial de las mutaciones a través de la radiación de los linajes (es decir, misma tasa de mutación para todas las secuencias de ADNmt en cualquier tiempo y lugar), ausencia de presiones selectivas sobre el ADNmt (modelo de neutralidad), herencia exclusivamente materna y una cierta estacionalidad poblacional (ver Ballard y Whitlock 2004 para una revisión).

Se ha propuesto que las incongruencias entre algunos árboles o filogenias del ADNmt se debe a la posible influencia de la selección natural, ya que algunos linajes pueden ser funcionalmente diferentes, siendo esperable que algunas variantes sean ventajosas o desventajosas en algún ambiente en particular (Mishmar et al. 2003), lo cual significaría que el reloj molecular no fue siempre constante en la historia humana. En este sentido, diferentes trabajos (Ballard y Whitlock 2004, Elson et al. 2004, Kivisild et al. 2006, Balloux et al. 2009) han cuestionado esta supuesta neutralidad en base a diversas pruebas estadísticas y evolutivas. Sin embargo, otros (Pakendorf y Stoneking 2005, Sun et al. 2007) han puesto en duda estos postulados, siendo el parecer del consenso común la ausencia de selección sobre este genoma.

Algo que no parece estar en discusión es la dificultad para aceptar que las poblaciones se mantengan estables a través del tiempo, ya que las genealogías y árboles de ADNmt no tiene por qué marcar necesariamente la verdadera historia de una población, ya que esto puede depender mucho del devenir poblacional y la historia de cada grupo (Ballard y Whitlock 2004, Elson et al. 2004, Mulligan 2006). Para evitar estos problemas, resulta de vital importancia conocer la historia poblacional, tanto arqueológica como histórica y etnográfica de las poblaciones a analizar con el fin de inferir sus posibles procesos evolutivos.

3.1.4. Homoplasias, heteroplasmas y posiciones revertantes del ADNmt.

Las filogenias de ADN (ADNmt en este caso) son una reconstrucción de genealogías o relaciones biológicas hipotéticas que permiten filiar o relacionar individuos, poblaciones o especies. No es otra cosa que una representación gráfica de posibles relaciones evolutivas. Dichas reconstrucciones se realizan mediante la identificación de polimorfismos que ocupan lugares con diferentes jerarquías dentro de los árboles hipotetizados, definiendo de esta manera

las ramas, los brazos y los nodos de donde se originan cada uno de los clados o linajes, comúnmente llamados haplogrupos. 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). Adicionalmente, cada clado o haplogrupo posee sub-haplogrupos, de jerarquía menor y haplotipos específicos, que pueden ser privativos de ciertos individuos, poblaciones o regiones.

Ahora bien, suele ocurrir en algunos casos, que ciertos polimorfismos son compartidos por diferentes brazos, clados o haplogrupos, lo cual suele generar inconsistencias en las relaciones biológicas y evolutivas propuestas para las poblaciones analizadas. Si no se acepta, como se analizó anteriormente, la herencia paterna o recombinación del ADNmt, estos polimorfismos tendrían que explicarse por otro mecanismo o fenómeno. Inicialmente Comas et al. (1995), llamaron la atención sobre la presencia posible de heteroplasmias (definiendo las mismas como la presencia de dos bases diferentes en una misma posición en una cadena de ADN) en un individuo producto de dos diferentes transiciones en la RHV-1. De todas maneras, las mismas se tratarían de casos raros, tendrían muy baja frecuencia poblacional y serían tejido-específicas (Samuels et al. 2013). Además también se ha propuesto la presencia de algunas posiciones heteroplásmicas en el ADNmt relacionadas con la edad, también en tejidos musculares (Theves et al. 2006).

Adicionalmente a este hecho, Parsons et al. (1997), detectaron una alta tasa de segregación de variantes cuando se la compara con la SRCr. Este hecho también fue avalado por un estudio realizado en dos individuos de Escocia, en donde se encontró una delección de 9 pares de bases, que hasta ese momento era típicamente asociadas a algunas poblaciones asiáticas y amerindias (Thomas et al. 1998). Posteriormente, Pigneau y Eyre-Walker (2004) identificaron casos de homoplasias (definida como una misma mutación encontrada en dos brazos distintos del árbol de ADNmt) en las filogenias, adjudicando las mismas a recombinación, pero llamando la atención en cuanto a la posible existencia de sitios hipervariables como forma de explicación de este fenómeno. A su vez, Galtier et al. (2006) apoyaron parte de estos postulados estudiando secuencias de citocromo B y proponiendo que los “puntos calientes” pueden generar homoplasias, pero rechazando la recombinación como factor generador de las incongruencias en los árboles. También se ha descubierto y registrado la existencia de sitios revertantes (Torres et

al. 2006), definidos como posiciones en el ADNmt que han vuelto por mutación a su estado ancestral.

Todos estos fenómenos provocan en algunas ocasiones problemas para asignar la pertenencia de secuencias de ADN a algún haplogrupo, sub-haplogrupo y haplotipo, sobre todo cuando se utilizan segmentos de la RHV-1 solamente, ya que la misma puede no poseer la resolución suficiente para reflejar toda la variedad mitocondrial (Behar et al. 2007). Sin embargo, actualmente se disponen de estudios detallados y filogenias muy precisas sobre los sitios calientes o hipervariables en el ADNmt (ver Soares et al. 2008 y Van Oven y Keyser 2008 para una revisión) y su peso evolutivo, permitiendo de esta manera asignar los haplogrupos de forma segura e interpretar correctamente los datos y las reconstrucciones realizadas a partir de los árboles filogenéticos con mayor nivel de confianza.

3.2 Linajes de ADN mitocondrial en América: modelos de poblamiento.

Los primeros estudios de genética de poblaciones sobre grupos americanos contemporáneos analizaron en primera instancia grupos sanguíneos, enzimas eritrocitarias y séricas y el Sistema de Histocompatibilidad Mayor mediante técnicas serológicas con el fin de analizar la variabilidad y posible origen de distintas poblaciones humanas a través de técnicas de aglutinación. No fue hasta la década de 1980 que comenzaron a investigarse marcadores genéticos mediante técnicas moleculares más refinadas. En líneas generales, son cuatro las preguntas que se intentaron contestar desde un primer momento: a) cuál fue el origen geográfico de las poblaciones americanas; b) cuáles pudieron ser las posibles rutas de ingreso y dispersión al continente; c) qué cantidad de migraciones explicarían el proceso de poblamiento, y; d) qué estimaciones temporales podrían realizarse en función de los estudios genéticos.

Desde sus comienzos, el ADNmt fue, y sigue siendo actualmente, el marcador más utilizado para estudios de genética de poblaciones y por ende, su variabilidad y distribución geográfica en los diferentes continentes es la mejor conocida. El primer estudio en poblaciones nativas americanas fue realizado por Johnson et al. (1983), quienes tipificaron e identificaron

polimorfismos diferentes a los hallados en poblaciones de origen europeo y asiático por medio de la técnica de *RFLP*¹⁰. Posteriormente, Wallace et al. (1985) demostraron la cercanía genética de las poblaciones americanas con las asiáticas. Estos trabajos pioneros permitieron y lograron la apertura de un campo de investigación que actualmente está aportando un cúmulo de información y datos realmente abundantes y que está permitiendo estudiar diversas problemáticas, no sólo relacionadas con los procesos de poblamiento americano, sino también preguntas de interés médico, forense y antropológico.

Debe tenerse en cuenta que el grueso de la información genética mitocondrial con el cual se están intentando contestar preguntas y contrastar hipótesis sobre diversas problemáticas (que serán expuestas en esta sección) proviene de poblaciones actuales, por lo que muchas veces, sobre todo al intentar responder interrogantes de índole arqueológico, debe tenerse en consideración que las mismas poseen diferentes niveles de mezcla génica con poblaciones europeas y en algunos casos africanas (Avena et al. 2007, Salas et al. 2008, Bobillo et al. 2010, Avena et al. 2012, entre otros) y no son grupos “prístinos” sin contactos o modificación por el mundo occidental.

Muchas son las modificaciones en los patrones de asentamiento, movilidad, migración y demografía que los diversos grupos nativos sufrieron a partir del contacto con el mundo europeo. También debe tenerse en cuenta los procesos migratorios posteriores que ocurrieron con la conformación de las grandes urbes en cada país y en los movimientos poblacionales de países limítrofes.

Si bien es verdad que muchos estudios suelen buscar grupos que se autoadscriban como aborígenes o de los que se tenga información histórica precisa sobre su devenir reciente con el fin de asegurar una supuesta “menor cantidad de mezcla”, debe tenerse en consideración que muchas de esas poblaciones poseían complejos sistemas de intercambios, migración y flujo antes del descubrimiento de América, por lo que es posible que algunos individuos fueran “extranjeros o foráneos” dentro del mismo grupo nativo producto de mezcla génica entre diferentes grupos originarios. Por este hecho, denominaciones como “Tehuelche, Mapuche, Pampa, etc.”, sólo por

¹⁰ RFLP (por sus siglas en inglés *Restriction Fragment Length Polymorphism*) significa Largo del fragmento polimórfico de restricción. Es una técnica que permite cortar una cadena de ADN en presencia o ausencia de ciertas mutaciones a través de una digestión enzimática para luego verificar las mismas mediante la medición de la talla del producto obtenido.

dar un ejemplo, deben ser tomadas con precaución y realizar un extenso análisis antes de adscribir algún linaje específico a un rótulo étnico impuesto que es un reflejo, muchas veces, de una condición y construcción histórica respecto al “otro” no europeo y no del proceso de “etnogénesis” propia de cada grupo y sin tener en cuenta los procesos de “invisibilización” (Rodríguez y Delrio 2000, Mandrini y Ortelli 2002, Bartolome 2003, Fernández 2006, Nacuzzi 2007, entre otros). Adicionalmente, mucho del trabajo de genética de poblaciones depende de la comparación y cotejo de los perfiles obtenidos por cada investigación con el resultado obtenido por otros investigadores, muchos de los cuales son investigaciones forenses o muestreos realizados, en algunos casos, sin tener en consideración la genealogía individual de los participantes y el lugar geográfico de origen de su ascendencia, por lo cual la utilización de las diversas bases de datos públicas disponibles en internet deben ser utilizadas con precaución y teniendo en cuenta este tipo de sesgos.

Otra cuestión radica en la diferencia de investigaciones realizadas en las distintas regiones del continente, tendiendo Sudamérica a concentrar los estudios sobre poblaciones de los Andes Centrales. Esta disparidad de muestreos ha provocado que muchos modelos de poblamiento no realicen un acercamiento “sistemático” al caso sudamericano, más allá de la utilización de algunos estudios particulares. Sólo en los últimos años se ha intentado revertir esta situación, pero aún queda pendiente un acercamiento más integrativo de las diversas líneas de investigación genética, arqueológica, geológica y paleoambiental.

3.2.1. ADN mitocondrial de poblaciones actuales.

Las primeras investigaciones intentaron definir las variantes que eran o podrían ser propias de las poblaciones americanas. Basado en los trabajos pioneros de Wallace anteriormente nombrados, Schurr et al. (1990) lograron tipificar por medio de enzimas de restricción ciertos polimorfismos en el ADNmt en poblaciones Pima, Ticuna y Maya, definiendo sus variedades como haplogrupos A, B y C. Los años inmediatamente posteriores a estos hallazgos fueron testigos de un gran desarrollo de la literatura respecto al tema. Muchos equipos de investigación analizaron la diversidad genética mitocondrial en diferentes grupos nativos de todo el continente (Ward et al. 1991, Wallace y Torroni 1992, Torroni et al. 1992, 1993 a y b, 1994 a y b, Ghinter et

al. 1993, Shields et al. 1993, Horai et al. 1993, Baillet et al. 1994, Kolman et al. 1995, Bortolini y Salzano 1996, Easton et al. 1996, Forster et al. 1996, Lorenz y Smith 1996, Ward et al. 1996, Kolman y Bermingham 1997, Moraga et al. 2000, entre otros). Todos coinciden en el origen asiático de las poblaciones americanas, en que éstas habrían ingresado vía Beringia en una temporalidad temprana y que toda la variabilidad genética encontrada en América podía asignarse a cuatro haplogrupos monofiléticos, denominados A, B, C y D, reconociendo posteriormente un linaje adicional llamado X sólo para Norteamérica, siendo los cinco derivados de poblaciones eurasiáticas (Forster et al. 1996, Brown et al. 1998, Reidla et al. 2003). La discrepancia en los estudios mencionados se circunscribe aún a la cantidad de oleadas migratorias (que varía desde una a cuatro) y a la temporalidad de los linajes americanos, la que podría haberse dado en un rango de 18.000 a 30.000 años AP según los diferentes cálculos de los autores. Cabe señalar que muchas de estas investigaciones y tipificaciones fueron realizadas por medio de la secuenciación de la RHV-1, pero aún no se había logrado un consenso sobre las mutaciones determinantes de cada haplogrupo y el volumen de secuencias disponibles era muy pequeño aún para obtener estimaciones más confiables.

La ausencia de alguno de los haplogrupos dentro de las poblaciones analizadas se debía a procesos microevolutivos, principalmente la deriva génica y por procesos de “tribalización” posteriores al poblamiento del continente, según Torroni et al. (1993b). Estos autores fueron los primeros en proponer una definición operativa respecto a las variedades mitocondriales específicamente americanas, definiendo a los haplogrupos A, B, C y D como fundantes debido a que cumplían con las siguientes condiciones:

1. estar presentes y distribuidos en Amerindios, presentándose en todas las “tribus”, ya que precede a la diferenciación “tribal”.
2. ser nodal a su haplogrupo en la filogenia, ya que los nuevos haplotipos se generan a partir de él;
3. deben ser detectables en Asia y Siberia, debido a que es su lugar de origen;

Un cuarto punto fue agregado posteriormente por Fix (2005), quien sostuvo que los fundantes propuestos deben ser identificables en muestras antiguas.

A fines de la década de 1990, dos trabajos de recopilación y análisis de secuencias de la RHV-1, primero del haplogrupo A y luego de todos los diferentes haplogrupos americanos, de Bonatto y Salzano (1997 a y b) postularon el modelo llamado “out of Bering”. Los autores analizaron la diversidad genética y estipularon a la región de Beringia como central en el desarrollo de las variedades mitocondriales distintivas americanas, las cuales se habrían generado por aislamiento en esta región y habrían ingresado en América por una ruta costera pacífica luego de pasar por un cuello de botella, expandiendo su diversidad característica por todo el continente. Adicionalmente, la coalescencia con las poblaciones asiáticas fue calculada en 30.000 años AP.

A partir de trabajos posteriores de revisión de las frecuencias y secuencias de los haplogrupos en toda América y nordeste asiático se fue logrando un consenso sobre el lugar de origen, migraciones, rutas y temporalidad del poblamiento (Derenko 1998, Schurr y Wallace 1999, Derenko et al. 2000, Schurr et al. 2000, Fix 2002, Malhi et al. 2002, Salzano 2002, Schurr 2002, Silva et al. 2002, Eshleman et al. 2003 y 2004, Schurr 2004 a y b, Schurr y Sherry 2004, Fix 2005, Dulik et al. 2012). Se postula que la variabilidad mitocondrial contenida en todas las poblaciones nativas está reflejada en cinco haplogrupos fundantes (A, B, C, D, y X), y que las mismas habrían sufrido la acción de la deriva génica, con gran peso del efecto fundador tanto al momento del ingreso como de la migración al interior del continente, lo cual se verifica en la distribución diferencial de los haplogrupos o la ausencia y fijación de alguno de ellos en ciertas regiones geográficas. El lugar de origen más probable en Asia son las regiones de Altai, Amur y Baikal, ingresando a América por una ruta costera primero, y por el corredor Alberta posteriormente, pero desde el mismo sustrato poblacional, siendo las temporalidades de coalescencia de los haplogrupos cercanas los 20.000 años AP. Una sola migración sería suficiente para dar cuenta de la distribución y variabilidad mitocondrial presente en todos los grupos humanos americanos (Lewis Jr. et al. 2007 y Lewis Jr. y Long 2008), siendo probable que en Sudamérica también haya habido dos rutas principales, una pacífica y otra amazónica (Keyeux et al. 2002).

La distribución de los cinco haplogrupos es diferencial, observándose en Norteamérica una alta frecuencia de A y la presencia exclusiva del X (Reidla et al. 2003 y Dornelles et al 2005)

y una alta frecuencia de C y D en Sudamérica, particularmente en el sur, siendo el B mayoritario en poblaciones andinas (Schurr 2004) – ver figura 3.1.

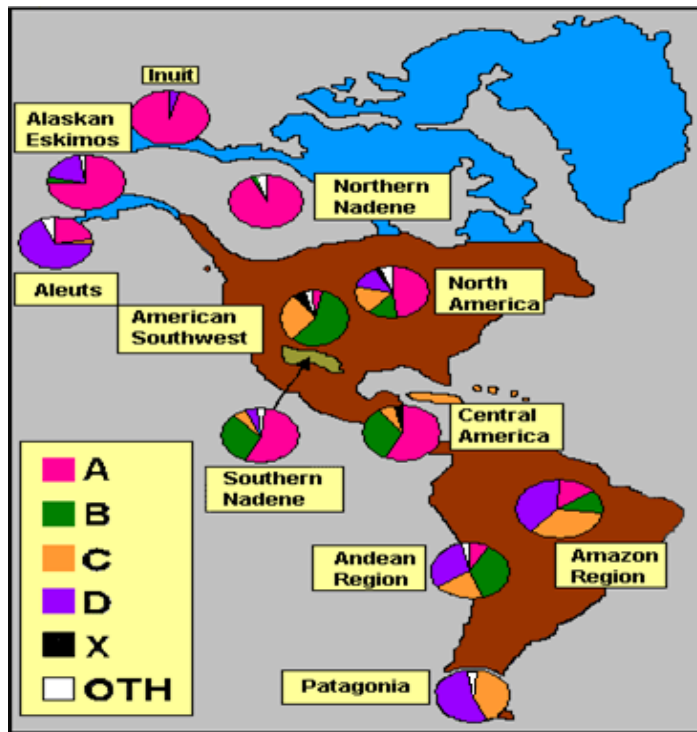


Figura 3.1. Distribución de haplogrupos mitocondriales propuesta por Schurr (2004).

Un trabajo central en la discriminación de las variedades mitocondriales americanas fue llevado a cabo por Bandelt et al. (2003), los cuales analizaron secuencias completas de ADNmt para establecer, por un lado, similitudes y diferencias con las poblaciones asiáticas, y por otro, identificar polimorfismos exclusivos de las poblaciones americanas, identificando a los linajes exclusivamente nativos como A2, B2, C1, D1, D2 y X2a. Este estudio demostró la necesidad y la utilidad de aumentar el grado de resolución de los linajes a través de la técnica de secuenciación de ADN.

A partir de la disponibilidad de un número mayor de secuencias de ADNmt de diversos lugares geográficos se comenzaron a realizar hipótesis y modelos de poblamiento mucho más complejos y precisos, ayudados por diferentes análisis estadísticos. Fue el trabajo de Tamm et al. (2007) el primero en presentar un modelo de poblamiento en base a un compendio de secuencias completas de ADNmt de poblaciones asiáticas y originarias actuales. A través de diversos cálculos ratificaron la existencia de los clados y sub-clados fundadores presentes en América.

Según este modelo, la población ancestral asiática ingresó en Beringia antes del UMG hace aproximadamente 30.000 años AP y permaneció allí relativamente aislada hasta los 15.000 años AP, momento en el cual comenzó el movimiento dispersivo dentro de América por la ruta costera del Pacífico. Estos milenios de aislamiento habrían provocado una suerte de incubación, en la cual se generaron las variedades exclusivamente americanas que luego se dispersaron muy rápidamente por todo el continente en una sola migración, ya que las mismas presentan tiempos de coalescencia similares, cercanos a los 14.000 años AP, sugiriendo la divergencia simultánea para todos los clados fundadores presentes en Norte y Sudamérica. Posteriormente al poblamiento inicial, se habrían dado diversos procesos de retromigración, demostrado por la presencia en Asia de ciertos clados y arribo posterior a América de otros relacionados con migraciones de poblaciones circum-árticas.

En este sentido, se realizaron simulaciones con los datos obtenidos (Kitchen et al. 2008 y Mulligan et al. 2008), postulando un modelo de colonización de tres estadios:

1. Una primera fase de colonización del Nordeste de Asia entre los 43.000 y 36.000 años AP, en donde la población inicial fue pequeña y poseía un muestreo de los clados ancestrales asiáticos, los cuales fueron reduciendo su diversidad genética pre-amerindia por la acción de deriva génica, con escaso crecimiento poblacional.
2. Una fase intermedia, entre los 36.000 y 16.000 años AP en donde se generaron todas los clados amerindios en Beringia, con una estimación de población efectiva de unos 8.000 individuos.
3. Una fase final de ingreso a América entre los 17.000 y 14.000 años AP luego de UMG, en donde se da una rápida expansión geográfica utilizando los corredores costero e interior, derivando todas las poblaciones nativas americanas modernas de un mismo sustrato poblacional de entre 1.000 a 2.000 individuos.

Desde la presentación de estos modelos se han realizado diversas re-evaluaciones basadas en diferentes tipos de información (Fagundes et al. 2008 a y b y Göebel et al. 2008) llegando prácticamente a las mismas conclusiones en cuanto a la diversidad genética, temporalidad y cantidad de migraciones. Actualmente existe un consenso amplio con respecto a los clados existentes en América, llegando a trece linajes, de los cuales ocho de ellos poseen una distribución continental estando en diferentes frecuencias en distintas poblaciones (A2, B2, C1b,

C1c, C1d, C4c, D1 y D4h3), mientras los cinco restantes (D2a, D3, D4e1c, X2a y X2g) parecerían estar restringidos a poblaciones de Norteamérica, (Achilli et al. 2008, Perego et al. 2009 y 2010, Malhi et al. 2010, Figueiro et al. 2011, Kumar et al. 2011) siendo algunos de ellos producto de expansiones posteriores relacionadas con poblaciones Eskimo-Aleutianas o como han planteado otros (Ray et al. 2010 y González-José y Bortolini 2011), producto de flujo génico recurrente entre Asia y América como punto importante en la evolución de las poblaciones nativas americanas.

La distribución de algunos de estos clados ha llevado a proponer que, si bien los primeros colonos provienen del mismo sustrato poblacional, fueron posiblemente diferentes sus rutas de ingreso. Tanto O'Rourke (2009) como Perego et al. (2009) han propuesto un modelo dual, en donde el linaje D4h3a representaría un ingreso exclusivamente costero pacífico y pre-Clovis, distribuyéndose desde las costas de Alaska hasta el Sur de Patagonia, y los linajes X2a y X2g presentan una distribución restringida a la zona de los Grandes Lagos de Norteamérica, por lo cual se supone un ingreso posterior por el corredor libre de hielo en una temporalidad cercana a Clovis (ver figura 3.2).



Figura 3.2. Rutas de migración humana temprana propuestas por el modelo de poblamiento dual basado en la distribución actual de los clados X2a y D4h3. Reproducido de O'Rourke (2009).

Recientemente se ha propuesto mediante la revisión de la diversidad, distribución y tiempos de coalescencia un escenario similar para el clado C4c, el cual se superpone con el X2a, posiblemente proviniendo de la misma migración y origen geográfico, aunque este análisis encontró dificultades en explicar la presencia de este linaje en poblaciones Ijka de Colombia (Hooshiar Kashani et al. 2012).

Posteriormente Achilli et al. (2013) realizaron un re-análisis de las filogenias y los tiempos de coalescencia de cada clado junto a su distribución geográfica, proponiendo dieciséis clados fundadores y tres eventos de flujo génico: uno inicial costero pacífico que migró hasta el Sur de Sudamérica representado por nueve linajes (A2, B2, C1b, C1c, C1d*, C1d1, D1, D4h3 y D4e1c), un segundo movimiento por el corredor libre de hielo, ingresando tres linajes más (C4c, X2a y X2g) y un tercer movimiento exclusivamente circumpolar con cuatro linajes característicos (A2a, A2b, D2a1 y D3). Según los autores, en Norteamérica se da la evolución *in situ* de brazos adicionales a los linajes fundantes A2 y B2, tipificados como B2a, A2a4 y A2a5.

Si bien todos estos modelos poseen vital importancia en la identificación de las variedades mitocondriales pan-continenciales y para la explicación y testeo de hipótesis acerca del poblamiento inicial del continente, pocos han sido los trabajos abocados a estudiar sobre el ingreso y dispersión de las poblaciones de Sudamérica debido a ausencia de muestreos con buena cobertura geográfica y por la menor cantidad de investigaciones de este tipo.

Tempranamente fueron identificados los cuatro haplogrupos fundantes (A, B, C y D) en toda Sudamérica, estando ausente o en muy baja frecuencia alguno de ellos sobre todo al Sur y Norte del continente (Horai et al. 1993, Kolman y Bermingham 1997, Rickards et al. 1999, Moraga et al. 2000, Keyeux et al. 2002, entre otros) y descartando la presencia del X (Dornelles et al. 2005). Hasta el momento, desde el ADNmt de poblaciones sudamericanas, no hay objeciones respecto al origen poblacional, ubicado al Norte del continente vía estrecho de Panamá, pero sí hay aún controversia con respecto a las rutas de ingreso y cantidad de migraciones. Inicialmente Horai et al. (1993) propusieron, en base a secuencias de ADNmt de Chile y Argentina, cuatro migraciones diferentes correspondientes a cada uno de los haplogrupos. Sin embargo, un re-análisis de los datos y nuevos muestreos de poblaciones al Sur y Centro del continente, acuñaron una hipótesis de una sola migración (Ghinter et al. 1993, Baillet et al. 1994, Moraga et al. 2000), recalcando la importancia del istmo de Panamá como

productor de cuellos de botella en la entrada inicial de las poblaciones humanas mediante el análisis de la diversidad de haplogrupos en grupos Chibchas, Chocó y amazónicos (Kolman y Bermingham 1997, Keyeux et al. 2002), proponiendo este último artículo citado la existencia de dos rutas principales en el derrotero hacia el Sur: una pacífica costera hasta el Sur del continente y otra por el Río Amazonas hasta el este del continente.

Diversos patrones han sido expuestos con el paso de los años. En un análisis de 590 secuencia de la RHV-1 de dieciocho poblaciones, Fuselli et al. (2003) encontraron diferencias en la diversidad mitocondrial al este y oeste del sub-continente, avalando la hipótesis de dos rutas, pero recalando la posibilidad de que dichos resultados se encuentren afectados por las diferentes historias poblacionales de dichas regiones. Sin embargo, rápidamente esta hipótesis fue rechazada (Lewis Jr. et al. 2004, Lewis Jr. et al. 2007 y Lewis y Long 2008), postulando que dicha diferenciación era resultado de procesos microevolutivos y los diferentes tamaños poblacionales de cada región, demostrando una dinámica poblacional mucho más compleja que la supuesta hasta el momento y apoyando la idea de una sola población fundacional más allá de las posibles rutas de dispersión posteriores. En este sentido, Melton et al. (2007) realizaron un análisis y re-evaluación de las secuencias de los grupos Chibchas y Caribes (grupos del Norte de Sudamérica), proponiendo un ingreso por la ruta Pacífica para las mismas y sólo una población inicial con desarrollos *in situ*, pero con contactos con Centro América.

Por otro lado, fue propuesto un gradiente de diversidad mitocondrial norte-sur (Moraga et al. 2000, García et al. 2004, Henríquez et al. 2004 y García et al. 2006), estando mayormente C y D representado en el Cono Sur de Sudamérica, y A y B en el Norte, explicado esto por un efecto fundador al ingreso del subcontinente. Recientes investigaciones han observado que en general existe una distribución variada de los linajes, posiblemente alguno de ellos influenciado por la Latitud (Bisso-Machado et al. 2011) - ver figura 3.3.

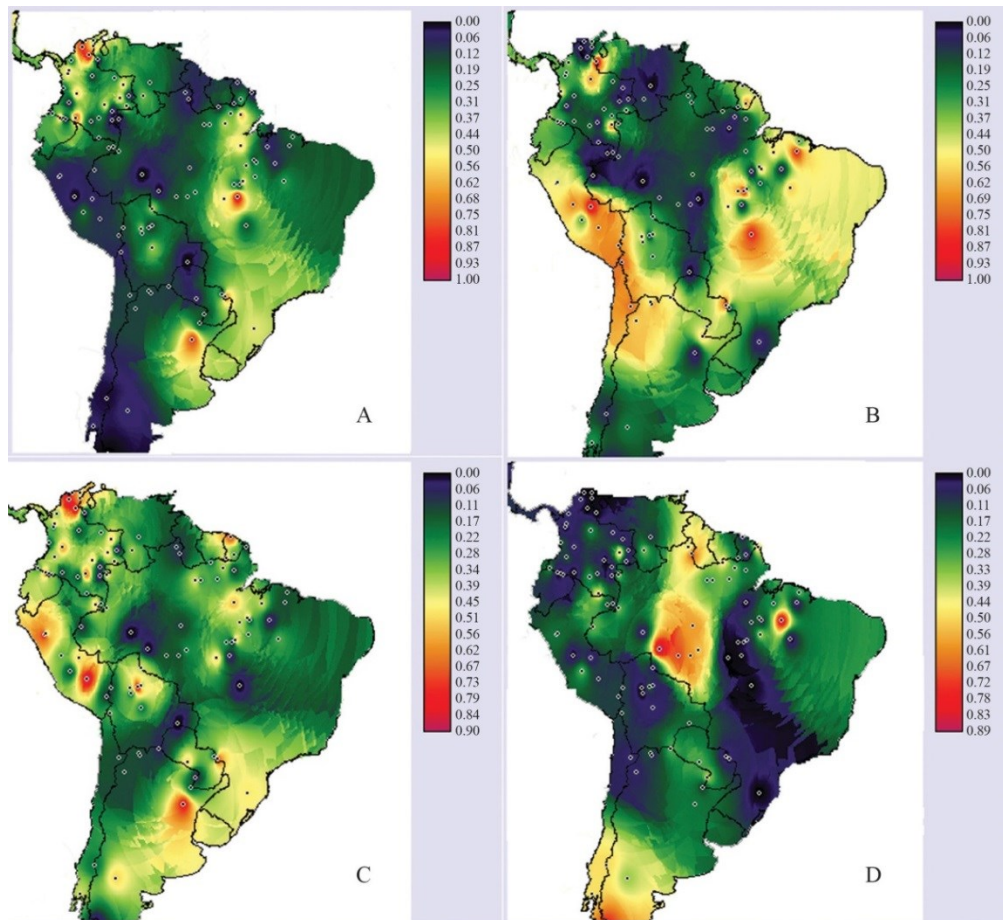


Figura 3.3. Mapa de distribución y densidades de los cuatro linajes fundadores (haplogrupos mitocondriales A, B, C y D) presentes en poblaciones actuales de Sudamérica. Los más cercanos a rojo demuestran mayores densidades que los tonos azules-verdes. Reproducido de Bisso-Machado et al. (2011).

Al igual que lo ocurrido con los modelos de poblamiento americano, recién en los últimos años en Sudamérica comenzaron a estudiarse los linajes mitocondriales a través de secuencias en gran número y variadas geográficamente y en algunos casos se dispone de mitogenomas. Fueron Bodner et al. (2012) los primeros en plantear un modelo de poblamiento para la región, proponiendo a través del tiempo de coalescencia y la presencia de ciertos linajes una temporalidad de ingreso cercana a los 14.600 años AP. Su análisis se centra en la distribución de dos clados del linaje D1, denominados como D1g y D1j, y que son exclusivos de Sudamérica (presentes en Argentina, Bolivia, Chile, Brasil, Perú y Uruguay) habiéndose generado en un proceso de incubación previo al ingreso de las primeras poblaciones de la región o durante este proceso, y se habrían dispersado por medio de una ruta pacífica, para luego seguir una ruta transandina, principalmente en el Cono Sur de Sudamérica (figura 3.4).

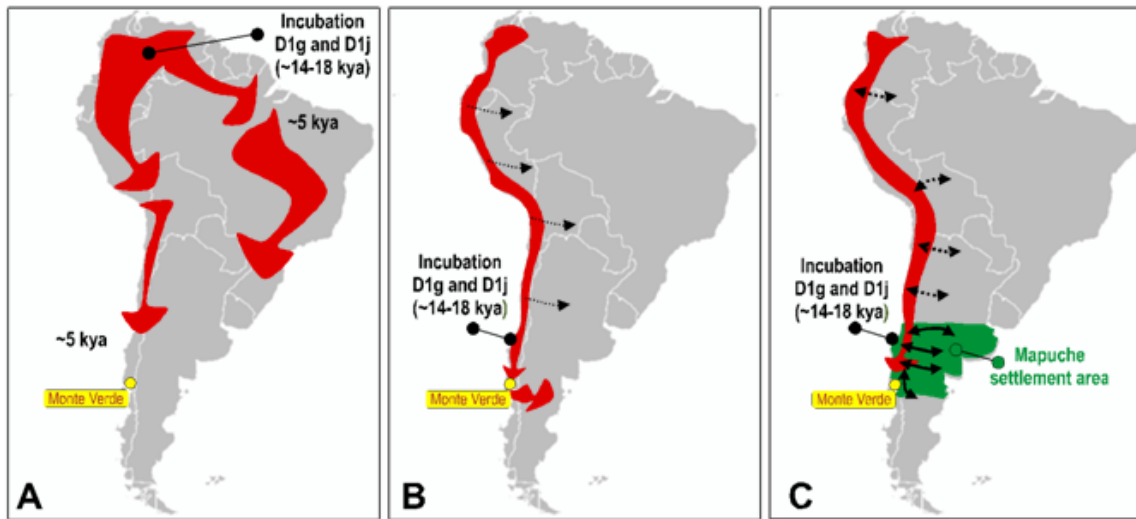


Figura 3.4. Modelos de poblamiento esbozados a partir de la distribución de los linajes D1g y D1j en Sudamérica. A: incubación y crecimiento poblacional al Norte de Sudamérica con posterior migración costera e interior luego del desarrollo de esas variedades. B: Colonización y migración costera hacia el Sur seguida de movimientos poblacionales trans-andinos con limitado flujo posterior. C: Colonización y migración costera hacia el Sur seguida de grandes migraciones transcordilleranas especialmente al Sur, sin limitaciones al flujo génico favorecido por los movimientos bidireccionales de poblaciones Mapuche al Este y Oeste de los andes. Los autores proponen que el modelo C es el que más se ajusta a los datos. Reproducido de Bodner et al. (2012).

Bodner et al. (2012), debido a la alta frecuencia en que se encuentran estos dos linajes en el Cono Sur, sostienen que los mismos han estado presentes en los “ancestros de los Mapuche actuales” que habitaban en el Norte de Chile,” que luego fueron migrando hasta ocupar su lugar geográfico actual, representando parte de la herencia genética de los pobladores pioneros, y que probablemente se haya conservado en estos grupos. Sin embargo, ha recibido algunas críticas, ya que uno de esos clados (el D1j) posee sus frecuencias más altas en el Centro de Argentina, por lo cual diversos autores (García et al. 2012 y Pauro et al. 2013) han propuesto a esta región como lugar de origen del mismo, con un tiempo de coalescencia de unos 11.000 años AP.

Teniendo en cuenta todos los modelos expuestos, la opinión actual desde la visión de los linajes maternos apoyan un escenario en el cual tanto Norteamérica como Sudamérica fueron poblados por grupos humanos pequeños de cazadores recolectores que portaban un subconjunto pequeño de linajes asiáticos que fueron divergiendo mediante un proceso de incubación (uno en Bering y otro en algún lugar de Sudamérica) desarrollando variedades similares a las asiáticas, pero específicas de cada uno de los subcontinentes. Este proceso se habría dado hace unos 18.000 años AP (luego del UMG), temporalidad claramente pre-Clovis para Norteamérica y hace unos 14.600 AP para Sudamérica. Si bien aún no hay un consenso respecto a esto, al parecer habría existido una ruta principal de acceso costera pacífica hasta el extremo Sur del continente y una sola población (para ambos subcontinentes) habría estado inmiscuida en la colonización,

pero no puede descartarse la presencia de posteriores eventos de flujo desde Asia, para el caso de Norteamérica, y desde el Caribe, para el caso de Sudamérica.

Como se habrá notado, la información genética actual es muy abundante, y la misma ha ido aumentando de manera exponencial en los últimos años gracias a un mejor muestreo y a la mucha mayor resolución obtenida en cuanto a la definición de linajes lograda por la utilización de secuencias completas de ADNmt en estudios poblacionales. A su vez, el incremento de las investigaciones han producido un cúmulo de trabajos de revisión (Kemp y Schurr 2010, O'Rourke 2011, Salzano 2011, Mazieres 2011, Pitblado 2011, Bravi 2013 y Marangoni et al. 2013), los cuales han intentado unir comprensivamente las diferentes líneas de evidencias genética, arqueológicas, geológicas y climáticas. De todas maneras, aún queda pendiente incrementar el número de muestreos y su cobertura geográfica, por un lado, y ampliar la resolución de las secuencias a través de la obtención de más mitogenomas para poder diseñar filogenias más específicas y refinadas, haciendo más confiables las hipótesis y modelos que puedan formularse.

3.2.2. Linajes mitocondriales de Patagonia.

Los primeros trabajos de ADNmt en poblaciones actuales de Patagonia se realizaron a principio de la década del 1990. Horai et al. (1993) analizaron 45 individuos de la Isla de Chiloé, Chile, logrando identificar los haplogrupos A, B, C y D. Ese mismo año, Ginther et al. (1993) examinaron 76 individuos de adscripción Mapuche procedentes de la localidad de Anecón Grande, Río Negro, Argentina, encontrando los mismos haplogrupos anteriormente citados. Así también, Baillet et al. (1994) tipificaron 58 Mapuche de la localidad de Cerro Policía y Aguada Guzmán, Río Negro, Argentina y 38 individuos Huilliche de Chile, encontrando también los mismos linajes.

Durante los años posteriores se realizaron investigaciones en otras poblaciones de Chile. Moraga et al. (2000) analizaron en 111 Mapuche, 105 Pehuenche y 21 Yaghanes, encontrando los cuatro haplogrupos en las primeras dos poblaciones, pero estando los haplogrupos A y B en muy baja frecuencia siendo mayoritarios el C y D. Los Yaghanes mostraron la presencia sólo de

los haplogrupos C y D. Estos resultados permitieron proponer a los autores la existencia de un cline Norte-Sur de los haplogrupos A y B en favor de C y D (estando A y B ausentes en Yaghanes), posiblemente producto de efecto fundador y que una sola migración podría explicar estos patrones. En esta misma línea, García et al. (2004 y 2006) tipificaron 158 individuos de diferentes localidades de Chiloé demostrando nuevamente el gradiente propuesto.

Fue con los trabajos de Bodner et al. (2012) y De Saint Pierre et al. (2012 a y b) que se realizó una revisión de la información obtenida, una re-evaluación de las secuencias y la confección de una filogenia con el fin de modelar el origen y el poblamiento de la región. Como se planteó anteriormente, la distribución de dos clados particulares (D1g y D1j) parecería explicar parte del primer poblamiento y la profundidad temporal de las primeras poblaciones de Patagonia, siendo los mismos posiblemente los antecesores de los Mapuche. De Saint Pierre et al. (2012 a y b) realiza un análisis de Mapuche, Pehuenche, Hulleche, Yámanas, Kaweskar y Atacameños y demuestra la existencia de un cline Norte-Sur de B2, C1b y D1, desapareciendo el primero e incrementándose los dos últimos, con una alta frecuencia de D1g en todos los casos, siendo el mayor linaje en todas las poblaciones de Patagonia, archipiélagos y Tierra del Fuego. El linaje A2 se presenta en el Norte de Patagonia en una frecuencia muy baja. Adicionalmente define la presencia de clados B2l, C1b13 en frecuencias considerables y siendo característicos de estas poblaciones y sólo descriptos en Sudamérica, al igual que D1g y con tiempos de coalescencia cercanos a los 15.000 años AP. Asimismo, el linaje D4h3a parecería estar confinado en Patagones y Tierra del Fuego (ver figura 3.5).

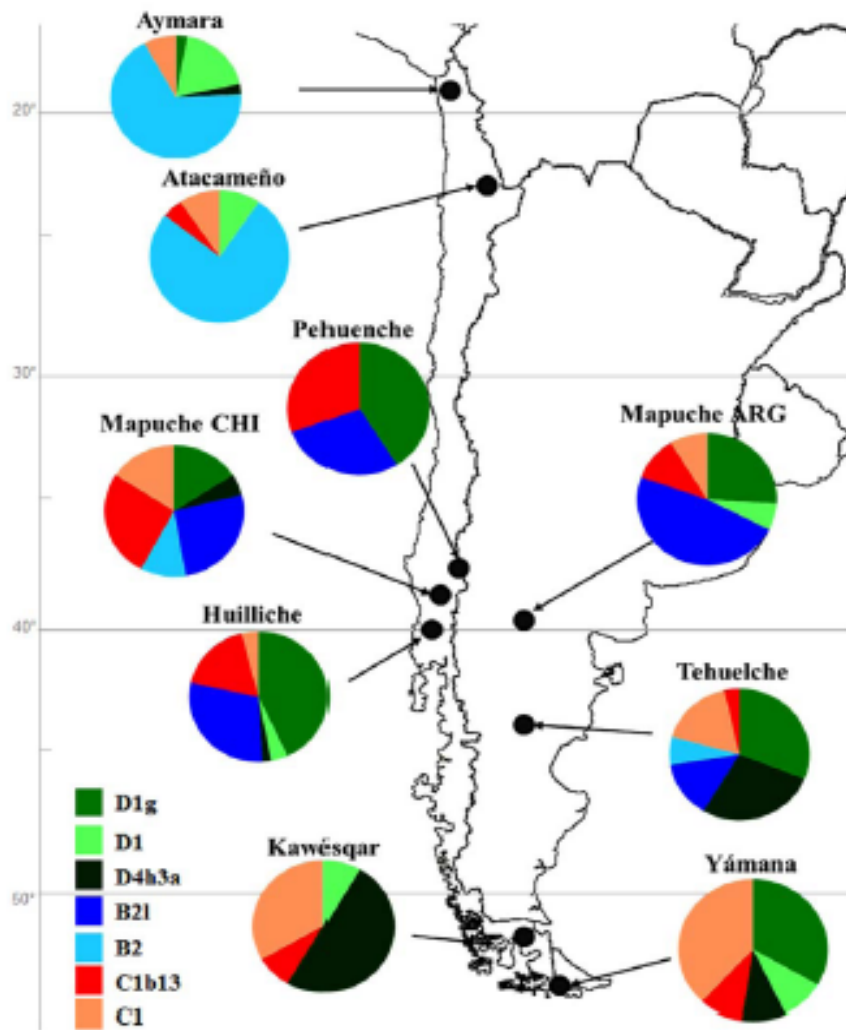


Figura 3.5. Distribución y densidad de los linajes mitocondriales en poblaciones actuales descendientes de comunidades originarias de la región patagónica. Reproducido de De Saint Pierre et al. (2012b).

Según estos autores, D1g y B2l aparecieron en cazadores-recolectores del extremo sur, junto a D4h3a, comprendiendo el 87,6% de la variación, sugiriendo extremo aislamiento de las poblaciones más al sur. Toda Patagonia poseería el mismo sustrato poblacional producto de un poblamiento desde el Pacífico a través de los Andes, siendo las poblaciones actuales muy probablemente descendientes de los primeros pobladores.

En un análisis reciente en las mismas poblaciones y en individuos cosmopolitas de ancestría Mapuche y Tehuelche, Sala y Corach (2014) han hallado los mismos linajes y en proporciones similares, por lo que las hipótesis antes planteadas parecerían indicar que toda la

Patagonia fue poblada por grupos pequeños cazadores-recolectores hace unos 15.000 años AP desde un mismo sustrato poblacional, siguiendo principalmente una ruta pacífica y que luego se habrían dispersado por todo el Este de los Andes de forma rápida.

Capítulo 4: el ADN antiguo.

4.1. Breve historia de los estudios de ADN antiguo.

Las investigaciones en el campo de ADN_a poseen una extrema juventud. Fue en la década de 1980 cuando comenzó muy lentamente a desarrollarse un campo transdisciplinar que actualmente es prolífico y fecundo, que realiza aportes a diversas áreas, no sólo a la arqueología como el caso de esta tesis, sino también a la biología, la bioantropología, la paleoantropología, la paleobotánica y hasta las investigaciones paleoclimáticas.

Estas investigaciones se hicieron conocidas tempranamente, no por sus propios descubrimientos o hallazgos en algún ámbito científico particular, sino gracias al estreno en 1993 de “Jurassic Park”, película que fue un éxito de taquilla y uno de los íconos modernos de la ciencia ficción de Hollywood. En la historia un grupo de genetistas extrae ADN_a de un mosquito preservado en ámbar para clonar diferentes especies extintas. Sin embargo, la realidad científica, está lejos de estos logros y éxitos, y difícilmente se pueda recuperar ADN de restos de millones de años. Lo cierto es que la historia de estas investigaciones está plagada de altibajos, pasando por momentos de muchísimas publicaciones (como en los últimos años) y por otros de descrédito debido a los problemas metodológicos y de autenticidad de los resultados publicados.

El primer trabajo fue publicado por Higuchi et al. (1984), en donde se recuperó ADN de tejidos musculares de un Quagga (un linaje extinto perteneciente a la familia de las cebras) de 140 años de antigüedad, desaparecido a finales del Siglo XIX en el continente africano. Ese mismo año fue testigo de la primera investigación en humanos (Pääbo 1984), en la cual se recuperó ADN de una momia egipcia de 2400 años AP. Siguiendo la misma línea de investigación se logró extraer material genético de otra especie extinta, un mamut, dando resultados positivos para la preservación del material genético (Johnson et al. 1985). Un evento crucial en los estudios de genética y en la investigación de ADN_a fue la invención de la reacción en cadena de polimerasa (PCR de ahora en más) permitiendo amplificar y copiar los segmentos de ADN que se desee, según el interés de la investigación, de forma más económica, sencilla,

sensible y rápida que las demás técnicas moleculares que se venían aplicando (Saiki et al. 1985, Mullis et al. 1986 y Mullis et al. 1987).

Fue nuevamente Pääbo et al. (1988) el que logró extraer ADNmt de tejido neuronal conservado de un individuo de 7.000 años AP, del sitio Little Salt Spring, Florida, EE.UU. Al año siguiente aparecieron dos importantes trabajos, uno de ellos logró obtener ADN de un lobo marsupial de Tasmania extinto en 1936 a partir de tejido conservado (Thomas et al. 1989). El otro fue publicado por Hagelberg et al. (1989), quienes extrajeron y tipificaron ADN a partir de restos óseos humanos con una temporalidad de entre 300 y 5.500 años AP. Estos trabajos evidenciaron la posibilidad de que restos óseos preservaran material genético analizable.

En el año 1990 se produjo la primera publicación que fue cuestionada y posteriormente rechazada. Golenberg et al. (1990) presentaron 820 pares de bases del gen *rbcL* del cloroplasto de una magnolia fósil de entre 17-20 millones de años. Sin embargo, estos estudios nunca pudieron reproducirse, por lo cual los resultados fueron prontamente desechados. El mismo camino transitó las investigaciones de DeSalle et al. (1992) y Cano et al. (1992), los cuales publicaron la recuperación de ADN nuclear y mitocondrial de un insecto conservado en ámbar de 25-30 millones de años, pero posteriormente se identificó que este material genético se trataba de una contaminación con *Drosophila* (Austin et al. 1997a). Woodward et al. (1994) manifestaron haber podido recuperar una secuencia 174 pares de bases del ADNmt correspondiente al citocromo b de un dinosaurio de 80 millones de años de antigüedad, pero posteriormente Zischler et al. (1995) demostraron que la secuencia recuperada se trataba de una contaminación con ADN humano. Estos trabajos pusieron en evidencia las dificultades relacionadas con la contaminación y autenticidad de los resultados en este tipo de investigaciones, poniendo en el foco de discusión los protocolos de extracción y tipificación del material genético, controles de laboratorio y las instalaciones adecuadas para llevar a cabo este tipo de análisis, lo cual se ve reflejado en diversas publicaciones y revisiones sobre el tema (Pääbo et al. 1989, Rogan y Salvo 1990b, Richards y Sykes 1995) y recopiladas en Cooper y Poinar (2000), las que luego se convirtieron en los parámetros estándar en investigaciones de ADN.

Sin embargo y paralelamente a estos cuestionamientos, muchos trabajos demostraron la viabilidad de este tipo de análisis bajo adecuadas condiciones de trabajo y se diversificó la aplicación de los mismos a diversas disciplinas. El trabajo de Cooper et al. (1992) sobre aves

extintas en Nueva Zelanda, el de Höss et al. (1994 y 1996b) sobre mamuts y perezosos gigantes y el de Handt et al. (1994) realizado sobre restos humanos del Hombre de Tirol pusieron de manifiesto la posibilidad de obtener resultados auténticos a partir de restos antiguos.

A fines de la década de 1990 y podría decirse hasta la actualidad, el grueso de las investigaciones en ADN se han volcado a dos tópicos particulares. Por un lado al estudio de la diversidad genética de especies extintas y a la investigación de los posibles motivos de la desaparición de distintos taxones pleistocénicos, y por otro, a la investigación de los procesos de dispersión humana y el análisis de la diversidad genética de distintas especies del género *Homo* y sus posibles relaciones filogenéticas con los humanos modernos.

La primera de ellas puede rastrearse en los trabajos iniciales con diferentes géneros de megafauna (Poinar et al. 1998b, Greenwood et al. 1999), diversos bóvidos extintos (Lalueza-fox et al. 2002) y osos pardos (Barnes et al. 2002). Fue sobre el Moa extinto de Nueva Zelanda que se obtuvo el primer genoma mitocondrial completo desde restos antiguos (Cooper et al. 2001). Así mismo, Willerslev et al. (2003) logró recuperar secuencias de ADN de plantas y animales a partir de sedimentos de permafrost con una cronología de hasta 400.000 años, demostrando no sólo la perdurabilidad del material genético en ciertas condiciones ambientales, sino también la posibilidad de utilizar este tipo de registro para realizar reconstrucciones paleoambientales mediante la identificación del tipo de especies halladas. Shapiro et al. (2004) determinaron 685 pares de bases del ADNmt de 442 bisontes de Bering, analizando su diversidad genética para estudiar los cambios demográficos e inferir procesos de extinción. En este trabajo se postula que la diversidad genética de estos bisontes comenzó a disminuir drásticamente (y por ende su demografía) principalmente debido a los cambios ambientales y no tanto por la acción humana. Krause et al. (2006) lograron obtener el primer genoma mitocondrial completo de un mamut a través de la técnica llamada “múltiple” y establecieron su cercanía filogenética con el elefante asiático. Römpler et al. (2006) lograron recuperar con esta técnica el gen nuclear del receptor de la melacortina de un mamut de 43.000 años AP, demostrando que es posible conocer características fenotípicas de los animales extintos del pleistoceno que no pueden vislumbrarse a través del registro fósil.

El segundo tópico es el más publicitado y difundido en la actualidad, y a nuestro parecer, el más revolucionario no sólo en el campo de la genética y la antropología, sino en todas las

disciplinas que estudian la evolución humana. Fue en 1997 cuando se dio a conocer la primera secuencia de ADN mitocondrial recuperada de un individuo neandertal de Feldhofer (Krings et al. 1997, luego ampliada por Krings et al. 1999), la cual demostró que los linajes neandertales no habrían contribuido en el acervo genético de las poblaciones humanas modernas. Posteriormente se estudió el espécimen neandertal de Mezmaiskaya (Ovchinnikov et al. 2000), de Vindija (Krings et al. 2000) y el segundo espécimen de Feldhofer (Schmitz et al. 2002). Estos trabajos apoyaron los resultados inicialmente obtenidos en cuanto a la posición filogenética de los neandertales en relación con los humanos modernos, pero llamaron la atención sobre la posibilidad de errores en las cadenas de ADN recuperadas debido a daños producidos por desaminación de citosinas¹¹ en la primera secuencia publicada por Krings et al. (1997). En este sentido, Caramelli et al. (2003) lograron obtener secuencias mitocondriales de dos Cromañones, encontrando que las mismas eran similares a los humanos modernos y se separaban de las obtenidas en los neandertales, avalando aún más las conclusiones inicialmente obtenidas.

Posteriormente se realizó una revisión de las secuencias neandertales disponibles hasta ese momento y se sumaron a los análisis dos individuos más de Vindija, uno de Engis y otro de La Chapelle-aux-Saints (Serre et al. 2004). Si bien los resultados de las comparaciones fueron similares a los hallados anteriormente, este estudio fue el primero en considerar la imposibilidad de excluir una posible contribución genética de neandertales a grupos humanos modernos con los reducidos tamaños muestrales estudiados hasta ese momento. A estos estudios le siguieron los análisis de especímenes neandertales de El Sidrón (Lalueza-Fox et al. 2005), el de Les Roches-de-Villeneuve (Beauval et al. 2005), el de Scladina (Orlando et al. 2006) y el de Monti Lessini (Caramelli et al. 2006).

Todos estos análisis, tanto en restos de fauna y flora, como en humanos fueron realizados por medio de las técnicas de PCR tradicionales, las cuales permitían sólo amplificar y estudiar segmentos cortos de ADN y validarlos luego de múltiples extracciones y verificaciones de la concordancia de múltiples secuencias de un mismo extracto de cada individuo. En el año 2005 se pusieron a prueba sobre restos antiguos los nuevos sistemas de secuenciación en masa, también llamados “secuenciación de nueva generación”, los cuales permiten obtener miles de cadenas de

¹¹ La desaminación es un proceso químico por el cual se produce la ruptura del grupo amino, lo cual degrada los aminoácidos. En ADN antiguo este proceso suele asociarse a daños oxidativos, el cual provoca la ruptura de la cadena de ADN.

ADN a partir de un extracto de un espécimen y luego analizar cada una de esas secuencias dentro de una biblioteca de ADN, permitiendo reconstruir cadenas de miles de pares de bases, no sólo de ADN mitocondrial como se venía haciendo anteriormente, sino también de genomas nucleares completos. El primer trabajo en poner a prueba estos nuevos métodos fue el de Noonan et al. (2005) los cuales obtuvieron una secuencia genómica de 26.861 pares de bases de dos Osos de las Cavernas de 40.000 años AP. Rápidamente se utilizó esta técnica en uno de los primeros neandertales estudiados (Vindija) logrando recuperar el 0,04 % del ADN nuclear del individuo (Green et al. 2006, Noonan et al. 2006).

Muchos trabajos fueron en la misma línea de investigación en los últimos años, logrando no sólo avances técnicos, sino también muchas conclusiones novedosas que difícilmente podrían haberse comprobado a través del análisis osteológico tradicional, tanto de humanos como de otros animales. Actualmente muchas investigaciones realizadas sobre restos de animales pleistocénicos están demostrando que la desaparición de muchas especies en diversos sectores de Europa, Asia y América del Norte está más ligada a procesos de deriva y reducción demográfica debido a los cambios ambientales más que al accionar humano (Campos et al. 2010 a y b, Lorenzen et al. 2011, Stiller et al. 2013, entre otros). Adicionalmente, muchos trabajos se están realizando para tratar de responder interrogantes sobre procesos de domesticación (Demirci et al. 2013, Druzhkova et al. 2013, Wannajuk et al. 2013, Cai et al. 2014, Flink et al. 2014, entre otros), el cambio en la distribución de ciertas especies en relación con la dispersión de los grupos humanos (Storey et al. 2012, Gutiérrez-García et al. 2014, Jacomb et al. 2014, Thomson et al. 2014) y la identificación molecular de especies a partir de restos arqueológicos (Byrd et al. 2013, Grier et al. 2013, Moss et al. 2014).

Sin lugar a duda el avance técnico de la secuenciación ha causado la mayor revolución en las investigaciones sobre el origen y la relación genética en diferentes especies del género *homo*. Diversos trabajos han demostrado a través de las evidencias genéticas el aporte de ADN nuclear neandertal al acervo genético de poblaciones actuales euroasiáticas (Yotova et al. 2011, Méndez et al. 2012, Vernot y Akey 2014), investigado las posibles habilidades cognitivas y el fenotipo de individuos neandertales (Krause et al. 2007, Lalueza Fox et al. 2007 y 2008, Paixo-Cortés et al. 2013, entre otros), la posible existencia de grupos neandertales genéticamente diferentes (Dalen et al. 2012) y la confirmación de la presencia de otras especies homínidas (conocida como

denisovanos) con una relación genética mucho más compleja y dinámica que la propuesta hasta el momento por los diversos modelos de dispersión del *homo sapiens* (Krause et al. 2010, Reich et al. 2010, Meyer et al. 2012, Méndez et al. 2013, Prüfer et al. 2013). Los análisis de otros homínidos de Europa y Asia (Meyer et al. 2013, Fu et al. 2013) han avalado este escenario de complejidad demográfica y migratoria de las diversas especies *Homo* que habrían convivido durante el Pleistoceno hasta su extinción (ver Sánchez-Quinto y Lalueza-Fox 2015 para una revisión sobre el tema).

En los años venideros se lograrán muchos más avances en diversas temáticas y campos de estudios. Las mejoras técnicas logradas han posibilitado un cúmulo de información novedosa, muchas veces contrapuesta con las teorías tradicionales. Esto ha abierto un campo de debates y seguramente nuevas y viejas teorías serán propuestas y retomadas en el análisis de diversas disciplinas que cada vez son más obligadas a tornarse “interdisciplinas”.

4.2. Selección, conservación y degradación de piezas esqueléticas.

La conservación y degradación de las fuentes de ADN es uno de los puntos cruciales en cualquier investigación de esta índole. Si bien actualmente se han desarrollado diferentes metodologías y producido avances técnicos que han demostrado la posibilidad de extraer material genético desde diferentes tipos de materiales (Bonnichsen 2001, Gilbert et al. 2006 a y b, Roberts y Calloway 2007, Bengtsson et al. 2012, Olsen et al. 2012), los restos esqueléticos continúan siendo las principales fuentes de información genética disponible en la actualidad y las que mayores posibilidades de éxito conllevan (Lassen et al. 1994), correspondiendo este hecho a las características intrínsecas de dichos tejidos debido a que ciertas condiciones suelen preservarlos durante miles de años. Sin embargo, muchas son las modificaciones tafonómicas y diagenéticas que pueden actuar sobre estos tipos de restos, produciendo la subsecuente alteración y/o pérdida del material biológico contenido en ellas.

Varios han sido los estudios centrados en los procesos y modificaciones que acontecen en diversos materiales desde su depositación y entierro hasta el momento de descubrimiento y sólo recientemente diversos trabajos han estudiado la afectación del ADN en restos óseos. Nielsen-

Marsh y Hedges (2000) fueron unos de los primeros en publicar un trabajo experimental y de compendio sobre la posible conservación de trazas biológicas en restos esqueléticos humanos y animales. Analizaron parámetros histológicos, de porosidad, cristalinidad y de contenido proteico, cálcico y de carbonatos en un total de 134 restos óseos de 8 sitios diferentes de Europa que experimentaron diferentes procesos diagenéticos, observando que existe un amplio rango de variación en la conservación. Una de las principales conclusiones es que ésta es dependiente de las propiedades de los procesos de formación que experimenta cada muestra arqueológica y que a su vez es diferencial entre sitios, estableciendo una cierta correlación entre el contenido orgánico y la preservación morfológica.

En este sentido, Hedges (2002) estudió las condiciones de entierro y su relación con los procesos diagenéticos y estableció que los patrones de alteración se debían a:

1. ataque microbial,
2. pérdida del colágeno,
3. aumento de la cristalinidad ósea,
4. inclusión de solutos de la matriz sedimentaria y;
5. cambios en temperatura, hidrología y geoquímica a través del tiempo.

El autor concluye en la dificultad de realizar generalizaciones en cuanto a la conservación biológica ósea, ya que la misma está relacionada con las cantidades y movimiento de agua y solutos del ambiente de enterramiento, el cual no es constante a través de los años.

Collins et al. (2002) realizaron una reevaluación de todas las investigaciones en la materia, postulando diferentes procesos de modificación en función a los principales componentes óseos. Los huesos se componen de una fracción orgánica, representada principalmente por colágeno y por una fracción inorgánica compuesta por cristales de hidroxiapatita. Ambas fracciones parecerían tener roles diferentes en la conservación. Según los autores, existirían tres mecanismos generales de deterioro óseo:

- a) deterioro químico de la fracción orgánica (principalmente el colágeno);
- b) deterioro químico de la fracción inorgánica (cristales óseos) y;
- c) biodegradación en general.

El deterioro sería una cadena de eventos en donde la disolución mineral expone a la fracción orgánica a la biodegradación, aumentando a su vez la porosidad de la pieza y su exposición a la hidrólisis, todo esto siendo dependiente del tiempo transcurrido, la temperatura y el pH de los sedimentos en los que estuvo depositado cada espécimen. Adicionalmente, estos autores comparan los resultados obtenidos mediante técnicas de racemización, espectrometría de masas, cromatografía de gases y patrones histológicos llegando a la conclusión de que dichos análisis empleados como proxies de material orgánico, también son sensibles a las mismas condiciones diagenéticas que afectan a las moléculas buscadas. La supervivencia ósea, y por ende del ADN, dependería de una compleja relación entre los cristales óseos y el colágeno.

Por su parte, Götherström et al. (2002) realizaron un análisis de ambas fracciones por difracción de rayos X, observando una fuerte afinidad del ADN por la fracción inorgánica (hidroxiapatita), postulando que mucho del material genético puede encontrarse absorbido por los cristales óseos logrando una cierta “estabilidad de conservación”. Además coinciden con los resultados encontrados por Collins et al. (2002) en cuanto a la compleja relación de degradación existente entre la cristalinidad, colágeno y ADN. Simultáneamente, Trueman y Martill (2002) propusieron la disolución de la hidroxiapatita como principal mecanismo de degradación, pero por mecanismos asociados a las bacterias, hongos y protozoos en su accionar desmineralizador, junto con la hidrólisis. Haynes et al. (2002) establecieron una relación entre la supervivencia del ADN y el espesor, histología y tamaño óseo, proponiendo al ambiente como un factor crítico y encontrando una asociación entre la preservación histológica y la recuperación de ADN. A su vez, en un estudio comparativo Jans et al. (2004) apuntaron que todos estos factores de alteración se presentarían de forma más acentuada en restos humanos que en animales debido a sus características estructurales y porosidad, siendo en éstos más pronunciadas las alteraciones provocadas por la putrefacción.

Hasta el momento todo parece indicar que las condiciones tafonómicas y diagenéticas definen la cantidad y tipos de alteración ósea (y por ende del material orgánico presente), siendo importantes la hidrología, la temperatura, el pH de la matriz sedimentaria y la bioerosión (microorganismos) de los contextos de los restos óseos, teniendo en cuenta que la escala temporal arqueológica del ambiente de enterramiento puede ser muy amplia y cambiante, existiendo diferentes trayectorias diagenéticas (Turner-Walker 2008). En todos los casos, las

características morfológicas de las piezas dentales tenderían a conservar mejor el material orgánico debido a la protección del esmalte dental, su menor porosidad y mayor dureza (Calvo et al. 2001, Montiel et al. 2001, Wandeler et al. 2003, Grimoud et al. 2004, Turner-Walker 2008).

En los últimos años se han realizado algunos avances de importancia relacionados con la selección de piezas, la porción anatómica que debe seleccionarse en los análisis y su correlación con la conservación del material genético. Misner et al. (2009) probaron si existía correlación entre el estado de meteorización ósea y la talla del amplicón¹² de ADN. Analizaron 36 restos en diferentes estados de conservación y de distintos puntos anatómicos. Se estableció una baja correlación entre la meteorización y la calidad del ADN amplificado, proponiendo que la apariencia visual no puede utilizarse para predecir los resultados y que posiblemente los huesos y el ADN no se degradan por los mismos mecanismos, siendo muy importante la fracción mineral de cada resto. Los autores encuentran una diferencia significativa según la posición anatómica del hueso, siendo aquellos con más material compacto (*i.e.* diáfisis de huesos largos) y las piezas dentales los que resultaron nuevamente las más rendidoras en términos genéticos. Adicionalmente, muchos trabajos posteriores (Campos et al. 2012, Pilli et al. 2013, Grunenwald et al. 2014 a y b y Scorrano et al. 2014) han apoyado estos resultados y resaltado la importancia del estudio de ambas fases (orgánicas e inorgánicas), ya que no sólo el colágeno puede ser fuente de ADN, sino también la hidroxiapatita por su afinidad y capacidad de adsorber trazas de ADN antes de que el mismo sea degradado hasta su destrucción.

4.3. Conservación, daños e inhibición en el ADN antiguo.

La problemática de la conservación, degradación e inhibición de las trazas de material genético (junto con la problemática de la contaminación y autenticidad de los resultados obtenidos) recuperados de restos arqueológicos es uno de los problemas metodológicos más importantes en las investigaciones de ADN y que más referencias bibliográficas posee en la actualidad. Son temáticas muy estudiadas, pero que paradójicamente, poseen menos consenso en cuanto a su posible resolución, lo que se ve reflejado en las disparidades de protocolos y

¹² En biología molecular la palabra amplicón se refiere al ADN copiado *in vitro*.

acercamientos al tema propuestos en cada publicación. Si bien es verdad que numerosas prácticas de laboratorio han sido actualmente establecidas, muchas de ellas pueden variar dependiendo del método de extracción y análisis, protocolos de amplificación y tipo de material estudiado, influyendo también los recursos disponibles de cada laboratorio. En esta tesis se ha decidido separar esta problemática en diferentes apartados para que sea más ordenado y práctico a la lectura, pero todas ellas se encuentran íntimamente relacionadas y muchas veces se encuentran concatenadas unas con otras.

Al igual que ocurre con los procesos destructivos del material óseo anteriormente expuesto, el ADN contenido en los mismos sufre similares procesos degradativos y destructivos. En un organismo vivo existen mecanismos enzimáticos reparativos que evitan o reparan el daño en las cadenas de ADN. Al deceso del mismo, estos mecanismos cesan y los daños ocasionados por la descomposición molecular comienzan a acumularse rápidamente. Tempranamente fue demostrado por Lindhal (1993) que dos procesos son los que esencialmente causan los daños del material genético: la hidrólisis, que causa principalmente la inestabilidad estructural en las uniones químicas del ADN, y la oxidación, la cual altera y degrada los componentes de dicha cadena. Estos procesos causan la rápida depurinación y desaminación, modificando y destruyendo las bases que conforman las largas cadenas de ADN fragmentándola en pequeños trozos. Este investigador planteó teóricamente, a través de estudios *in vitro*, la imposibilidad de la supervivencia de material genético analizable en especímenes de más de 10.000 años.

Este estudio fue en cierta forma fundacional y derivó en la búsqueda de métodos de escaneo para detectar la supervivencia de las trazas de ADN en restos óseos con el motivo de ahorrar tiempo y dinero en las investigaciones. Fueron los trabajos de Poinar et al. (1996) y Höss et al. (1996) los que propusieron al análisis de las tasas de racemización de ácido aspártico, a la cromatografía de gases y la espectrometría de masas como estudios tendientes a detectar el material genético remanente en los restos óseos. Sin embargo, sus conclusiones fueron cuestionadas (Poinar y Stankiewicz 1998, Collins et al. 1999) ya que los valores indicados como límites de la supervivencia del material genético pueden ser afectados por el ambiente y la temperatura de los sitios, siendo difícil su extrapolación a todas las posibles variaciones que ocurren en el contexto arqueológico. A su vez, el límite teórico fijado para la supervivencia de ADN fue realizado bajo condiciones de laboratorio las cuales no son equiparables a las presentes

en sitios arqueológicos, siendo dependiente la conservación y supervivencia del material genético de la temperatura y la absorción del ADN por parte de la hidroxiapatita ósea (Geigl 2002 y Garzon 2002, Mitchell et al. 2005, Salamon et al. 2005). También fue propuesto (Garzon 2002, Smith et al. 2003) el cálculo de edad termal (entendido como el tiempo que toma producir algún grado de degradación del ADN cuando la temperatura es de 10 °C constante) como indicador de supervivencia, pero dicha propuesta posee las mismas limitaciones anteriormente nombradas, ya que un sitio arqueológico puede pasar por diferentes condiciones ambientales, dificultando el cálculo de la temperatura media y su variación a través del tiempo arqueológico. Actualmente, muchos trabajos han criticado la utilización de los diferentes métodos de predicción indirecta de ADN nombrados (Bollongino et al. 2008, Collins et al. 2009, Fernández et al. 2009, Schwarz et al. 2009), siendo mayoritaria la postura de realizar los análisis genéticos y en base a los resultados obtenidos verificar la condición y preservación del ADN.

Algunos trabajos han llamado la atención sobre las condiciones de exposición de los restos. Provust et al. (2007) analizaron especímenes de diversos sitios arqueológicos, ambientes y temporalidades hallando que no sólo la temperatura, sino también el pH, radiación solar, composición química del hueso, la matriz sedimentaria y la hidrología del sitio son variables que inciden en la conservación del material genético ya que los mismos producen daños hidrolíticos y oxidativos. A su vez, los autores demostraron que los restos recién excavados poseen más probabilidades de contener ADN que aquellos conservados durante décadas en museos, demostrando que ciertas características microambientales y el lugar de almacenamiento juegan un papel fundamental en la degradación del material genético (ver también Bollongino et al. 2008, Zimmermann et al. 2008 y Sosa et al. 2013).

Con respecto a la caracterización del daño, fue el trabajo de Hofreiter et al. (2001) el primero en demostrar a través de clones de secuencias de ADN el tipo de degradación que ocurre en las cadenas de ADN, centrado en el proceso de desaminación de citosinas y la incorporación de uracilos. El mismo provoca la incorporación errónea de nucleótidos y transiciones artificiales de C→T y G→A, siendo mayoría la primera, lo cual puede crear problemas a la hora de realizar análisis filogenéticos y cálculos de coalescencia, por la incorporación de mutaciones falsas (véase Capítulo 3). Trabajos posteriores (Gilbert et al. 2003 a y b, Binladen et al. 2006, Stiller et al. 2006, Brotherton et al. 2007, Mateiu y Ranala 2008)

propusieron la acción de las endonucleasas *post mortem*, hidrólisis y oxidación como los principales responsables de la desaminación y la existencia de dos tipos de daños: el tipo 1, caracterizado por la presencia de transiciones T→C y A→G, y el tipo 2, caracterizado por la presencia de transiciones C→T y G→A, siendo este último tipo el más frecuente y presentándose en raras ocasiones eventos de transversiones. Diferentes trabajos han intentado mitigar estos tipos de daño a través de distintas técnicas de extracción (Gilbert et al. 2007b, Barta et al. 2014), la incorporación de aditivos químicos reparadores a los extractos (Briggs et al. 2010) y la aplicación de análisis estadísticos y simulaciones para identificar posibles errores en las secuencias obtenidas (Ho 2011, Molak y Ho 2011, Ginolhac et al. 2011, Jonsson et al. 2013), pero este tipo de enfoques no han sido muy aceptados y no poseen un consenso formado respecto a su aplicabilidad.

Otro problema que puede darse con frecuencia en algunos restos es la inhibición. Éste se produce por la intervención de ciertas sustancias en la actividad enzimática de copia de la Taq polimerasa¹³, impidiendo el mecanismo de replicación de la PCR. Inicialmente fue señalada por Wilson (1997) la posibilidad de que ciertos fluidos, materiales medio ambientales y algunos reactivos de laboratorio intervengan en el desempeño de la PCR creando reacciones sub-óptimas. En restos provenientes de sitios arqueológicos se ha reconocido la acción de los ácidos húmicos, fúlvicos y procesos relacionados con la reducción de azúcares (reacción de Maillard) como los principales inhibidores de la PCR (O'Rourke et al. 2000). Dicho fenómeno se convierte en un problema y en una decisión metodológica sobre qué modificaciones deberían hacerse en los protocolos para descubrir cuales muestras no amplificadas en realidad poseen inhibidores. Diversos protocolos de extracción y purificación (Hanni et al. 1995 a y b, Yang et al. 1998, Bourke et al. 1999, Kemp et al. 2006 y 2014, Loreille et al. 2007, Rohland y Hofreiter 2007 a y b, Rohland et al. 2010, Jakubowska et al. 2011, Pandey et al. 2011) y agregados facilitadores de la PCR junto a polimerasas de mayor fidelidad (Al-Soud y Rastrom 2000, Radstrom et al. 2004, Matheson et al. 2010, Aleaddini et al. 2012, Monroe et al. 2013) han sido propuestos, pero aún no se ha llegado a un consenso sobre la utilidad de las mismas. Además, debe tenerse en consideración que muchas veces estos inhibidores son particulares de alguna muestra y no de

¹³ La Taq Polimerasa es una enzima que permite copiar de manera *in vitro* un ADN molde de manera exponencial a través de la reacción en cadena de polimerasas (PCR). En muestras antiguas, los extractos producidos pueden estar acompañados por agentes que bloquean la acción de la Taq, impidiendo la copia del ADN.

otras, siendo complejo ajustar un protocolo exclusivo para cada particularidad de cada muestra estudiada. Por otro lado, los agregados utilizados como facilitadores pueden agregar contaminación y no funcionar correctamente, provocando más dificultades que soluciones.

4.4. La problemática de la contaminación y los criterios de autenticidad en estudios de ADN antiguo.

La casuística de la contaminación en muestras de ADN_a está íntimamente relacionada a la poca cantidad y fragmentación que usualmente poseen las trazas de material genético que logran sobrevivir a los procesos de degradación biológica mencionados anteriormente y a los criterios de seguridad biológica y autenticidad que sean aplicados en cada laboratorio que realice este tipo de análisis. Debido a que la principal técnica utilizada, la PCR, posee una alta sensibilidad, cualquier cadena de ADN moderno que se encuentre en los extractos y/o equipos de laboratorio posee una posibilidad mayor de amplificarse en comparación con el ADN degradado, dañado y en baja cantidad. Este hecho genera un halo de desconfianza constante con los resultados obtenidos, obligando a extremar los cuidados relacionados al trabajo de laboratorio.

Tanto los inconvenientes relacionados con el control de las posibles fuentes de contaminación (ADN exógeno), en primer lugar, y luego la demostración de la autenticidad y reproducibilidad de los resultados (ADN endógeno) son campos extremadamente complejos y complicados de resolver. Estas problemáticas han sido señaladas muy tempranamente por diferentes equipos de investigación en numerosos artículos (Pääbo et al. 1989, Rogan y Salvo 1990, Richards y Sykes 1995, Schmidt et al. 1995, Stoneking 1995, Austin et al. 1997 a y b, Cooper y Wayne 1998, Wayne 1999, entre otros), los cuales propusieron una serie de recomendaciones y prácticas de trabajo a la hora de realizar análisis genéticos sobre restos antiguos. Fueron los trabajos de Cooper y Poinar (2000) y Poinar (2003) los primeros en realizar una amplia revisión y proponer la siguiente serie de criterios para establecer la validez de los resultados obtenidos:

1. *Aislamiento físico de las áreas de trabajo*: resulta esencial que todos los trabajos que se realicen con los restos antes, durante y luego de la extracción, se lleven a cabo en

un laboratorio aislado físicamente y utilizado únicamente para este tipo de material, separado de cualquier espacio en donde se realicen pruebas o análisis con ADN moderno, cuidando el flujo de ingreso y salida de personal.

2. *Controles de amplificación de la PCR*: realización de blancos diversos (libres de ADN), tanto de reactivos como ambientales con el fin de monitorear posibles focos de contaminación.
3. *Conducta molecular apropiada*: debido a que el ADN se presenta fragmentado, es esperable que sólo sea posible amplificar fragmentos de pocos pares de bases, siendo difícil y posiblemente producto de contaminación, obtener amplificaciones para fragmentos largos.
4. *Cuantificación*: utilización de PCR en tiempo real para aproximar el número de moléculas iniciales y de esta manera detectar posibles contaminaciones.
5. *Reproducibilidad*: los resultados obtenidos deben poder replicarse en diferentes extractos provenientes de un mismo individuo.
6. *Clonado*: los productos de PCR deben ser copiados mediante clones en bacterias y luego secuenciados con el fin de determinar la tasa de ADN endógeno y exógeno y los posibles errores en las secuencias inducidos por la degradación.
7. *Replicación independiente*: reproducibilidad de los resultados en otro laboratorio de los mismos individuos.
8. *Preservación bioquímica*: aplicación de métodos indirectos para asegurar la preservación y cantidad de ADN presente en cada muestra analizada.
9. *Restos asociados*: el estudio de fauna asociada a restos humanos puede ser de utilidad para verificar de forma indirecta las condiciones de preservación y presencia de ADN.
10. *Sentido filogenético*: las secuencias obtenidas y reproducibles deben poder ubicarse dentro de los árboles filogenéticos junto con otros haplotipos con el fin de asegurar la autenticidad final de la secuencia y detectar error en la misma.

Diversos investigadores de distintos laboratorios han remarcado la importancia de la aplicación de muchos de los puntos mencionados, adhiriendo en mayor o en menor medida a estos postulados. Una gran cantidad de revisiones han sido publicadas evaluando la utilidad de muchos de estos criterios (O'Rourke et al. 2000, Hofreiter et al. 2001, Montiel et al. 2001, Yoder y Delefosse 2002, Kaestle y Horsburgh 2002, Pusch et al. 2003, Fernández-Domínguez et al.

2003, Hofreiter y Vigilant 2003, Yao y Zhang 2003, Yang et al. 2003, Pääbo et al. 2004, Willerslev y Cooper 2005, entre otros). Los más aceptados son aquellos relacionados con la disposición aislada de los laboratorios, la cuantificación, la reproducibilidad y la necesidad del sentido filogenético de las secuencias obtenidas. Sin embargo, con el paso del tiempo la utilidad de muchos de ellos fue puesta en duda por diversos motivos metodológicos y empíricos.

Algunos autores criticaron los modelos y análisis de preservación bioquímica (Kaestle y Horsburgh 2002, Fernández-Domínguez et al. 2003, Hofreiter y Vigilant 2003, Willerslev y Cooper 2005, Montiel y Sívoli 2007, Collins et al. 2009, Kirsanow y Burger 2012), ya que son muy costosos, consumen mucha cantidad de muestra cuando la misma es muy valiosa y las tasas propuestas muchas veces no son concluyentes en cuanto a la preservación del ADN propiamente dicho y pueden alterarse por las características ambientales. La utilización del clonado también fue cuestionada (Pusch y Bachmann 2004, Bower et al. 2005, Malmström et al. 2005, Sampietro et al. 2006, Kemp y Glenn-Smith 2010, Deguilloux et al. 2011, Winters et al. 2011), primero por la dificultad de estimar qué cantidad de clones son necesarios para aceptar o rechazar una secuencia consenso y segundo, por la dificultad de discriminar, en caso de que presenten varios perfiles, cuál de ellos es el auténtico. En la misma línea se encuentra el criterio de la conducta molecular, ya que muchas veces las secuencias exógenas, producto del paso del tiempo y de los tratamientos de descontaminación, suelen presentarse dañadas y fragmentadas dificultando distinguir las posibles contaminaciones con ADN exógeno (Pusch y Bachmann 2004, Spencer y Howe 2004, Montiel y Sívoli 2007, Winters et al. 2011). Por otro lado, si bien es importante la utilización de controles y blancos de reacción, algunos estudios (Schmidt et al. 1995, Austin 1997 a, Yang et al. 2003, Pääbo et al. 2004, Malmström et al. 2005, Gilbert et al. 2006c, Xu et al. 2009, Deguilloux et al. 2011, Hummels 2014) han indicado la problemática de la contaminación de carga o “*carry over*”, la cual puede provocar la aparición de trazas de ADN exógenas en cualquier momento, tanto en los controles como en las muestras, sobre todo en PCR's con grandes cantidades de ciclos, siendo difícil identificar la fuente contaminante.

Los restos arqueológicos asociados han sido utilizados en diversas oportunidades para monitorear la conservación genética del sitio, pero ha sido demostrado que la misma puede variar entre muestras e individuos (Montiel y Sívoli 2007). También otros estudios han encontrado contaminación de animales en varios reactivos (Leonard et al. 2007) y además se ha

observado contaminación cruzada entre humanos y animales procedente del mismo sitio arqueológico (Mohandesan et al. 2008).

El criterio de replicación independiente también ha sido cuestionado principalmente porque si la muestra estudiada presenta mucha contaminación antes de ingresar al laboratorio y la misma no puede eliminarse con los protocolos de descontaminación se corre el riesgo de amplificar contaminación en ambos casos (Richards y Sykes 1995, Malmström et al. 2005 y 2007, Kemp y Glenn-Smith 2010, Deguilloux et al. 2011, García-Garcera et al. 2011).

En vistas de la complicación generada por las diferentes propuestas de criterios de autenticidad universales y a la falta de consenso en alguno de ellos, el foco de atención ha sido desviado en sentidos diferentes dentro de los que se encuadran ciertos investigadores. Algunos han optado por tomar a los criterios anteriormente nombrados como una guía de referencia necesaria pero no obligatoria y de carácter asistencial (Kaestle y Horsburgh 2002, Malmström et al. 2005, Yang y Watt 2005, Bouwman et al. 2006, Gilbert et al. 2006c, Montiel y Sívoli 2007, Kemp y Glenn-Smith 2010, Deguilloux et al. 2011, Barta et al. 2013, Pilli et al. 2013, Hummel 2014) proponiendo un trabajo en base a la reflexión sobre la propia experiencia. Así se reconoce que la contaminación es constante e inevitable, siendo cada investigación muestra-individuo y hasta sitio específico, haciéndose necesario también un registro detallado de la historia de cada muestra desde su excavación hasta su llegada al laboratorio con el motivo de conocer la naturaleza del ADN exógeno presente y poder controlar y eliminar la posible contaminación que conlleva.

Compartimos esta visión y la propuesta de una actitud crítica y reflexiva constante sobre los resultados obtenidos. Cada muestra a analizar puede potencialmente tornarse en un nuevo reto tanto práctico como teórico y metodológico. En este sentido resulta de vital importancia la experiencia y el conocimiento sobre la población estudiada con el fin de poder evaluar los resultados y considerarlos como auténticos en base a un conocimiento más interdisciplinario y no sólo como una regla a cumplir a rajatabla.

4.5. ADN mitocondrial de poblaciones humanas antiguas de América.

En la última década se han registrado los mayores avances en el campo del ADN aplicado a estudios poblacionales y prehistóricos en América. No sólo técnicos y metodológicos, sino también por un mayor muestreo e investigaciones y por el análisis de individuos de una gran profundidad temporal.

En líneas generales, la disciplina tiene muy poca profundidad histórica y los muestreos realizados hasta el momento son pequeños y heterogéneos, tanto a nivel geográfico como temporal, por lo que sus resultados aún no han aportado un modelo de poblamiento general. Muchos sectores de América poseen una gran cantidad de muestreos bien contextualizados cultural y temporalmente, mientras otros sólo tienen el análisis de pocos individuos muy separados temporalmente y sin información contextual. Por este motivo los datos de ADN publicados hasta el momento han sido utilizados mayoritariamente para apoyar o refutar las hipótesis generadas desde los datos producidos en poblaciones actuales. La gran mayoría de las investigaciones intentaron contestar interrogantes relacionados con la diversidad genética presente en poblaciones prehistóricas, su relación con poblaciones vecinas y/o reemplazos-continuidad poblacional y con el estudio de qué procesos microevolutivos pueden dar cuenta de la estructura genética prehistórica observada y a su vez, compararla con las poblaciones nativas americanas actuales para inferir el impacto de la colonización europea en diferentes grupos humanos.

Los primeros estudios realizados en América fueron los publicados por Rogan y Salvo (1990a) y Horai et al. (1991), los cuales buscaron la delección de 9 pares de bases en momias (delección determinante del haplogrupo B) chilenas de 500 años AP, en el primer caso, y once momias procedentes del sudeste de EE.UU y norte de Chile en el segundo, no detectando la misma en ningún caso. Posteriormente Hauswirth et al. (1991 y 1994) identificó en tejidos blandos de momias del sitio Windover, Florida, fechados entre los 7000 y 8000 años AP los haplogrupos B y D. En el mismo sentido, Handt et al. (1996) lograron identificar el haplogrupo C por secuenciación en una momia Hokoham del sitio Ventana Cave, Arizona, ubicada temporalmente entre los 1000 y 1400 DC.

El primer trabajo que analizó un gran número de muestras contextualizadas geográfica y culturalmente fue llevado a cabo por Stone y Stoneking (1993), actualizado y re-analizado en diversas publicaciones (Stone y Stoneking 1998 y 1999). Estos estudios se enfocaron en estudiar la diversidad mitocondrial a través de RFLP y secuenciación de la RHV-1 (inicialmente 50 individuos, pero posteriormente se analizó un total de 152) del sitio arqueológico Norris Farm, en el estado de Illinois, asociado a la cultura Oneota y ubicado temporalmente en 1300 DC, logrando obtener 108 tipificaciones y 52 secuencias de ADNmt. Este estudio encontró los cuatro haplogrupos mitocondriales (A, B, C y D) que posteriormente se denominaron fundantes (aunque cabe la duda sobre la posible presencia del haplogrupo X en uno de los individuos), demostrando la continuidad de esos linajes hasta tiempos actuales, además de proponer que los mismos representan un subconjunto de linajes asiáticos, muy posiblemente producto de una única oleada migratoria como explicación del poblamiento de todo el continente. Fueron Malhi y Glenn-Smith (2002) los que lograron tipificar el haplogrupo X en un individuo del sitio Vantage (Río Columbia, Washington, EE.UU), datado en 1340 años AP, siendo la primera confirmación de su presencia en poblaciones prehistóricas y apoyando aún más el carácter fundador de dicho haplogrupo.

Posteriormente, se publicaron diversos trabajos que lograron grandes avances metodológicos: Kaestle y Glenn Smith (2001) lograron tipificar uno de los restos esqueléticos más antiguos de Norteamérica, procedente del sitio Wizard's Beach, en Nevada (EE.UU), datado en 10.560-10.250 cal AP, identificando al haplogrupo fundante C1. Luego se logró recuperar y tipificar los haplogrupos B y C (Poinar et al. 2001) en tres coprolitos humanos de 2300-2200 años AP del sitio Hinds Cave, Texas, demostrando la posibilidad de recuperar ADNmt de este tipo de material. Gilbert et al. (2007a) reconocieron los haplogrupos A2a y A2b en momias Inuit de Groenlandia del siglo XV, pero utilizando cabellos como fuente de ADNmt. El mismo grupo de investigación realizó posteriormente otro gran avance (Gilbert et al. 2008a), ya que lograron las primeras secuencias completas de ADNmt a partir de cabellos humanos paleo-esquimales Saqqaq, datados en 3.400-4.500 años AP, descubriendo el clado D2a1. Siguiendo esta línea de investigación Rasmussen et al. (2010) lograron extraer perfiles uniparentales y ADN nuclear (353.151 SNPs) en los mismos cabellos de sitios Saqqaq redatados en 4.170-3.600 cal AP. Esto les permitió avalar los resultados obtenidos de los linajes anteriormente informados por Gilbert y se determinó el grupo sanguíneo A factor Rh +, color de ojos marrones, tez oscura y

adaptaciones metabólicas a climas fríos. A su vez la comparación del ADN nuclear con otras poblaciones modernas indicó su cercanía a grupos siberianos, sin mezcla con poblaciones europeas.

Con respecto a los modelos de poblamiento americano, fue muy importante el trabajo de Kemp et al. (2007). Primero porque se efectuó sobre el que hasta ese entonces era el resto esquelético humano más antiguo (sitio On Your Knees Cave, 10.500 cal AP, Isla Príncipe de Gales, Alaska) en poder ser tipificado mediante secuenciación de la RHV-1. En esta oportunidad se identificó como portador del linaje D4h3. Y segundo, porque demostraba la profundidad temporal teórica presumida para este linaje y apoyaba junto con su localización geográfica, la posibilidad cierta de una ruta temprana de dispersión pacífica, la cual había sido sólo supuesta hasta el momento. Este hallazgo, junto con la dispersión geográfica costera de los actuales linajes D4h3 fue el sustento para la hipótesis de poblamiento pre-Clovis costero pacífico temprano y la posterior postulación del ingreso Clovis a través del corredor de Alberta. Estos resultados fueron apoyados en parte por Cui et al. (2013), demostrando la presencia a través de mitogenomas, de los linajes D4h3a7, A2ag y A2ah en individuos de la Columbia Británica fechados de 6.260, 5.870 y 5.680 años AP. Esto indica la persistencia del primer linaje nombrado y su distribución por la Costa Pacífica durante el Holoceno Medio.

Malhi et al. (2007) realizaron análisis de tres individuos procedentes del sitio Big Bar Lake, Columbia Británica, Canadá, con una temporalidad de 4950 años AP, identificando el haplogrupo asiático M (del cual derivan los haplogrupos C y D) en dos individuos y el haplogrupo A en otro. Estos resultados son consistentes con las hipótesis del origen asiático de las poblaciones americanas ingresadas vía Bering. Adicionalmente, la presencia de un nuevo haplogrupo demostró mayor diversidad genética que la encontrada en poblaciones modernas, lo cual dejó en evidencia las limitaciones de utilizar datos genéticos de poblaciones contemporáneas solamente. Posteriormente (Carpenter et al. 2013) detectó este haplogrupo en una momia de Perú a través de la prueba de un nuevo sistema de secuenciación, pero este resultado aún no ha sido críticamente evaluado y no ha sido muy publicitado, pero de ser aceptado el haplogrupo M podría ser elevado a la categoría de fundante.

Gilbert et al. (2008b) presentaron los resultados obtenidos del análisis de diversos coprolitos de origen humano del sitio Paisley 5 Mile Point Cave, Oregon, EE.UU, datados en

12.300 años AP (14.200-14.000 cal AP), detectando la presencia de los haplogrupos A2 y B2 en seis individuos. Estos resultados provocaron discusiones diversas, no sólo por ratificar la presencia de los haplogrupos amerindios en contextos muy tempranos, sino también porque probó la presencia humana segura en un sitio arqueológico pre-Clovis.

Recientemente dos trabajos han sido de gran importancia para los modelos de poblamiento americano. El primero fue publicado por el equipo de Willerslev (Rasmussen et al. 2014). En él se realiza un análisis mediante nuevos sistemas de secuenciación, lográndose recuperar el genoma mitocondrial completo y el linaje paterno de los fragmentos esqueléticos de un individuo subadulto fechado entre 12.707 y 12.556 cal AP del sitio Anzick, oeste de Montana, el cual está asociado a la cultura material Clovis. La secuencia obtenida indicó la pertenencia al clado mitocondrial D4h3a. Los autores concluyen que muy posiblemente el individuo Anzick pertenezca a una metapoblación de la cual derivan la mayoría de los Nativos Americanos actuales, siendo su tiempo de coalescencia anterior a la cultura Clovis, y más cercano genéticamente a las poblaciones actuales sudamericanas que a las actuales de Norteamérica. Esto tiene profundas implicancias. En primera instancia, su ubicación geográfica al interior de Norteamérica estaría indicando que el estudio de la distribución actual de los linajes no sería reflejo necesariamente del movimiento y distribución de las poblaciones del pasado. Los autores plantean que esto se opone a la postura de un ingreso exclusivamente costero pacífico para este linaje materno. También dejaría con poca validez la propuesta de una migración dual pre-Clovis por vía pacífica y una posterior Clovis por el corredor libre de hielo portando sólo linajes típicos de las grandes planicies, ya que es muy probable que todos los linajes hayan ingresado a la vez desde un mismo sustrato poblacional. Adicionalmente, son pocas las probabilidades para las teorías de dos stocks biológicos provistas por la craneometría o la teoría arqueológica Solutrense por ausencia de linajes europeos en individuos Clovis.

El segundo trabajo fue presentado en la misma revista por el mismo equipo de investigación (Raghavan et al. 2014), en donde se analizó, también mediante las nuevas técnicas de secuenciación, un individuo juvenil del sitio Mal'ta fechado en 24.423 años cal AP, ubicado en el Lago Baikal, en el sur de Siberia. Este sitio es cultural y temporalmente asociado al Paleolítico Superior y ha sido propuesto desde hace tiempo como una de las regiones claves para rastrear los orígenes de los nativos americanos, debido a su temporalidad y ubicación geográfica.

Su linaje materno correspondió al haplogrupo U, el cual no se encuentra en las regiones al este de Altai en poblaciones actuales pero es característico de poblaciones del Mediterráneo, centro-sur de Asia, oeste de Siberia y Europa. A su vez su linaje paterno se corresponde con el haplogrupo R, del cual deriva el sub-linaje Q presente en todos los nativos americanos. Según los autores, esto implicaría un origen mixto para las poblaciones americanas, demostrando el individuo de Mal'ta una mezcla entre grupos humanos del este y oeste asiático. Este hecho posee múltiples implicancias, ya que indicaría que los nativos americanos actuales y las poblaciones del oeste de Eurasia comparten un ancestro en común por flujo génico desde poblaciones del Paleolítico Superior de Siberia y explicaría la presencia del haplogrupo X en América ya que sus mayores frecuencias se encuentran al Oeste de Eurasia y no al Este.

Sólo un estudio (Raff et al. 2011) ha sido realizado en base a las frecuencias de haplogrupos mitocondriales de restos antiguos de toda América. En este caso los autores sostienen que es difícil llegar a un resultado conclusivo debido a las discrepancias entre los tamaños muestrales de cada zona y la falta de muestreos homogéneos en cuanto a región y las temporalidades. Sin embargo, en algunas regiones de América pudieron observarse complejos procesos de deriva génica y movimientos poblacionales, los cuales dificultan la posibilidad de indagar en la variabilidad mitocondrial presente en el ingreso inicial al continente.

Todas estas investigaciones han aportado un cúmulo de datos para contrastar los modelos expuestos en el apartado anterior, tomando vital importancia para apoyar o refutar alguno de los postulados mencionados y estando la mayoría de los mismos centrados en el ingreso a Norteamérica.

El primer trabajo en Sudamérica fue publicado por Ribeiro Dos Santos et al. (1996), el cual analizó 26 restos esqueléticos procedentes del Amazonas ubicados entre los 500 y 4000 años AP, logrando tipificar 18 individuos dentro de los haplogrupos A, B, C y D, demostrando la presencia de los principales haplogrupos fundadores en Sudamérica. La primera investigación realizada en Argentina fue llevada a cabo por Demarchi et al. (2001), la cual intentó identificar la delección de 9 pares de bases en 34 restos esqueléticos del Noroeste (asociados a la Cultura Candelaria y distintos sectores de la Puna de Jujuy), Centro (Provincia de Córdoba y Buenos Aires) y Sur de Argentina (Chubut), no logrando identificarla en ninguno de los restos.

En la última década se incrementó notablemente la cantidad de muestreos realizados en Sudamérica, siendo principalmente la zona de los Andes Centro-Sur la que cosecha la mayor cantidad de investigaciones y un tamaño muestral ampliamente superior al existente en otras regiones. Actualmente también hay disponibles diversos trabajos de tipificación de ADNmt antiguo (ver tabla 11.2 en apéndice) en distintos países de esta región. Todos estos trabajos han detectado los mismos haplogrupos fundantes y llegado a las mismas conclusiones que las propuestas por los modelos desde el ADN de poblaciones modernas, pero en algunos casos se han identificado clados específicos que parecen haberse generado en este subcontinente.

Recientemente Postillone et al. (2014) presentaron una revisión y análisis de los datos de ADN mitocondrial de Sudamérica. Su fin fue el de evidenciar si existen relaciones filogenéticas entre las poblaciones antiguas muestreadas y verificar la existencia/ausencia de un patrón de la dispersión de los haplogrupos. En el conjunto de datos se encontraron las limitaciones subrayadas por Raff et al. (2011) debido a la falta de homogeneidad en las investigaciones y muestreos disponibles hasta el momento. Esto imposibilitaría por ahora la generación de hipótesis más precisas sobre el poblamiento de esta región.

Un dato interesante es la propuesta de la posible existencia de flujo génico con algún sector de la Polinesia. Gonçalves et al. (2010) lograron recuperar y tipificar ADNmt por secuenciación de la RHV-1, 14 individuos antiguos del siglo XIX y algunos modernos de una población de cazadores-recolectores conocida como “Botocudos”, de Minas Gerais, Brasil. En los mismos encontraron los haplogrupos amerindios B, C y D, pero alguno de esos B poseían polimorfismos hasta ahora no descritos en poblaciones americanas y las mismas también estaban presentes en algunos individuos actuales. En un estudio posterior Gonçalves et al. (2013), presentan un re-análisis de las secuencias obtenidas como B, y las mismas se asignan a un linaje conocido como B4a1a1a, el cual parece estar presente en poblaciones de Polinesia indicando algún tipo de flujo génico. Sin embargo, los autores explican dicha aparición por intermedio y/o comercio de esclavos, ya que dicho linaje también está presente en poblaciones de Madagascar que pudieron haber sido capturadas y trasladadas y se habrían mezclado en tiempos históricos.

Posteriormente, Malaspina et al. (2014) re-analizaron 3 de estos individuos por medio de nuevas técnicas de secuenciación y fechados radiocarbónicos (los cuales arrojaron una fecha

cercana a 1862 AD), encontrando a través del análisis de 6000 SNPs que dos de ellos poseían ascendencia polinesica, explicando dicho fenómeno como producto de la expansión pacífica de poblaciones polinesias (la cual históricamente está ubicada entre los 1200 y 1300 AD, en el poblamiento de las islas de Nueva Zelanda, Hawaii e islas del Este Pacífico) y posterior flujo en sentido oeste-este en Sudamérica o por el mismo comercio de esclavos desarrollado por las empresas británicas a finales del siglo XIX. Esto viene a colación de un estudio realizado por Moreno-Mayar et al. (2014), en el cual se analizó con 650.000 SNPs la ancestría de poblaciones actuales nativas de la isla Rapanui del oeste del pacífico, descubriéndose que el 8% de los marcadores nucleares estudiados eran producto de mezcla con nativos americanos. Si bien estos trabajos no tienen relación con la temática del poblamiento inicial de Sudamérica, sí resulta importante para tener en cuenta la complejidad de la movilidad y dinamismo de las poblaciones pasadas.

Ya entrando en Patagonia, Lalueza et al. (1997) analizaron por medio de RFLP 60 restos esqueléticos de individuos argentinos y chilenos que los autores identifican como relacionados con las etnias Kaweskar, Aonikenk, Yámana y Selk'nam. Este estudio demuestra la presencia de los haplogrupos C y D en diferentes frecuencias, y los autores explican la ausencia de A y B por deriva génica, particularmente por efecto fundador. Años más tarde, sobre los mismos individuos, se realizó la secuenciación de la RHV-1 (García-Bour et al. 2004) identificando las variedades (en ese momento ignominadas) conocidas actualmente como C1, D1, D1g y D4h3a. Posteriormente Moraga et al. (2010) analizaron 7 restos humanos por secuenciación de la RHV-1 adscritos a la etnia Kaweskar, procedentes de diferentes islas de la región de los archipiélagos chilenos patagónicos, datados entre 1700 y 150 años AP. Tan sólo se registraron los haplogrupos C y D, estando representadas en el último las variedades D4h3a y D1g. Estos resultados son concordantes con el modelo de poblamiento pacífico y con los muestreos realizados por Lalueza et al. (1997) y García-Bour et al. (2004), continuando la teoría de un cuello de botella o efecto fundador como explicación de la fijación de estas variedades mitocondriales. Sin embargo, Manríquez et al. (2011) analizaron 4 restos esqueléticos del sitio arqueológico Baño Nuevo 1 de la Patagonia Chilena y datados en 9.000 años AP, encontrando que 3 de los mismos portaban el haplogrupo B y el restante era C. Estos resultados demuestran la posibilidad de la pérdida de algunas variedades mitocondriales por efecto de deriva y aislamiento geográfico o un problema de muestreo por los pocos individuos analizados en toda la región.

Capítulo 5: objetivos e hipótesis.

5.1. Objetivos generales.

El objetivo general de la presente Tesis consiste en extraer y tipificar ADN mitocondrial de restos esqueléticos procedentes de diferentes sectores de la Patagonia argentina con la finalidad de analizar la variación espacio-temporal de las poblaciones humanas, a partir de los postulados y el marco teórico de la genética de poblaciones.

Adicionalmente, se intentará desarrollar un protocolo poco invasivo de extracción y tipificación de marcadores genéticos a partir de piezas esqueléticas antiguas de sitios arqueológico y/o museos, y comparar diferentes métodos de obtención de ADN reportados en la literatura citada.

5.2. Objetivos específicos.

Como objetivos específicos nos proponemos extraer y tipificar ADN de cuatro regiones diferentes de la Patagonia Argentina a partir de muestras de individuos de:

- a) Sitios arqueológicos y de museos procedentes de las inmediaciones de la ciudad de San Carlos de Bariloche, Provincia de Río Negro (Norpatagonia Andina). Alguno de ellos poseen cronología correspondiente al Holoceno Tardío, mientras que otros no poseen contexto cronológico aún.
- b) Sitios arqueológicos y de museos procedentes del Golfo de San Matías, Provincia de Río Negro (costa atlántica de Norpatagonia). Dichos individuos se ubican temporalmente en el Holoceno Tardío.
- c) Museos procedentes de la ciudad de Puerto San Julián, Provincia de Santa Cruz, aún sin contexto cronológico.
- d) Museos procedentes de la Isla Grande de Tierra del Fuego (Canal de Beagle), sin contexto cronológico aún.

Se determinará el linaje materno de cada individuo (haplogrupo, subhaplogrupo y haplotipo) mediante la utilización de RFLP y la secuenciación directa de la región hipervariable 1 (RHV-1) del ADN Mitocondrial. Luego, se analizarán las afinidades biológicas y se comparará la diversidad genética de cada área entre sí. Se cotejarán los datos obtenidos con otras poblaciones antiguas reportadas en la región con el fin de establecer posibles relaciones pretéritas entre las mismas. Además se evaluará la posible acción de procesos microevolutivos sobre estas poblaciones. Adicionalmente se compararán los linajes antiguos con los presentes en poblaciones actuales, para inferir continuidades/discontinuidades en la región, con el fin de establecer un mapa de distribución de haplotipos en Patagonia.

Como último objetivo se compararán los resultados obtenidos de los diferentes análisis con las teorías de poblamiento de la Patagonia propuestas por otras líneas de evidencia (arqueológica y bioantropológica) con el fin de establecer concordancias y discrepancias entre los diferentes tipos de registro disponibles y esbozar hipótesis sobre el poblamiento de la región.

5.3. Hipótesis de trabajo.

Las investigaciones realizadas e hipótesis aquí propuestas contienen un carácter exploratorio, al menos en la etapa actual de conocimiento del tema, debido a las constricciones impuestas por el número de individuos analizados. Cabe destacar que para los individuos analizados con una temporalidad cercana a momentos históricos habría que considerar la dinámica poblacional acaecida a partir del siglo XVI, que culminaría doscientos años después con el proceso llamado “araucanización”. Por ende, es esperable encontrar linajes “novedosos” en el acervo genético de algunas poblaciones (sobre todo en Norpatagonia) en temporalidades cercanas al período colonial producto de flujo génico con poblaciones andinas. Hechas estas necesarias aclaraciones, pueden proponerse diferentes hipótesis:

- 1) *Hipótesis nula H_0* : existiría una ausencia de diferenciación genética entre los conjuntos de individuos estudiados de cada una de las regiones analizadas. De ser correcta esta hipótesis, no encontraremos diferencias estadísticamente significativas entre las poblaciones estudiadas, indicando que los individuos pueden pertenecer a

una misma población o descender de una misma población ancestral. Este hecho también podría poner de manifiesto la ausencia de flujo génico con áreas y grupos fuera de la Patagonia (con linajes mitocondriales diferentes) y la acción de la deriva génica como principal proceso microevolutivo actuando sobre las poblaciones humanas. Si este es el caso, se esperaría encontrar una baja diversidad genética y la representación de unos pocos linajes mitocondriales en todos los grupos analizados, compartiéndose la mayoría de las variedades mitocondriales.

- 2) *Hipótesis alternativa H₁*. Existiría diferenciación de alguna región y/o sector patagónico debido a la presencia de diferentes trayectorias evolutivas de las poblaciones humanas. Esto podría deberse a adaptaciones locales propuestas desde el registro arqueológico para diferentes sectores de la región (Norpatagonia y Tierra del Fuego principalmente), sobre todo hacia el Holoceno Tardío, y/o a la acción de la deriva génica. En este escenario se esperaría encontrar diversos linajes y diferencias significativas en algunas de las poblaciones analizadas producto de trayectorias evolutivas divergentes, encontrándose semejanzas sólo con los grupos inmediatamente cercanos geográficamente.
- 3) *Hipótesis alternativa H₂*. Existiría una mayor diferenciación genética entre todas las regiones consideradas, producto de una marcada adaptación local y/o intenso aislamiento, con limitación del flujo génico. Esta hipótesis se confirmaría en caso de encontrar diferencias genéticas significativas entre todos los sectores analizados.

Capítulo 6: Materiales y métodos.

6.1. Cuestiones éticas en el estudio de restos humanos.

La capacidad técnica y metodológica de extraer y tipificar ADN a desde diferentes restos arqueológicos para realizar estudios genéticos poblacionales se ha vuelto una herramienta para contestar interrogantes de diversas disciplinas. Este tipo de investigaciones son novedosas y muchos interrogantes de índole ética y legal permanecen aún sin resolver. Usualmente cuando se realizan estudios genéticos poblacionales en grupos actuales (ya sean originarios o cosmopolitas) suelen utilizarse consentimientos informados previamente establecidos y consensuados por las partes interesadas, estableciendo los límites y alcances de la investigación propuesta previniendo de esta manera problemas éticos y/o legales.

Sin embargo, cuando los análisis se realizan a partir de restos esqueléticos humanos las implicancias ético-legales pueden ser diferentes y estar teñidas de intereses tanto políticos, como económicos y sociales. Esto se encuentra íntimamente relacionado con los procesos históricos y el desarrollo de cada país en cuestión. En la Argentina, si bien cada región tuvo un desarrollo particular, en general se tuvieron políticas tendientes a la eliminación de la presencia indígena y posteriormente con el desarrollo de los estados modernos, a la absorción y asimilación más o menos forzada de los grupos autóctonos como parte de la sociedad mayor, generalmente bajo el rótulo de “criollos o gauchos”, lo cual fue en cierta manera, una forma de “englobar sin reconocer” a otros grupos culturales y someterlos como mano de obra, la cual era cada vez más necesaria dentro del modelo de desarrollo económico nacional.

Este proceso fue llamado por algunos como “invisibilización” (Rodríguez y Delrio 2000, Bartolomé 2003, Crespo 2005, entre otros), en donde el estado nacional incorporó a los individuos provenientes de comunidades originarias, siempre y cuando los mismos adoptaran las pautas y cultura de la comunidad nacional emergente, abandonando (por lo menos públicamente) aquellas prácticas culturales propias (i.e. idioma y tradiciones) que no podían formar parte o no eran aceptadas por la nueva cultural nacional hegemónica.

Esto cambió levemente a partir de las últimas décadas, en donde comenzó a reconocerse y aceptarse la pre-existencia de estas comunidades. La reforma de la constitución argentina en el año 1994 ayudó a la “visibilización” de muchas comunidades y la resignificación de prácticas y objetos culturales. Estos grupos comenzaron un proceso de re-identificación étnica y autoadscripción a ciertas etnias, las cuales muchas veces eran pensadas por la historiografía oficial nacional como desaparecidas o absorbidas por la sociedad mayor. Este hecho fue de la mano de muchas discusiones legales y procesos de re-patrimonialización de prácticas y objetos que en momentos históricos anteriores formaban parte del “acervo cultural nacional” de sociedades del pasado que se encontraban en muchos museos nacionales, provinciales y municipales. A su vez, todo este proceso, al estar cruzado por cuestiones económico-sociales (como la tenencia de tierras y derechos sobre restos del pasado aborigen, tanto biológicos como culturales) tuvo su correlato legal, completando un panorama donde confluyen múltiples actores y significados. Estas discusiones aún continúan y lejos se está de su resolución.

Este resurgir de las culturas nativas ha modificado y continuará modificando la labor arqueológica y museística en cuanto a la relación con su objeto de estudio y las nuevas concepciones acerca de los restos arqueológicos y colecciones de museos provenientes de grupos originarios. Un caso bien plasmado de estas nuevas problemáticas son las diversas restituciones de restos humanos que han sido legalmente autorizadas por importantes museos de la Argentina (i.e. Museo de Ciencias Naturales de La Plata), sumando un nuevo interlocutor a estas problemáticas, los diferentes grupos que se autoadscriben como pueblos originarios.

Esto ha complejizado el trabajo de los arqueólogos y bioantropólogos de diversos centros de investigación y ha creado en cierta forma, una “pugna” con muchas comunidades por distintos restos arqueológicos. En la actualidad, existen ciertos requisitos y normas legales a los cuales atenderse a la hora de realizar cualquier análisis sobre restos arqueológicos. 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 y Aranda et al. 2014). 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 (en caso de que existieran

reclamos legales). Asimismo, aconseja una adecuada gestión y manejo de los restos humanos de las colecciones disponibles para su correcta catalogación, estudio y preservación.

La Ley Nacional 25.517 y su decreto reglamentario proveen el marco de las posibilidades de trabajo con los restos humanos, ya sea procedente de excavaciones arqueológicas o de colecciones de museos. Siguiendo lo establecido en dicha Ley, las muestras analizadas en esta tesis fueron obtenidas a través de un préstamo para realizar todos los análisis. Previamente fue presentado este el proyecto de estudio a las autoridades de los organismos correspondientes (Secretaría de Cultura de la Ciudad de Puerto San Julián, Santa Cruz y Administración de Parques Nacionales, Museo de la Patagonia Francisco P. Moreno, Ciudad de San Carlos de Bariloche, Provincia de Río Negro), los cuales fueron aprobados por sus autoridades. Las muestras analizadas de estos museos no han sido reclamadas por ninguna comunidad aborigen hasta el momento, siendo cada uno de estos organismos los encargados velar por su cuidado y protección. Adicionalmente, dicho proyecto fue autorizado y avalado por las autoridades y por el comité de ética del lugar donde se llevaron a cabo las investigaciones (CEBBAD, Universidad Maimónides).

Actualmente es posible extraer ADN de piezas dentales sin perder las mismas ya que al trabajar con la pulpa dental, el daño ocasionado es pequeño, teniendo la posibilidad de remontarla 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. Siempre está también la posibilidad del pedido de análisis por parte de algún organismo interesado o comunidad originaria. 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.

Todas las muestras estudiadas en esta tesis cuentan con los permisos de las autoridades de cada una de las instituciones y el aval de los municipios de origen de cada museo. Adicionalmente, para el caso de Museo Francisco P. Moreno, se cuentan con los permisos de la Administración de Parques Nacionales. Para el caso de las muestras recuperadas en investigaciones arqueológicas se cuenta con los permisos municipales y provinciales de cada profesional que suministro cada espécimen.

6.2. Los individuos analizados.

Para esta tesis se analizaron un total de 50 individuos procedentes de sitios arqueológicos recuperados en diferentes proyectos de investigación recientes y de colecciones de museos de distintos sectores de la Patagonia Argentina. El proyecto inicial de esta investigación era analizar la diversidad genética mitocondrial de diferentes sectores de Norpatagonia (sector costero y andino), pero ante la posibilidad de contar con individuos de otras regiones, se decidió aumentar los muestreos para lograr una cobertura geográfica más amplia y de esta manera poder incrementar las observaciones sobre la diversidad de la región.

Las muestras de los individuos analizados procedentes de sitios fueron cedidas por arqueólogos en dos regiones de Norpatagonia:

1. Del sector costero se cuenta con 16 muestras de diferentes zonas del Golfo de San Matías, las cuales fueron cedidas por C. Favier Dubois. Estos individuos poseen estudios arqueológicos, radiocarbónicos e isotópicos detallados y están contextualizados.
2. Del sector andino se cuenta con 10 muestras provenientes del Sur de Neuquén y Norte de Río Negro, cedidos por A. Hajduk y A. Pérez. Todos los individuos poseen datos de contexto y estudios arqueológicos.

El resto de las muestras analizadas provienen de dos colecciones de museos producto de recolecciones por parte de coleccionistas particulares y por el hallazgo fortuito en relación a trabajos de infraestructura o de guardaparques de la zona:

1. Se seleccionaron 5 muestras (cuatro piezas dentales y un fémur izquierdo), provenientes de dos colecciones diferentes (Hofmann y Walker) del Museo Rosa Novak, Ciudad de Puerto San Julián, Provincia de Santa Cruz. La colección está conformada por varios cráneos y mandíbulas y algunos huesos largos. Según sus autoridades, no se ha realizado ningún análisis de índole bioantropológico en las mismas. Ambas colecciones presentan buen estado de conservación. No poseen fechados ni información contextual, pero según los registros provienen de las zonas cercanas a la actual ciudad.
2. Se seleccionaron para los análisis 19 individuos (tomando dos piezas dentales de cada uno) del Museo Francisco P. Moreno, San Carlos de Bariloche, Provincia de Río Negro. La colección está conformada por cráneos en su mayoría y hasta la fecha no constan en el museo publicaciones relacionadas con estos restos, pero sí un registro detallado de su procedencia y contextos de hallazgo. En algunos casos poseen una ficha en donde se describen algunos rasgos de la pieza (i.e posible sexo y patologías presentes) y algunos elementos culturales asociados a los mismos. En cuanto al origen de los individuos es la colección más diversa, ya que se registran restos desde Tierra del Fuego hasta el Sur de la Provincia de Buenos Aires (tabla 6.1). Hasta el momento no se pudo obtener el contexto cronológico de cada individuo.

Muestra	Parte esquelética	Sitio/Colección	Región	Provincia	¹⁴C años AP
Ah1	1 M subadulto	El Trébol	Bariloche	Río Negro	5600 AP
Ah2	Incisivo inferior	El Trébol	Bariloche	Río Negro	5600 AP
FD16	1 PM Inf. Izq.	Playón Cementerio	San Antonio Este	Río Negro	4900 AP
FD15	Hueso mastoideo	Playón Cementerio	San Antonio Oeste	Río Negro	4800 AP
FD9	2 M Inf. Izq.	Playón Cementerio	San Antonio Oeste	Río Negro	3135 AP
FD4	3 M Inf. Izq.	Barrio Alpat	San Antonio Oeste	Río Negro	3100 AP
FD8	1 M Sup. Izq.	Playón Cementerio	San Antonio Oeste	Río Negro	3022 AP
FD7	2 M Inf. Izq.	San Antonio Oeste	San Antonio Oeste	Río Negro	2330 AP

FD5	2 M Inf. Izq.	Buque Sur II	Las Grutas	Río Negro	2195-2300 AP
FD12	2 M Inf. Izq.	Buque Sur I	Las Grutas	Río Negro	2195-2300 AP
FD13	3 M Inf. Izq.	Buque Sur III	Las Grutas	Río Negro	2195-2300 AP
FD14	3 M Inf. Der.	Buque Sur IV	Las Grutas	Río Negro	2195-2300 AP
FD2	3 M Sup. Izq.	Faro San Matías	San Antonio Este	Río Negro	1588 AP
FD11	3 M Inf. Izq.	Centro Minero	Las Grutas	Río Negro	1513 AP
FD6	2 M Inf. Izq.	Cima de los Huesos	San Antonio Oeste	Río Negro	1173 AP
FD1	3 M Inf. Der.	Bahía Final	San Antonio Este	Río Negro	796 AP
FD10	Canino Sup. Izq.	Centro Minero	Las Grutas	Río Negro	689 AP
Ah3	2 M Inf. Izq.	Puerto Tranquilo 1	Isla Victoria, Bariloche	Río Negro	640 AP
FD3	2 PM Sup. Der.	Saco Viejo	San Antonio Este	Río Negro	421 AP
Ah4	3 M Inf. Der.	Rebolledo Arriba	Aluminé	Neuquén	S XVI
BP1	Incisivos subadulto	Cerro Comandante Díaz	San Martín de los Andes	Neuquén	S XVI
BP3	1 M Inf. Der.	Cerro Comandante Díaz	San Martín de los Andes	Neuquén	S XVI
BP7	3 M inf.	7 Manzanos	San Martín de los Andes	Neuquén	S XVI
BP8	2 M Inf.	Newen Antug	San Martín de los Andes	Neuquén	S XVI
BP9	3 M Inf.	Newen Antug	San Martín de los Andes	Neuquén	S XVI
Ah5	3 M Inf. Izq.	Valle Encantado	Bariloche	Río Negro	S XVII
Da1	2 PM Sup. Izq.	Museo Rosa Novak	Puerto San Julián	Santa Cruz	Nd
Da2	2 PM Sup. Der.	Museo Rosa Novak	Puerto San Julián	Santa Cruz	Nd
Da3	3 M Sup. Der.	Museo Rosa Novak	Puerto San Julián	Santa Cruz	Nd
Da4	1 PM Sup. Der.	Museo Rosa Novak	Puerto San Julián	Santa Cruz	Nd
FSJ	Fémur Izq.	Museo Rosa Novak	Puerto San Julián	Santa Cruz	Nd
MB28	2 M Inf. Izq. 2 M Inf. Der.	Museo de la Patagonia	Bariloche	Río Negro	Nd
MB34	3 M Sup. Der. 2 M Sup. Der.	Museo de la Patagonia	San Blas	Bs. As.	Nd
MB21	2 M Inf. Der. 1 M Inf. Der.	Museo de la Patagonia	Santa Cruz	Santa Cruz	Nd
MB36	1 M Sup. Izq. 1 M Sup. Der.	Museo de la Patagonia	Ushuaia	Ushuaia	Nd
MB12	1 M Sup. Izq. 2 M Sup. Der.	Museo de la Patagonia	San Antonio Este	Río Negro	Nd
MB20	3 M Inf. Der. 3 M Sup. Izq.	Museo de la Patagonia	San Blas	Bs. As.	Nd
MB26	2 M Sup. Izq. 2 M Sup. Der.	Museo de la Patagonia	Bariloche	Río Negro	Nd
MB17	2 M Sup. Izq. 2 M Sup. Der.	Museo de la Patagonia	San Antonio Este	Río Negro	Nd
MB27	1 M Sup. Der. 3 M Inf. Der.	Museo de la Patagonia	Lago Mascardi, Bariloche	Río Negro	Nd
MB37	1 M Inf. Izq. 1 M Sup. Der.	Museo de la Patagonia	Ushuaia	Ushuaia	Nd
MB31	3 M Sup. Der.	Museo de la	Lago Mascardi,	Río Negro	Nd

	3 M Inf. Izq.	Patagonia	Bariloche		
MB48	3 M Inf. Izq. 2 M Inf. Izq.	Museo de la Patagonia	San Antonio Este	Río Negro	Nd
MB25	3 M Inf. Izq. 3 M Sup. Der.	Museo de la Patagonia	Bariloche	Río Negro	Nd
MB40	3 M Sup. Der. 3 M Inf. Der.	Museo de la Patagonia	Bariloche	Río Negro	Nd
MB18	1 PM Der. 2 PM Der.	Museo de la Patagonia	San Antonio Este	Río Negro	Nd
MB22	3 M Inf. Der. 1 M Inf. Izq.	Museo de la Patagonia	Bariloche	Río Negro	Nd
MB33	3 M Inf. Izq. 3 M Sup. Der.	Museo de la Patagonia	Ushuaia	Ushuaia	Nd
MB52	3 M Inf. Izq. 2 M Sup. Der.	Museo de la Patagonia	San Antonio Este	Río Negro	Nd
MB13	2 M Sup. Izq. 1 M Sup. Der.	Museo de la Patagonia	Ushuaia	Ushuaia	Nd

Tabla 6.1. Muestras de cada Individuo analizadas en esta tesis.

M: molar. PM: pre-molar.

Inf: inferior. Sup: superior.

Der: derecho. Izq: izquierdo.

Nd: no disponible.

En cuanto a la distribución geográfica (figura 6.1), son cinco las zonas de las que disponemos muestras para analizar:

1. Ushuaia (n: 4), procedente de las colecciones del Museo Francisco P. Moreno;
2. Costa de Santa Cruz (n: 6), procedentes del Museo Rosa Novak y del Museo Francisco P. Moreno;
3. Norpatagonia costera, sector Golfo de San Matías, Río Negro (n: 21) procedentes de los sitios arqueológicos del Dr. Favier Dubois y del Museo Francisco P. Moreno;
4. Norpatagonia andina, sectores de San Carlos de Bariloche y San Martín de los Andes (n: 17), procedentes de los Dres. Hajduk y Pérez y del Museo Francisco P. Moreno y;
5. Sur de Provincia de Buenos Aires, Bahía de San Blas (n: 2), procedentes del Museo Francisco P. Moreno.

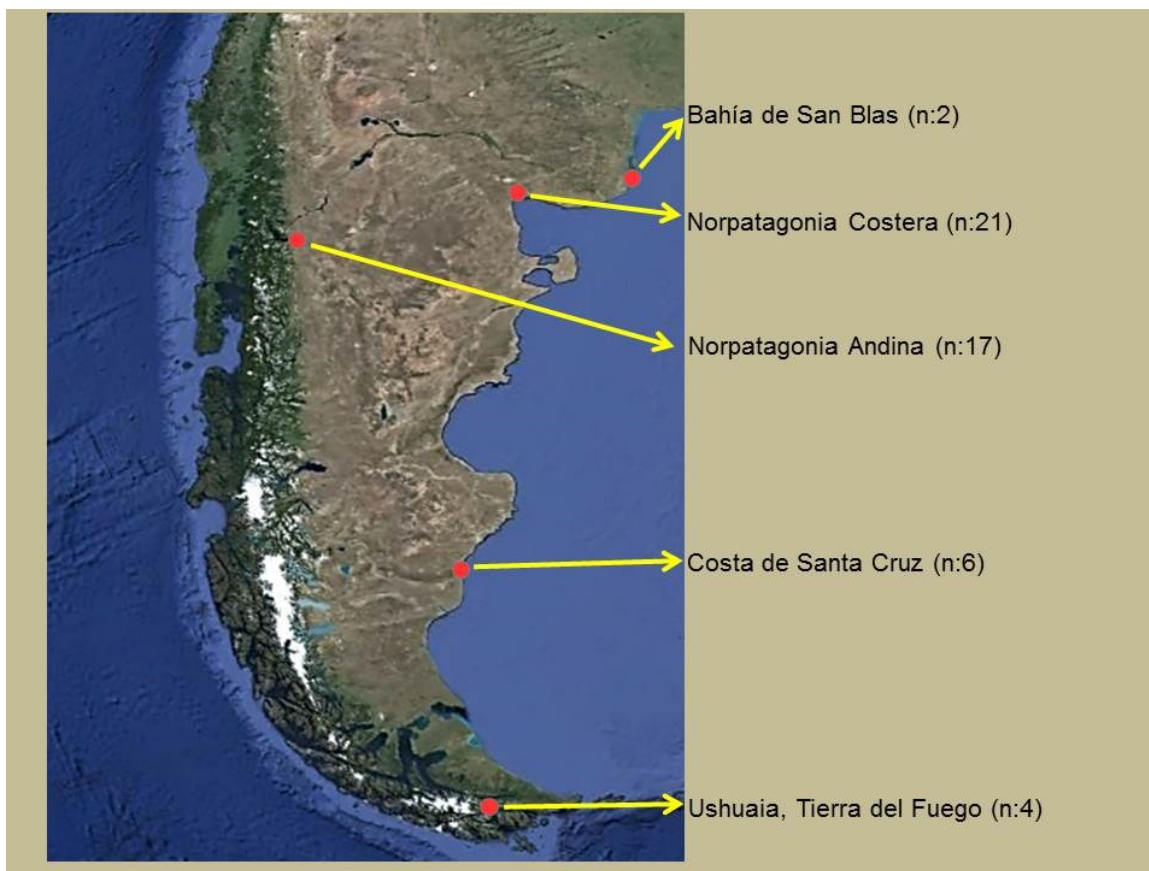


Figura 6.1. Mapa con los lugares de procedencia geográfica de cada una de las muestras analizadas.

Como se observó anteriormente, las muestras analizadas en esta tesis no poseen la misma cantidad de información. Para los individuos procedentes de excavaciones controladas, se tomará como referencia la asignación cronológica aproximada asignada por el investigador y/o rasgos culturales asociados, que ocupan rangos temporales desde los 4.900 años cal AP hasta el siglo XVII (ver tabla 6.1).

6.3. Selección de partes anatómicas.

Puede decirse que son cuatro los principales retos en cualquier investigación de ADN: a) la selección de las piezas; b) la prevención y/o eliminación de la posible contaminación presente en cada espécimen analizado en todas las etapas de la investigación (antes, durante y después de

la extracción y tipificación de ADN); c) monitorear exhaustiva y constantemente los protocolos utilizados, y establecer controles estrictos tendientes a identificar y controlar la contaminación y; d) establecer parámetros de corroboración de resultados y autenticar los mismos de manera segura.

Si bien existe bibliografía específica en cuanto a qué tipo de tejido y/o parte esquelética seleccionar a la hora de realizar estos análisis (ver capítulo 4 para una revisión), persiste un consenso sobre la utilización de piezas dentales como mejor opción, tanto por los problemas asociados a la contaminación como por la posibilidad de preservación que tiene el material genético en este tipo de tejidos (particularmente la dentina) debido a la protección del material interno aportada por el esmalte dental.

El mayor problema asociado a la selección de piezas dentales para análisis de ADN es la poca cantidad de dentina disponible en las mismas y la necesidad de conservación de estas partes esqueléticas para otros estudios bioantropológicos, relacionados con dieta, estado de salud bucal y determinación de la edad. Adicionalmente, se encuentra la problemática de que muchas veces los restos humanos encontrados en sitios arqueológicos no poseen todas las piezas dentales, se presentan muy desgastadas (sin coronas) o muy fragmentadas y en algunos casos se observa la pérdida total de las mismas, fenómeno que vuelve aún más valioso este tipo de registro en cuanto a su preservación y utilización en estudios no destructivos.

Por estos motivos siempre es necesario realizar una evaluación anterior al muestreo y decidir qué partes esqueléticas seleccionar en relación a la disponibilidad y estado de conservación de las mismas y las posibilidades de éxito en la tipificación genética de cada individuo.

Para esta tesis se decidió analizar piezas dentales siguiendo dos criterios: a) se seleccionaron las de mayor tamaño (molares, o en su defecto pre-molares, descartando caninos e incisivos) en caso de que estuvieran disponibles (de no estarlo, se decidió no analizar el individuo); b) su estado de constitución y preservación, privilegiando aquellas que no tuvieran fracturas, mellas o quebraduras y que poseyeran aunque sea parte de su corona y esmalte sin excesivo desgaste (junto con la ausencia de caries, lesiones infecciosas, abscesos) con el objetivo

de asegurar parcialmente la preservación interna del material y la ausencia de ADN exógeno en el interior de la pieza.

6.4. Procedimientos del análisis de ADN antiguo.

Hay relativo consenso respecto a las condiciones más deseables en cuanto al análisis de ADN_a (ver revisión capítulo 4), pero no en todas las investigaciones con este tipo de material se utilizan los mismos protocolos de laboratorio. Si bien ciertas condiciones deben cumplirse estrictamente, muchas prácticas relacionadas con el proceso de descontaminación de las piezas, la extracción de los tejidos, el método de obtención del ADN y su tipificación posterior pueden variar, no sólo entre laboratorios y operadores, sino muchas veces entre las diferentes muestras analizadas en un mismo trabajo. Esto es en parte dependiente de la naturaleza de la muestra (contexto, lugar de guarda, historia tafonómica), de los fondos y equipamiento disponibles y en gran medida de la experiencia en el estudio de este tipo de registro.

La obtención y tipificación del ADN que puede haber persistido en un resto es un reto metodológico y de reflexión continua, ya que muchos protocolos que pudieron funcionar eficientemente en un caso, pueden no ser exitosos para otra pieza, con lo cual la prueba y puesta a punto de protocolos tanto de descontaminación, como de extracción y tipificación de ADN es un ejercicio permanente.

6.4.1. Medidas de laboratorio para evitar la contaminación.

Como se mencionó anteriormente, no existe un consenso en cuanto a los protocolos de trabajo con materiales antiguos. Actualmente, diferentes investigaciones han dado una serie de recomendaciones generales (ver capítulo 4) y medidas tendientes a eliminar y evitar la contaminación en todos los pasos del análisis de trazas de ADN antiguas. Para este trabajo se seleccionaron diferentes criterios recopilados tanto de la bibliografía especializada como de la experiencia en el trabajo con este tipo de material. Los protocolos seguidos fueron:

1. Todas las instancias de trabajo aquí realizadas con las muestras antiguas (descontaminación, recolección de dentina, extracción de ADN y tipificación del mismo) fueron desarrolladas en los laboratorios de la Sección de Antropología Biológica del Centro de Estudios Biológicos, Biomédicos, Ambientales y de Diagnóstico (CEBBAD-Universidad Maimónides), los cuales se encuentran físicamente aislados de investigaciones con ADN humano moderno.
2. Todas las superficies de trabajo, equipos y materiales (no plásticos) incluidos en el trabajo con las muestras antiguas fueron lavados con hipoclorito de sodio 10%, enjuagados con agua calidad biología molecular libre de ADN e irradiados con luz UV¹⁴ por cuarenta y cinco minutos en cada una de sus caras.
3. En caso de reutilización de alguno de los equipos, se procedió a su cepillado y lavado con hipoclorito de sodio 10%, luego etanol 70% y enjuagados con agua calidad biología molecular libre de ADN. Posteriormente se volvían a exponer a luz UV por cuarenta y cinco minutos de cada uno de sus lados.
4. Todos los plásticos utilizados (tips, tubos, pipetas, cápsulas de Petri, etc) poseían la condición de libre de ADN y fueron utilizadas sólo para ADN_a, previa irradiación con UV.
5. Todas las soluciones, reactivos y enzimas utilizadas fueron preparadas y alicuotadas para uso exclusivo en la extracción, tipificación y purificación de ADN_a. Los equipos comerciales que se utilizaron en algunas de las pruebas de extracción fueron abiertos y utilizados sólo en el laboratorio para las muestras antiguas.
6. Para cada paso de trabajo se utilizaron cofias, barbijos, camisolines, guardapolvos y doble par de guantes. Los mismo eran descartados luego de cada proceso o irradiados durante cuarenta y cinco minutos (en el caso de los guardapolvos) para evitar la contaminación cruzada y asegurar la eliminación del ADN exógeno en cada rutina de trabajo.
7. Todo el personal involucrado en los trabajos con las muestras antiguas fue previamente tipificado para los marcadores estudiados en este trabajo, con el fin de

¹⁴ El hipoclorito de sodio tiene como acción principal oxidar la cadena de ADN, destruyendo las mismas. La luz UV provoca daños en la cadena de ADN, fragmentando en pequeñas porciones las cadenas que pudieran estar presentes.

comparar posteriormente los perfiles genéticos obtenidos de las muestras y validar los resultados.

6.4.2. Controles de contaminación y corroboración de los resultados.

El monitoreo sobre los posibles focos de contaminación y la corroboración de los resultados obtenidos son puntos cruciales en cualquier análisis de ADN. Lo que se busca en este paso es establecer criterios y procesos de revisión para autenticar de manera reflexiva los posibles errores no sólo en el momento de extracción sino también en el de tipificación y análisis del ADN. Para este fin se adoptaron los siguientes controles:

1. Se realizó un blanco de control (testigo) durante todos los pasos de la extracción de ADN, con todas las mismas soluciones y reactivos (misma solución y misma alícuota) a la par del proceso de cada una de las muestras. Adicionalmente, todos los extractos de cada muestra fueron realizadas independientemente para evitar posibles contaminaciones cruzadas.
2. En cada determinación por medio de PCR se realizó un blanco de reacción con el fin de identificar contaminación en la mezcla de PCR. Adicionalmente se incluyó cada blanco de extracción de cada muestra a la reacción con el fin de monitorear posibles contaminaciones durante el proceso de extracción o la existencia de trazas de material genético en alguna de las soluciones utilizadas.
3. Con el fin de comprobar el correcto funcionamiento de la PCR y la correcta tipificación de las muestras antiguas se utilizaron controles modernos, agregados posteriormente en el laboratorio de ADN moderno.
4. Obtención de resultados idénticos y reproducibles en al menos dos tipificaciones genéticas de dos extractos distintos.
5. En caso de contar con más de una pieza del mismo individuo (como en el caso de las muestras procedentes del Museo Francisco P. Moreno) se procedió a analizar ambas.
6. Para el caso de las secuencias de ADNmt, se realizó un consenso entre los múltiples segmentos de ADN amplificados para evitar incorporar mutaciones erróneas debido a

la posible la falla de lectura durante la secuenciación, provocada por daños post-mortem a las bases nucleotídicas de la cadena de ADN.

7. En el caso de que se observe alguna secuencia concordante con los perfiles de cada operador se descartó el resultado y se desechó el extracto obtenido de ese individuo.

6.5. Proceso de extracción de ADN.

6.5.1. Obtención de la dentina.

Como primera medida se procedió a eliminar las posibles trazas de ADN exógeno de la superficie de las muestras analizadas. Cada pieza dental fue colocada en un tubo Falcon libre de ADN y pre-tratado con UV por cuarenta y cinco minutos, adicionándole hipoclorito de sodio 5,5 grs por litro durante diez minutos (Kemp y Glenn-Smith 2005, Malmström et al. 2007, Dissing et al. 2008). Luego se realizaron dos lavados con agua calidad biología molecular, se retiró la pieza y se la colocó en una placa de Petri para su secado en una campana libre de ADN. Posteriormente se irradio con UV cada una de sus caras.

Una vez terminado el proceso de descontaminación externa, cada pieza fue colocada en una morsa (previamente descontaminada) para sujetarla y se procedió a realizarle un corte transversal a su raíz y exponer su interior con un minitorno Dremel 3000. Como paso siguiente, se extrajo la dentina por desbaste con el mismo minitorno desde el canal reverso o radicular de cada pieza y la misma fue recolectada en un tubo Eppendorf libre de ADN (el cual fue tratado con luz UV por cuarenta y cinco minutos previo a su utilización), realizando alícuotas de 80 mg aproximadamente para cada caso (Kuch et al. 2007). La cantidad de dentina recuperada por muestra fue de aproximadamente 300-400 mg en casi todos los casos, dependiendo de su tamaño y estado de conservación. Posteriormente cada muestra fue guardada en un freezer a -20 °C hasta su momento de extracción.

Para el caso de fémur, se siguieron todos los protocolos de descontaminación y extracción del polvo del hueso reportados en Gibbon et al. (2009), con el fin de evitar daños en el espécimen y favorecer su conservación.

6.5.2. Descalcificación.

Debido a que la mayor parte del ADN presente en restos esqueléticos se encuentra encapsulado en la matriz mineral, antes de la extracción se requiere un primer paso de descalcificación. A cada alícuota de dentina se le agregó 1 ml solución de EDTA (ver apéndice 11.3) con el objeto de retirar el calcio de los tejidos y liberar el material orgánico presente. Para que dicho proceso tenga un mejor efecto se colocó cada muestra en un balanceador orbital durante un día.

6.5.3. Extracción de ADN.

Luego de un día de descalcificación, se centrifugó cada muestra durante diez minutos a 14.000 Rpm. Se retiró el sobrenadante de solución de EDTA y se agregó al pellet remanente 1 ml de solución de digestión (ver apéndice 11.3) y 50 µl de una enzima proteolítica (Proteinasa K en una concentración de 20 mg/ml). Se homogenizó brevemente y se colocó en agitación por una noche en estufa a 55 °C.

Seguidamente se realiza la extracción de ADN siguiendo protocolo de Fenol-Cloroformo-Isoamílico en proporción 25:24:1 para 1ml de mezcla (Carnese et al. 2010). Se agregó a cada tubo 500 µl de Fenol, se mezcló y se centrifugó durante diez minutos a 14.000 rpm. Posteriormente se retiró el sobrenadante (fase acuosa) y se trasvasó un nuevo tubo Eppendorf estéril. Se le adicionaron 500 µl de Cloroformo-Isoamílico (24:1), se mezcló y luego se centrifugó nuevamente durante 10 minutos a máxima velocidad. Como último paso se retiró el sobrenadante (fase superior acuosa) que contiene el ADN en solución y se traspasó a un tubo Eppendorf estéril e irradiado.

6.5.4. Concentración y purificación del ADN.

Comúnmente los extractos de ADN producidos a partir de tejidos antiguos son una mezcla de diferentes sustancias presentes de forma diferencial en cada una de las muestras (tejidos óseos, restos del suelo donde estuvo enterrada la muestra y sustancias presentes en él, componentes productos de la descomposición del cuerpo, etc.) y que se co-extraen con las mismas (Yang y Watt 2005, Kemp y Glenn-Smith 2006). Por lo tanto se sugiere un paso adicional reportado en los protocolos de extracción (Yang et al. 1998, Rohland et al. 2010, Barta et al. 2014) de este tipo de muestras es la concentración y purificación de las trazas de ADN obtenidas por medio de columnas de sílica.

Para ello se utilizó el equipo comercial de purificación Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, Winsconsin, USA) –Ver Boletín Técnico de protocolo de utilización del equipo ante cualquier consulta (www.promega.com) siguiendo las instrucciones sugeridas por el fabricante-. Debido a que es esperable que haya poco ADN y degradado, se utilizó este equipo de purificación por que poseía el mayor porcentaje de retención de fragmentos cortos para poder luego amplificarlos. Este método de purificación está basado en columnas sílica, que retienen el ADN extraído por otro medio, y luego es eluido en Tris a 80° C en una cantidad de 40 µl por extracción.

6.5.5. Extracción a partir de equipos comerciales.

De manera adicional se comparó la eficacia de métodos de extracción comerciales a partir de la dentina obtenida de algunas piezas dentales. En esta tesis se utilizaron dos equipos de diferentes fabricantes, ambos basados en la afinidad aparente del ADN por la sílica en presencia de una sal caotrópica (isotiocianato de guanidina) y retenidos por una columna de filtrado, que posteriormente libera el ADN por desabsorción en medio acuoso facilitado por la temperatura.

El primero de ellos fue el conjunto comercial QIAamp DNA Investigator Kit (Qiagen) – ver boletín técnico del producto en: <http://www.qiagen.com/products/catalog/sample-technologies/dna-sample-technologies/genomic-dna/qiaamp-dna-investigator-kit>, y se siguieron

todas las recomendaciones del fabricante para la extracción del ADN. El segundo equipo comercial utilizado fue el QIAamp DNA Investigator Kit (MP Biomedicals) – ver boletín técnico del producto en: <http://www.mpbio.com/featured.php?fid=39&country=10>, y se siguieron todas las recomendaciones del fabricante para la extracción del ADN.

6.6. Protocolo de amplificación de ADN.

La técnica de la reacción en cadena de polimerasas (PCR) es una metodología bien conocida y empleada desde la década de 1980. Su ventaja radica en que es una técnica sencilla y que permite realizar un gran número de copias de un segmento de ADN de interés. La reacción consiste en una amplificación *in vitro* llevada a cabo por enzimas y consta de tres pasos concatenados (desnaturalización, alineación y elongación), los cuales permiten en cada ciclo obtener el doble de ADN original (Hummel 2003). Estos ciclos se aumentan según la cantidad de ADN que se requiera tener para los diferentes estudios que se realicen. El número de ciclos utilizados puede variar, dependiendo del tipo de muestras y cantidad y calidad del ADN que desea ser copiado. En general no hay un parámetro estándar que defina la cantidad de ciclos en ADNa, pero en líneas generales se utilizan de treinta y cinco a cuarenta ciclos por reacción.

La secuencia del *primer* o cebador¹⁵ es un punto crucial en el diseño de PCR en las investigaciones con ADNa. Se deben buscar cebadores de entre 20-30 bases y fragmentos amplificables no mayores a los 200-250 pares de bases (Hummel 2014) debido a que rara vez el ADN de tejidos antiguos suele superar estos tamaños y puede encontrarse dañado en fragmentos impidiendo el funcionamiento de la reacción. En la actualidad se disponen de una enorme cantidad de recursos bibliográficos y bases de datos de secuencias de distintos marcadores genéticos, por lo cual el diseño de los cebadores se ha facilitado, pudiendo fácilmente probar la efectividad de diferentes pares de ellos y decidir en base a un conocimiento práctico la efectividad y utilización de cada uno.

¹⁵ Un primer o cebador es un fragmento de ADN pequeño (de pocos pares de bases) que se diseña artificialmente de forma complementaria a la cadena de ADN que se busca estudiar. Su secuencia determina el segmento particular del genoma que se desea amplificar.

En esta tesis se utilizaron conjuntos de cebadores publicados en diferentes revistas internacionales y algunos fueron de diseño exclusivo o modificados a partir de otros trabajo por el Equipo de Antropología Biológica de la Facultad de Filosofía y Letras, UBA.

6.6.1 Caracterización genética: región codificante.

Se realizaron cuatro PCR correspondientes a secciones específicas del ADNmt de cada uno de los haplogrupos amerindios presentes en Sudamérica. Inicialmente se utilizaron los cebadores y las enzimas de restricción publicadas en el trabajo de Stone y Stoneking (1993) - tabla 6.2:

Haplogrupo	Hae III sitio 663	Delección de 9 pb	Hinc II sitio 13.259	Alu I 5176	Secuencia del cebador (5' a 3')	Tamaño del amplicón
A	+	-	+	+	F611-ACCTCCTCAAAGCAATACACTG	176
					R734-GTGCTTGATGCTTGTTCTTTTG	123
B	-	+	+	+	F8215-ACAGTTTCATGCCCATCGTC	122
					R8297-ATGCTAAGTTAGCTTTACAG	82
C	-	-	-	+	F13232-CGCCCTTACACAAAATGACATCAA	208
					R13393-TCCTATTTTTCGAATATCTTGTTTC	161
D	-	-	+	-	F5120-TAACTACTACCGCATTCTTA	149
					R5230-AAAGCCGGTTAGCGGGGGCA	110

Tabla 6.2. Cebadores diseñados para amplificar la región control del ADNmt y enzimas de restricción utilizadas para reconocer los polimorfismos típicos de cada haplogrupo mitocondrial amerindio. Adicionalmente se presentan las tallas de ADN esperadas de cada amplificación y digestión.

Sin embargo, ante el bajo porcentaje de amplificaciones obtenidas en un primer momento, se optimizó la reacción cambiando los cebadores buscando amplificar segmentos más pequeños. Para este fin se utilizaron los cebadores publicados por Fehren-Schmitz et al. (2010)

para los haplogrupos A, C y D, mientras que para el haplogrupo B se diseñaron cebadores específicos -tabla 6.3:

Haplogrupo	Secuencia del cebador 5' a 3'	Talla del amplicon (pb)	Enzima de restricción	Talla del producto		Referencia
				(+)	(-)	
A	F603-AATACACTGAAAATGTTTAGACG	80	Hae III pn sitio 663 transición A/G	35/45	80	Fehren-Schmitz et al. 2010
	R737-GGTGATTTAGAGGGTGAAC					
B	F8250-GGCCCGTATTTACCCTAT	61	Delección de 9 pb en la región intergenética citocromoin oxidasa II/trNA ^{lys} pn 8272-8280	52	61	Cardozo et al. 2014
	R8310-AGTTAGCTTTACAGTGGGCTCT					
C	F13229-TCAAAAAAATCGTAGCCTTCTC	113	Hinc II pn 13.259 transición A/G	113	82/31	Fehren-Schmitz et al. 2010
	R13365-GGAGCACATAAATAGTATGGC					
D	F5130-TTAAACTCCAGCACCCACGA	96	Alu I pn 5176 transversión C/A	96	31/65	Fehren-Schmitz et al. 2010
	R5273-TTCGATAATGGCCATTG					

Tabla 6.3. Segundo conjunto de cebadores utilizados para amplificar la región control del ADNmt y enzimas de restricción utilizadas para reconocer los polimorfismos típicos de cada haplogrupo mitocondrial amerindio. Obsérvese la menor talla de los fragmentos amplificados.

Para la determinación de los haplogrupos mitocondriales se realizó una mix de PCR para un volumen final de 12,5 µl conteniendo: 1X de Go Taq PCR Buffer (Promega), 2mM de MgCl₂ (Promega), 0,2 mM de cada dNTP (Thermo Scientific), 0,4 µM de primers, 1,25 U de Go Taq Polymerase (Thermo Scientific) y 3 µl de ADN. Las condiciones de ciclado fueron: un ciclo de 5 minutos a 94°C; 45 ciclos de 45 segundos a 94°C, 45 segundos a 53°C y 45 segundos a 73°C; 1 ciclo de 5 minutos a 73°C; mantenimiento a 15°C.

6.6.2. Análisis de los polimorfismos de los segmentos amplificados (RFLP).

Desde hace varias décadas se utiliza la técnica de RFLP (análisis de polimorfismos de largo de fragmentos de restricción) para reconocer puntos de mutación específicos en una cadena de ADN. En el caso de los grupos amerindios, diferentes enzimas pueden ser utilizadas para cortar la cadena de ADNmt en presencia o ausencia de los polimorfismos típicamente americanos con el fin de reconocer cada haplogrupo (Stone y Stoneking 1993). Esta técnica se basa en la separación de las moléculas de ADN de acuerdo con su peso molecular a través de un campo eléctrico y en un medio que pueda ser sometido a electroforesis.

Una vez amplificados los segmentos de la región control de ADNmt con los cebadores descritos en la tabla 6.3, se digirieron con la enzima de corte correspondiente para los haplogrupos A, C, y D. Para esto se realizó una mix de digestión que contiene: 18 µl de H₂O calidad biología molecular, 2 µl de buffer de la enzima y 0,5 µl de la enzima específica para cada haplogrupo. Posteriormente se incubaron las reacciones a 37°C durante 18 horas, al cabo de las cuales se analizaron los fragmentos de restricción (la ausencia o presencia de los polimorfismos amerindios) en un gel de poliacrilamida 12% teñido con Gel Red a través de un transiluminador UV.

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 52 pares de bases, cuando no hay deleción la talla del fragmento es de 61 pares de base.

6.6.3. Caracterización genética: secuenciación de la región hipervariable 1.

Se realizaron diversas PCR para secuenciar la región hipervariable 1 (RHV-1) del ADNmt. Dicha sección posee diferentes polimorfismos que permiten identificar no sólo haplogrupos, sino también linajes maternos, permitiendo de esta manera aumentar la resolución en la identificación de las variedades mitocondriales amerindias y la diversidad interna de cada haplogrupo a través de la identificación de haplotipos.

Inicialmente se utilizaron cuatro cebadores para dividir la RHV-1 en dos fragmentos solapantes (tabla 6.4) desde las posiciones 15989 hasta la posición 16410 Carnese et al. (2010):

Segmento	Posición	Secuencia del cebador 5' a 3'	Tamaño del amplicon	Referencia
1	15989-16239	F15984-TAGCACCCAAAGCTAAGATTCTAAT	250 pb	Gabriel et al. 2001
		R16258-TGGCTTTGGAGTTGCAGTTG		Ivanov et al. 1996
2	16190-16410	F16190-CCCCATGCTTACAGGCAAGT	220 pb	Gabriel et al. 2001
		R16410-GAGGATGGTGGTCAAGGGAC		Gabriel et al. 2001

Tabla 6.4. Cebadores utilizados para amplificar la RHV-1 del ADNmt.

En algunos casos las amplificaciones con estos cebadores no tuvieron la efectividad esperada y se probaron un nuevo conjunto de cebadores, pero dividiendo esta región en tres fragmentos solapantes desde la posición 15984 hasta la posición 16391 (tabla 6.5):

Segmento	Posición	Secuencia del cebador 5' a 3'	Tamaño del Amplicon	Reference
1	15989-16186	F15984-TAGCACCCAAAGCTAAGATTCTAAT	197 bp	Gabriel et al. 2001
		R16186-GGGTTTTGATGTGGATTGGG		Ricaut et al. 2004
2	16101-16258	F16101-TTACTGCCAGCCACCATGAA	157 pb	Adachi et al. 2004
		R16258-TGGCTTTGGAGTTGCAGTTG		Ivanov et al. 1996
3	16204-16410	F16204-GCAAGTACAGCAATCAACCCT	206 pb	Cardozo et al. 2014
		R16410-GAGGATGGTGGTCAAGGGAC		Gabriel et al. 2001

Tabla 6.5. Segundo conjunto de cebadores utilizados para amplificar la RHV-1 del ADNmt.

Para la determinación de la RHV-1 se realizó una mix de PCR para un volumen final de 25 µl que contiene: 1X de Hot Start PCR Buffer (Thermo Scientific), 2mM de MgCl₂ (Thermo Scientific), 0,2 mM de cada dNTP (Thermo Scientific), 0,4 µM de primers, 1 U Máxima Hot Start Taq DNA Polymerase (Thermo Scientific) y 5 µl de ADNa. Las condiciones de ciclado

fueron: un ciclo de 5 minutos a 94°C; 45 ciclos de 45 segundos a 94°C, 45 segundos a 54°C y 45 segundos a 72°C; 1 ciclo de elongación final de 7 minutos a 72°C.

Se verificó la amplificación de cada uno de los fragmentos a través de geles de agarosa al 1% teñidos con Gel Red y se comparó con una escalera de peso molecular con el fin de cuantificar cada una de las muestras amplificadas. Los fragmentos de cada una de las muestras que presentaban buena amplificación fueron purificados con el conjunto AccuPrep PCR Purification Kit de Bioneer (<http://us.bioneer.com/products/accuprep/PCRPurification-overview.aspx>) según indicaciones del fabricante.

Una vez purificados los segmentos amplificados, los mismos fueron remitidos al Servicio de Genómica del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) para su secuenciación mediante el método Sanger.

6.7. Análisis de las secuencias obtenidas.

6.7.1. Lectura y revisión de las secuencias.

Las secuencias de ADN obtenidas de las muestras por el INTA fueron leídas, revisadas y alineadas respecto a la Secuencia de Referencia de Cambridge revisada (Andrews et al. 1999) con el programa MEGA 5.1 (Tamura et al. 2011). Aquellas secuencias que contenían muchos errores de lectura, heteroplasmías o inconsistencias fueron descartadas y repetidas posteriormente, ya sea del mismo extracto o de uno diferente del mismo individuo. Con el fin de eliminar el error intra-observador, muchas secuencias seleccionadas al azar fueron leídas por diferentes investigadores del Laboratorio de Antropología Biológica (Maimónides-UBA) con el fin de establecer el parámetro de lectura (Yao et al. 2004, Brandstättér et al. 2005, Bandelt et al. 2006) y una secuencia consenso. Se observaron las mutaciones puntuales dentro de cada una de ellas con el mismo programa.

Para verificar la autenticidad de cada mutación detectada, se tuvieron en cuenta la repetición de las secuencias de cada extracto de cada individuo, y se consideraron mutaciones sólo aquellas que se repitieron en todos los segmentos secuenciados. En caso de encontrar alguna

discrepancia entre diferentes secuencias de un mismo individuo, la mutación fue confirmada con una nueva secuencia de una nueva extracción.

Cada secuencia consenso de cada individuo fue comparada contra una base de datos de ADN_{mt} y moderno propia obtenida de revisión bibliográfica con el fin de verificar la previa identificación de cada variedad mitocondrial encontrada y asignar un clado a cada individuo. Como segunda comprobación se utilizó la herramienta HaploGrep¹⁶ (<http://haplogrep.uibk.ac.at/>) -Klöss-Brandstätter et al. 2011- la cual asigna a cada secuencia un linaje o clado identificado por Phylotree (Van Oven y Kayser 2008).

6.7.2. Diversidad genética.

Las secuencias de ADN_{mt} antiguas obtenidas en este trabajo fueron agrupadas según su proximidad geográfica para realizar los análisis a nivel poblacional: Norpatagonia Andina (n: 4), Norpatagonia Costera (n: 11), costa de Santa Cruz (n: 4) y Ushuaia (n: 3). Debido a que el tamaño muestral es pequeño y no se disponen de secuencias antiguas comparativas en la Patagonia Argentina, se utilizaron además para el armado de los grupos 6 individuos antiguos adscritos a la cultura Kaweskar analizados por Moraga et al. (2010) procedentes del Sur de los Archipiélagos chilenos y 2 individuos analizados por Dejean et al. (2008) procedentes del canal de Beagle.

Adicionalmente, se realizaron dos agrupaciones Norte-Sur diferentes según la división propuesta por Borrero y Mena (2007): tomando el paralelo 44°, en donde se incluyeron las secuencias de Norpatagonia andina (n: 4) y costera (n: 11) en el grupo Norte, y las secuencias de la costa de Santa Cruz (n: 4), Ushuaia (n: 3), Canal de Beagle (n: 2) y archipiélagos chilenos (n: 6) en el grupo Sur. El segundo agrupamiento tomo como límite el Estrecho de Magallanes, incluyendo a las muestras de la costa de Santa Cruz en el grupo Norte.

¹⁶ El programa haplogrep permite realizar un aproximación a las variedades mitocondriales halladas. Identifica el haplogrupo, sub-haplogrupo y haplotipo presente en un individuo mediante la comparación de sus mutaciones dentro de una base de datos mundial de ADN_{mt}. Según las mutaciones presentes, coloca cada secuencia de ADN dentro del árbol filogenético mitocondrial humano (Phylotree).

Para cada grupo o población se calcularon estadísticos de variabilidad genética: el número de haplotipos presentes (h), la diversidad haplotípica (H_d), definida como la posibilidad de que dos individuos elegidos al azar en una población posean haplotipos diferentes (Nei 1987) y la diversidad nucleotídica (π), definida como el número de secuencias nucleotídicas por sitio entre dos secuencias tomadas al azar (Nei y Li 1987), utilizando el programa DnaSP v.5.10 (Librado y Rozas 2009).

Se realizaron los mismos cálculos en las poblaciones originarias actuales de grupos adscritos a comunidades Mapuche argentinas y chilenas (Ginther et al. 1993, Moraga et al. 2000, De Saint Pierre et al. 2012), Tehuelche (De Saint Pierre et al. 2012), Pehuenche (De Saint Pierre et al. 2012), Yámanas (De Saint Pierre et al. 2012) y Kaweskar (Moraga et al. 2010) disponibles en la bibliografía con el fin de comparar la variabilidad de los grupos precolombinos y actuales. Adicionalmente, se realizaron los mismos cálculos en los haplogrupos A2, B2, C1 y D1, con el fin de comprobar la diversidad presente en cada uno de los linajes, incluyendo en los mismos a los grupos antiguos y actuales.

6.7.3. Análisis de diferenciación genética.

Con el fin de establecer la existencia de diferencias genéticas estadísticamente significativas entre los grupos Norte-Sur propuestos, para cada uno de ellos se realizó un Análisis Molecular de la Varianza (AMOVA) con el programa Arlequin v. 3.5.1.3 (Excoffier y Schneider 2005) y su significancia fue obtenida con 1000 permutaciones. Para este análisis se calculó el modelo evolutivo que más se ajustaba a los datos con el programa MEGA 5.1 (Tamura et al. 2011) siendo el mismo el TN93 + G propuesto por Tamura y Nei (1993), con un valor de $G = 0,36$.

6.7.4. Análisis de correlación entre las distancias genéticas y geográficas.

Se realizó un análisis de Procrustes, el cual permite correlacionar la distancia genética entre pares de individuos con la distancia geográfica de los mismos dentro del conjunto de datos.

Para ello a cada secuencia se le asignó su coordenada geográfica. En caso de poseer puntos exactos por medio de equipos GPS se utilizaron dichas coordenadas. En caso de no poseer este registro detallado, se estimaron sus coordenadas geográficas con la aplicación Google Earth según la información geográfica que figura en el registro de cada individuo analizado.

Se realizó una matriz de distancias genéticas entre pares de secuencias con el programa MEGA 5.1 (Tamura et al. 2011). Para este análisis se calculó con el mismo programa el modelo evolutivo que más se ajustaba a los datos siendo el mismo el TN93 (Tamura y Nei 1993).

Se utilizó el programa R 3.0 para correlacionar las distancias genéticas con las geográficas. Para ello, a partir de las distancias genéticas se realizó un Análisis de Componentes Principales (utilizando la función *pca*) y se extrajeron los dos primeros ejes de variación. Posteriormente para estos ejes se obtuvo la rotación que mejor se ajusta a las coordenadas geográficas utilizando las funciones *procrustes* y *protest* del paquete *vegan*. Las coordenadas genéticas y geográficas obtenidas fueron mapeadas con la aplicación QGIS 2.2.0 Valmiera (Free Software Foundation Inc. 1989, 1991).

6.7.5. Construcción de redes medianas de haplotipos.

Por último se construyeron redes medianas de haplotipos para los linajes C1 y D1 utilizando el programa NETWORK v. 4.6.1.3 (Bandelt et al. 1999; fluxus-engineering.com). Los pesos evolutivos¹⁷ de cada sitio polimórfico fueron aplicados siguiendo los cálculos hechos por Soares et al. (2009). Para realizar las redes se utilizaron además de las secuencias antiguas obtenidas aquellas disponibles en bibliografía, tanto de poblaciones antiguas como de poblaciones modernas (para este caso se utilizaron sólo las secuencias que procedieran de individuos que se autoadscriben como grupo originario debido a sus características culturales y lugar geográfico). Se utilizaron un total de 336 secuencias completas de la RHV-1 (342 pares de bases) las cuales corresponden a grupos antiguos y modernos. Los antiguos están conformados por los siguientes individuos estudiados en la presente tesis: 4 de Norpatagonia Andina, 11 de

¹⁷ El peso evolutivo se refiere a la frecuencia de aparición de una mutación en una posición nucleotídica dada. Cuanta más frecuencia de aparición tenga menor peso evolutivo se le asigna.

Norpatagonia Costera, 4 de la costa de Santa Cruz, 3 de Tierra del Fuego, además se han incluido para los análisis estadísticos a 2 individuos Yámanas del Canal de Beagle (Dejean et al. 2008) y 6 individuos Kaweskar de diferentes puntos de los archipiélagos chilenos (Moraga et al. 2010). Los grupos modernos se encuentran conformados por: 39 individuos Mapuche de la localidad de Anecón Grande, Provincia de Río Negro, Argentina (Ginther et al. 1993), 51 individuos Mapuche de las localidades de Cerro Policía, Aguada Guzmán y Lonco Vaca Arriba, Provincia de Río Negro, Argentina (De Saint Pierre et al. 2012), 29 individuos Tehuelche de la localidad El Chalfá, Provincia de Chubut, Argentina (De Saint Pierre et al. 2012), 42 individuos Pehuenche de la localidad de Trapa Trapa, Provincia de Bio Bio, Chile (De Saint Pierre et al. 2012), 34 individuos Mapuche de la localidad Isla Huapi, Provincia de Valdivia, Chile (Moraga et al. 2000), 19 individuos Mapuche de la localidad de Temuco, Chile (De Saint Pierre et al. 2012), 58 individuos Huilliche de la localidad de San Juan, Chile (De Saint Pierre et al. 2012), 21 individuos Yámanas de la localidad de Puerto Williams, Provincia Antártica, Chile (De Saint Pierre et al. 2012) y por último 13 individuos Kaweskar, de la localidad de Punta Arenas, Provincia de Magallanes, Chile (Moraga et al. 2010). Se dejaron de lado para este análisis la población actual analizada por Horai et al. (1993) de las localidades de Chiloé y la IX región de Chile y los individuos históricos Kaweskar, Yámanas, Aonikenk y Selk'nam publicados por García-Bour et al. (2004) debido a que analizaron un fragmento menor de la RHV-1, por lo que priorizó analizar una mayor cantidad de posiciones nucleotídicas en el conjunto de datos disponibles.

Para los linajes A2 y B2 no se construyeron dichas redes debido a la baja cantidad de secuencias disponibles de los mismos en la región y a la poca representatividad de las mismas en el conjunto de las muestras antiguas analizadas. Asimismo, la red del linaje D1 se confeccionó sin secuencias del clado D4h3a debido a que corresponde a una rama diferente de este haplogrupo y la combinación de las mismas puede causar confusión en la interpretación de los resultados. Por otro lado, las secuencias disponibles de este clado, tanto en grupos antiguos como modernos son minoritarias. Por este motivo la red correspondiente a D1 se construyó a partir de las secuencias de los clados D1, D1g y D1j.

Capítulo 7: Resultados.

7.1. Comparación de los métodos de extracción utilizados.

Uno de los objetivos planteados en esta tesis es la elaboración, prueba y puesta a punto de protocolos de extracción basados en diferentes métodos (ver capítulo 5 y 6). Si bien existe bibliografía especializada abundante respecto a este tema, aún no se ha logrado un consenso sobre este punto.

Se han implementado tres métodos de extracción, uno mixto basado en una primera extracción con solventes orgánicos (fenol-cloroformo-isoamílico) y una posterior purificación y concentración del material genético con columnas de sílica comerciales (Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System, Promega) y dos técnicas basadas en el empleo de equipos comerciales (QIAamp DNA Investigator Kit de Qiagen y Gene Clean for Ancient DNA de MP Biomedicals). En la totalidad de las muestras el método inicial empleado fue el mixto. En 40 muestras se ensayaron al menos uno de los dos equipos comerciales empleados y se obtuvieron diferentes resultados para cada uno de ellos. La amplificación de cada método fue probada por RFLP y con algún segmento de la RHV-1. El método orgánico fue el más exitoso logrando obtener ADN tipificable en 19 muestras (47,3%), el empleo del equipo QIAmp Investigator Kit permitió obtener ADN en 13 ocasiones (32,5%), mientras que el equipo Gene Clean no dio resultados positivos en ningún caso, pero sólo fue ensayado en 10 muestras. Sin embargo, en cuatro de éstas últimas se obtuvieron amplificaciones cuando el método de extracción utilizado fue el mixto y/o QIAmp Investigator Kit (tabla 7.1).

<i>Muestra</i>	<i>Método orgánico</i>	<i>QIAmp Investigator Kit</i>	<i>Gene Clean</i>
Da2	Positivo	Positivo	Negativo
Da3	Positivo	Positivo	Negativo
Da4	Positivo	Positivo	Negativo
FSJ	Negativo	Negativo	Negativo
Ah1	Negativo	Negativo	Nr
Ah2	Negativo	Negativo	Negativo
Ah3	Negativo	Negativo	Negativo
Ah4	Negativo	Negativo	Negativo
Ah5	Positivo	Negativo	Negativo

BP1	Negativo	Negativo	Negativo
BP3	Negativo	Negativo	Negativo
BP7	Negativo	Negativo	Nr
BP8	Negativo	Negativo	Nr
BP9	Negativo	Negativo	Nr
MB40	Positivo	Negativo	Nr
MB22	Positivo	Positivo	Nr
MB28	Positivo	Positivo	Nr
MB26	Negativo	Negativo	Nr
MB27	Positivo	Negativo	Nr
MB31	Negativo	Negativo	Nr
MB25	Negativo	Negativo	Nr
MB34	Positivo	Negativo	Nr
MB20	Positivo	Positivo	Nr
MB21	Positivo	Positivo	Nr
MB13	Positivo	Positivo	Nr
MB33	Negativo	Negativo	Nr
MB36	Positivo	Positivo	Nr
MB37	Positivo	Positivo	Nr
MB12	Positivo	Positivo	Nr
MB17	Positivo	Negativo	Nr
MB18	Positivo	Positivo	Nr
MB48	Positivo	Negativo	Nr
MB52	Positivo	Positivo	Nr
FD7	Negativo	Negativo	Nr
FD8	Negativo	Negativo	Nr
FD9	Negativo	Negativo	Nr
FD11	Negativo	Negativo	Nr
FD12	Negativo	Negativo	Nr
FD14	Negativo	Negativo	Nr
FD16	Negativo	Negativo	Nr

Tabla 7.1. Resultados obtenidos con cada uno de los métodos de extracción utilizados en 40 muestras analizadas.

Positivo: se obtuvieron amplificaciones.

Negativo: no se obtuvieron amplificaciones.

Nr: no realizado.

7.2. Región codificante (RFLP).

De las 50 muestras analizadas pudo extraerse y tipificarse exitosamente ADN mitocondrial por RFLP en 27 de ellas (54%). Los haplogrupos detectados se detallan en la tabla 7.2, mientras que en las 23 restantes (46%) no se obtuvieron amplificaciones.

Muestra	Sitio/Colección	Región	Provincia	¹⁴C años AP	Haplogrupo
FD4	Barrio Alpat	San Antonio Oeste	Río Negro	3100 AP	D
FD5	Buque Sur II	Las Grutas	Río Negro	2195-2300 AP	D

FD13	Buque Sur III	Las Grutas	Río Negro	2195-2300 AP	D
FD2	Faro San Matías	San Antonio Este	Río Negro	1588 AP	C
FD6	Cima de los Huesos	San Antonio Oeste	Río Negro	1173 AP	D
FD1	Bahía Final	San Antonio Este	Río Negro	796 AP	D
FD10	Centro Minero	Las Grutas	Río Negro	689 AP	A
FD3	Saco Viejo	San Antonio Este	Río Negro	421 AP	D
Ah5	Valle Encantado	Bariloche	Río Negro	S XVII	A
Da2	Museo Rosa Novak	Puerto San Julián	Santa Cruz	Nd	D
Da3	Museo Rosa Novak	Puerto San Julián	Santa Cruz	Nd	C
Da4	Museo Rosa Novak	Puerto San Julián	Santa Cruz	Nd	D
MB28	Museo de la Patagonia	Bariloche	Río Negro	Nd	D
MB34	Museo de la Patagonia	San Blas	Bs. As.	Nd	D
MB21	Museo de la Patagonia	Santa Cruz	Santa Cruz	Nd	C
MB36	Museo de la Patagonia	Ushuaia	Ushuaia	Nd	C
MB12	Museo de la Patagonia	San Antonio Este	Río Negro	Nd	D
MB20	Museo de la Patagonia	San Blas	Bs. As.	Nd	C
MB17	Museo de la Patagonia	San Antonio Este	Río Negro	Nd	C
MB27	Museo de la Patagonia	Lago Mascaradi, Bariloche	Río Negro	Nd	C
MB37	Museo de la Patagonia	Ushuaia	Ushuaia	Nd	C
MB48	Museo de la Patagonia	San Antonio Este	Río Negro	Nd	D
MB40	Museo de la Patagonia	Bariloche	Río Negro	Nd	D
MB18	Museo de la Patagonia	San Antonio Este	Río Negro	Nd	C
MB22	Museo de la Patagonia	Bariloche	Río Negro	Nd	C
MB52	Museo de la Patagonia	San Antonio Este	Río Negro	Nd	D
MB13	Museo de la Patagonia	Ushuaia	Ushuaia	Nd	D

Tabla 7.2. Resultados obtenidos de las muestras analizadas por RFLP.

Sin embargo, algunas de estas últimas muestras rindieron amplificaciones positivas no reproducibles, que nunca pudieron corroborarse en todos sus extractos. En las mismas no se obtuvieron resultados positivos en los blancos de reacción paralelos a cada una de las extracciones. La explicación más parsimoniosa para estas amplificaciones espurias podría ser que muchas de ellas contuvieran ADN, pero el mismo estuviera muy degradado o se tratara de amplificaciones producto de contaminación de carga (“*carry over*”).

De las 27 muestras con resultados positivos y reproducibles, 2 de ellas se tipificaron como haplogrupo A (7,4%), 10 como haplogrupo C (37%) y 15 como haplogrupo D (55,6%), siendo este último linaje el más frecuente en el muestreo realizado.

Con respecto a la distribución temporal, el haplogrupo D es hallado en las muestras de mayor antigüedad (3.100 años AP) y persiste hasta momentos históricos. El haplogrupo C se encuentra a partir de los 1.588 años AP, también hasta momentos históricos. Por su parte, el

haplogrupo A se encuentra asociado a muestras de momentos más tardíos en un caso y épocas de contacto hispano-indígena en otro.

Por otro lado, respecto a la distribución espacial, tanto el haplogrupo D como el haplogrupo C se encuentran distribuidos y presentes en todas las regiones analizadas, mientras que el haplogrupo A sólo se observó en el Norte de Patagonia, tanto en su vertiente costera como andina (figura 7.1).

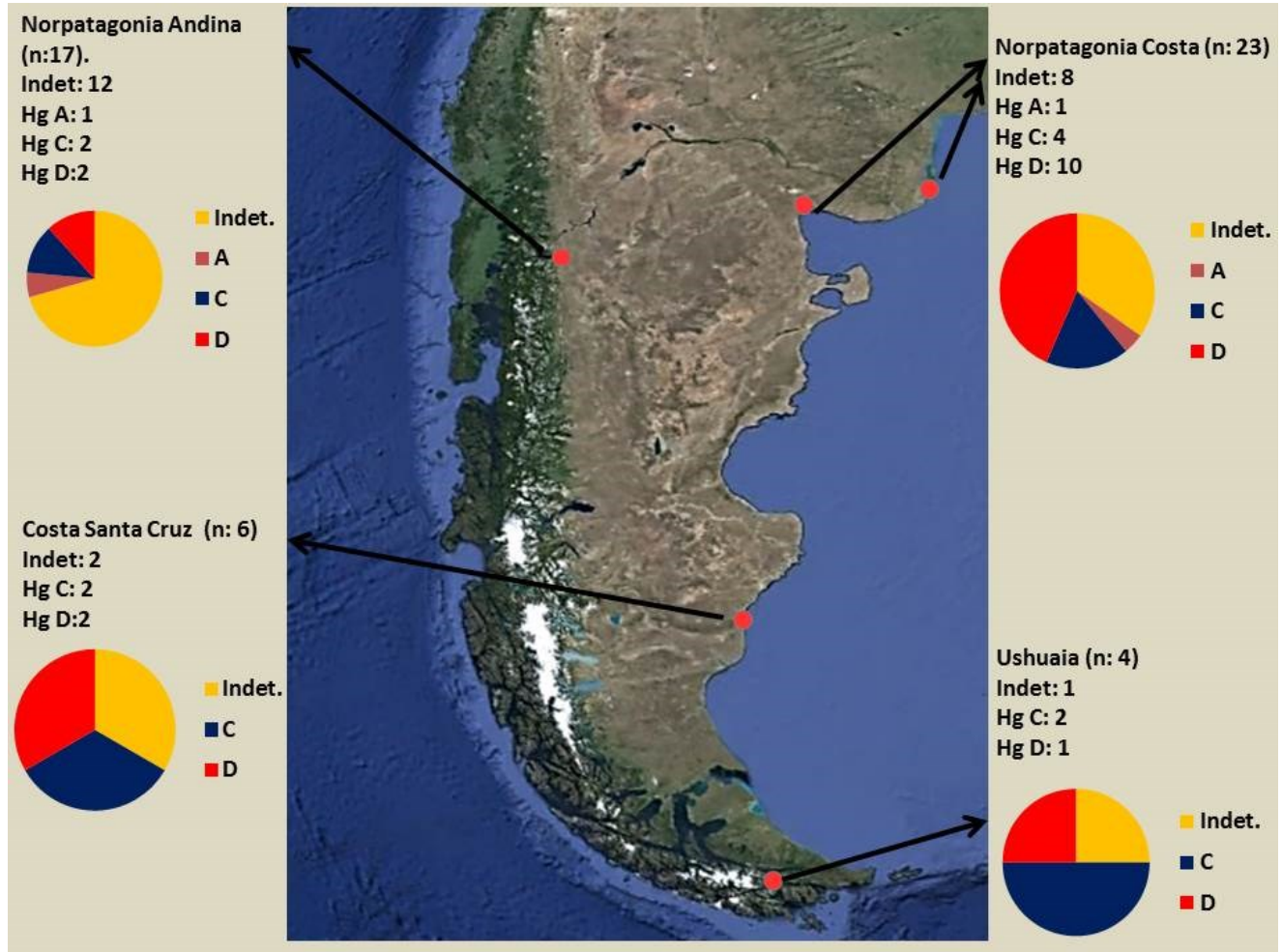


Figura 7.1. Distribución geográfica de los haplogrupos obtenidos.

En cada una de las regiones analizadas, los haplogrupos D y C se encuentran en paridad excepto en la zona de Norpatagonia costera, en donde el linaje D triplica en número al que le sigue (C), mientras que el A es minoritario en todas las regiones en donde se encuentra presente.

7.3. Secuencias de la RHV-I.

De las 50 muestras analizadas pudo amplificarse el linaje mitocondrial mediante la secuenciación de la RHV-1 en 22 de ellas (44%) -tabla 7.3-, mientras que en las 28 restantes (56%) no se obtuvieron amplificaciones o, como en el caso de los RFLP, no pudieron corroborarse en diferentes extractos por los motivos anteriormente expuestos, relacionados con la degradación del ADN. En ciertas muestras se logró tipificar alguno de los tres segmentos en la cual fue dividida esta región y se verificó la presencia de mutaciones típicas de los haplotipos amerindios. Sin embargo, no se pudo obtener un perfil completo de esta región del ADNmt, por lo que estas muestras no fueron incluidas en los análisis. Los resultados obtenidos por secuenciación corroboran las determinaciones de haplogrupos por RFLP.

Muestra	Fragmento 1 (15984 a 16186)	Fragmento 2 (16101 a 16258)	Fragmento 3 (16204-16410)	¹⁴C años AP	Haplotipo inferido
FD4	N/A*	16223T	16242T, 16311C, 16325C, 16326C	3100 AP	D1j
FD5	N/A*	16223T	16242T, 16311C, 16325C, 16326C	2195-2300 AP	D1j
FD13	Sin mutaciones	16169T, 16189T, 16223T	16325C, 16326C	2195-2300 AP	D1g+16169T
FD2	Sin mutaciones	16223T	16298C, 16325C, 16327T	1588 AP	C1/C1b
FD6	16092C?***	16187T, 16189T, 16223T	16362C	1173 AP	D1g2a
FD1	Sin mutaciones	16223T	16241G, 16298C, 16301T, 16342C, 16362C	796 AP	D4h3a
FD10	16111T	16192T, 16223T	16290T, 16319A, 16362C	689 AP	A2a/A2f
FD3	N/A*	16223T	16242T, 16311C, 16325C, 16326C	421 AP	D1j
Ah5	Sin mutaciones	16223T	16290T, 16319A, 16362C	S XVII	A2
Da2	16051G	16223T	16241G, 16301T, 16342C, 16362C	Nd**	D4h3a
Da3	Sin mutaciones	16223T	16298C, 16325C, 16327T	Nd**	C1/C1b
Da4	Sin mutaciones	16223T	16242T, 16311C, 16325C, 16326C	Nd**	D1j
MB34	16093C, 16126C	16223T	16259T, 16325C, 16362C	Nd**	D1
MB21	Sin mutaciones	16171G, 16223T	16298C, 16325C, 16327T	Nd**	C1/C1b
MB36	Sin mutaciones	16223T	16291T, 16298C, 16325C, 16327T	Nd**	C1/C1b
MB12	Sin mutaciones	16187T, 16189T, 16209C, 16223T	16325C, 16362C	Nd**	D1g5
MB27	Sin mutaciones	16223T	16298C, 16325C, 16327T	Nd**	C1/C1b
MB37	Sin mutaciones	16223T	16298C, 16325C, 16327T, 16362C	Nd**	C1/C1b

MB48	Sin mutaciones	16187T, 16189T, 16209C, 16223T	16325C, 16362C	Nd**	D1g5
MB40	Sin mutaciones	16223T	16241G, 16298C, 16301T, 16342C, 16362C	Nd**	D4h3a
MB22	Sin mutaciones	16223T	16298C, 16325C, 16327T, 16390A	Nd**	C1/C1b
MB13	Sin mutaciones	16223T	16241G, 16301T, 16342C, 16362C	Nd**	D4h3a

Tabla 7.3. Secuencias obtenidas para la RHV-1.

*N/A: no se pudo confirmar ese segmento.

**Nd: no disponible.

***?: esta mutación sólo se observó en una de las secuencias en uno de los extractos, no estando presente en otras amplificaciones, por lo que se decidió informar la misma pero no se tendrá en cuenta para los posteriores análisis.

Del conjunto de muestras en las que pudieron obtenerse secuencias se observa que el clado A2 está presente en 2 de ellas (9,1%), el C1 en 7 (31,81%), y el D se encuentra en 13 muestras dividido en 4 clados: 4 D1j (18,18 %), 4 D1g (18,18 %), 4 D4h3a (18,18 %) y 1 D1 (4,54%).

La distribución temporal indica que las muestras más antiguas presentan el linaje D1j (3.100 y 2.300 años AP), seguido por el D1g (2.300 años AP), mientras que el C1 se detecta en las muestras a partir de los 1.588 años AP, siendo que los individuos pertenecientes al clado A2 aparecen en muestras más tardías.

La distribución espacial de estos linajes evidencia la presencia de D1g y A2 sólo en Norpatagonia (región costera para el primero y costera y andina para el segundo). El linaje C1/C1b se encuentra presente en todas las regiones analizadas, ocurriendo lo mismo con la variedad D4h3a. Por su parte, el clado D1j se encuentra en Norpatagonia y en Santa Cruz, pero siempre en regiones costeras. Por último, el linaje D1 sólo se halló en la muestra de la costa del Sur de Buenos Aires perteneciente a la Bahía de San Blas (figura 7.2).

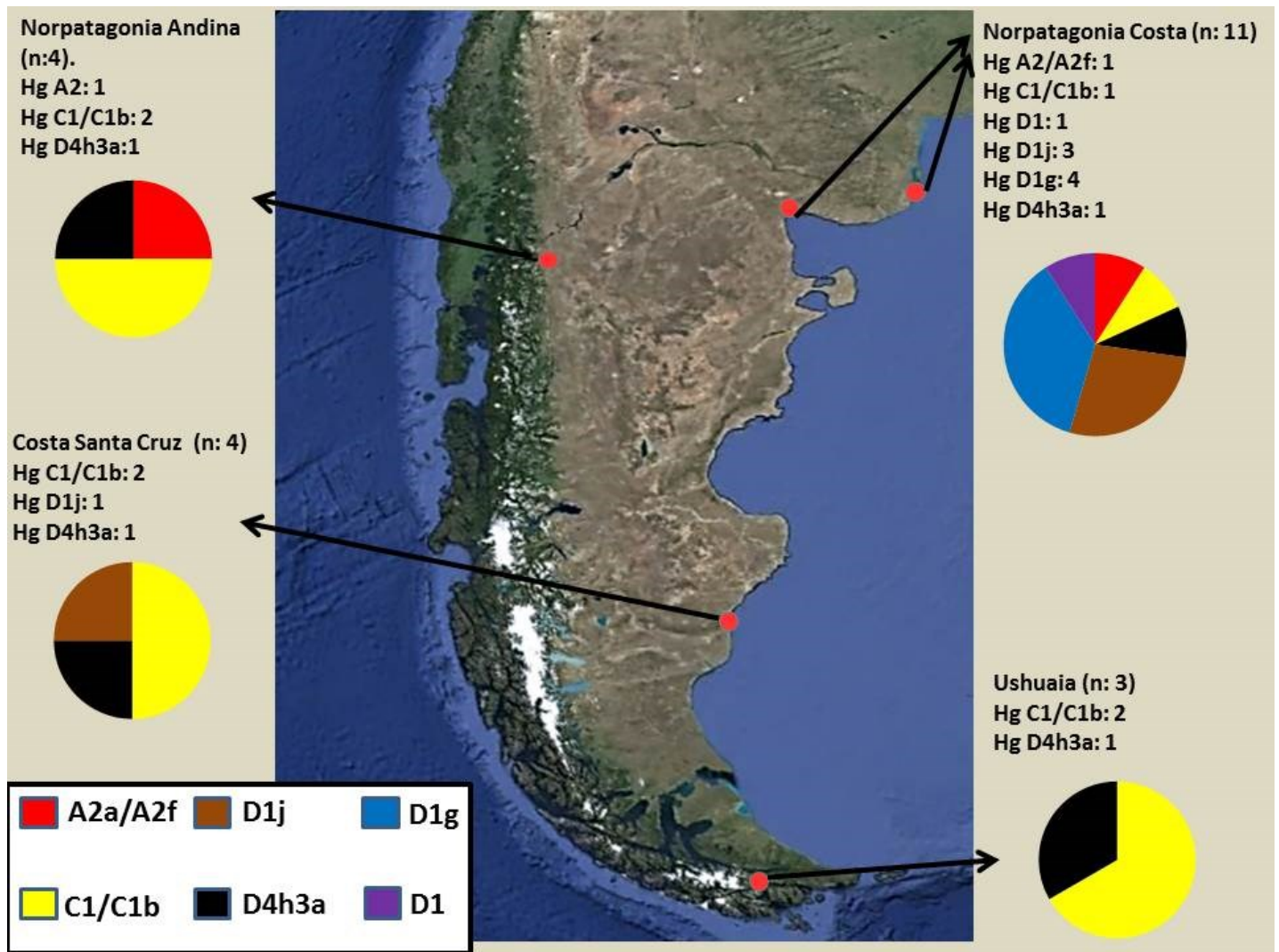


Figura 7.2. Distribución geográfica de los linajes obtenidos por secuenciación de la RHV-1.

Sin embargo, a pesar de que estos clados son compartidos y se encuentran presentes en las distintas regiones muestreadas, no todos los individuos poseen los mismos haplotipos. El linaje A2 presente en la costa de Norpatagonia (muestra FD10) posee dos mutaciones adicionales (16111T y 16192T) cuando se lo compara con el individuo de Norpatagonia andina (muestra Ah5), el cual es nodal a ese clado.

El linaje C1/C1b posee algunas diferencias. El individuo FD2 de Norpatagonia costera comparte las mismas mutaciones que el individuo Da3 de la costa de Santa Cruz y que el individuo MB22 de Norpatagonia Andina (los tres nodales). Mientras tanto, los otros 3 individuos tipificados con este linaje presentan mutaciones adicionales: MB21 (costa de Santa

Cruz) suma la mutación 16171G, MB36 (Ushuaia) suma la mutación 16291T, y MB37 (Ushuaia) adiciona la mutación 16362C.

El linaje D presenta más diversidad. El clado D1j se encuentra presente en las mismas variedades tanto en los 3 individuos de la costa de Norpatagonia (FD3, FD4 y FD5) como en el individuo Da4 de la costa de Santa Cruz, todos caracterizados por las mutaciones 16223T, 16242T, 16311C, 16325C y 16362C. Por su parte el clado D1g sólo fue hallado en la región norpatagónica costera. Dos individuos (MB12 y MB48) que comparten haplotipo, caracterizado por las mutaciones 16187T, 16189T, 16209C, 16223T, 16325C y 16362C, mientras que el individuo FD13 presentó la mutación 16169T y una reversión en @16187T. Por otro lado, el individuo FD6 presentó las mutaciones 16187T, 16189T, 16223T y 16362C con una reversión para la posición @16325C. El clado D4h3a presento 3 variedades, una de ellas caracterizadas por las mutaciones 16223T, 16241G, 16298C, 16301T, 16342C y 16362C, las cuales son compartidas por los individuos FD1 y MB40 (norpatagonia costera y andina), una segunda presente en el individuo Da2 (costa de Santa Cruz) en donde suma la mutación 16051G, pero sin la mutación 16298C y una tercera representada por la muestras MB13 (Ushuaia) sin las mutaciones 16051G y 16298C.

El individuo MB 34 fue tipificado como D1 y presentó las mutaciones 16093C, 16126C y 16259T, adicionales a las nodales del clado 16223T, 16325C y 16362C. Es el único linaje que no se ha encontrado en ninguno de los individuos analizados en las demás regiones de Patagonia.

7.4. Análisis estadísticos.

7.4.1. Diversidad genética.

Se calcularon los estadísticos de variabilidad (número de haplotipos, diversidad haplotípica y diversidad nucleotídica) de cada uno de los grupos propuestos para cada una de las regiones muestreadas y analizadas en esta tesis y de las disponibles en bibliografía (tabla 7.4):

Población.	n	h	Hd	π
Antiguas analizadas en esta tesis				
Norpatagonia Costera	11	8	0,927	0,01542
Norpatagonia Andina	4	3	0,833	0,01462
Tierra del Fuego	3	3	1	0,01559
Costa Santa Cruz	4	4	1	0,01754
Antiguas disponibles en bibliografía				
Kaweskar Chile	6	4	0,867	0,01365
Canal de Beagle	2	2	1	0,01170
Grupos antiguos propuestos				
Norte A	19	11	0,918	0,01573
Sur A	11	9	0,964	0,01276
Norte B	15	9	0,924	0,01571
Sur B	15	12	0,971	0,01326
Modernas				
Huilliche San Juan, Chile	58	19	0,930	0,01751
Pehuenche Bio Bio, Chile	42	13	0,880	0,01847
Mapuche Anecón Grande, Argentina	39	13	0,912	0,01599
Mapuche Lonco Vaca, Aguada Guzman y Cerro Policía, Argentina	51	26	0,958	0,02023
Mapuche Temuco, Chile	19	15	0,971	0,01830
Tehuelche Loma Redonda y el Chaliá, Argentina	29	14	0,929	0,01909
Yámanas Ukika, Puerto Williams e Isla Navarino, Chile	21	6	0,786	0,01426
Kaweskar Punta Arénas, Chile	13	8	0,897	0,01679

Tabla 7.4. Diversidad genética de los grupos estudiados.

n: número de individuos.

h: número de haplotipos.

Hd: diversidad haplotípica.

π : Diversidad nucleotídica.

En los resultados se observa que las poblaciones antiguas poseen similares niveles de diversidad haplotípica (Hd) y nucleotídica (π). Por otro lado, los grupos antiguos propuestos para realizar las posteriores comparaciones poseen niveles de diversidad genética semejante (tanto para Hd como para π).

Las poblaciones modernas analizadas poseen una diversidad similar, siendo la más diversa la de los Mapuche de la ciudad de Temuco, Chile. La de menor diversidad resultó ser la de los Yámanas, también de Chile. Cuando se compara a los grupos antiguos propuestos con las poblaciones modernas se puede comprobar que poseen niveles similares de diversidad haplotípica. A su vez, la diversidad nucleotídica resultó ser mayor en los grupos Mapuche de Lonco Vaca y Tehuelche de Loma Redonda, siendo la menor la hallada en Yámanas, Mapuche de Anecón Grande y Kaweskar.

Haplogrupo	n	h	Hd	π
A2	23	9	0,854	0,00740
B2	84	24	0,937	0,00830
C1	92	26	0,615	0,00346
D1	109	28	0,909	0,00848

Tabla 7.5. Resultados del cálculo de la variabilidad genética para cada haplogrupo incluyendo muestras antiguas y modernas.

n: cantidad de individuos.

h: cantidad de haplotipos.

Hd: diversidad haplotípica.

π : diversidad nucleotídica.

Cuando se realizan los cálculos a partir de las secuencias de los grupos antiguos y modernos en conjunto se observa (tabla 7.5) que los linajes D1 y B2 son los que poseen mayor diversidad haplotípica, pero la diversidad nucleotídica demostró ser la mayor en el primero de estos, lo cual demuestra mayor diversidad. El linaje C1 posee la menor diversidad de todos los haplogrupos presentes en poblaciones precolombinas y actuales de la Patagonia, tanto para sus valores haplotípicos como nucleotídicos.

7.4.2. Análisis de diferenciación genética (AMOVA).

El primer estudio de diferenciación genética mediante el Análisis Molecular de la Varianza (AMOVA) para los dos grupos armados a partir de la división Norte-Sur tomando como límite el paralelo 44° demostró que no hay diferencias genéticas significativas (p : 0,15543- F_{st} : 0,03965) -tabla 7.6.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación
Entre las poblaciones	1	4,454	0,11358	3,97
Dentro de las poblaciones	28	77,018	2,75063	96,03
Total	29	81,472	2,86421	

Tabla 7.6. Tabla de AMOVA obtenida para la comparación de los grupos tomando como límite el paralelo 44°. Se obtuvo un p valor de 0,15543. El valor de p para la significancia debe ser menor a 0,05.

El segundo análisis de distancias genéticas pero estableciendo como límite Norte-Sur el Estrecho de Magallanes tampoco demostró diferencias biológicas estadísticamente significativas ($p: 0,23851$ - $F_{st}: 0,01924$) -tabla 7.7.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación
Entre las poblaciones	1	3,194	0,04920	1,92
Dentro de las poblaciones	28	70,239	2,50854	98,08
Total	29	73,433	2,55775	

Tabla 7.7. Tabla de AMOVA obtenida de la comparación de los grupos tomando como límite el Estrecho de Magallanes. Se obtuvo un p valor de significancia de 0,23851. El valor de p para la significancia debe ser menor a 0,05.

Según los resultados obtenidos de ambas comparaciones, la mayor cantidad de variación se encuentra dentro de las poblaciones, siendo menor la hallada entre las poblaciones. Con las secuencias y muestreos disponibles en la actualidad, no se observan diferencias genéticas significativas entre las poblaciones analizadas, independientemente de las formas de agrupación propuestas en este trabajo. Esto estaría demostrando la ausencia de estructuración poblacional, al menos con los datos disponibles hasta el momento.

7.4.3 Análisis de correlación entre la variabilidad genética y geográfica (procrustes).

A partir del análisis de procrustes se obtuvo una correlación entre la distancia genética y geográfica de todas las muestras de los individuos antiguos que poseen secuencias de la RHV-1, tanto los escasos disponibles en bibliografía como aquellos obtenidas en esta tesis. La matriz de distancias genéticas calculada se encuentra en la tabla 11.3 en apéndice. Dicho análisis posee la ventaja de no necesitar la agrupación de las secuencias dentro de grupos establecidos bajo algún criterio o presunción, sino que se puede comparar la correlación entre la distancia genética y geográfica de a pares de secuencias. Esta prueba permite graficar dentro de un eje ambas distancias y ajustar las mismas hasta encontrar la mejor superposición o correlación posible de ambos puntos. Los cálculos realizados demostraron una baja correlación entre ambas distancias (0,3366) y la ausencia de diferenciación estadísticamente significativa ($p: 0,061$) -figura 7.3.

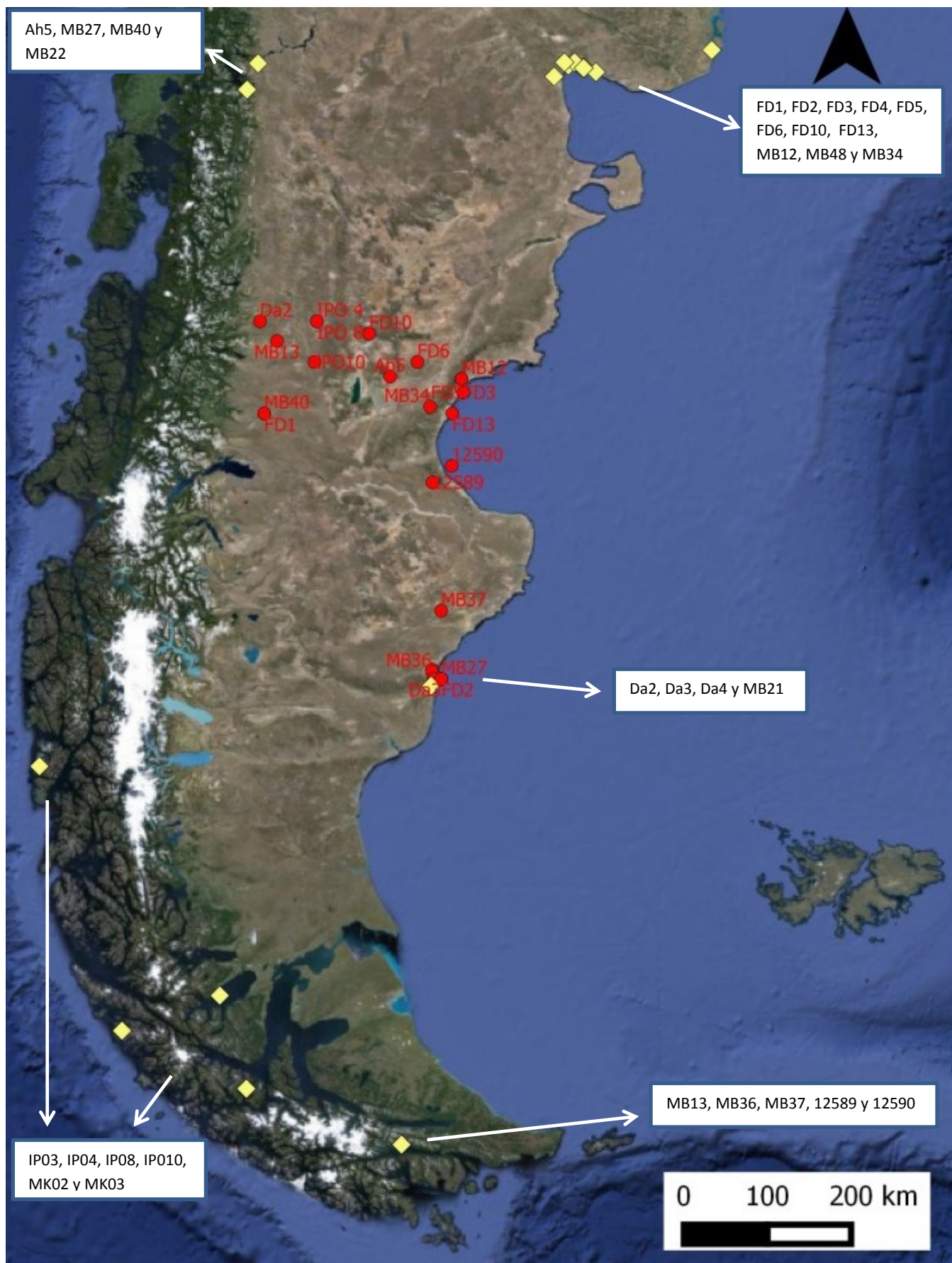


Figura 7.3. Mapa de la región patagónica en el cual se marcan los puntos geográficos de las muestras analizadas en esta tesis y las utilizadas para el análisis de Procrustes (puntos amarillos) y las coordenadas geográficas obtenidas luego de correlacionar para cada individuo su distancia biológica y geográfica (puntos rojos). La flecha negra indica en Norte geográfico.

7.4.4. Red Mediana de Haplotipos.

Las redes medianas de haplotipos obtenidas resultaron diferentes en cuanto a sus patrones. Para el haplogrupo C1 se observó un patrón unimodal en estrella, el cual suele ser interpretado como producto de un cuello de botella seguido de expansión poblacional (Motti 2012). Esto puede deberse a la menor diversidad genética encontrada para este linaje en las poblaciones tanto antiguas como actuales (figura 7.4).

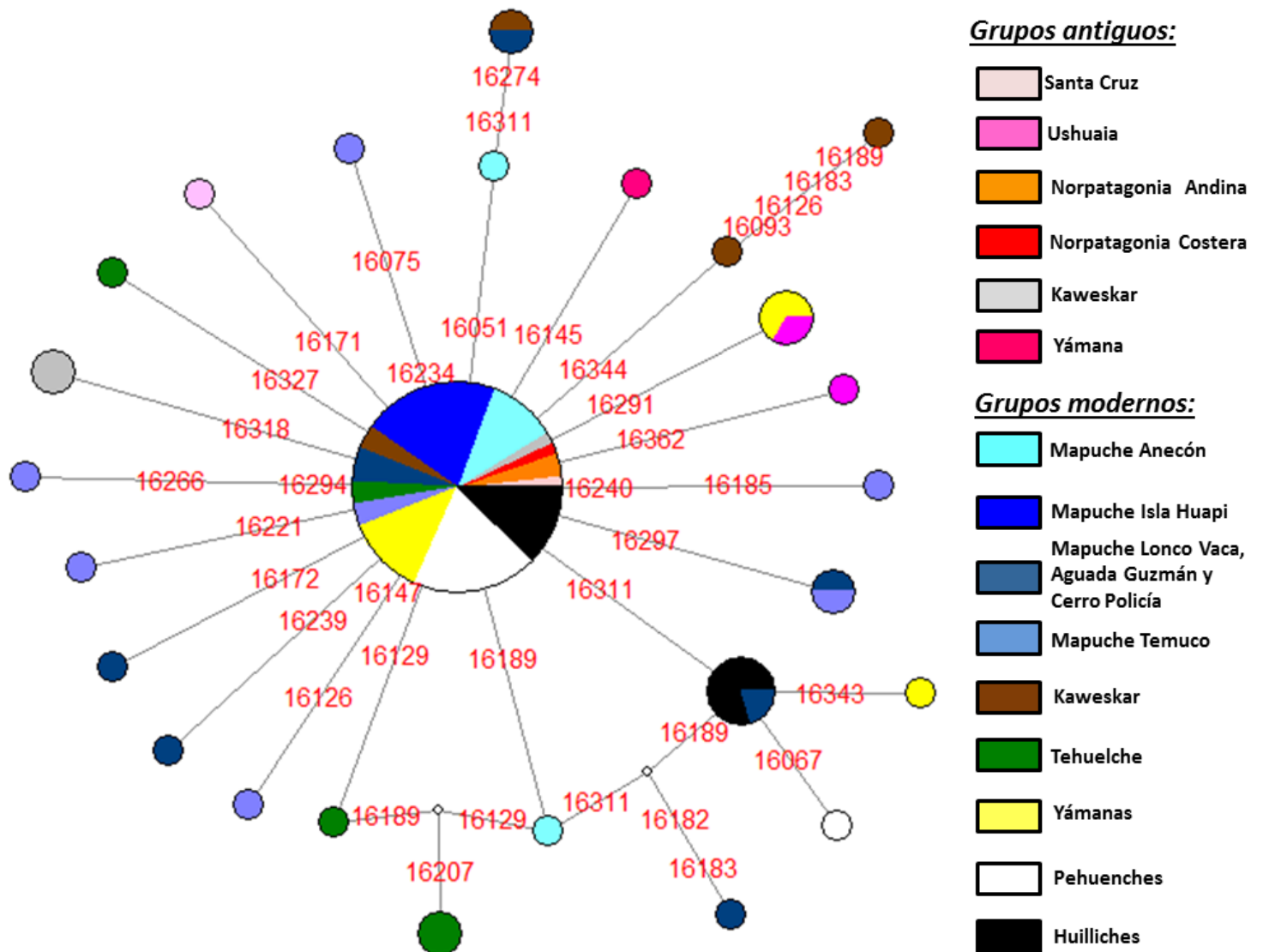


Figura 7.4. Red de haplotipos del haplogrupo C1 generada a partir de las secuencias de la RHV-1 de los individuos antiguos analizados en esta tesis y las disponibles de poblaciones modernas y antiguas de la región patagónica. El círculo mayor representa al haplotipo nodal del cual se desprenden las demás variantes del linaje. Cada una de las mismas se encuentra determinada (respecto de la SRCr) por las mutaciones en rojo sobre las ramas. El tamaño de cada círculo es proporcional a la cantidad de individuos que pertenecen a cada haplotipo.

La mayor cantidad de los individuos y poblaciones analizadas poseen las mutaciones nodales características de este haplogrupo (16223T, 16298C, 16325C y 16327T), siendo alguno de ellos portadores de mutaciones particulares, las cuales en su mayoría parecerían ser privativas de la región y/o grupo analizado.

Las secuencias obtenidas a partir de las muestras antiguas poseen algunas particularidades. El individuo FD2 de la región de norpatagonia costera, los individuos MB27 y MB22 de la región de norpatagonia andina y el individuo Da3 de la costa de Santa Cruz portan sólo las mutaciones nodales, compartiendo el haplotipo con todas las poblaciones modernas incluidas en la red. Sólo la muestra MB21 de la costa de Santa Cruz posee el polimorfismo 16171G, el cual no se encuentra presente en ninguna de las poblaciones de la región utilizadas para las comparaciones.

Los individuos analizados de Ushuaia también poseen diferencias respecto al nodal. La muestra MB37 posee la transición 16362C, la cual parece no estar presente en ninguna población comparativa analizada aquí. De todas maneras debe tenerse en consideración que dicha posición posee una alta tasa de mutación, por lo cual puede no ser muy informativa a nivel filogenético. La muestra MB36 posee la transición 16291T, la cual es compartida con dos individuos adscriptos a grupos Yámanas modernos procedentes de las regiones de Ukika, Puerto Williams e Isla Navarino, Chile.

Por otro lado, cuando se amplía el análisis de la red se observa que las poblaciones adscriptas como Mapuche son las que poseen la mayor cantidad de polimorfismos no compartidos por ninguno de los grupos analizados, siendo los mismos más diversos dentro del haplogrupo C1, pero debe tenerse en consideración que este grupo es el que posee la mayor cantidad de individuos analizados. El mismo sólo comparte polimorfismos con un individuo Kaweskar (con las mutaciones 16274A y 16311C) y con tres individuos Huilliche (con la mutación 16311C), además de las mutaciones nodales.

En general se observa que todas las poblaciones incluidas en el análisis filogenético poseen muchas similitudes, estando a uno o dos pasos mutacionales del haplogrupo nodal propuesto para C1. Sólo algunos individuos de grupos Kaweskar, Mapuche y Tehuelche poseen más mutaciones y por ende mayor distancia genética respecto al centro del linaje.

La red de haplotipos del haplogrupo D1 (figura 7.5) generada a partir de las secuencias de la RHV-1 es más compleja debido a que la misma posee más diversidad haplotípica y nucleotídica (ver tabla 7.5). Además, comprende dentro de sí distintos linajes bien establecidos filogenéticamente a partir de diferentes mutaciones. Debido a esta complejidad se diseñó la red para el haplogrupo D1 sin el linaje D4h3 y porque este linaje posee una baja representación en número efectivo de individuos.

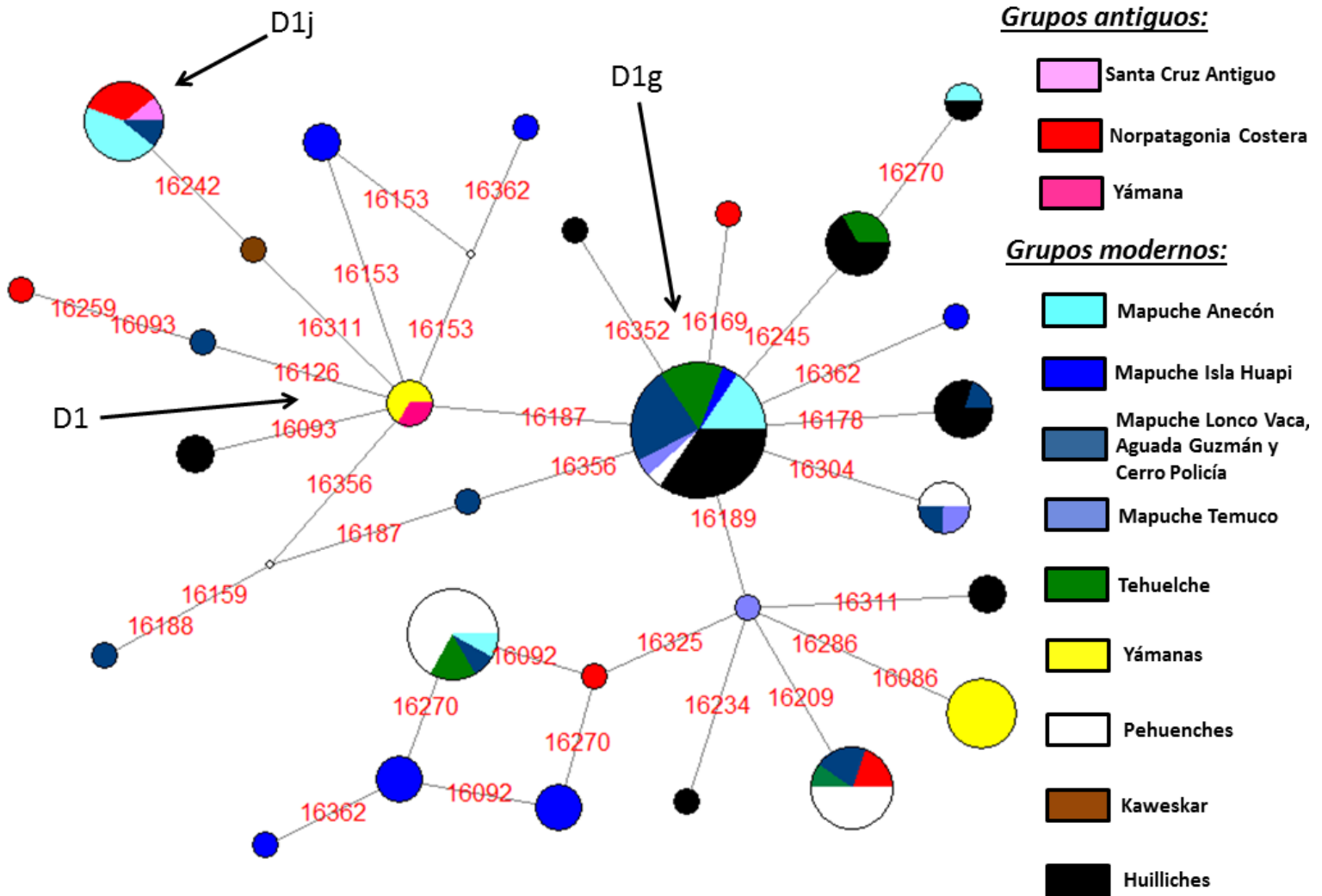


Figura 7.5. Red de haplotipos del haplogrupo D generada a partir de las secuencias de la RHV-1 de los individuos antiguos analizados en esta tesis y las disponibles de poblaciones modernas y antiguas de la región patagónica. El círculo mayor representa al haplotipo nodal del cual se desprenden las demás variantes del linaje. Cada una de las mismas se encuentra determinada (respecto de la SRCr) por las mutaciones en rojo sobre las ramas. El tamaño de cada círculo es proporcional a la cantidad de individuos que pertenecen a cada haplotipo.

Para este haplogrupo se observa un patrón multimodal, el cual puede ser interpretado como reflejo de estabilidad demográfica y diferenciación poblacional. El linaje D1 propuesto como fundante pan-americano con las mutaciones nodales 16223T, 16325C y 16362C posee una baja representación, encontrándose solamente en dos individuos Yámanas actuales de Ukika, Puerto Williams e Isla Navarino (Chile) y un individuo antiguo también adscrito a esta étnia, procedente del Canal de Beagle. Sólo una muestra analizada en esta tesis (MB 34) posee este linaje, pero con las mutaciones adicionales 16093C, 16126C y 16259T, la cual es oriunda de la Bahía de San Blas. Este haplotipo no ha sido reconocido en otra población publicada o en bases de datos públicas, por lo cual por el momento puede considerarse privativo de la región.

Se observa que el clado más representado es el D1g, el cual posee una gran diversidad y ha sido propuesto como fundante para Sudamérica y de gran importancia para el área patagónica (Bodner et al. 2012). El mismo está definido por las mutaciones nodales 16187T, 16223T, 16325C y 16362C, de las cuales se desprenden diferentes ramas como se observa en la red (figura 7.4). Ninguno de los individuos antiguos analizados en este trabajo posee dicha variante nodal, siendo todos los haplotipos encontrados derivados.

Todas las muestras prehispánicas que pertenecen a este clado se encuentran en norpatagonia costera, zona del Golfo de San Matías. El individuo FD13 posee una mutación adicional en la posición 16169T, la cual no se encuentra en las demás poblaciones y no ha sido hallada hasta el momento en ninguna base de datos o en publicaciones, por lo que puede considerarse privativa de esta región o grupo. Por otro lado, el individuo FD6 suma la mutación 16189C y revierte la posición @16325C, no compartiendo este haplotipo con ninguna de las poblaciones amerindias de la región utilizadas para la comparación. Sin embargo, esta muestra presentó la mutación 16092C en uno de los extractos, sin poder reproducirse posteriormente. De ser correcta dicha mutación, esta secuencia estaría compartida por poblaciones Pehuenche y Mapuche de Chile y Tehuelche y Mapuche de Argentina. Esta variedad ha sido nombrada por Bodner et al. (2012) como D1g2a.

Por otro lado, se encuentran en los individuos MB12 y MB48, procedentes de San Antonio Este, las mutaciones adicionales 16189C y 16209C (además de las nodales). Este linaje también se ha hallado en poblaciones actuales de Pehuenche (Chile), Mapuche y Tehuelche de Argentina y ha sido definido por Bodner et al. (2012) como D1g5.

El último clado hallado en las muestras antiguas analizadas es el D1j, también propuesto como fundante para Sudamérica según Bodner et al. (2012). Dicho clado se caracteriza por las mutaciones 16223T, 16242T, 16311C, 16325C y 16362C, las cuales son nodales de esta variedad mitocondrial. El mismo ha sido reconocido en cuatro muestras antiguas, tres de ellas procedentes del Golfo de San Matías (FD3, FD4 y FD5) y la restante en la costa de Santa Cruz (Da4). Esta variante es compartida por grupos Mapuche de Argentina, encontrándose ausente en los demás grupos de la región utilizados para las comparaciones. La misma ha sido denominada por Bodner et al. (2012) como D1j1a. Cabe destacar que las muestras del Golfo de San Matías pertenecientes a este linaje no poseen las primeras cien bases de la RHV-1, pero dicho segmento no suele tener mutaciones adicionales en este clado particular, por lo que puede aceptarse la asignación de los individuos a esta variedad específica.

El linaje D4h3 presentó otras particularidades y debido a que no se realizó una red con este clado, se compararon manualmente las secuencias antiguas obtenidas con las poblaciones actuales de las regiones en la bibliografía citada. Cuatro individuos antiguos han sido reconocidos para este clado mitocondrial, estando el mismo representado en todas las regiones analizadas. Las muestras MB40 (de la región norpatagónica andina) y FD1 (de la región norpatagónica costera) comparten el haplotipo caracterizado con las mutaciones 16223T, 16241G, 16298C, 16301T, 16342C y 16362C, que no se encuentra presente en ninguna de las poblaciones modernas de los grupos utilizados para las comparaciones y ha sido definida por Perego et al. (2009) como D4h3a2. La secuencia del individuo Da2 con las mutaciones 16051G, 16223T, 16241G, 16301T, 16342C y 16362C fue encontrada en seis individuos Tehuelche de Loma Redonda y el Chalia, Chubut, Argentina y definida como D4h3a5 por Perego et al. (2009). El último individuo antiguo con este clado es el MB13, procedente de Usuhaia. Posee las mutaciones nodales 16223T, 16241G, 16301T, 16342C y 16362C, estando este linaje también presente en un individuo Mapuche de Temuco y un individuo Huilliche de San Juan (ambos procedentes de Chile) y definido como D4h3a por Perego et al. (2009).

Sólo dos individuos pudieron asignarse al haplogrupo fundador A2. El mismo se encuentra en dos individuos, ambos en el Norte de Patagonia. En la región cordillerana se halló en un individuo (Ah5) la variedad nodal de este linaje caracterizado por las mutaciones 16223T, 16290T, 16319A y 16362C). Esta variedad ha sido hallada en Mapuche de Anecón Grande,

Provincia de Río Negro, Argentina (Ginther et al. 1993). En la región costera se halló la variedad A2 + 16111T + 16192T, la cual no se ha encontrado en las poblaciones de la región utilizada para las comparaciones.

Capítulo 8: Discusión.

8.1. Evaluación de los métodos de extracción en relación a los resultados obtenidos.

Los experimentos realizados en esta tesis han demostrado que la elección del método de extracción y la posibilidad de comprobar y comparar diferentes metodologías es de crucial importancia en el campo del ADN, no sólo para lograr optimizar los resultados, sino también para verificar el estado de conservación del ADN en cada una de las muestras analizadas.

La extracción orgánica fue reportada como preferible por varios autores y su superioridad con respecto a otros métodos puede deberse a los cambios en los niveles del pH que provoca la incorporación de altas concentraciones de isotiocianato de guanidina. Sin embargo, también puede provocar daños a las cadenas de ADN y fragmentarlas en pedazos tan pequeños que imposibilitaría su amplificación, disminuyendo así rendimiento. Además, se ha descrito que puede ser también un potente inhibidor (Primorac et al. 1996, O'Rourke et al. 2000, Kemp et al. 2007b, Barta et al. 2014).

Adicionalmente, se ha notado que la procedencia de las muestras desde diferentes regiones de la Patagonia puede influir en la cantidad y calidad del material genético contenido. El porcentaje de recuperación para RFLP fue marcadamente diferente: Norpatagonia Andina presentó un 29,41%, Norpatagonia Costera un 65,21%, la costa de Santa Cruz un 66,66% y Ushuaia un 75%. Para la obtención de secuencias esta tendencia se mantuvo, ya que norpatagonia andina presenta un 23,52%, norpatagonia costera un 47,82%, la costa de Santa Cruz un 66,66% y Ushuaia un 75%. Las dos variables centrales a la hora de analizar el éxito de los resultados parecen ser el nivel de precipitaciones y la temperatura de cada región.

Estos datos demuestran que el sector andino norpatagónico presenta el menor porcentaje de recuperación de ADN y por ende, una menor cantidad de tipificaciones. Este hecho seguramente esté relacionado a cuestiones ambientales, ya que la mayoría de los individuos analizados provenientes de esa región se hallaron en sectores boscosos (Ciudad de San Carlos de Bariloche y San Martín de los Andes), los cuales pueden poseer condiciones muy húmedas (por

su alta cantidad de precipitaciones), generando suelos con grandes variaciones en su pH, producto de la relación entre la retención de agua y la descomposición del material orgánico y de eventos relacionados con la pedogénesis (Gaitan y López 2007). Todas estas condiciones disminuyen la preservación de material genético en los restos óseos. Los sectores que presentan menor precipitación (costa de norpatagonia y de Santa Cruz) arrojaron mayores tipificaciones, por lo cual puede inferirse una mejor preservación del material genético. La región con mayor porcentaje de recuperación fue Ushuaia, que si bien posee altos niveles de precipitaciones (aunque menores que norpatagonia andina), su temperatura más fría y su menor amplitud térmica anual respecto a las demás regiones analizadas, pudo favorecer la preservación del material genético estudiado. Esto demuestra que un complicado entramado de variables inciden en el éxito de las amplificaciones cuando se trabaja con muestras de ADN.

A su vez, el número de muestreos es pequeño aún, por lo que las conclusiones en cuanto a la preservación expuestas en este apartado deben ser tomadas con precaución. Sería recomendable ampliar el número de individuos analizados para poder estimar el impacto del ambiente sobre la preservación del material genético contenido en restos arqueológicos de Patagonia.

También cabe señalar que las amplificaciones aumentaron en cantidad y calidad al incluir cebadores que copiaran segmentos más pequeños. Las primeras muestras investigadas con el primer conjunto de cebadores lograron pocas amplificaciones y las mismas eran débiles. De hecho, de las 19 muestras provenientes del museo Francisco P. Moreno, sólo 5 habían podido ser tipificadas, tanto por RFLP como por secuenciación. Al utilizar cebadores que amplificaran segmentos más pequeños se logró aumentar a 10 las muestras tipificadas por secuenciación y a 15 las identificadas por RFLP (en este caso los fragmentos son aún menores que los copiados para RHV-1).

Estos hechos demuestran la importancia de utilizar distintos métodos de extracción y análisis en muestras antiguas, no solo para lograr mejores resultados, sino también para reconocer la naturaleza de estado del ADN de cada muestra analizada y los posibles inconvenientes que pueden darse a partir del contexto de enterratorio regional.

8.2. Corroboración de hipótesis e interpretación de los análisis estadísticos, filogenéticos y poblacionales.

En esta tesis se han propuesto tres hipótesis relacionadas con diferentes escenarios posibles en relación a la diversidad y diferenciación genética encontrada en poblaciones precolombinas de la región patagónica. La primera de ellas propone la ausencia de diferenciación genética entre las regiones analizadas, la segunda una diferenciación en al menos algunas de ellas y la tercera apoyaría una diferenciación genética generalizada. Estos tres escenarios podrían explicarse por diferentes procesos micro-evolutivos que habrían operado sobre las poblaciones de la región patagónica.

Dichas hipótesis fueron puestas a prueba mediante el cálculo de la diversidad genética y el análisis Análisis Molecular de la Varianza (AMOVA). Adicionalmente se elaboraron redes medianas de haplotipos con el objetivo verificar la relación filogenética de las secuencias de la RHV-1 de cada muestra analizada y un análisis de procrustes para correlacionar dichas relaciones biológicas con la distancia geográfica que separa a cada uno de los individuos.

Los cálculos estadísticos de variabilidad demostraron que la misma es similar en todas las poblaciones y/o regiones analizadas en esta tesis y disponibles en la bibliografía, esto se ha apreciado tanto en la diversidad haplotípica (H_d) como la nucleotídica (π). Sin embargo, se observa que esta última disminuye en grupos que se encuentran sectores más meridionales (grupos Kaweskar y Yámanas). Cuando se comparan los valores obtenidos con las poblaciones modernas de grupos originarios se observan valores similares de diversidad comparables a las poblaciones antiguas analizadas y también se observa una disminución de la diversidad nucleotídica hacia el Sur, representada por los grupos Yámanas.

En las divisiones Norte-Sur propuestas a partir del paralelo 44° y del Estrecho de Magallanes se observó que la diversidad haplotípica se encuentra en niveles similares, pero no así la nucleotídica, la cual siempre resultó menor en las agrupaciones de mayor latitud.

Ahora bien, cuando dichos cálculos se realizan a partir todos de los linajes mitocondriales analizando poblaciones antiguas y modernas en conjunto se observan diferencias importantes. Los haplogrupos B2 y D1 poseen similar diversidad haplotípica, seguida por A2 (0,854), siendo

la menor de todas la de C1 (0,615). Sin embargo, la diversidad nucleotídica de D1 fue mayor que los demás linajes, incluyendo B2, siendo las muestras de este último linaje exclusivamente de poblaciones modernas.

En el análisis de procrustes se observó una baja correlación entre las distancias genéticas y geográficas calculadas a partir de la comparación de a pares de individuos, aunque el p valor estuvo cerca del límite de significancia, indicando que la influencia de la distancia geográfica sobre la distancia genética es limitada. Sin embargo, sí se pueden observar algunas tendencias respecto a la relación entre las distancias genéticas y geográficas calculadas para los linajes C1, D1 (clados D1g y D1j) y D4h3. Los individuos que se agrupan al Sur de la Patagonia linderos al Atlántico pertenecen al linaje C1 y sus variedades. A su vez, los individuos que se acercan a Norpatagonia parecerían mostrar dos tendencias separadas: la primera es la agrupación de los linajes D1, D1g y D1j hacia la costa. La segunda agrupación ubica al linaje D4h3a en el sector cordillerano. Las secuencias del linaje A2 aparecen en una posición intermedia en el Centro de Norpatagonia.

Las redes medianas de haplotipos realizadas para los linajes C1 y D1 (sin el clado D4h3a) son congruentes con los resultados obtenidos a través de los análisis de diversidad. La topología en forma de estrella del haplogrupo C1 indica que la mayoría de los individuos de la región se ubican dentro del nodal del linaje, con escasos haplotipos alejándose del mismo y por pocos pasos mutacionales, lo que refleja su baja diversidad haplotípica y nucleotídica.

Por su parte, el haplogrupo D1 presentó una topología multimodal. El mismo contiene diversos clados bien definidos como D1g y D1j, siendo el primero muy diverso y con amplia variedad de sublinajes desprediéndose de él. Este hecho no es llamativo, ya que D1 presenta los mayores niveles de diversidad haplotípica y nucleotídica.

Los resultados de las diferentes pruebas realizadas fueron congruentes entre sí, encontrando que las diferencias obtenidas no fueron estadísticamente significativas. A este respecto, no puede soslayarse la limitación impuesta por el reducido tamaño muestral, inherente a la mayoría de los estudios de arqueogenética. Esto es particularmente relevante dada la extensión geográfica de la Patagonia, por lo cual una línea de trabajo futura que se desprende de

la presente tesis se refiere a la incorporación de nuevas muestras de distintos sectores geográficos y temporalidades.

8.3. Implicancias para el poblamiento de América y de la Patagonia.

A nivel continental se ha demostrado que ciertos linajes mitocondriales poseen una distribución y temporalidad particular, la cual ha sido utilizada para proponer momentos y rutas de dispersión, junto con el fechado de los sitios arqueológicos más tempranos (*i.e.* Monte Verde 2). Este es el caso del linaje D4h3a, el cual se presenta en poblaciones actuales en regiones casi exclusivamente pacíficas (O'Rourke 2009, Perego et al. 2009, entre otros). En muestras antiguas este linaje se ha hallado en restos del Pleistoceno Final en Alaska (Kemp et al. 2007) y en el Holoceno Medio en la Columbia Británica (Cui et al. 2013), ambos con una ubicación cercana al Pacífico. Sin embargo, también se lo ha hallado en restos humanos tempranos asociados a la "cultura" Clovis (Rasmussen et al. 2014) en el Centro-Oeste de Norteamérica y a la "cultura" Hopewell en el Holoceno Tardío al Este de Norteamérica (Bolnick y Glenn-Smith 2007). En Sudamérica se lo ha encontrado mayoritariamente sobre el Pacífico (aunque se registran casos en Venezuela y Brasil -O'Rourke 2009, Perego et al. 2009) en poblaciones actuales y en antiguas (Perego et al. 2009, Moraga et al. 2010, De Saint Pierre et al. 2012a), siendo uno de los linajes más frecuentes en la Patagonia Argentina y Chilena (De Saint Pierre et al. 2012a).

Adicionalmente, para Sudamérica se ha propuesto la presencia de dos clados particulares derivados del linaje D1 (D1g y D1j), los cuales serían fundantes como indican su tiempos de coalescencia y su distribución casi exclusivamente pacífica, la cual se ha propuesto como ruta de poblamiento del subcontinente (Bodner et al. 2012). Esto también se encuentra avalado por la presencia de sitios arqueológicos tempranos ubicados al oeste de la cordillera. En dicho modelo, la dispersión de estos linajes habría sido primero por el corredor costero, para ingresar luego al sur del continente mediante migraciones transcordilleranas que posteriormente involucraron flujo génico bidireccional. Sin embargo, diferentes investigaciones han demostrado que dicha hipótesis con respecto a la distribución de estas variedades mitocondriales pueden ser cuestionadas, ya que al ampliarse los muestreos en poblaciones modernas la dispersión de estos linajes parecería ser diferente. Salas et al. (2008), Bobillo et al. (2010), García et al. (2012),

Motti et al. (2012) y Pauro et al. (2013) detectan la presencia del clado D1j en frecuencias diversas en poblaciones actuales del Centro y Norte de Argentina, por lo que proponen para el mismo un origen en esas regiones. Por su parte De Saint Pierre et al. (2012a) ha señalado la importancia del clado D1g en todas las poblaciones nativas modernas de la región patagónica, tanto chilena como argentina, siendo uno de los linajes más presentes junto al D4h3a, C1, C1b13 y B2i siendo estos dos últimos exclusivamente patagónicos (De Saint Pierre et al. 2012b).

Los análisis realizados en esta tesis sobre muestras de individuos precolombinos de la Patagonia Argentina han demostrado la presencia de la mayoría los linajes estudiados por De Saint Pierre et al. (2012a), Bodner et al. (2012) y Sala y Corach (2014). El clado D4h3a se ha detectado en cuatro individuos, estando dos de ellos en el litoral atlántico, con una temporalidad mínima de *ca.* 800 años AP. Este hecho ampliaría su distribución geográfica incluyendo sectores costeros orientales y es la primera vez que logra reconocerse en poblaciones patagónicas antiguas del actual territorio argentino. Las variedades halladas de este linaje se encuentran presentes en poblaciones argentinas cosmopolitas de Córdoba, Buenos Aires (Catelli et al. 2011) y Chile (Perego et al. 2009), en comunidades nativas actuales de Argentina (Tehuelche de Loma Redonda y el Chalia en Chubut) y Chile (Mapuche de Temuco y Huilliche de San Juan) -De Saint Pierre et al. 2012a- y en restos antiguos atribuidos a grupos Kaweskar de Chile (García-Bour et al. 2004, Moraga et al. 2010) y Selk'nam del mismo país (García-Bour et al. 2004).

Por otro lado, la variedad D1j ha sido hallada en cuatro individuos ubicados geográficamente en sectores costeros y su antigüedad puede remontarse a los 3.100 años AP, persistiendo en el mismo sector hasta los 421 años AP, por lo cual puede plantearse una continuidad de este linaje por lo menos desde el Holoceno Tardío. Es la primera vez que este clado se detecta en poblaciones precolombinas de Sudamérica y en la región patagónica, por lo que este hallazgo no sólo amplía su distribución espacial, sino también su profundidad temporal. A su vez está presente en grupos Mapuche actuales de las localidades de Anecón Grande, Lonco Vaca, Aguada Guzmán y Cerro Policía (De Saint Pierre et al. 2012a) y posee una alta frecuencia en el Centro Oeste y Norte de Argentina (Salas et al. 2008, Bobillo et al. 2010, García et al. 2012, Motti et al. 2013, Pauro et al. 2013).

El clado D1g fue hallado exclusivamente en la Región Norpatagónica Costera, presentando los haplotipos correspondientes a las variedades D1g2a, D1g5 y D1g + 16169T.

Este último haplotipo ha sido encontrado en un individuo de 2.300 años AP y hasta el momento no se ha sido reportado en muestras antiguas ni en poblaciones actuales, lo cual podría estar indicando que la diversidad de las poblaciones precolombinas podría haber sido mayor y que algunos linajes pueden ser privativos de la región. El clado D1g y sus variedades reviste especial importancia en las poblaciones antiguas y actuales Patagonia (Bodner et al. 2012, De Saint Pierre et al. 2012a), por lo que puede proponerse como fundador para el Cono Sur de Sudamérica, lo cual también puede fundamentarse en sus altos niveles de diversidad, que implicarían una gran profundidad temporal.

Sólo se ha encontrado un individuo perteneciente al linaje D1, oriundo de la Región Norpatagónica Costera (Bahía San Blas) portando las mutaciones 16093C, 16126C y 16259T adicionales al nodal del haplogrupo (16223T, 16325C y 16362C). Esta variedad no pudo encontrarse ni en poblaciones antiguas ni en modernas, pero D1 + 16126C es frecuente en el Centro-Oeste de Argentina (resultados inéditos del Laboratorio de Genética Molecular Poblacional del IMBICE, comunicación personal de Claudio Bravi, 02/2014) y se encuentra también en Mapuche de Argentina. Por su parte la variante D1 + 16093C se ha hallado en Huilliche de Chile (De Saint Pierre et al. 2012a).

Por su parte, el linaje C1 fue hallado en siete individuos y en todas las regiones analizadas con una profundidad máxima de 1588 años AP. Cuatro pertenecen al nodal de haplogrupo (16223T, 16298C, 16325C y 16327T), el cual se encuentra presente en todo el continente. De los restantes individuos, algunos presentan mutaciones adicionales a las del nodal: el individuo MB37 presenta la mutación 16362C, compartida por múltiples poblaciones en toda América debido a que es una posición hipervariable. MB36 (Ushuaia) presenta la mutación 16191T, la cual es compartida con grupos Yámanas de Ukike, Puerto Williams e Isla Navarino (Chile). Por último, MB21 (costa de Santa Cruz) posee la mutación adicional 16171G, que ha sido descrita por Horai et al. (1993) en individuos de Chiloé y de localidades de la IX Región (Chile) y en Argentina en dos individuos: uno en El Bolsón (Provincia de Río Negro) y otro en Villa Tulumaya, Dpto. de Lavalle (Mendoza). La encuesta genealógica de este último refiere que su abuela materna desciende de grupos aborígenes chilenos (resultados inéditos del Laboratorio de Genética Molecular Poblacional del IMBICE, comunicación personal de Claudio Bravi, 05/2014).

El haplogrupo fundador A2 fue identificado en dos individuos con temporalidades tardías, ambos en el Norte de Patagonia. En la región cordillerana se halló en un individuo la variedad nodal de este linaje (16223T, 16290T, 16319A y 16362C), que ha sido encontrada en múltiples poblaciones de todo el continente. En la región costera se halló la variedad A2 + 16111T + 16192T. Este haplotipo ha sido definido como A2a (Achilli et al. 2013) y se encuentra poblaciones actuales del Norte de Norteamérica, sobre todo en Eskimo-Aleutianos. Si bien su ubicación geográfica es atípica, el mismo también se ha hallado en un individuo de Chiloé (Horai et al. 1993), en una persona descripta como “de ascendencia Mapuche” (Sala y Corach 2014) y en dos individuos (uno de la Provincia de Córdoba y otro de Buenos Aires) presentados por Catelli et al. (2011) y también puede definirse en base a las mutaciones de esta región como A2f (Van Oven y Kayser 2008).

Cuando se amplía el marco de las comparaciones (ver tabla 11.4 en apéndice) a las poblaciones cosmopolitas y originarias del Cono Sur se observa que la mayoría los linajes hallados en las muestras de los individuos antiguos analizados en esta Tesis también se encuentran en otras poblaciones del Sur de Sudamérica. El linaje D1j está presente en frecuencias considerables en la región Central y Noroeste de Argentina y en baja prevalencia en Cuyo y Mesopotamia. También ha sido detectado en Chile, Uruguay y Sur de Brasil. Los linajes C1 nodal, C1 + 16362C y A2 nodal se detectaron en múltiples poblaciones, tanto de Argentina como de otros países. En cambio, las variedades D4h3a2, D4h3a5, C1 + 16171G, C1 + 16291T, D1g2a y D1g5 parecerían estar restringidas a la Patagonia. Sin embargo, un individuo porta el linaje D1g5 en Córdoba. La variedad nodal D4h3a se observa mayoritariamente en las poblaciones patagónicas (antiguas y actuales), pero también en la provincia de Córdoba, Chile y Bolivia. Por último, el linaje identificado como A2a/A2f se encuentra en diversas poblaciones patagónicas de ascendencia Mapuche y Tehuelche, en dos individuos de muestras cosmopolitas (uno de Córdoba y otro de San Juan) y también ha sido registrado en el Centro-Sur de Chile y Sur de Brasil.

Las muestras FD13 (D1g + 16169T) y MB34 (D1 + 16093C, 16126C y 16259T) no han sido detectados en poblaciones actuales: uno perteneciente al clado D1g y otro al D1. Esto puede demostrar que algunos linajes pudieron perderse con el paso del tiempo o no se han detectado aún, lo cual estaría demostrando las limitaciones que actualmente posee este tipo de estudios

debido a los sesgos de muestreos y puede sugerirse que la diversidad de los grupos precolombinos podría haber sido distintas a la observada actualmente. A su vez, también nos informa sobre la existencia de una importante continuidad de los linajes maternos en el espacio patagónico, ya que la mayoría de ellos existen en poblaciones actuales de la región. Esto también refuerza la idea de la ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre las regiones patagónicas estudiadas a la fecha mediante muestreos de ADN.

Los modelos clásicos de genética de poblaciones han postulado para la especie *Homo sapiens* una correlación entre los niveles de diversidad genética y la distancia geográfica para explicar los patrones de diversidad genética hallada en diferentes continentes (Ramachandran et al. 2005, Rosenberg et al. 2005). Adicionalmente, se ha detectado la importancia de la orientación de los continentes como explicación de las diferencias observadas en la diversidad genética entre diferentes grupos humanos, resaltando la particularidad de que América es el continente de mayor extensión latitudinal (Ramachandran y Rosenberg 2011) y la necesidad de la detección de clines, de barreras biogeográficas y de metapoblaciones para explicar los patrones espaciales observados en el paisaje genético (Manel et al. 2003). Diferentes estudios han analizado la diversidad genética y los niveles de heterocigosidad a través de microsatelites (ADN nuclear) y marcadores uniparentales de las poblaciones nativas americanas detectando una reducción de la misma en sentido Norte-Sur en todo el continente (Wang et al. 2007, Yang et al. 2010). El mecanismo que habría primado para explicar este patrón es el “efecto fundador serial”, en donde la diversidad genética comienza a disminuir a partir del distanciamiento del lugar de origen de la o las poblaciones analizadas (Ramachandran et al. 2005, Lewis Jr et al. 2010). Sin embargo, algunos investigadores han cuestionado este modelo para Sudamérica, ya que el análisis de marcadores genéticos nucleares ha demostrado que factores relacionados con amplios rangos migratorios y de expansión, adaptaciones locales, la direccionalidad de los casamientos y la conquista española afectaron los patrones de diversidad, oscureciendo la posibilidad de inferir patrones de forma clara (Callegari-Jacques et al. 2011). Otros estudios han llamado la atención sobre los procesos de mezcla producidos entre las diferentes regiones y grupos amerindios, lo cual tendería a generar escenarios mucho más complejos a los propuestos por los modelos clásicos (Reich et al. 2012). Adicionalmente, se ha señalado la necesidad de dar cuenta de la historia poblacional de cada región particular a la hora de realizar inferencias sobre

estructuración poblacional, demografía y procesos microevolutivos (Demarchi 2009, Gutenkunst et al. 2009, entre otros).

Para el caso del poblamiento de la Patagonia, la mayoría de los modelos apuntan a la importancia de la deriva génica como forma de explicación de los patrones de diversidad genética encontrados en esta región. En poblaciones modernas se observa hacia el extremo austral del continente una tendencia a la disminución de la frecuencia de los haplogrupos A2 y B2 y un aumento notable de C1, D1 (y su variante D1g) y D4h3a, encontrándose sólo los últimos 4 linajes en latitudes altas (Moraga et al. 2000, Moraga et al. 2010, De Saint Pierre et al. 2012a).

En restos antiguos la situación parecería ser la misma. Los primeros análisis realizados sobre restos esqueléticos antiguos debido a la ausencia de A2 y B2 postularon una combinación de cuellos de botella seguido de aislamiento poblacional para la región (Lalueza et al. 1997 y García-Bour et al. 2004). Posteriormente, Manríquez et al. (2011) detectaron el haplogrupo B en restos de 9.000 años AP (sitio Baño Nuevo 1, Chile), siendo el único registro en muestras antiguas de la Patagonia. Estos autores han planteado un escenario diferente, en donde habrían ingresado diversos linajes, perdiéndose por la acción de la deriva génica durante el Holoceno (Moraga et al. 2000).

En las muestras analizadas aquí no se han encontrado en ninguno de los individuos el haplogrupo B2 y sólo se detectó el haplogrupo A2 en Norpatagonia en una baja frecuencia, en temporalidades tardías y de contacto hispánico indígena. Los datos recabados sostienen la hipótesis que apoyan un cline Norte-Sur, primando los linajes C1, D1, D1g, D1j y D4h3a desde los primeros momentos. Este decrecimiento en la diversidad mitocondrial se encuentra también apoyada por los análisis estadísticos descriptivos realizados (diversidad haplotípica y nucleotídica).

En vista de los antecedentes e hipótesis propuestos, se derivan ciertas cuestiones de los datos presentados y cálculos realizados. El primero de ellos es la alta ocurrencia del haplogrupo B2 en comunidades originarias actuales de la Patagonia Septentrional. Si el escenario propuesto por los análisis de ADN, en donde primaron C1, D1, D1g y D4h3a desde tiempos muy tempranos es el correcto, debe poder explicarse la presencia de las altas frecuencias de B2 demostrada por los muestreos en las poblaciones modernas de Norpatagonia por migraciones

relativamente recientes. A este respecto, señala Boccara (1999) que a partir del Siglo XVI las poblaciones del Centro-Sur de Chile comenzaron un gran proceso de dispersión transcordillerano debido a la presión de la corona española y su accionar bélico, y al gran incentivo económico que significaban las rutas comerciales que derivaban en las regiones de Cuyo, Norpatagonia y Pampeana. Señala el autor que:

“...La primera gran maloca indígena en la provincia de Cuyo se registra en 1650, y durante las décadas siguientes vuelven a ocurrir en la zona de Mendoza. Ya para las últimas décadas del siglo se nota la existencia de algunos asentamientos indígenas al este de la cordillera, y a principios del siglo dieciocho se afianza un complejo sistema económico-guerrero (la maloca) que supone la unión y colaboración de varias etnias a través de un territorio que se extiende del Pacífico al Atlántico. Los mapuche cruzaban la cordillera en busca de la sal e iban tejiendo una red de relaciones políticas, matrimoniales y económicas con los pueblos de la Pampa y del norte de la Patagonia... tenemos aquí un interesante proceso de mestizaje interétnico que queda todavía por estudiar.” (Boccara 1999, pág: 442).

Esta información histórica estaría indicando que grandes contingentes de personas provenientes del Centro-Sur de Chile estaban ingresando y mezclándose con las poblaciones de Norpatagonia, las cuales posiblemente portaban un acervo mitocondrial diferente. Esto podría explicar la alta incidencia del linaje B2 y B2i en la región descrita por De Saint Pierre et al. (2012a) en poblaciones actuales (y su ausencia en las antiguas aquí analizadas) y proveer una explicación alternativa para la alta diversidad haplotípica calculada para el mismo en esta tesis. Adicionalmente, también sería una explicación plausible para la presencia de A2 en las muestras antiguas aquí registradas, las cuales tienen poca profundidad temporal.

Con respecto a la estructura social de los grupos Mapuche, Boccara señala que:

“... la unidad social más fundamental era la ruca (casa), en la cual solía habitar un señor con su esposa o sus esposas, además de sus hijas e hijos solteros. Ocasionalmente algunos de los hijos varones casados y su prole permanecían en la casa del padre, haciendo en este caso de la ruca el lugar de habitación de la familia polígama extendida... el siguiente "nivel" era el caserío, generalmente compuesto por 4 a 9 ruca. Teóricamente, los miembros masculinos de cada caserío pertenecían a un mismo linaje... Los reche centrales practicaban la residencia

virilocal, es decir, después de casarse, una pareja establecía su residencia en el caserío de la familia del esposo. Pero el hecho de que sólo los hijos varones nacidos del matrimonio primario (y entre ellos el primogénito era el preferido) obtuvieran por derecho de sucesión las cargas y títulos de su padre, permite suponer que sólo estos hijos permanecían en su caserío de origen después de casarse...” (Boccaro 1999, pág: 429).

Esto indica, además de la importancia del movimiento migratorio que significó para Norpatagonia el denominado “proceso de araucanización”, que los patrones de movilidad masculino y femenino habrían sido diferentes. Este hecho está relacionado con la segunda cuestión llamativa hallada en esta tesis, que el grado de diferenciación genética interregional de los linajes mitocondriales no fue significativo, a pesar de la gran amplitud del espacio patagónico.

Según la información y los modelos arqueológicos explicitados anteriormente, sería un escenario proclive para que ocurrieran divergencias poblacionales, y por ende, se encontrara diferencias genéticas significativas entre las regiones muestreadas (Borrero 1989-1990, Borrero 1996). El marco de referencia planteado por la mayoría de los arqueólogos en cuanto al poblamiento de Patagonia propone que la disponibilidad de territorios para colonizar y explotar en la región aparecieron luego de la desglaciación hace aproximadamente 14.000 AP y se registra presencia humana segura hace 12.000 AP en diversos ambientes. Si bien hubo sectores que pudieron estar intransitables (relacionados con espacios inmediatos a la cordillera o mesetas altas), había otros por los que la dispersión era posible, combinando procesos de fisión de bandas con ampliación de radios de caza y una forma de distribución de grupos humanos (Borrero 1989-1990, Borrero 2001a, Miotti y Salemme 2004) en donde una perspectiva metapoblacional con movimiento multidireccionales dependiente de la disponibilidad de recursos (sobre todo agua dulce) habría generado una jerarquía de espacios a ocupar hasta tiempos históricos. Dichos grupos humanos están caracterizados como cazadores-recolectores de un bajo número de integrantes y con grandes circuitos de movilidad logística hasta fines de Holoceno. Si bien algunos han detectado un aumento demográfico en algunas áreas hacia el Holoceno Tardío (Goñi et al. 2004, Borrero et al. 2008, 2009 y 2010, Favier Dubois 2013, Martínez et al. 2013), en general existe un consenso de una muy baja demografía para toda la Patagonia y la ausencia de pobladores para algunos sectores particulares del espacio (o sólo visitados ocasionales), lo cual

estaría vinculado a la poca oferta de recursos o a condiciones climático-geográficas adversas para el establecimiento humano, las cuales fueron fluctuantes (Borrero 2001a).

Teniendo esto en consideración, se puede plantear un escenario explicativo de la ausencia de diferenciación genética. Si aceptamos la propuesta de la fuerte presencia de deriva al momento del ingreso de las primeras poblaciones a la región, la cual habría reducido la variabilidad mitocondrial inicial a sólo unas pocas variantes y consideramos que estos grupos poseían una muy baja demografía hasta el Holoceno Tardío, puede ser probable que bajos niveles de variación genética mitocondrial fueran la regla. En este contexto pueden darse casos de lo que Borrero (1989-1999 y 1996) llamó “vicariancia” (concepto que remite al proceso de especiación alopátrica, pero el autor lo utiliza para dar cuenta de la generación de nuevas variantes tecnológicas a través de efecto fundador), pero desde el punto de vista biológico es probable que fuera difícil mantener niveles sustentables de viabilidad biológica por milenios en grupos tan pequeños y separados por la fragmentariedad ambiental propuesta.

Si bien esto puede ser verdad para los primeros momentos del poblamiento, el registro arqueológico demuestra amplios radios de movilidad logística (Miotti y Salemme 2003, Miotti 2003) la cual es avalada, por ejemplo, en las diferentes evidencias arqueológicas de contacto entre sectores costeros e interiores (Gómez Otero et al. 1998, Orquera y Gómez Otero 2007), por lo que es difícil sostener que muchos de estos grupos o metapoblaciones se mantuvieran completamente aislados el tiempo suficiente como para generar una diferenciación biológica de magnitud. Hacia el Holoceno Tardío, que es cuando el registro arqueológico demuestra indicios crecimiento poblacional, comienzan a registrarse contactos entre muchos sectores patagónicos.

Diversas investigaciones a través del análisis de elementos traza en artefactos líticos han demostrado contacto entre diferentes sectores del espacio. Por ejemplo, la dispersión de clases de obsidiana provenientes de diferentes fuentes ha demostrado contactos entre distintos sectores de la Patagonia: en la costa Norte de Chubut Gómez Otero y Stern (2005) identificaron obsidias de Telsen (Nordeste de Chubut), Sacanana (Centro-Norte de Chubut) y Pampa de Asador (Noroeste de Santa Cruz); en la costa Norte de Santa Cruz Caracotche et al. (2005) demostraron la presencia de obsidias precedentes de Pampa del Asador, Seno de Otway (Sur de archipiélagos chilenos) y Sierra Baguales (Región de Magallanes, Chile); en el Golfo de San Matías diversos sitios estudiados por Favier Dubois et al. (2009) presentaron obsidias

procedentes de Telsen, Sacanana, Somuncurá (Centro-Sur de Río Negro) y del Lago Lolog (Suroeste de Neuquén). Así mismo una cantera de obsidiana recientemente analizada por López et al. (2010) y Stern et al. (2012) ubicada en el centro de Neuquén parecería haber proveído su materia prima a diferentes sitios del Sur de Chile, Chubut, Río Negro y la Pampa, al menos durante los últimos 4.000 años. A su vez, análisis isotópicos de algunos individuos del Holoceno Tardío estarían demostrando posibles dietas mixtas, lo cual fue interpretado por algunos investigadores como evidencia de movimientos o contactos entre sectores costeros e interiores para algunos sectores de Patagonia (Tessone et al. 2005, Borrero y Barberena 2006, Martínez et al. 2009, Moreno et al. 2011), aunque Borrero et al. (2009b) han planteado una circunscripción espacial para el uso de comida marina en relación a la distancia de la costa sugiriendo niveles de movilidad más restringidos para el Sur de Patagonia. Sin embargo, al Sur de Santa Cruz, Carballo Marina et al. (2011) realizaron prospecciones en la cuenca del Río Coyle, el cual posee ocupación temporalmente tardía, y a través del hallazgo de restos de moluscos procedentes del océano Atlántico a más de 400 kilómetros de su lugar de procedencia, propusieron una alta movilidad residencial para las poblaciones del Sur de esta Provincia.

Adicionalmente, las regiones andinas de Norpatagonia comienzan a registrar un aumento en su dinámica poblacional y circulación de objetos, lo cual queda evidenciado en los motivos cerámicos compartidos hallados en diversos sitios de Neuquén y Río Negro y algunas regiones de Chile (Pérez y Reyes 2009, Pérez 2010) y en la presencia de moluscos marinos de origen pacífico y atlántico en sitios del Suroeste de Neuquén, posiblemente desde el Holoceno Medio (Silveira et al. 2010), proceso que se incrementaría aún más en épocas de contacto hispano indígenas (Hajduk y Albornoz 1999).

Recientemente, Borrero et al. (2011) realizaron una re-evaluación de los grupos étnicos conocidos etnográficamente para el Sur de la Patagonia (Aonikenk y Kaweskar), llegando a la conclusión de que la división realizada comúnmente en base a su forma de vida característica (cazadores recolectores terrestres y marítimos, respectivamente) es en realidad una visión sobresimplificada. Según los autores, la información moderna no permite de forma sencilla establecer la pertenencia entre los diferentes grupos, ya que muchos sitios costeros muestran recursos terrestres y muchos sitios terrestres poseen valores isotópicos o restos culturales típicos de contextos marinos, creando patrones poco claros para la distinción. Esto puede deberse a que

estos grupos eran muy dinámicos socialmente y posiblemente poseyeran sistemas de visitas, intercambio de información y bienes y la búsqueda pareja o casamientos con otros grupos, siendo proclive la formación de grupos culturales mezclados y socialmente abiertos a nivel supra-regionales. Este sistema de interacción habría comenzado a funcionar hace 2.000 años AP. De ser cierta esta posibilidad, podría pensarse si este esquema no es también aplicable a ciertos sectores de Norpatagonia o para los grupos más septentrionales.

Sin lugar a dudas, todo este cúmulo de información generada en los últimos años a partir del hallazgo y estudio de los restos arqueológicos permite pensar en la existencia de redes de comunicación/intercambio, que muy probablemente conllevaron episodios de flujo génico a nivel supra regional desde momentos tempranos entre diferentes sectores de la Patagonia, el cual se habría incrementado a partir de los últimos 4.000-3.000 años AP. De aceptar estos postulados como ciertos, dicho flujo génico entre diferentes sectores de la Patagonia se habría efectuado a partir de un conjunto muy pequeño de variantes mitocondriales y de origen común relativamente reciente, y podría haber tendido con el correr de los milenios a lograr una suerte de “homogenización”, dando como resultado que la mayoría de los grupos compartieran muchos haplotipos, pero poseyendo alguno de ellos variedades privativas propias de la región, no siendo suficientes estos últimos para diferenciarlos significativamente. A partir del siglo XVII y como producto de las grandes migraciones desde la Araucanía, el acervo genético mitocondrial de Norpatagonia podría haberse modificado. Esta suposición se basa en las variedades mitocondriales halladas en grupos originarios actuales y que están ausentes en las muestras antiguas.

Se desprende de estos postulados la necesidad de aumentar el número de individuos y regiones analizadas y analizar además, muestras más antiguas para avalar estos postulados, ya que todos los individuos analizados en la presente tesis que poseen fechados radiocarbónicos se ubican temporalmente en el Holoceno Tardío.

8.4. Aportes de los resultados en relación a otras disciplinas.

Los antecedentes expuestos en esta tesis (capítulo 2) han planteado las hipótesis propuestas por diferentes líneas de estudio que investigan el proceso de poblamiento de América. Desde la década de 1990 el estudio del ADNmt en poblaciones actuales de grupos originarios ha demostrado ciertas discrepancias con estas propuestas, las cuales se encuentran avaladas por los estudios de ADNn de los últimos años. En la actualidad todos los análisis realizados desde este tipo de registro están indicando que el continente americano fue poblado hace aproximadamente unos 17.000-14.000 años AP con linajes mitocondriales derivados y diferentes de los asiáticos y que posteriormente evolucionaron en el continente generando nuevas variedades propias de ciertas regiones americanas.

Las hipótesis que proponen diferentes oleadas migratorias para explicar la diversidad lingüística (Greenberg 1987) no se condicen con los modelos planteados desde la genética y además poseen ciertos problemas metodológicos (como casos de préstamos lingüísticos o de extinciones poblacionales) que hacen difícil poder estudiar con este tipo de datos procesos con tanta profundidad temporal.

Asimismo, las propuestas realizadas desde la craneometría poseen otras dificultades. El modelo de dos stocks poblacionales o componentes biológicos planteado por diferentes investigadores (Neves et al. 2003, Neves et al. 2004, Pucciarelli 2004, Neves y Hubbe 2005, Neves et al. 2007, Pucciarelli 2009, Hubbe et al. 2010, Hubbe et al. 2011) que propone la presencia de dos oleadas migratorias temporalmente diferentes (14.000 y 10.000 años AP) para explicar la presencia de características no mongoloides (australoides y africanas) y mongoloides o “derivadas” y acudiendo a la noción de reemplazo poblacional de la segunda por la primera en tiempos holocénicos no encuentra correlato en el estudio de la diversidad del ADNmt. Sumado a esto, los recientes análisis realizados en diferentes restos humanos tempranos que portan el perfil y/o pertenecen a la temporalidad pre-mongoloide han demostrado la presencia de variedades mitocondriales típicamente amerindias y descriptas en poblaciones actuales. Este es el caso de los restos tempranos del xenote de Yucatán (fechaado entre 12.910-11.750 cal AP y que posee el linaje mitocondrial D1), del niño Clovis del sitio Anzick (fechaado entre 12.707 y 12.556 cal AP, el cual posee el linaje mitocondrial fundador D4h3a) y del hombre de Kennewick (fechaado entre

9.200 y 8.340 cal AP) el cual demostró la presencia del linaje X2a (Rasmussen et al. 2015). Estos resultados estarían indicando la presencia de los linajes propuestos como fundadores en los restos humanos más tempranos de América, los cuales se generaron en Beringia y se encuentran presentes en todo el continente, demostrando que ambos perfiles (paleoamericano y nativos americanos) derivan de una misma población ancestral.

Colateralmente, los análisis craneométricos realizados por Pucciarelli et al. (2010) en restos del Holoceno Temprano y Medio de diversos sitios de la región pampeana han demostrado que los cambios de una morfología por otra puede deberse a presencia de factores aleatorios y no aleatorios como generadores de los cambios morfológicos y no a la presencia de un reemplazo poblacional. Algunos de esos individuos poseen análisis genéticos (Figueiro y Sans 2007) y al comparar estos resultados con los perfiles craneométricos, Pérez et al. (2009) concluyeron que la variación morfológica del centro-este de Argentina no se correlaciona con las diferencias del ADNmt y que si bien los valores craneales antiguos y modernos difieren, presentan los mismos haplogrupos mitocondriales. A partir de estos hechos puede postularse que las discrepancias craneométricas son mejor explicadas por cambios evolutivos posteriores a la divergencia en Beringia y la activación de factores aleatorios y no aleatorios (Pérez 2011) o al diferente mecanismo de herencia del ADNmt y los rasgos craneométricos (Pérez et al. 2009).

Este último planteo estaría avalado por algunos de los resultados obtenidos en esta tesis. Para el Golfo de San Matías, Favier Dubois et al. (2009) a partir de la variación de los valores isotópicos y del registro artefactual han propuesto dos períodos continuados de ocupación humana: uno que va desde *ca.* 5.000 a los 2.200 años AP y se caracteriza con un intenso aprovechamiento de los recursos marinos, y otro que va desde los *ca.* 1.500 hasta los 400 años AP caracterizado por una utilización baja de los recursos marinos, apareciendo señales de dietas y explotación de especies terrestres hasta el abandono de la región en el siglo XVIII. Cobos et al. (2014) analizaron la variación morfológica facial y de la base del cráneo, observando que en la primera se perciben cambios relacionados con la propuesta de dos períodos de ocupación humana. Sin embargo, los resultados obtenidos para la base del cráneo arrojaron resultados diferentes, apoyando la continuidad de estas poblaciones. Según los investigadores, esta discrepancia en los resultados del estudio de regiones diferentes del cráneo estaría demostrando que los rasgos faciales se encuentran más relacionados con factores ambientales (cambio en la

dieta), mientras que la base del cráneo es un mejor indicador de la historia poblacional a nivel regional. Algunos de estos individuos pertenecientes a los diferentes momentos planteados anteriormente fueron estudiados en esta tesis, encontrándose la continuidad de los linajes D1j y D1g. Adicionalmente, casi todas las variedades mitocondriales encontradas en los individuos antiguos de esta región fueron halladas en poblaciones nativas actuales.

Con respecto a las hipótesis arqueológicas, la principal consecuencia que se desprende del estudio del ADNmt es la mayor profundidad temporal propuesta para el poblamiento (*ca.* 17.000-14.000 años AP, dependiendo del autor), la cual se encuentra estimada a partir del cálculo del tiempo de coalescencia de los diferentes linajes. La misma es superior a la propuesta por el modelo “*Clovis first*” (Fiedel 2000) y se encuentra más acorde con los sitios tempranos pre Clovis mas aceptados hasta el momento, los cuales poseen temporalidades similares. Adicionalmente, a partir de la frecuencia, temporalidad y ubicación geográfica del linaje D4h3a en poblaciones actuales y antiguas, la ruta de la primera dispersión parecería ser el litoral pacífico, hecho que contrasta aún más con los postulados del modelo Clovis.

Para Sudamérica, si bien no existe aún la formulación de un modelo explicativo general de su poblamiento que integre múltiples líneas de investigación, toda la información del ADNmt estaría apoyando el escenario de dispersión propuesto por algunas hipótesis arqueológicas (Dillehay 1999, Rothhammer y Dillehay 2009) en donde el ingreso inicial se habría dado en el rango de *ca.* 18.000-14.000 años AP y la ruta de ingreso hasta el Cono Sur habría sido el litoral pacífico, lo cual se encuentra avalado inicialmente por la dispersión de los linajes D1g, D1j y D4h3a (Perego et al. 2009, Bodner et al. 2012). Sin embargo, a partir de los hallazgos realizados en esta tesis de esos mismos linajes en el litoral atlántico puede plantearse la posibilidad de una ruta oriental de dispersión, por lo menos para la región patagónica. Esta posibilidad ya había sido esbozada por Miotti (2006), quien basándose en la importancia y cantidad de recursos que dicho sector costero posee propuso que fue un corredor desde los primeros momentos de poblamiento. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que si la cordillera de los Andes fue una barrera permeable desde momentos tempranos, puede también postularse un ingreso y dispersión temprana de los grupos humanos, llegando a algunos sectores de la Patagonia, y que luego fueron “dispersándose” por la movilidad y el flujo génico de los primeras poblaciones, lo cual es concordante con el modelo propuesto por Bodner et al. (2012).

Capítulo 9: Conclusiones.

En esta tesis se han expuesto los principales antecedentes e hipótesis sobre el poblamiento de América y la Patagonia Argentina. Estas investigaciones han intentado responder las preguntas respecto a la cantidad de oleadas migratorias, la temporalidad de las dispersiones iniciales, el origen geográfico de los grupos y en el caso de los acercamientos desde la biología, la diversidad biológica de los primeros migrantes.

En la actualidad existe un fuerte consenso sobre el origen poblacional asiático de las poblaciones nativas americanas, el cual se encuentra apoyado desde las diferentes evidencias que estudian este proceso. En los últimos años la revisión de muchas propuestas y teorías desde diferentes líneas de evidencia han demostrado las dificultades de continuar aceptando el paradigma Clovis como única forma de explicación del poblamiento de América y han cuestionado la aplicabilidad de sus supuestos a todo el continente. Sin embargo, el origen poblacional asiático y al menos una de las rutas propuestas (el corredor Alberta) continúan siendo avaladas, estando en el centro de la discusión la temporalidad propuesta por dicho modelo (la cual sería más temprana según el registro biológico y arqueológico, si se aceptan los sitios tempranos sudamericanos).

Los estudios craneométricos y genéticos han calculado a través del análisis de la variabilidad biológica de poblaciones antiguas y actuales una dispersión inicial más temprana que la supuesta desde el registro arqueológico. Sin embargo, existe aún una discrepancia en la cantidad de migraciones que propone cada una de estas teorías y sobre todo, en los niveles de variación biológica existente en los primeros grupos humanos que ingresaron al continente. En los últimos años, diversos trabajos han puesto en duda los análisis craneométricos enfocados a estudios de poblamiento y de continuidad o discontinuidad poblacional, ya que diversas investigaciones han demostrado la posibilidad de la alteración o influencia por el accionar del ambiente y de factores aleatorios y no aleatorios, de la conformación de los diferentes sectores del cráneo.

Para el caso de la Patagonia, son pocos los modelos de poblamiento propuestos que analicen múltiples líneas de evidencia, siendo escasa aún la utilización de datos genéticos y la

generación de hipótesis a partir del marco teórico de la genética de poblaciones. Los modelos arqueológicos presentados y generados a través del estudio de sitios tempranos y las condiciones geológicas y ecológicas imperantes durante el poblamiento de la región han avalado un modelo de ocupación del espacio desde de la disponibilidad ambiental de los diferentes sectores de la región y la posibilidad ecológica (principalmente condiciona por la presencia de agua) de mantener poblaciones humanas de manera relativamente estable planteando una jerarquía de espacios posibles de ser ocupados. Este modelo ha propuesto una demografía baja por lo menos hasta el Holoceno Tardío y un patrón de dispersión de tipo metapoblacional. Sin embargo, no se ha podido establecer aún el origen y la direccionalidad migratoria de las poblaciones que ocuparon la región desde tiempos tempranos ni comprobar la continuidad poblacional de la o las misma.

Por medio de técnicas moleculares se logró recuperar, a partir de muestras de restos esqueléticos humanos procedentes de diversos sectores de la Patagonia argentina, ADNmt de 27 de los 50 individuos analizados. Se pudieron tipificar los haplogrupos A, C y D, con temporalidades que abarcan un lapso desde los *ca.* 3.100 a los 400 años AP, para aquellos que disponen de fechados radiocarbónicos. Adicionalmente, en 23 de las 27 muestras pudo obtenerse secuencias de la RHV-1 del ADNmt, demostrando la presencia de los linajes A2, C1, D1 (con las variedades D1g y D1j) y D4h3a, estando ausente B2.

Se observó una distribución diferencial de los linajes: Norpatagonia andina presentó los linajes A2, C1 y D4h3a, Norpatagonia costera demostró poseer los mismos linajes, añadiendo el D1, D1g y D1j, siendo estos dos últimos exclusivamente costeros. La costa de Santa Cruz posee los linajes C1, D1j y D4h3a, estando en Ushuaia solo C1 y D4h3a. La diversidad haplotípica y nucleotídica calculada para cada sector analizado se comparó con la presente en grupos actuales, observándose similares niveles de diversidad, siendo siempre menor en los grupos ubicados más al Sur, lo cual apoyaría las propuestas esbozadas en favor del accionar de la deriva génica produciendo un cline de reducción de la variabilidad genética en sentido Norte-Sur. Adicionalmente, este cálculo realizado para cada haplogrupo, incluyendo los individuos antiguos y modernos, demostró que B2 y D1 (y sus variedades D1g y D1j) poseían los mayores niveles de diversidad haplotípica, pero la nucleotídica fue mayor en el último de estos linajes, lo que estaría indicando que si bien, ambos poseen un similar número de haplotipos, la diversidad dentro de las

secuencias analizadas es mayor en D1. Este hecho avalaría la idea de la importancia de D1g en las poblaciones patagónicas y su alta diversidad (la cual implica una gran profundidad temporal) estaría demostrando su posición como linaje fundador dentro de la filogenia patagónica. Por su parte, C1 y A2 fueron los linajes menos diversos a nivel haplotípico y nucleotídico.

Las pruebas estadísticas realizadas demostraron que, por el momento y con la información disponible en cuanto al ADNmt, no existen diferencias significativas de diferenciación biológica entre las poblaciones analizadas, y no se ha encontrado estructuración poblacional. A su vez, se verificó una baja correlación entre la distancia genética y geográfica de cada individuo antiguo analizado. Esto podría explicarse debido a la amplia movilidad de los grupos cazadores recolectores, redes de intercambio/flujo génico a grandes distancias y muy posiblemente, a un tipo de organización exogámico y posiblemente patrilocal similar al observado en grupos nativos de la época de contacto e informado por diversos etnohistoriadores. Dentro de este marco, las mujeres, las cuales son las que transmiten el ADNmt podrían ser la que se diseminaron por diferentes espacios patagónicos a partir de una cantidad pequeña de variación genética original, la cual seguramente esta relacionada a la baja demografía imperante hasta tiempos hispánicos.

Sólo 2 haplotipos de los 23 observados no fueron hallados en poblaciones actuales. Los restantes se encuentran distribuidos en poblaciones nativas de la región, tanto de Argentina como de Chile. Adicionalmente, alguno de ellos se identificaron en poblaciones cosmopolitas del Centro y Noroeste de Argentina y en algunos países limítrofes como Uruguay y Sur de Brasil. Esto estaría demostrando por un lado, cierta continuidad poblacional, y por otro, la pérdida de algunos linajes patagónicos o problemas vinculados al muestreo.

Los datos aquí recabados son compatibles con ciertas expectativas derivadas de los modelos de poblamiento en cuanto a la frecuencia y distribución de ciertas variedades mitocondriales. Se han hallado en las muestras analizadas la mayoría de los linajes propuestos como fundadores para América en general (A2, C1, D1 y D4h3a) y para Sudamérica y la Patagonia en particular (D1g y D1j). Sin embargo, la distribución precolombina de los mismos parece ser diferente, observándose una tendencia costera pacífica de éstos últimos clados. Este hecho podría estar indicando dos escenarios explicativos: una migración temprana pacífica portando unos pocos linajes fundadores, la cual posteriormente cruzó la cordillera, asentándose

algunos grupos (y consigo estos linajes) es sectores atlánticos, habiendo flujo en sentido longitudinal. Esto encuentra sustento en la afinidad que poseen los grupos nativos de uno y otro lado de la cordillera, al compartir muchos linajes idénticos. Otra posibilidad que no excluye la anterior, es la migración desde el Centro-Norte de Argentina, la cual habría culminado en una ruta costera atlántica al ingreso a la Patagonia Argentina, esto explicaría la presencia en las muestras antiguas portadoras de muchos clados compartidos con poblaciones actuales de la región del NOA y Centro.

Posteriormente, en Norpatagonia parecería haber existido un gran proceso dispersivo relacionado con la araucanización. Las muestras antiguas analizadas y las disponibles en bibliografía (excepto por el sitio temprano Baño Nuevo 1 en Chile) indican la ausencia de los linajes A2 y B2. La misma puede explicarse por el efecto de deriva propuesto por diferentes autores. Sin embargo, los grupos nativos actuales poseen una frecuencia considerable de esta variedad, la cual parece haberse originado en la región y fue bautizada como B2i, estando presente en poblaciones de Chile y Argentina. Desde momentos tempranos el registro arqueológico ha demostrado que la cordillera fue una barrera permeable, por lo que puede suponerse que el flujo siempre fue una posibilidad. Además, las fuentes históricas muestran que a partir del siglo XVII importantes migraciones de sentido Oeste-Este debido a la presión que provocaba la corona española en los grupos araucanos y por el aprovechamiento de rutas comerciales. Esto podría explicar la presencia del linaje B2i en los grupos actuales y su ausencia en las muestras antiguas.

De todas maneras, aún son pocos los individuos analizados y la cobertura espacial y temporal no es completa. Por otra parte, los individuos aquí analizados pertenecen al Holoceno Tardío, por lo cual pueden no representar de manera adecuada la diversidad genética inicial de los grupos patagónicos. Por este motivo, resulta necesario en un futuro ampliar los marcos temporales para comprender la dinámica poblacional del pasado.

La futura ampliación de este tipo de investigaciones permitirá una mejor comprensión del complejo proceso de poblamiento de la Patagonia Argentina. Con el incremento del número de individuos estudiados, por un lado y la incorporación de muestras temporalmente previas al Holoceno Tardío por otro, se espera obtener datos sobre la diversidad genética inicial de los grupos patagónicos y la dinámica poblacional de los grupos que en el pasado poblaban la región.

Bibliografía citada.

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

Abramson, G. Laguna, M. Kuperman, M. Monjeau, A. y Lanata, J. 2015. On the roles of hunting and habitat size on the extinction of megafauna *Quaternary International*, in press.

Aceituno, F. y Loaiza, N. 2014. The role of plants in the early human settlement of Northwest South America. *Quaternary International*, 363: 20-27.

Achilli, A. Perego, U. Bravi, C. Coble, M. Kong, Q. Woodward, S. Salas, A. Torroni, A. y Bandelt, H. 2008. The phylogeny of the four pan-american mtDNA haplogroups: implications for evolutionary disease studies. *Plos One*, 3: e1764.

Achilli, A. Perego, U. Lancioni, H. Oliveri, A. Gandini, F. Anger Hofer, N. Rogers, M. Herrera, R. Woodward, S. Labuda, D. Glenn Smith, D. Cybulski, J. Semino, O. Malhi, R. y Torroni, A. 2013. Reconciling migration models to the Americas with the variation of North American native mitogenomes. *Proceeding of the National Academy of Science*, 110: 14308-15313.

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.

Aleaddini, R. 2012. Forensic implications of PCR inhibition- a review. *Forensic Science International: Genetics*, 6: 297-305.

Alroy, J. 2001. A multispecies overkill simulation of the end Pleistocene megafaunal mass extinction. *Science*, 292: 1893-1896.

Al-Soud, W. y Radstrom, P. 2000. Effects of amplification facilitators on diagnostic PCR in the presence of blood, feces and meat. *Journal of Clinical Microbiology*, 12: 4463-4470.

Álvarez-Iglesias, V. Jaime, J. Carracedo, A. y Salas, A. 2007. Coding region mitochondrial DNA SNP's: Targeting East Asian and Native American haplogroups. *Forensic Science International: Genetics*, 1: 44-55.

Alves-Silva, J. da Silva Santos, M. Guimaraes, P. Ferreira, A. Bandelt, H. Pena, S. y Ferreira Prado, V. 2000. The ancestry of brazilian mtDNA lineages. *American Journal of Human Genetic*, 67: 444-461.

Anderson, S. Bankier, A. Barrell, B. De Bruijn, M. Coulson, A. Drouin, J. Eperon, I. Nierlich, D. Roe, B. Sanger, F. Schreier, P. Smith, A. Staden, R. y Young, I. 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 290: 457-465.

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

Anderson, D. 2010. *Human settlement in the New World: multidisciplinary approaches, the "Beringian" standstill, and the shape of things to come*. In: Auerbach, B (Eds.). Human Variation in the Americas: The Integration of Archaeology and Biological Anthropology. Center for Archaeological Investigation, Occasional paper No. 38. Southern Illinois University. Pp: 311-346.

Anderson, D. Bissett, T. y Yerka, S. 2013. *The Late-Pleistocene Human Settlement of Interior North America: The Role of Physiography and Sea-Level Change*. Paleoamerican Odyssey, Center for the Study of the First Americans, College Station, 183-203.

- 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.
- Aranda, C. Barrientos, G. y Del Papa, M. 2014. Código deontológico para el estudio, conservación y gestión de restos humanos de poblaciones del pasado. *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 16: 111-113.
- Ariztegui, D. Gilli, A. Anselmetti, F. Goñi, R. Belardi, J. y Espinosa, S. 2010. Lake-level changes in central Patagonia (Argentina): crossing environmental thresholds for late glacial and Holocene human occupation. *Journal of Quaternary Science*, 25: 1092-1099.
- Austin, J. Ross, A. Smith, A. Fortey, R. y Thomas, R. 1997a. Problems of reproducibility –does geologically ancient DNA survive in amber-preserved insect? *Proceeding of the Royal Society of London Biology*, 264: 467-474.
- Austin, J. Smith, A. y Thomas, R. 1997. Paleontology in a molecular world. The search for authentic ancient DNA. *Tree*, 12:303-306.
- Avena, S. Goicoechea, A. Bartomioli, M. Farnández, V. Cabrera, A. Dugoujon, J. Dejean, C. Fabrykant, G. y Carnese, R. 2007. Mestizaje en el Sur de la región pampeana (Argentina). Su estimación mediante el análisis de marcadores proteicos y moleculares uniparentales. *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 9: 56-76.
- Avena, S. 2011. ¿Cómo está compuesta la población argentina? *Lo que nos dice la antropogenética*. En "Darwin en el sur, ayer y hoy". Compilado por Alicia Massarini. 1a ed. Buenos Aires: Libros del Rojas. Pp. 80-88 de 221 p. ISBN 978-987-1075-94-2. Universidad de Buenos Aires.
- Avena, S. Via, M. Ziv, E. Pérez-Stable, E. Gignoux, C. Dejean, C. Huntsman, S. Torres-Mejía, G. Dutil, J. Matta, J. Beckman, M. Gonzalez Buchard, E. Parolin, M. Goicoechea, A. Acreche, N. Boquet, M. Ríos Part, M. Fernández, V. Rey, J. Stern, M. Carnese, R. y Fejerman, L. 2012. Heterogeneity in Genetic Admixture across Different Regions of Argentina. *Plos One*, 7: 1.
- Awadalla, P. Eyre-Walker, A. y Smith, J. 1999. Linkage disequilibrium and recombination in hominid mitochondrial DNA. *Science*, 286: 2524-2525.
- Baca, M. Doan, K. Sobczyk, M. Stankovic, A. y Weglenski, P. 2012. Ancient DNA reveals kinship burial patterns of a pre-Columbian Andean community. *BMC Genetics*, 13: 30.
- Baillet, G. Rothhammer, F. Carnese, F. Bravi, C. y Bianchi, N. 1994. Founder mitochondrial haplotypes in Amerindian populations. *Journal of Human Genetics*, 54: 27-33.
- Ballard, J. y Whitlock, M. 2004. The incomplete natural history of mitochondria. *Molecular Ecology*, 13: 729-744.
- Balloux, F. Handley, L. Jombart, T. Lui, H. y Manica, A. 2009. Climate shaped the worldwide distribution of human mitochondrial DNA sequence variation. *Proceeding of the Royal Society of Science*, 276: 3447-3455.
- Bandelt, H. Forster, P. and Röhl, A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology Evolution*, 16:37-48.
- Bandelt, H. Lahermo, P. Richards, M. y Macaulay, V. 2001. Detecting errors in mtDNA data by phylogenetic analysis. *International Journal of Legal Medicine*, 115: 64-69.
- Bandelt, H. Quintana-Murci, L. Salas, A y Macaulay, V. 2002. The fingerprint of phantom mutations in mitochondrial DNA data. *American Journal of Human Genetics*, 71: 1150-1160.
- Bandelt, H. Herrnstadt, C. Yao, Y. Kong, Q. Kivisild, T. Rengo, C. Scozzari, R. Richards, M. Villems, R. Macaulay, V. Howell, N. Torroni, A. y Zhang, Y. 2003. Identification of Native American founder mtDNAs through the analysis of complete mtDNA sequences: some caveats. *Annals of Human Genetics*, 67: 512-524.

- Bandelt, H. Salas, A. y Lutz-Bonengel. 2004. Artificial recombination in forensic mtDNA population database. *International Journal of Legal Medicine*, 118: 267-273.
- Bandelt, H. Salas, A. y Bravi, C. 2006. What is a “novel” mtDNA mutation – and does “novelty” really matter? *Journal of Human Genetics*, 52: 1073-1082.
- Barbeito-Andrés, J. Pucciarelli, H y Sardi, M. 2011. An ontogenetic approach to facial variation in the three Native American populations. *Journal of Comparative Human Biology*, 62:56-67.
- Barberena, R. Prates, L. y De Porras, M. 2015. The human occupation of North Western Patagonia (Argentina): paleoecological and chronological trends. *Quaternary International*, 356: 111-126.
- Barbieri, C. Heggarty, P. Castri, L. Luiselli, D. y Pettemer, D. 2011. Mitochondrial DNA variability in the Titicaca basin: matches and mismatches with linguistics and ethnohistory. *American Journal of Human Biology*, 23: 89-99.
- Barbosa, A. da Silva, L. Azevedo, D. Balbino, V. y da Silva, M. 2008. Mitochondrial DNA control region polymorphism in the population of Alagoas State, North-Eastern Brazil. *Journal of Forensic Science*, 53: 142-146.
- Barnes, I. Matheus, P. Shapiro, B. Jensen, D. y Cooper, A. 2002. Dynamics of Pleistocene population extinctions in Beringian brown bears. *Science*, 295: 2267-2270.
- Barta, J. Monroe, C. y Kemp, B. 2013. Further evaluation of the efficacy of contamination removal from bone Surface. *Forensic Science International*, 231: 340-348.
- Barta, J. Monroe, C. Teisberg, J. Winters, M. Flanigan, K. y Kemp, B. 2014. One of the key characteristics of ancient DNA, low copy number, may be product of its extraction. *Journal of Archaeological Science*, 46: 281-289.
- Bartolomé, M. 2003. Los pobladores del “desierto”, genocidio, etnocidio y etnogénesis en la Argentina. *Cuadernos de Antropología Social*, 17: 162-189.
- Beauval, C. Maureille, B. Lacrampe-Cuyaubère, F. Serre, D. Peressinotto, D. Bordes, J. Cochard, D. Couchoud, I. Dubrasquet, D. Laroulandie, V. Lenoble, A. Mallyce, J. Pasty, S. Primault, J. Rohland, N. Pääbo, S. y Trinkaus, E. 2005. A late Neandertal femur from Les Rochers-de-Villeneuve, France. *Proceedings of the National Academy of Science*, 102: 7085-7090.
- Beguellin, M. y Barrientos, G. 2006. Variación morfométrica postcraneal en muestras tardías de restos humanos de Patagonia: una aproximación biogeográfica. *Intersecciones en Antropología*, 7: 49-62.
- Beguellin, M. 2010. Tamaño corporal y temperatura ambiental en poblaciones cazadoras-recolectoras del Holoceno Tardío de Pampa y Patagonia. *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 12: 27-36.
- Bellelli, C. Scheinsohn, V. y Podestá, M. 2008. Arqueología de pasos cordilleranos: un caso de estudio en Patagonia Norte durante el Holoceno Tardío. *Boletín del Museo Chileno de Arte Precolombino*, 13: 37-55.
- Bengtsson, C. Olsen, M. Brandi, L. Bertelsen, M. Willerslev, E. Tobin, D. Wilson, A y Gilbert, T. 2012. DNA from keratinous tissue part I: hair and nails. *Annals of Anatomy*, 194: 17-25.
- Behar, D. Rosset, S. Blue-Smith, J. Balanovsky, O. Tzur, S. Comas, D. Mitchell, R. Quintana-Murci, L. Tyler-Smith, C. Wells, R. y The Genographic Consortium. 2007. The Genographic Project public participation mitochondrial DNA database. *Plos Genetic*, 3: e104.
- Bernal, V. Pérez, I. y González, P. 2006. Variation and causal factors of craniofacial robusticity in Patagonian hunter-gatherers from the Late Holocene. *American Journal of Human Biology*, 18: 748-765.
- Bernal, V. Pérez, I. Gonzalez, P. Sardi, M. y Pucciarelli, H. 2010a. Spatial patterns and evolutionary processes in Southern South America: a study of dental morphometric variation. *American Journal of Physical Anthropology*, 142: 95-104.

- Bernal, V. Pérez, S. González, P. y Diniz-Filho, A. 2010b. Ecological and evolutionary factors in dental morphological diversification among modern human populations from Southern South America. *Proceedings of the Royal Society of Biology*, 277: 1107-1112.
- Bernal, V. Pérez, I. González, P. Sardi, M. y Pucciarelli, H. 2010. Spatial patterns and evolutionary processes in Southern South America: a study of dental morphometric variation. *American Journal of Physical Anthropology*, 142: 95-104.
- Bever, M. 2001. An overview of Alaskan Late Pleistocene Archaeology: historical themes and current perspectives. *Journal of World Prehistory*, 15:125-191.
- Binford, L. 1980. Willow smoke and dogs' tails: Hunter-gatherer settlement systems and archaeological site formation. *American Antiquity*, 45:4-20.
- Binford, L. 1982. The archaeology of place. *Journal of Anthropological Archaeology*, 1:5-31.
- Binford, L. 2001. *Constructing Frames of Reference: An Analytical Method for Archaeological theory building using ethnographic and environmental data set*. University of California Press.
- Binladen, J. Wiuf, C. Gilbert, M. Bunce, M. Barnett, R. Larson, G. Greenwood, A. Haile, J. Ho, S. Hansen, A. y Willerslev, E. 2006. Assessing the fidelity of ancient DNA sequences amplified from nuclear genes. *Genetics*, 172: 733-741.
- Bird, J. 1938. Before Magellan. *Natural History*, 41: 16-28.
- Bisso-Machado, R. Bortolini, C. y Salzano, F. 2011. Uniparental genetic markers in South America. *Genetics and Molecular Biology*, 35: 365-387.
- Bobillo, M. Zimmermann, B. Sala, A. Huber, G. Röck, A. Bandelt, H. Corach, D. y Parson, W. 2010. Amerindian mitochondrial DNA haplogroups predominate in the population of Argentina: towards a first nationwide forensic mitochondrial DNA sequence data. *International Journal of Legal Medicine*, 124: 263-268.
- Boccardo, G. 1999. Etnogénesis mapuche: resistencia y reestructuración entre los indígenas del centro-sur de Chile (siglos XVI-XVIII). *Hispanic American Historical Review*, 79: 425-461
- Bodner, M. Perego, U. Huber, G. Fendt, L. Rock, A. Zimmermann, B. Olivieri, A. Gomez-Carballa, A. Lancioni, H. Angerhofer, N. Bobillo, M. Corach, D. Woodward, S. Salas, A. Achilli, A. Torroni, A. Bandelt, H. y Parson, W. 2012. Rapid coastal spread of first Americans: novel insights from South American's Southern Cone mitochondrial genome. *Genome Research*, 22: 811-820.
- Bollongino, R. Tresset, A. y Vigne, J. 2008. Environment and excavation: pre-lab impacts on ancient DNA analyses. *Comptes Rendus Palevol*. 7: 91-98.
- Bolnick, D. y Glenn-Smith, D. 2007. Migration and social structure among the Hopewell: evidence from ancient DNA. *American Antiquity*, 72:627-644.
- Bolnick, D. Bonine, H. Mata-Miguez, J. Kemp, B. Snow, M. LeBlanc, S. 2012. Nondestructive sampling of human skeletal remains yields ancient nuclear and mitochondrial DNA. *American Journal of Physical Anthropology*, 147: 293-300.
- Bonino, N. 2005. Guía de mamíferos de la Patagonia Argentina. *Ediciones del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria*. Disponible en: http://inta.gov.ar/documentos/guia-de-mamiferos-de-la-patagonia-argentina/at_multi_download/file/INTA%20-%20Gu%C3%ADa%20Mam%C3%ADferos%20Patagonia.pdf

- Bonnichsen, R. Hodges, L. Ream, W. Field, K. Kirner, D. Selsor, K. y Taylor, R. 2001. Methods for the study of ancient hair: radiocarbon dates and gene sequences from individual hairs. *Journal of Archaeological Science*, 28: 775-785.
- Borrero, L. 1989-1990. Evolución cultural divergente en la Patagonia austral. *Anales del instituto de la Patagonia*, 19: 133-140.
- Borrero, L. 1996. *The Pleistocene-Holocene transition in Southern South America*. En: Straus, L. Eriksen, B. Erlandson, J. y Yesner, D. (Eds). *Human at the End of the Ice Age: the Archaeology of Pleistocene-Holocene Transition*. Plenum Press, New York. Pp: 339-354.
- Borrero, L. y McEwan, C. 1997. *The peopling of Patagonia. The first human occupation*. En: McEwan, C. Borrero, L. y Prieto, A. *Patagonia. Natural History, Prehistory and Ethnography at the Uttermost End of the Earth*. Princenton University Press. Princenton, New Jersey, Pp: 32-45.
- Borrero, L. y Franco, N. 1997. Early Patagonian hunter-gatherers: subsistence and technology. *Journal of Anthropological Research*, 53: 219-239.
- Borrero, L. 1999a. Human dispersal and climatic conditions during Late Pleistocene times in Fuego-Patagonia. *Quaternary International*, 53/54: 93-99.
- Borrero, L. 1999. The prehistoric exploitation and colonization of Fuego-Patagonia. *Journal of World Prehistory*, 13: 321-355.
- Borrero, L. 2001. *El poblamiento de la Patagonia. Toldos, milodones y volcanes*. Emecé editores, Buenos Aires.
- Borrero, L. 2005. *The Archaeology of the Patagonian Deserts*. Hunter-gatherers in a Cold Desert. En *Desert Peoples. Archaeological Perspectives*, P. Veth, M. Smith & P. Hiscock, Eds., pp. 142-158. Cornwall: Blackwell Publishers.
- Borrero, L. y Barberena, R. 2006. Hunters-gatherer home ranges and maritime resources. *Current Anthropology*, 47: 855-867.
- Borrero, L. y Mena, F. 2007. *Cien siglos de historia en los últimos confines del mundo*. En: Borrero, LA. y Mena, F. *Patagonia Andina. La Inmensidad Humanizada*. Museo de Arte Precolombino, Santiago de Chile, Chile. Pp: 11-60.
- Borrero, L. 2008. *Early occupations in the Southern cone*. En: Silverman, H, and Isbell, W. (Eds.). *Handbook of South American Archaeology*. Springer, New York. Pp: 59-77.
- Borrero, L. 2009a. *The elusive evidence: the archaeological record of the South American extinct megafauna*. En: Haynes, G. (Eds.). *American Megafaunal Extinctions at the End of the Pleistocene*. Springer Science. Pp: 145-168.
- Borrero, L. Barberena, R. Franco, N. Charlin, J. y Tykot, R. 2009b. Isotopes and rocks: geographical organization of southern patagonian hunter-gatherers. *International Journal of Osteoarchaeology*, 19: 309-327.
- Borrero, L. Martin, F. y Barberena, R. 2011. *Visits, "fuegians", and information networks*. En: *Information and its role in hunter-gatherer bands*. Edited by Whallon, R. Lovis, W. and Hitchcock, R. The Cotsen Institute of Archaeology Press, UCLA.
- Bortolini, M. y Salzano, F. 1996. MtDNA diversity analysis in amerindians and other human population. How different are they? *Brazilian Journal of Genetics*, 19: 527-534.
- Bourke, M. Scherczinger, C. Ladd, C. y Lee, H. 1999. NaOH treatment to neutralize inhibitors of Taq polymerase. *Journal of Forensic Science*, 44:1046-1050.
- Bouwman, A. Chilvers, E. Brown, K. y Brown, T. 2006. Brief communication: identification of the authentic ancient DNA sequence in a human bone contaminated with modern DNA sequence. *American Journal of Physical Anthropology*, 131:428-431.

- Bower, M. Spencer, M. Matsumura, S. Ellen, R. Nisbet, R. y Howe, C. 2005. How many clones need to be sequenced from a single forensic or ancient DNA sample in order to determine a reliable consensus sequence? *Nucleic Acids Research*, 33: 2549-2556.
- 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: 10017-10022.
- Bradley, B. y Stafford, D. 2004. The North Atlantic ice-edge corridor: a possible palaeolithic route to the New World. *World Archaeology*, 36: 459-478.
- Bravi, C. 2013. La evidencia molecular del poblamiento humano de América. *Revista del Museo de la Plata*, 20: 40-57.
- Breschini, G. y Haversat, T. 2008. Ancient DNA-modern connections: results of mitochondrial DNA analyses from Monterrey Country, California. *Pacific Coast Archaeological Society Quarterly*, 40: 1-10.
- Briggs, A. Stenzel, U. Meyer, M. Krause, J. Kircher, M. y Pääbo, S. 2010. Removal of deaminated cytosines and detection of in vivo methylation in ancient DNA. *Nucleic Acids Research*, 38: e87.
- Bromham, L. Eyre-Walker, A. Smith, N. y Smith, J. 2003. Mitochondrial Steve: paternal inheritance of mitochondrial in humans. *Trends in Ecology and Evolution*, 18: 2-4.
- Brotherton, P. Endicott, P. Sanchez, J. Beaumont, M. Barnett, R. Austin, J. y Cooper, A. 2007. Novel high-resolution characterization of ancient DNA reveals C→u-type base modification events as the sole cause of post-mortem miscoding lesions. *Nucleic Acids Research*, 35: 5717-5728.
- Brown, W. George Jr, M. y Wilson, A. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceeding of the National Academy of Science, USA*, 76: 1967-1971.
- Brown, W. Prager, E. Wang, A. y Wilson, A. 1982. Mitochondrial DNA sequence of primates: tempo and mode of evolution. *Journal of Molecular Evolution*, 18: 225-239.
- Brown, M. Hosseini, S. Torroni, A. Bandelt, H. Allen, J. Schurr, T. Scozzari, R. Cruciani, F. y Wallace, D. 1998. mtDNA haplogroup X: an ancient link between Europe/Western Asia and North America? *American Journal of Human Genetics*, 63: 1852-1861.
- Brown, T y Brown, K. 2011. *Biomolecular archaeology. An introduction*. Willey-Blackwell. West Sussex, UK.
- Buchanan, B. y Collard, M. 2007. Investigating the peopling of North America through cladistic analyses of early paleoindian projectile points. *Journal of Anthropological Archaeology*, 26: 366-393.
- Byrd, B. Cornellas, A. Eerkens, J. Roenthal, J. Carpenter, T. Leventhal, A. y Leonard, J. 2013. The role of canids in ritual and domestic contexts: new ancient DNA insights from complex hunter-gatherer sites in prehistoric central California. *Journal of Archaeological Science*, 4: 2176-2189.
- Cabana, G. Merriwether, A. Hunley, K. y Demarchi, D. 2006. Is the genetic structure of Gran Chaco populations unique? Interregional perspectives on native South American mitochondrial DNA variation. *American Journal of Physical Anthropology*, 131: 108-119.
- Cai, D. Sun, Y. Tang, Z. Hu, S. Li, S. Zhao, X. Xiang, H. y Zhou, H. 2014. The origins of chinese domestic cattle as revealed by ancient DNA analysis. *Journal of Archaeological Science*, 41: 399-405.
- Callegari-Jacques, S. Tarazona-Santos, E. Gimán, R. Herrera, P. Cabrera, L. Dos Santos, S. Mores, L. Hutz, M. y Salzano, F. 2011. autosome STR's in Native South America-testing models of association with geography and language. *American Journal of Physical Anthropology*, 145: 371-381.

- Calvo, L. Ricaut, F. Keyser, C. Grimoud, A. Ludes, B. Crubezy, E. Lesca, C. y Lodther, D. 2001. Etude d'ADN ancien au niveau de la pulpe dentaire de la serie osteologica de Saint Come et Damien. *Antropo*, 1:21-29.
- Campbell, L. 1998. *American Indian Languages*. The historical Linguistics of Native America. Oxford University Press, New York.
- Campos, P. Willerslev, E. Sher, A. Orlando, L. Axelsson, E. Tikhonov, A. Aaris-Sorensen, K. Greenwood, A. Kahlker, R. Kosintsev, P. Krakhmalnaya, T. Kuznetsova, T. Lemey, P. MacPhee, R. Norris, C. Shepherd, K. Suchard, M. Zazula, G. Shapiro, B. y Gilbert, T. 2010a. Ancient DNA analyses exclude as the driving Musk Ox (*Ovibos Moschatus*) population dynamics. *Proceeding of the National Academy of Science*, 107: 5675-5680.
- Campos, P. Kristensen, T. Orlando, L. Sher, A. Kholodova, M. Götherström, A. Hofreiter, M. Drucker, D. Kosintsev, P. Tikhonov, A. Baryshnikov, G. Willerslev, E. y Gilbert, T. 2010b. Ancient DNA sequence point to a large loss of mitochondrial genetic diversity in the Saiga Antelope (*Saiga Tatarica*) since the Pleistocene. *Molecular Ecology*, 19: 4863-4875.
- Campos, P. Craig, O. Turner-Walker, G. Peacock, E. Willerslev, E. y Gilbert, M. 2012. DNA in ancient bone – Where is it located and how should we extract it? *Annals of Anatomy*, 194: 7-16.
- Cann, R. y Wilson, A. 1983. Length mutations in human mitochondrial DNA. *Genetics*, 194: 699-711.
- Cann, R. Brown, W. y Wilson, A. 1984. Polymorphic sites and the mechanism of evolution in human mitochondrial DNA. *Genetics*, 106: 479-499.
- Cann, R. Stoneking, M. y Wilson, A. 1987. Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature*, 325: 31-36.
- Cannon, M. y Meltzer, D. 2004. Early paleoindian foraging: examining the faunal evidence for large mammal specialization and regional variability in prey choice. *Quaternary Science Reviews*, 23: 1955-1987.
- Cano, R. Poinar, H. y Poinar Jr, G. 1992. Isolation and partial characterization of DNA from the bee *Proplebeia dominicana* (Apidae: Hymenoptera) in 25-40 million year old amber. *Medicine Science Research*, 20: 249-251.
- Caracotche, M. Cruz, I. Espinosa, S. Marina, F. y Belardi, J. 2005. Rescate arqueológico en el Parque Nacional Monte León (Santa Cruz, Argentina). *Magallania*, 33: 143-163.
- Caramelli, D. Lalueza-Fox, C. Vernesi, C. Lari, M. Casoli, A. Mallegni, F. Chiarelli, B. Dupanloup, I. Bertranpetit, J. Barbujani, G. y Bertorelle, G. 2003. Evidence for a genetic discontinuity between Neandertals and 24,000-year-old anatomically modern Europeans. *Proceedings of the National Academy of Science*, 27:6593-6597.
- Caramelli, D. Lalueza-Fox, C. Condemi, S. Longo, L. Milani, L. Manfredini, A. de Saint Pierre, M. Adoni, F. Lari, M. Giunti, P. Ricci, S. Casoli, A. Calafell, F. Mallegni, F. Bertranpetit, J. Stanyon, R. Bertorelle, G. y Barbujani, G. 2006. A highly divergent mtDNA sequence in a Neandertal individual from Italy. *Current Biology*, 16: R630-632.
- Carballo Marina, F. Belardi, J. y Saenz, J. 2011. Distribución espacial del registro arqueológico en la unidad de paisaje terrazas, cuenca media del Río Coyle (Provincia de Santa Cruz, Argentina). *Magallania*, 39: 207-222.
- Cardoso, S. Palencia-Madrid, L. Valverde, L. Alfonso-Sánchez, M. Gómez-Pérez, L. Alfaro, E. Bravi, C. Dipierri, J. Peña, J. de Pancorbo, M. 2013. Mitochondrial DNA control region data reveal high prevalence of Native American lineages in Jujuy Province, NW Argentina. *Forensic Science International: Genetics*, 7: e52-e55.
- Cardozo, D. Crespo, C. Russo, G. and Postillones, M. 2014. *Análisis y conservación de ADN antiguo en restos esqueléticos humanos de sitios arqueológicos y colecciones de museos de Argentina*. In: Esnal, A. Funes, M. Grosso, M. Kuperszmit, N. Murgo, A. y Romero, G. (Comp). *Entre Pasados y Presentes IV. Estudios Contemporáneos en Ciencias Antropológicas*. C.A.B.A. ISBN: 978-987-25575-3-9. Pp: 313-330.
- Carlyle, S. Parr, R. Hayes, M. y O'Rourke, D. 2000. Context of maternal lineages in the greater Southwest. *American Journal of Physical Anthropology*, 113:85-101.

- Carnese, F. Mendisco, F. Keyser, C. Dejean, B. Dugounjon, J. Bravi, C. Ludes, B. y Crubezy, E. 2010. Paleogenetical study of pre-columbian samples from Pampa Grande (Salta, Argentina). *American Journal of Physical Anthropology*, 141:452-462.
- Carpenter, M. Buenrostro, J. Valdiocera, C. Schroeder, M. Gravel, S. Guillen, S. Nekhrizov, G. Leshtakou, K. Dimitrova, D. Theodossiev, N. Pettener, D. Luiselli, D. Sandoval, K. Moreno-Estrada, A. Li, Y. Wang, J. Gilbert, M. Willerslev, E. Greenleaf, W. y Bustamante, C. 2013. Pulling out the 1%: whole-genome capture for the targeted enrichment of ancient DNA sequencing libraries. *American Journal of Human Genetics*, 93: 852-864.
- Cartmill, M. 1999. The status of the race concept in physical anthropology. *American Anthropologist*, 100: 651-660.
- Casas-Vargas, A. Gómez, A. Briceño, I. Diaz-Matallana, M. Bernal, J. y Rodriguez, J. 2011. High genetic diversity on a sample of pre-columbian bone remains from Guane territories in Northwestern Colombia. *American Journal of Physical Anthropology*, 146: 637-649.
- Cassiodoro, G. Rindel, d. Goñi, R. Re, A. Tessone, A. García-Guraieb, S. Belardi, J. Espinosa, S. Nuevo de la Unay, N. Dellepiane, J. Flore Coni, J. Guichon, R. Martinez, C. y Pasqualini, S. 2013. Arqueología del Holoceno Medio y Tardío en Patagonia meridional: poblamiento humano y fluctuaciones climáticas. *Diálogo Andino*, 41: 5-23.
- Catelli, M. Álvarez-Iglesias, V. Gómez-Carballa, A. Mosquera-Miguel, A. Romanini, C. Borosky, A. Amigo, J. Carracedo, A. Vullo, C. y Salas, A. 2011. The impact of modern migrations on present day multi-ethnic Argentina as recorded on the mitochondrial DNA genome. *BMC Genetics*, 12: 77.
- Cavalli-Sforza L. y Cavalli-Sforza F. 1993. *Quiénes somos? Historia de la diversidad humana*. Crítica, Grijalbo Mondadori. Barcelona.
- Chatters, J. Kennett, D. Asmerom, Y. Kemp, B. Polyak, V. Blank, A. Beddows, P. Reinhardt, E. Arroyo-Cabrales, J. Bolnick, D. Malhi, R. Culleton, B. Arreguerena, P. Rissolo, D. Marrell-Hart, S. y Stafford Jr, T. 2014. Late Pleistocene human skeleton and mtDNA modern Native Americans. *Science*, 344: 750-754.
- Chichkoyan, K. 2013. South American extinctions, a case study: the Rodrigo Boet collection of the Museum of Natural Science in Valencia, Spain. *Assemblage*, 12: 28-42.
- Cione, A. Tonni, E. y Soibelzon, L. 2003. The broken zig-zag: Late Cenozoic large mammal and tortoise extinction in South America. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales*, 5: 1-19.
- Cione, A. Tonni, E. y Soibelzon, L. 2008. *Did humans cause the Late Pleistocene-Early Holocene mammalian extinctions in South America in a context of shrinking open areas?* In: Haynes, G (Eds.). *American Megafaunal Extinctions at the End of the Pleistocene*. Chapter 7. Pp: 125-144.
- Clapperton, C. 1993a. Nature of environmental changes in South America at the last glacial maximum. *Palaeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 101: 189-208.
- Clapperton, C. 1993b. Glacier readvances in the Andes at 12.500-10.000 Yr BP: implications for mechanism of late-glacial climatic change. *Journal of Quaternary Science*, 8: 197-215.
- 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.
- Cobos, V. Dellanegra, C. y Bernal, V. 2012. Patrones de variación morfométrica craneofacial en poblaciones humanas del Noroeste de Patagonia durante el Holoceno Tardío. *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 14: 5-16.

- Cocilovo, J. y Guichon, R. 1999-2000. La variación geográfica y el proceso de microdiferenciación de las poblaciones aborígenes de Patagonia Austral y de Tierra del Fuego. *Revista Chilena de Antropología*, 15: 9-28.
- Collard, M. 2010. Integrating anthropological genetics with cultural anthropology and archaeology: new opportunities. *Journal of Anthropological Science*, 88: 239-242.
- Collins, M. Waite, E. y Van Duin, A. 1999. Predicting protein decomposition: the case of aspartic acid racemization kinetics. *Philosophical Transaction of the Royal Society of Biological Science*, 354: 51-64.
- Collins, J. Nielsen-Marsh, C. Hiller, J. Smith, C. y Roberts, J. 2002. The survival of organic matter in bone: a review. *Archaeometry*, 44: 383-394.
- Collins, M. Penkman, K. Rohland, N. Shapiro, B. Dobberstein, R. Ritz-Timme, S. y Hofreiter, M. 2009. Is amino acid racemization a useful tool for screening for ancient DNA in bone? *Proceeding of the Royal Society of Biology*, 276: 2971-2977.
- Comas, D. Pääbo, S. y Bertranpetit, J. 1995. Heteroplasmy in the control region of human mitochondrial DNA. *Genome Research*, 5: 89-90.
- Cooper, A. Mourer-Chauviré, C. Chambers, G. von Haeseler, A. Wilson, A. y Pääbo, S. 1992. Independent origins of New Zealand moas and kiwis. *Proceeding of the National Academy of Science USA*, 89: 8741-8744.
- Cooper, A. y Wayne, R. 1998. New uses for old DNA. *Current Biology*, 9: 49-53.
- Cooper, A. y Poinar, H. 2000. Ancient DNA: do it right or not at all. *Science*, 289:1139.
- Cooper, A. Lalueza-Fox, C. Anderson, S. Rambaut, A. Austin, J. y Ward, R. 2001. Complete mitochondrial genome sequence of two extinct moas clarify ratite evolution. *Nature*, 409: 704-707.
- Crespo, C. 2005. Qué pertenece a quién: procesos de patrimonialización y pueblos originarios en Patagonia. *Cuadernos de Antropología Social*, 21: 133-149.
- Cui, Y. Lindo, J. Hughes, C. Johnson, J. Hernandez, A. Kemp, B. Ma, L. Cunningham, R. Petzelt, B. Mitchell, J. Archer, D. Cybulski, J. y Malhi, R. 2013. Ancient DNA analysis of Mid-Holocene individuals from the Northwest coast of North America reveals different evolutionary paths for mitogenomes. *Plos One*, 8: e66948.
- Dalen, L. Orlando, L. Shapiro, B. Durling, M. Quam, R. Gilbert, M. Fernandez-Lomana, J. Willerslev, E. Arsuaga, J. y Götherstrom, A. 2012. Partial genetic turnover in Neandertals: continuity in the East and population replacement in the West. *Molecular Biology Evolution*, 29:1893-1897.
- Danan, C. Sternberg, D. Van Steirtegher, A. Cazeneuve, C. Duquesnoy, P. Besmond, C. Goossens, M. Lissens, W. y Amselem, S. 1999. Evaluation of parental mitochondrial inheritance in neonates born after intracytoplasmic sperm injection. *American Journal of Human Genetics*, 65: 463-473.
- Davis, L. 2011. *The North American paleocoastal concept reconsidered*. In: Bicho, N. et al. (Eds.). *Trekking the Shore: Changing Coastlines and the Antiquity of Coastal Settlement*. Springer Science.
- De Azevedo, S. Nocera, A. Paschetta, C. Castillo, L. Gonzalez, M. y González-José, R. 2011. Evaluating microevolutionary models for the early settlement of the New World: the importance of recurrent gene flow with Asia. *American Journal of Physical Anthropology*, 146: 539-552.
- Deguilloux, M. Ricaud, S. Leahy, R. y Pemonge, M. 2011. Analysis of ancient human DNA and primer contamination: one step backward one step forward. *Forensic Science International*, 210: 102-109.
- Dejean, C. Keyser-Tracqui, C. Crubezy, E. Blandin, P. Luna, L. Aranda, C. Acuto, F. Dugoujon, J. Ludes, B. y Carnese, F. 2006. Análisis paleogenético de tres individuos provenientes del sitio Cartaderas Derecha, Salta

(Argentina). *Trabajo presentado en el IX Congreso de la Asociación Latinoamericana de Antropología Biológica*, Ouro Preto, Brasil.

Dejean, C. Keyser, C. Avena, A. Dugoujon, F. Ludes, B. Crubezy, E. y Carnese, F. 2008. Análisis genético de muestras esqueléticas provenientes del Canal de Beagle. *Trabajo presentado en el X Congreso de la Asociación Latinoamericana de Antropología Biológica*, La Plata, Argentina.

Del Valle, H. 1998. Patagonian soils: a regional synthesis. *Ecología Austral. Publicación de la Asociación Argentina de Ecología*, 8: 103-123.

De la Cruz, L. Gonzalez-Oliver, A. Kemp, B. Roman, J. Glenn-Smith, D. y Torre-Blanco, A. 2008. Sex identification of children sacrificed to the ancient Aztec rain gods in Tlatelolco. *Current Anthropology*, 49:519-526.

Demarchi, D. Panzetta-Dutari, G. Colantonio, S. y Marcelino, A. 2001. Absence of the 9-bp deletion of mitochondrial DNA in pre-historic inhabitants of Argentina. *Human Biology*, 73:575-582.

Demarchi, D. 2009. Microsatélites, distancias genéticas y estructura de poblaciones Nativas Americanas. *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 11: 73-88.

Demirci, S. BAstavlar, E. Dagtas, N. Piskin, E. Engin, A. Ozer, F. Yuncu, E. Dogan, S. y Togan, I. 2013. Mitochondrial DNA diversity of modern, ancient and wild sheep (*Ovis gmelinii anatolica*) from Turkey: new insights on the evolutionary history of sheep. *Plos One*, 8: e81952.

De Saint Pierre, M. Bravi, C. Motti, J. Fuku, N. Tanaka, M. Llop, E. Bonatto, S. y Moraga, M. 2012a. An alternative model for the early peopling of Southern South America revealed by analyses of three mitochondrial DNA haplogroups. *Plos One*, 7: e43486.

De Saint Pierre, M. Gandini, F. Perego, U. Bodner, M. Gomez-Carballa, A. Corach, D. Angerhofer, N. Woodward, S. Semino, O. Salas, A. Parson, W. Moraga, M. Achilli, A. Torroni, A. y Olivieri, A. 2012b. Arrival of Paleo-Indians to the Southern Cone of South America: New Clues from Mitogenomes. *Plos One*, 7: e51311.

De Salle, R. Gatesy, J. Wheeler, W. y Grimaldi, D. 1992. DNA sequences from a fossil termite in Oligo-Miocene amber and their phylogenetic implications. *Science*, 257: 1933-1936

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.

Dickau, R. Aceituno, F. Loaiza, N. López, C. Cano, M. Herrera, L. Restrepo, C. Ranere, A. 2015. *Radiocarbon chronology of terminal Pleistocene to middle Holocene human occupation in the Middle Cauca Valley, Colombia*. *Quaternary International*, 363: 43-54.

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. 1984. A Late Ice-Age Settlement in Southern Chile. *Scientific American*, 251:106-117.

Dillehay, T. 1997. *Monte Verde: a late Pleistocene settlement in Chile*. The Archaeological Context and Interpretation vol. 1 y 2. Smithsonian Institution Press, Washington, DC.

Dillehay, T. 1999. Late Pleistocene cultures of South America. *Evolutionary Anthropology*, 7: 206-216.

- Dillehay, T. Ramirez, C. Pino, M. Collins, M. Rossen, J. y Pino-Navarro, J. 2008. Monte Verde: seaweed, food, medicine and the peopling of South America. *Science*, 320: 784-786.
- Dillehay, T. 2009. Probing deeper into first American studies. *Proceeding of the National Academy of Science*, 106:971-978.
- Dixon, J. Heaton, T. Fifield, T. Hamilton, T. Putnam, D. y Grady, F. 1997. Late quaternary regional geochronology of southeast Alaska karst: a progress report. *Geoarchaeology: An International Journal*, 12: 689-712.
- Dixon, J. 2001. Human colonization of the Americas: timing, technology and process. *Quaternary Science Reviews*, 20: 277-299.
- Dixon, J. 2013. Late Pleistocene colonization of North America from Northeast Asia: new insights from large-scale paleogeographic reconstruction. *Quaternary International*, 285: 57-67.
- Dissing, J. Kristinsdottir, M. y Friis, C. 2008. On the elimination of extraneous DNA in fossil human teeth with hypochlorite. *Journal of Archaeological Science*, 35: 1445-1452.
- Dornelles, C. Bonatto, S. De Freitas, L. y Salsano. 2005. Is haplogroup X present in extant South American Indians? *American Journal of Physical Anthropology*, 127: 439-448.
- Druzhkova, A. Thalmann, O. Trifonov, V. Leonard, J. Vorobieva, N. Ovodou, N. Graphodatsky, A. y Wayne, R. 2013. Ancient DNA analysis affirms the canid from Altai as a primitive dog. *Plos One*, 8: e57754.
- DuliK, M. Zhadanov, S. Osipova, L. Askapuli, A. Gau, L. Gokcumen, O. Rubinsteins, S. y Schurr, T. 2012. Mitochondrial DNA and Y chromosome variation provides evidence for a recent common ancestry between Native Americans and indigenous Altaians. *The American Journal of Human Genetics*, 90: 229-246.
- Dumbar, J. 2006. *Paleoindian archaeology*. En: David Webb (Eds.). First Floridians and Last Mastodons: The Page Ladson Site in the Ancilla River. Springer. Pp: 403-435.
- Dumond, E. 2001. The archaeology of Eastern Beringia: Some contrast and connections. *Arctic Anthropology*, 38: 196-205.
- Easton, R. Meriwether, A. Crews, D. y Ferrel, R. 1996. mtDNA variation in the Yanomami: evidence for additional new world founding lineages. *American Journal of Human Genetics*, 59: 213-225.
- Eggers, S. Parks, M. Grupe, G. y Reinhard, K. 2011. Paleoamerican diet, migration and morphology in Brazil: archaeological complexity of the earliest Americans. *Plos One*, 6: e23962.
- Elson, J. Turnbull, D. y Howell, N. 2004. Comparative genomics and the evolution of human mitochondrial DNA: assessing the effects of selection. *American Journal of Human Genetics*, 74: 229-238.
- Erlandson, J. Braje, T. Rick, T. y Peterson, J. 2005. Beads, bifaces and boats: an early maritime adaptation on the South coast of San Miguel island, California. *American Anthropologist*, 107: 677-683.
- Erlandson, J. Graham, M. Bourque, B. Corbett, D. Estes, J. y Steneck, R. 2007. The kelp highway hypothesis: marine ecology, the coastal migration theory and the peopling of the Americas. *Journal of Island & Coastal Archaeology*, 2: 161-174.
- Erlandson, J. Moss, M. y Des Lauriers, M. 2008. Life on the edge: early maritime cultures of the Pacific coast of North America. *Quaternary Science Reviews*, 27: 2232-2245.
- Erlandson, J. y Jew, N. 2009. An early maritime biface technology at Daisy Cave, San Miguel island, California: reflections on simple size, site function, and other issues. *North American Archaeologist*, 30: 145-165.

- Erlandson, J. y Braje, T. 2011. From Asia to the Americas by boat? Paleogeography, paleoecology and stemmed points of the Northwest Pacific. *Quaternary International*, 239: 28-37.
- Erlandson, J. Rick, T. Braje, T. Caspersen, M. Culleton, B. Fulfrost, B. Garcia, T. Guthrie, D. Jew, N. Kennett, D. Moss, M. Reeder, L. Skinner, C. Watts, J. y Willis, L. 2011. Paleoindian seafaring, maritime technologies and coastal foraging on California's channel islands. *Science*, 331: 1181-1185.
- Eshleman, J. Malhi, R. y Glenn-Smith, D. 2003. Mitochondrial DNA studies of Native Americans: conceptions and misconceptions of the population prehistory of the Americas. *Evolutionary Anthropology*, 12: 7-18.
- Eshleman, J. Malhi, R. Johnson, J. Kaestle, F. Lorenz, J. y Glenn-Smith, D. 2004. Mitochondrial DNA and prehistoric settlements: native migrations on the Western edge of North America. *Human Biology*, 1: 55-75.
- Excoffier, L. and Lischer, H. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. 10: 564-567.
- Eyre-Walker, A. y Awadalla, P. 2001. Does human mtDNA recombine? *Journal of Molecular Evolution*, 53: 430-435.
- Fagundes, N. Kanitz, R. Eckert, R. Valls, A. Bogo, M. Salzano, F. Smith, D. Silva Jr, W. Zago, M. Ribeiro-Dos-Santos, A. Santos, S. Petzl-Erler, M. y Bonatto, S. 2008a. Mitochondrial populations genomics supports a single pre-Clovis origin with a coastal route for the peopling of the Americas. *The American Journal of Human Genetics*, 82: 583-592.
- Fagundes, N. Kanitz, R. y Bonatto, S. 2008b. A reevaluation of the Native American mtDNA genome diversity and its bearing on the models of early colonization of Beringia. *Plos One*, 3: e3157.
- Favier Dubois, C. Borella, F. y Tykot, R. 2009. *Explorando tendencias en el uso humano del espacio y los recursos en el litoral rionegrino (Argentina) durante el Holoceno medio y tardío*. En: Salemme M, Santiago F, Alvarez M, Piana E, Vázquez M, Mansur ME, editores. Arqueología de Patagonia: una mirada desde el último confín. Ushuaia: Editorial Utopías, Pp: 985-998.
- Fariña, R. Tambusso, S. Varela, L. Czerwonogora, A. Digiacomio, M. Musso, M. Bracco, R. y Gascue, A. 2013. Arroyo del Vizcaíno, Uruguay: a fossil-rich 30 ka old megafaunal locality with cut marked bones. *Proceedings of the Royal Society of Science*, 281: 20132211.
- Faught, M. 2008. Archaeological roots of human diversity in the New World: a compilation of accurate and precise radiocarbon ages from earliest sites. *American Antiquity*, 73: 670-698.
- Favier Dubois, C. Stern, C. y Cardillo, M. 2009. *Caracterización de la distribución y tipos de obsidiana presentes en la costa rionegrina, Argentina*. En: Salemme M, Santiago F, Alvarez M, Piana E, Vázquez M, Mansur ME, editores. Arqueología de Patagonia: una mirada desde el último confín. Ushuaia: Editorial Utopías, Pp: 349-360.
- Favier Dubois, C. y Kokot, R. 2011. Changing scenarios in Bajo de la Quinta (San Matias gulf, Northern Patagonia, Argentina): impact of geomorphologic processes in subsistence and human use of coastal habitats. *Quaternary International*, 245: 103-110.
- Favier Dubois, C. 2013. *Hacia una cronología del uso del espacio en la costa Norte del Golfo de San Matías (Río Negro, Argentina): sesgos geológicos e indicadores temporales*. En: Zangrando, A. Barberena, R. Gil, A. Neme, C. Giardina, M. Luna, L. Otaola, C. Paulides, S. Salgan, C. y Tívoli, A. Tendencias Teórico-Methodológicas y casos de estudio en la Arqueología de la Patagonia. 1ra Ed. San Rafael: Museo de Historia Natural de San Rafael.
- Fehren-Schmitz, L. Reindel, M. Cacigao, 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.

- Fehren-Schmitz, L. Warnberg, O. Reindel, M. Seidenberg, V. Tomasto-Cagigao, E. Isla-Cuadrado, J. Hummel, S. y Herrmann, B. 2011. Diachronic investigations of mitochondrial and y-Chromosomal genetic markers in pre-columbian Andean highlanders from South Peru. *Annals of Human Genetics*, 75:266-283.
- Fehren-Schmitz, L. Llamas, B. Lindauer, S. Tomasto-Cagigao, E. Rohland, N. Santos, F. Kaulicke, P. Valverde, G. Richards, S. Nordenfelt, S. Seidenberg, V. Mallick, S. Cooper, A. Reich, D. y Haak, W. 2015. A re-appraisal of the early Andean human remains from Lauricocha in Peru. *Plos One*, 10: e0127141.
- Feio dos Santos, A. Carvalho, B. Batista dos Santos, S. y Ribeiro dos Santos, A. 2006. Nucleotide variability of HVR-1 in admixed population of the Brazilian amazon region. *Forensic Science International*, 164: 276-277.
- Fernández, M. 2006. Economía y sistema de asentamiento aborigen en la Cuenca del Río Limay. *Memoria Americana*, 14: 37-73.
- Fernández-Domínguez, E. Pérez-Pérez, A. Turbón, D. y Arroyo-Pardo, E. 2003. ADN antiguo: química y aplicaciones. *Anales de la Real Sociedad Española de Química*, 2: 27-37.
- Fernández, E. Ortiz, J. Pérez-Pérez A. Prats, E. Turbón, D. Torres, T. y Arroyo-Pardo, E. 2009. Aspartic acid racemization variability in ancient human remains: implications in the prediction of ancient DNA recovery. *Journal of Archaeological Science*, 36: 965-972.
- Fiedel, S. 2000. The peopling of the new world: present evidence, new theories and future directions. *Journal of Archaeological Research*, 8:39-103.
- Fiedel, S. 2009. *Sudden deaths: the chronology of terminal Pleistocene megafaunal extinction*. In: Haynes, G (Eds.). *American Megafaunal Extinctions at the End of the Pleistocene*. Pp: 21-37. Springer.
- Figueiro, G. y Sans, M. 2007. Primeros resultados del análisis de ADN mitocondrial del sitio Arroyo Seco 2, Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 9: 78.
- Figueiro G. 2013. *Continuidad temporal en la composición genética de las poblaciones indígenas del Uruguay*. Colección Avances de Investigación (Tomo Docentes). Montevideo: Facultad de Humanidades y Ciencias de la Educación, 141-159 (ISBN 978-9974-0-0922-6).
- Figueiro, G. Hidalgo, P. y Sans, M. 2011. Control region variability of haplogroup C1d and the tempo of the peopling of the Americas. *Plos One*, 6:e20978.
- Fix, A. 2002. Colonization models and initial genetic diversity in the Americas. *Human Biology*, 74: 1-10.
- Fix, A. 2005. Rapid deployment of the five founding amerind mtDNA haplogroups via coastal and riverine colonization. *American Journal of Physical Anthropology*, 128: 430-436.
- Fladmark, K. 1975. *A paleoecological model for northwest coast prehistory*. National Museums of Canada, Ottawa. Pp: 299-319.
- Flink, L. Allen, R. Barnett, R. Malmström, H. Paterse, J. Erikson, J. Andersson, L. Dobney, K. y Larson, G. 2014. Establishing the validity of domestication genes using DNA from ancient chickens. *Proceedings of the National Academy of Science*, 111: 6184-6189.
- Foley, R. 1992. *Evolutionary ecology of fossil hominids*. En: E.A. Smith & B. Winterhalder (eds). *Evolutionary Ecology and Human Behavior*. Pp. 131-164. Chicago; Aldine de Gruyter.
- Forster, P. Harding, R. Torroni, A. y Bandelt, H. 1996. Origin and evolution of Native American mtDNA: a reappraisal. *American Journal of Human Genetics*, 59: 935-945.
- Fridman, C. Gonzalez, R. Pereira, A. y Cardena, M. 2014. Haplotype diversity in mitochondrial DNA hypervariable region in a population of southeastern Brazil. *International Journal of Legal Medicine*, 128: 589-593.

- Fu, Q. Meyer, M. Gao, X. Stenzel, U. Burbano, H. Kelso, J. y Pääbo, S. 2013. DNA analysis of an early modern human from Tianyuan Cave, China. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, 110: 2223-2227.
- Fuselli, S. Tarazona-Santos, E. Dupanloup, I. Soto, A. Luiselli, D. y Pettener, D. 2003. Mitochondrial DNA diversity in South America and the genetic history of Andean highlanders. *Molecular Biology Evolution*, 20: 1682-1691.
- Gaitán, J. y López, C. 2007. Análisis de gradiente edáfico en la región andinopatagónica. *Ciencias del Suelo*, 25: 53-63.
- Galtier, N. Enard, D. Randondy, Y Bazin, E. y Belkhir, K. 2006. Mutation hot spots in mammalian mitochondrial DNA. *Genome Research*, 16: 215-222.
- García, F. Moraga, M. Vera, S. Aspillaga, E. y Rothhammer, F. 2004. Origen y micro-diferenciación de la población humana del archipiélago de Chiloé. *Revista Chilena de Historia Natural*, 77: 539-546.
- García, F. Moraga, M. Vera, S. Henríquez, H. Llop, E. Aspillaga, E. y Rothhammer, F. 2006. mtDNA microevolution in Southern Chile's archipelagos. *American Journal of Physical Anthropology*, 129: 473-481.
- García, A. Pauro, M. Bravi, C. y Demarchi, D. 2012. Phylogeography of mitochondrial haplogroup D1: an early spread of subhaplogroup D1j from Central Argentina. *American Journal of Physical Anthropology*, 149: 583-590.
- García-Bour, J. Pérez-Pérez, A. Álvarez, S. Fernández, E. López-Parra, A. Arroyo-Pardo, E. y Turbón, D. 2004. Early population differentiation in extinct aborigines from Tierra del Fuego-Patagonia: ancient mtDNA sequence and Y-chromosome STR characterization. *American Journal of Physical Anthropology*, 123:361-370.
- Garzón, L. 2002. La degradación natural del ADN: el concepto de edad térmica. *Revista Española de Antropología Biológica*, 23:65-76.
- Geigl, E. 2002. On the circumstances surrounding the preservation and analysis of very old DNA. *Archaeometry*, 44: 337-342.
- Gibbon, V. Penny, C. Strkalj, G. y Ruff, P. 2009. Brief communication: minimally invasive bone sampling method for DNA analysis. *American Journal of Physical Anthropology*, 139: 596-599.
- Gilbert, T. Hansen, A. Willerslev, E. Rudbeck, L. Barnes, R. Lynnerup, N y Cooper, A. 2003a. Characterization of genetic miscoding lesions caused by post-mortem damage. *American Journal of Human Genetics*, 72: 48-61.
- Gilbert, T. Willerslev, E. Hansen, A. Barnes, I. Rudbeck, L. Lynnerup, N. y Cooper, A. 2003b. Distribution patterns of post-mortem damage in human mitochondrial DNA. *American Journal of Human Genetic*, 72: 32-47.
- Gilbert, M. Janaway, R. Tobin, D. Cooper, A. y Wilson, A. 2006a. Histological correlates of post mortem mitochondrial DNA damages in degraded hair. *Forensic Science International*, 156: 201-207.
- Gilbert, T. Menez, L. Janaway, R. Tobin, D. Cooper, A. y Wilson, A. 2006b. Resistance of degraded hair shaft to contaminant DNA. *Forensic Science International*, 156: 208-212.
- Gilbert, T. Hansen, A. Willerslev, E. Turner-Walker, G. y Collins, M. 2006c. Insights into the processes behind the contamination of degraded human teeth and bone samples with exogenous sources of DNA. *International Journal of Osteoarchaeology*, 16: 156-164.
- Gilbert, M. Djurhuus, D. Melchior, L. Lynnerup, N. Worobey, M. Wilson, A. Andreasen, C. y Dissing, J. 2007a. 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. Binladen, J. Miller, W. Wiuf, C. Willerslev, E. Poinar, H. Carlson, J. Leebens-Mack, J. y Schuster, S. 2007b. Recharacterization of ancient DNA miscoding lesions: insights in the era of sequencing by synthesis. *Nucleic Acids Research*, 35: 1-10.

- Gilbert, M. Kivisild, T. Gronnow, B. Andersen, P. Metspalú, E. Reidla, M. Tamm, E. Axelsson, E. Gotherstrom, A. Campos, P. Rasmussen, M. Metspalu, M. Higham, T. Schwenninger, J. Nathan, R. De Hoog, C. Koch, A. Moller, L. Andreassen, C. Meldgaard, M. VILLEMS, R. Bendixen, C. y Willerslev, E. 2008a. Paleo-Eskimo mtDNA genome reveals matrilineal discontinuity in Greenland. *Science*, 320:1787-1789.
- Gilbert, M. Jenkins, D. Gotherstrom, A. Naveran, N. Sanchez, J. Hofreiter, M. Tomsen, P. Binladen, J. Higham, T. Yohe II, R. Parr, R. Cummings, L. y Willerslev, E. 2008b. DNA from pre-Clovis human coprolites in Oregon, North America. *Science*, 320:786-789.
- Giles, R. Blanc, H. Cann, R. y Wallace, D. 1980. Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proceeding of the National Academy of Science, USA*, 77: 6715-6719.
- Gilli, A. Anselmetti, F. Ariztegui, D. Bradbury, J. Kelts, K. Markgraf, V. y McKenzie, J. 2001. Tracking abrupt climate change in the southern hemisphere: a seismic stratigraphic study of lago Cardiel, Argentina (49° S). *Terra Nove*, 13: 443-448.
- Ginolhac, A. Rasmussen, M. Gilbert, M. Willerslev, E. y Orlando, L. 2011. MapDamage: testing for damage patterns in ancient DNA sequences. *Bioinformatics Advances*, 27: 2153-2155.
- 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 fingerprinting: state of the science. Birkhauser Verlag, Basel. Pp. 211-219.
- Göebel, T. 1999. Pleistocene Human colonization of Siberia and peopling of the Americas: an ecological approach. *Evolutionary Anthropology*, 208-227.
- Göebel, T. Waters, M. y O'Rourke, D. 2008. The late Pleistocene dispersal of modern humans in the Americas. *Science*, 319: 1497-1502.
- Golenberg, E. Giannasi, D. Clegg, M. Smiley, C. Durbin, M. Henderson, D. y Zurawsky, G. Chloroplast DNA sequence from a Miocene *Magnolia* species. *Nature*, 344: 656-658.
- Gómez-Otero, J. Lanata, J. y Prieto, A. 1998. Arqueología de la costa atlántica patagónica. *Revista de Arqueología Americana*, 15: 107-185.
- Gómez Otero, J. y Stern, C. 2005. Circulación, intercambio y uso de obsidias en la costa de la Provincia del Chubut (Patagonia Argentina) durante el Holoceno Tardío. *Intersecciones en Antropología*, 6: 93-108.
- Gonçalves, C. Parra, F. Gonçalves-Dornellas, H. Rodriguez-Carvalho, C. Silvia, H. y Pena, S. 2010. Recovering mitochondrial DNA lineages of extinct amerindian nations in extant homopatric brazilian populations. *Investigative Genetics*, 1: 13
- Gonçalves, V. Stenderup, J. Rodrigues.Carvalho, C. Silva, H. Gonçalves-Dornelas, H. Liryo, A. Kivisild, T. Malaspinas, A. Campos, P. Rasmussen, M. Willerslev, E y Pena, D. 2013. Identification of Polynesian mtDNA haplogroups in remains of Bocotudo amerindians from Brazil. *Proceeding of the National Academy of Science of United State of America*, 110: 6465-6469.
- González, P. Pérez, I. y Bernal, V. 2011. Ontogenetic allometry and cranial shape diversification among human populations from South America. *The Anatomical Record*, 294: 1864-1874.
- González, S. Huddart, D. Alcántara, I. Domínguez-Vázquez, G. Bischoff, J. y Felstead, N. 2014. Paleoindian sites from the basin of Mexico: evidence from stratigraphy, tephrochronology and dating. *Quaternary International*, 363: 4-19.

- González-José, R. Dahinten, S. y Hernandez, M. 2001. The settlement of Patagonia: a matrix correlations study. *Human Biology*, 2:233-248.
- González-José, R. García-Moro, C. Dahinten, S. y Hernández, M. 2002. Origin of Fuegian-Patagonians: a using R matrix and matrix permutation methods. *American Journal of Human Biology*, 14: 308-320.
- González-José, R. Bortolini, M. Santos, F. y Bonatto, S. 2008. The peopling of America: craniofacial shape variation on a continental scale and its interpretation from an interdisciplinary view. *American Journal of Physical Anthropology*, 137: 175-187.
- González-José, R. y Bortolini, C. 2011. Integrating different biological evidence around some microevolutionary processes: bottlenecks and Asian-American arctic gene flow in the New World settlement. *Evolution: Education and Outreach*, 4: 232-243.
- González-Oliver, A. Marquez-Morfin, L. Jiménez, J, y Torre-Blanco, A. 2001. Founding Amerindian mitochondrial DNA lineages in ancient Maya from Xcaret, Quintana Roo. *American Journal of Physical Anthropology*, 116:230-235.
- Goñi, R. Belardi, J. Espinosa, S. y Savanti, F. 2004. *Más vale tarde que nunca: cronología de las ocupaciones cazadoras recolectoras en la cuenca del Lago Cardiel (Santa Cruz, Argentina)*. En: *Contra Viento y Marea*, editado por M. T. Civalero, P. Fernández y A. G. Guraieb, pp. 237-248. Instituto Nacional de Antropología y Pensamiento Latinoamericano, Buenos Aires.
- Goñi, R. y Barrientos, G. 2004. *Poblamiento tardío y movilidad en la cuenca del Lago Salitroso*. En *Contra Viento y Marea*. Arqueología de Patagonia. Compiladores: Civalero, T., P. Fernández y G. Guraieb. Instituto Nacional de Antropología y Pensamiento Latinoamericano/ Sociedad Argentina de Antropología, Buenos Aires.
- Götherström, A. Collins, M. Angerbjorn, A. y Linden, K. 2002. Bone preservation and DNA amplification. *Archaeometry*, 44: 195-404.
- Grayson, D. y Meltzer, D. 2002. Clovis hunting and large mammal extinction: a critical review of the evidence. *Journal of World Prehistory*, 16: 313-359.
- Grayson, D. y Meltzer, D. 2003. A requiem for North American overkill. *Journal of Archaeological Science*, 30: 585-593.
- 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 million base pairs of Neanderthal DNA. *Nature*, 444:330-336.
- Greenwood, A. Capelli, C. Possnert, G. Pääbo, S. 1999. Nuclear DNA sequences from late Pleistocene megafauna. *Molecular Biology and Evolution*, 16:1466-1473.
- Grier, C. Flanigan, K. Winters, M. Jordan, L. Lukowski, S. y Kemp, B. 2013. Using ancient DNA identification and osteometric measures of archaeological pacific salmon vertebrae for reconstructing salmon fisheries and sites seasonality at Dionisio Point, British Columbia. *Journal of Archaeological Science*, 40: 544-555.
- Gutiérrez-García, T. Vázquez-Domínguez, E. Arroyo-Cabrales, J. Kuch, M. Enk, J. King, C. y Poinar, H. 2014. Ancient DNA and the tropics: a rodent's tale. *Biology Letters*, 10: 20140224.
- Greenberg, J. 1960. *The General Classification of Central and South American Languages*. En: *Men and Cultures: Selected Papers of the 5th International Congress of Anthropological and Ethnological Science*, 1956. Edited by A. Wallace, pp 791-94. University of Pennsylvania Press, Philadelphia.
- Greenberg, J. 1987. *Language in the Americas*. Stanford University Press, Stanford.
- Greenberg, J. Turner II, C. y Zegura, S. The settlement of the Americas: a comparison of the linguistic, dental and genetic evidence. *Current Anthropology*, 4: 477-497.

- Greenberg, J. y Ruhlen, M. 1992. Linguistic Origins of Native Americans. *Scientific American*, 267:60-65.
- Grimoud, A. Mauger, M. y Lodter, J. 2004. Criteres de selection d'échantillons dentaires pour l'étude de l'adn ancine. *Antropo*, 6: 43-51.
- Grunenwald, A. Keyser, C. Sautereau, A. Crubezy, E. Ludes, B. y Drouet, C. 2014a. Adsorption of DNA on biomimetic apatites: toward the understanding of the role of bone and tooth mineral on the preservation of ancient DNA. *Applied Surface Science*, 292: 867-875.
- Grunenwald, A. Keyser, C. Sautereau, A. Crubezy, E. Ludes, B. y Drouet, C. 2014b. Novel contribution on the digenetic physicochemical features of bone and teeth minerals, as substrates for ancient DNA typing. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 46: 4691-4704.
- Gutenkunst, R. Hernandez, R. Williamson, S. y Bustamante, C. 2009. Inferring the joint demographic history of multiple populations from multidimensional SNP frequency data. *Plos Genetics*, 5: e1000695.
- Guy-Strauss, L. Meltzer, D. y Goebel, T. 2005. Ice Age Atlantis? Exploring the Solutrean-Clovis "connection". *World Archaeology*, 37: 507-532.
- Haberzettl, T. Fey, M. Lucke, A. Maidana, N. Mayr, C. Ohlendorf, C. Schabitz, F. Schleser, G. Wille, M. y Zolitschka, B. 2005. Climatically induced lake level changes during the last two millennia as reflected in sediments of laguna Potrok Aike, Southern Patagonia (Santa Cruz, Argentina). *Journal of Paleolimnology*, 33: 283-302.
- Haeseler, A. Sajantila, A. y Pääbo, S. 1995. The genetical archaeology of the human genome. *Nature*, 14: 135-140.
- Hagelberg, E. Sykes, B. y Hedges, R. 1989. Ancient bone DNA amplified. *Nature*, 342:485-485.
- Hajduk, A. y Albornoz, A. 1999. *El sitio Valle Encantado I. Su vinculación con otros sitios: un esbozo de la problemática local diversa del Nahuel Huapi*. En: Soplando en el Viento.... Actas de las Terceras Jornadas de Arqueología de la Patagonia. INAPL-Universidad del Comahue, Neuquén-Buenos Aires. Pp: 371-391.
- Hamilton, M. y Buchanan, B. 2007. Spatial gradients on Clovis-age radiocarbon dates across North America suggest rapid colonization from the North. *Proceeding of the National Academy of Science*, 104: 15625-15630.
- Hamilton, M. Buchanan, B. 2009. The accumulation of stochastic copying errors causes drift in culturally transmitted technologies: quantifying Clovis evolutionary dynamics. *Journal of Anthropological Archaeology*, 28: 55-69.
- Handt, O. Richards, M. Trommsdorff, M. Kilger, C. Simanainen, J. Georgiev, O. Bauer, K. Stone, A. Hedger, R. Schaffner, W. Utermann, G. Sykes, B. Pääbo, S. 1994. Molecular Genetic Analyses of the Tyrolean Ice Man. *Science*, 264: 1775-1778
- Handt, O. Krings, M. Ward, R. y Pääbo, S. 1996. The retrieval of ancient human DNA sequence. *American Journal of Human Genetics*, 59:368-376.
- Hanni, C. Bogue, A. Laudet, V. Stehelin, D. Brousseau, T. Amouyel, P. y Duday, H. 1995a. Molecular typing of Neolithic bones. *Journal of Archaeological Science*, 22: 647-658.
- Hanni, C. Brousseau, T. Laudet, V. y Stehelin, D. 1995b. Isopropanol precipitation removes PCR inhibitors from ancient bone extracts. *Nucleic Acids Research*, 5:881-882.
- Harvati, K. y Weaver, T. 2006. Human cranial anatomy and the differential preservation of population history and climate signatures. *The Anatomical Record Part A*, 288: 1225-1233.
- Hauswirth, W. Dickel, C. Doran, H. Laipis, P. y Dickel, D. 1991. *8000-year-old brown tissue from the Windover site: Anatomical, cellular, and molecular analysis*. En: Ortner, D. y Aufderheide, A. (eds.). Human paleopathology. Current synthesis and future options. Washington: Smithsonian Institute Press, pp. 60-72.

- Hauswirth, W. Dickel, C. Rowold, D y Hauswirth, W. 1994. Inter and intrapopulation studies of ancient humans. *Experientia*, 50: 585-591.
- Haynes, C, Jr. 1963. Elephant-hunting in North America. *Scientific American*, 214:104-112.
- Haynes, G. 2007. A review of some attacks on the overkill hypothesis with special attention to misrepresentations and double talk. *Quaternary International*, 169: 84-94.
- Haynes, S. Searle, J. Bretman, A. y Dobney, K. 2002. Bone preservation and ancient DNA: the application of screening methods for predicting DNA survival. *Journal of Archaeological Science*, 29: 585-592.
- Hazelwood, L. y Steele, J. 2004. Spatial dynamics of human dispersal. Constraints on model and archaeological validation. *Journal of Archaeological Science*, 31: 669-679.
- Hedges, R. 2002. Bone diagenesis: an overview of processes. *Archaeometry*, 44: 319-328.
- Henn, B. Gignoux, C. Feldman, M. y Mountain, J. 2008. Characterizing the time dependency of human mitochondrial DNA mutation rate estimates. *Molecular Biology Evolution*, 26:217-230.
- Henríquez, H. Moraga, M. Llop, E. y Rothhammer, F. 2004. Caracterización genético molecular de habitantes de Caleta Paposo, último reducto Chango en Chile. *Revista Médica de Chile*, 132: 663-672.
- Hernández, M. Lalueza-Fox, C. y García-Moro, C. 1997. Fuegian cranial morphology: the adaptation to a cold harsh environment. *American Journal of Physical Anthropology*, 103: 103-117.
- Heusser, C. 1960. Late-Pleistocene environments of north Pacific North America.: an elaboration of late-glacial and post-glacial climatic, physiographic, and biotic changes. *Special Publication no. 35, American Geographical Society*, P:308.
- 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.
- Ho, S. y Larson, G. 2006. Molecular clocks: when times are a-changing. *Trends in Genetics*, 22: 79-83.
- Ho, S. Lanfear, R. Phillips, M. Barnes, I. Thomas, J. Kolokotronis, S. y Shapiro, B. 2011. Bayesian estimation of substitution rates from ancient DNA sequences with low information content. *Systematic Biology*, 60: 366-375.
- Hoarau, G. Holla, S. Lescasse, R. Stam, W. u Olsen, J.2002. Heteroplasmy and evidence for recombination in the mitochondrial control region of the flatfish flæsk. *Molecular Biology Evolution*, 19: 2261-2264.
- Hockett, B. y Jenkins, D. 2013. Identifying stone tool cut marks and the pre-Clovis occupation of the Paisley Caves. *American Antiquity*, 78: 762-778.
- Hoffecker, J. Power, W. y Goebel, T. 1993. The colonization of Beringia and peopling of the New World. *Science*, 259:46-53.
- Hofreiter, M. Serre, D. Poinar, H. Kuch, M. y Pääbo, S. 2001. Ancient DNA. *Nature*, 2:353-359.
- Hofreiter, M. Jaenicke, V. Serre, D. Con Haeseler, A. y Pääbo, S. 2001. DNA sequences from multiple amplifications reveal artifacts induced by cytosine deamination in ancient DNA. *Nucleic Acids Research*, 29: 4793-4799.
- Hofreiter, M. y Vigilant, L. 2003. Ancient human DNA: phylogenetic applications. *Nature*, Pp: 1-4.

- Hooshiar Kashani, B. Perego, U. Olivieri, A. Angerhofer, N. Gandini, F. Carossa, V. Lancioni, H. Semino, O. Woodward, S. Achilli, A. y Torroni, A. 2012. Mitochondrial haplogroups C4c: a rare lineage entering America through the ice free corridor? *American Journal of Physical Anthropology*, 147: 35-39.
- Horai, S. Kondo, R. Muruyama, K. Hayashi, S. Koike, H. y Nakai, N. 1991. Phylogenetic affiliation of ancient and contemporary humans inferred from mitochondrial DNA. *Philosophical Transaction of the Royal Society London Biology*, 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 lineages of mitochondrial DNA. *Molecular Biology Evolution*, 10: 23-47.
- Höss, M. Pääbo, S. Vereshchagin, N. 1994. Mammoth DNA sequences. *Nature*, 370:333
- Höss, M. Jaruga, P. Zastanny, T. Dizdaroglu, M. y Pääbo, S. 1996. DNA damage and DNA sequence retrieval from ancient tissues. *Nuclear Acids Research*, 24:1304-1307.
- Höss, M. Dilling, A. Currant, A. y Pääbo, S. 1996b. Molecular phylogeny of the extinct ground sloth *Mylodon Darwinii*. *Proceeding of the National Academy of Science, USA*, 93: 181-185.
- Howell, N. y Smejkal, C. 2000. Persistent heteroplasmy of a mutation in the human mtDNA control region: hypermutation as an apparent consequence of simple repeat expansion/contraction. *American Journal of Human Genetics*, 66: 1589-1598.
- Howells, W. 1989. *Skull Shapes and the Map: craniometric analyses and the dispersion of modern man*. En: Papers of the Peabody Museum. Harvard University Press, Cambridge. Pp. 37-79.
- Hrdlicka, A. 1920. Shovel-shaped Teeth. *American journal of Physical Anthropology*, 3:429-465.
- Hubbe, M. Neves, W. y Harvati, K. 2010. Testing evolutionary and dispersion scenarios for the settlement of the New World. *Plos One*, 5:e11105.
- Hubbe, M. Harvati, K. Neves, W. 2011. Paleoamerican morphology in the context of European and East Asian Late Pleistocene variation: implications for human dispersion into the new world. *American Journal of Physical Anthropology*, 144: 442-453.
- 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.
- Hummel, S. 2003. *Ancient DNA typing. Methods, strategies and applications*. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. New York.
- Hummel, S. 2014. *Ancient DNA*. En: Henke, W. y Tattersall, I. Handbook of Paleoanthropology. Pp: 1-24. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Innan, H. y Nordborg, M. 2002. Recombination or mutational hot spots in human mtDNA? *Molecular Biology Evolution*, 19: 1122-1127.
- Hunley, K. Cabana, G. Merriwether, D y Long, J. 2007. A formal test of linguistic and genetic coevolution in Native Central and South America. *American Journal of Physical Anthropology*, 132: 622-631.
- Jackson, D. Méndez, C. Seguel, R. Maldonado, A. y Vargas, G. 2007. Occupation of the Pacific coast of Chile during Late Pleistocene times. *Current Anthropology*, 48: 725-731.
- Jackson, D. Méndez, C. y Aspillaga, E. 2012. Humans remains directly dated to the Pleistocene-Holocene transition support a marine diet for early settlers of the Pacific coast of Chile. *The Journal of Island and Coastal Archaeology*, 7: 363-377.

- Jacomb, C. Holdaway, R. Allentoft, M. Bunce, M. Oskam, C. Ealter, R. y Brooks, E. 2014. High precision dating and ancient DNA profiling of Moa (aves: dinornithiformes) eggshell documents a complex feature at wairu bar and refines the chronology of New Zealand settlement by Polynesians. *Journal of Archaeological Science*, 50: 24-30.
- Jakubowska, J. Maliejewska, A. y Pawlowski, R. 2011. Comparison of three methods of DNA extraction from human bones with different degrees of degradation. *International Journal of Legal Medicine*, 126: 173-178.
- Jantz, R. y Owsley, D. 2001. Variation among early North American crania. *American Journal of Physical Anthropology*, 114: 146-155.
- Jans, M. Nielsen-Marsh, C. Smith, C. Collins, M. y Kars, H. 2004. Characterization of microbial attack on archaeological bone. *Journal of Archaeological Science*, 31: 87-95.
- Jenkins, D. Davis, L. Stafford Jr, T. Campos, P. Hockett, B. Jones, G. Cummings, L. Yost, C. Connolly, T. Yohe II, R. Gibbons, S. Raghavan, M. Rasmussen, M. Paijmans, J. Hofreiter, M. Kemp, B. Barta, J. Monroe, C. Gilbert, M. y Willerslev, E. 2012. Clovis age Western stemmed projectile points and human coprolites at the Paisley Caves. *Science*, 337: 223-228.
- 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 deoxyribonucleic acid from tissue of the woolly mammoth, *Mammuthus primigenius*. *Comp Biochem Physiol*, 81:1045-1051.
- Jonsson, H. Ginolhac, A. Schubert, M. Johnson, P. y Orlando, L. 2013. MapDamage 2.0: fast approximate Bayesian estimates of ancient DNA damage parameters. *Bioinformatics*, 29: 1682-1684.
- Joyce, D. 2006. Chronology and new research on the Schaefer Mammoth (? *Mammuthus Primigenius*) site, Kenosha County, Wisconsin, USA. *Quaternary International*, 142-143: 44-57.
- Kaestle, F. Glenn-Smith, D. 2001. Ancient mitochondrial DNA evidence for prehistoric population movement: the Numic expansion. *American Journal of Physical Anthropology*, 115:1-12.
- Kaestle, F. y Horsburgh, A. 2002. Ancient DNA in anthropology: methods, applications and ethics. *Yearbook of Physical Anthropology*, 45: 92-130.
- Kelly, R. y Todd, L. 1988. Coming the country: early paleoindian hunting and mobility. *American Antiquity*, 53: 231-244.
- Kelly, R. 2003. May be we do know when people first came to North America and what does it mean if we do? *Quaternary International*, 109-110: 133-145.
- Kemp, B. and Glenn-Smith, D. 2005. Use of bleach to eliminate contaminating DNA from the surface of bones and teeth. *Forensic Science International*, 154: 53-61.
- Kemp, B. Resendez, A. Berrelleza, J. Malhi, R. y Glenn-Smith, D. 2005b. *An analysis of ancient Aztec mtDNA from Tlatelolco: pre-columbian relations and the spread of Uto-Aztecan*. In: Biomolecular Archaeology: genetics approaches to the past. Edited by Davis M. Reed. Center for Archaeological Investigation, Occasional Paper, N° 32. Southern Illinois University.
- Kemp, B. Monroe, C. y Glenn Smith, D. 2006. Repeat silica extraction. A simple technique for the removal of PCR inhibitors from DNA extracts. *Journal of Archaeological Science*, 33:1680-1689.
- Kemp, B. Malhi, R. McDonough, J. Bolnick, D. Eshleman, J. Rickards, O. Labarga, C. Johnson, J. Lorenz, J. Dixon, E. Fifield, T. Heaton, T. Worc, R. y Glenn-Smith, D. 2007. Genetic analysis of early Holocene skeletal remains from Alaska and its implications for the settlement of the Americas. *American Journal of Physical Anthropology*, 132:605-621.

Kemp, B. Monroe, C y Glenn-Smith, D. 2007b. Extraction and analysis of DNA from archaeological specimens. En: Glascock, M. Speakman, R y Popelka-Filcoff, R. (Eds.). *Archaeological Chemistry Analytical Techniques and Archaeological Interpretations*. ACS Symposium Series 968.

Kemp, B. Tung, T. y Summar, M. 2009. The collapse of the Wari empire: mitochondrial DNA profiles from Wari and post-Wari populations in ancient Andes. *American Journal of Physical Anthropology*, 140:80-91.

Kemp, B. y Glenn-Smith, D. 2010. Ancient DNA methodology: thoughts from Brian M. Kemp and David Glenn Smith on "mitochondrial DNA of protohistoric remains of an Arikara population from South Dakota". *Human Biology*, 82: 227-238.

Kemp, B. y Schurr, T. 2010. *Ancient and modern genetic variation in the Americas*. In: Auerbach, B. M. Editor. Human variation in the Americas. Center for Archaeological investigations, Ocasional Papper, No. 38. Southern Illinois University. Pp: 12-50.

Kemp, B. González-Oliver, A. Mahli, R. Monroe, C. Schoeder, K. McDonough, J. Rhett, G. Resendez, A. Peñaloza-Espinosa, R. Buentello-Malo, L. Gorodesky, C. y Glenn-Smith, D. 2010. Evaluating the farming/language dispersal hypothesis with genetic variation exhibited by populations in the Southwest and Mesoamerica. *Proceeding of the National Academy of Science*, 107: 6759-6764.

Kemp, B. Monroe, C. Judd, K. Reams, E. y Grier, C. 2014. Evaluation of methods that subdue the effects of polymerase chain reaction inhibitors in the study of ancient and degraded DNA. *Journal of Archaeological Science*, 42: 373-380.

Keyeux, G. Rodas, C. Gelvez, N. y Carter, D. 2002. Possible migration routes into South America deduced from mitochondrial DNA studies in Colombian Amerindian populations. *Human Biology*, 74: 211-233.

Kirsanow, K. y Burger, J. 2012. Ancient human DNA. *Annals of Anatomy*, 194: 121-132.

Kitchen, A. Miyamoto, M y Mulligan, C. 2008. A three-stage colonization model for the peopling of the Americas. *Plos One*, 3: e1596.

Kivisild, T. Shen, P. Wall, D. Do, B. Sung, R. Davis, K. Passarino, G. Underhill, P. Acharfe, C. Torroni, A. Scozzari, R. Modiano, D. Coppa, A. de Knijff, P. Feldman, M. Cavalli-Sforza, L. y Oefner, P. 2006. The role of selection in the evolution of human mitochondrial genomes. *Genetics*, 172: 373-387.

Kolman, C. Bermingham, E. Cooke, R. Ward, R. Arias, T. y Guineau-Sinclair, F. 1995. Reduced mtDNA diversity in the Ngöbe amerinds of Panamá. *Genetics*, 140: 275-283.

Kolman, C. y Tuross, N. 2000. Ancient DNA analysis of human populations. *American journal of Physical Anthropology*, 111: 5-23.

Krasinski, K. y Haynes, G. 2010. The Eastern Beringian chronology of Quaternary extinctions: a methodological approach to radiocarbon evaluation. *Alaska Journal of Anthropology*, 8: 39-60.

Krause, J. Dear, P. Pollack, J. Slatkin, M. Spriggs, H. Barnes, I. Lister, A. Ebersberger, I. Pääbo, S. Hofreiter, M. 2006. Multiplex amplification of the mammoth mitochondrial genome and the evolution of *Elephantidae*. *Nature*, 439: 724-727.

Krause, J. Lalueza-Fox, C. Enard, W. Green, R. Burbano, H. Hublin, J. Hänni, C. Fortea, J. de la Rasilla, M. Bertranpetit, J. Rosas, A. y Pääbo, S. 2007. The derived *FOXP2* variant of modern humans was shared with neandertals. *Current Biology*, 17: 1908-1912.

Krause, J. Fu, Q. Good, J. Viola, B. Shunkov, M. Derevianko, A. y Pääbo, S. 2010. The complete mitochondrial genome of an unknown hominin from southern Siberia. *Nature*, 464: 894-897.

- Kraytsberg, Y. Schwartz, M. Brown, I. Ebralidse, K. Kunz, W. Clayton, D. Vissing, J. y Khrapko, K. 2004. Recombination of human mitochondrial DNA. *Science*, 304: 981.
- Krieger, Alex D. 1964 *Early man in the New World*. En Prehistoric Man in the New World. J.D. Jennings & E. Norbeck (eds). Pp. 23-81. University of Chicago Press. Chicago.
- Krings, M. Stone, A. Schmitz, R. Krainitzki, H. Stoneking, M. y Pääbo, S. 1997. Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans. *Cell* 90: 19-30.
- Krings, M. Geisert, H. Schmitz, R. Krainitzki, H. y Pääbo S. 1999. DNA sequence of the mitochondrial hypervariable region II from the Neandertal type specimen. *Proceeding of the National Academy of Science, USA*, 96: 5581-5585.
- Krings, M. Capelli, C. Tschentscher, F. Geisert, H. Meyer, S. Von Haeseler, A. Grossschmidt, K. Possnert, G. Paunovic, M. Pääbo, S. 2000. A view of Neandertal genetic diversity. *Nature Genetics*, 26: 144-146
- Klöss-Brandstätter, A. Sanger, T. Lutz-Bonengel, S. Parson, W. Beraud-Colomb, E. Wen, B. Kong, Q. Bravi, C. y Bandelt, H. 2005. Phantom mutation hotspots in human mitochondrial DNA. *Electrophoresis*, 26: 3414-3429.
- Klöss-Brandstätter, A. Pacher, D. Schönherr, S. Weissensteiner, H. Binna, R. Specht, G y Kronenberg, F. 2011. HaploGrep: a fast and reliable algorithm for automatic classification of mitochondrial DNA haplogroups. *Human Mutation*, 32: 25-32.
- Kuch, M. Gocke, D. Knyf, M. Gilbert, M. 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 systematic approach to ancient human DNA. *American Journal of Physical Anthropology*, 132:594-604.
- Kumar, S. Bellis, C. Zlojutro, M. Melton, P. Blangero, J. y Curran, J. 2011. Large scale mitochondrial sequencing in Mexican Americans suggests a reappraisal of Native American origins. *BMC Evolutionary Biology*, 11: 293-312.
- Kvist, L. Martens, J. Nazarenko, A. y Orell, M. 2003. Paternal leakage of mitochondrial DNA in the Great Tit (Parus Major). *Molecular Biology Evolution*, 20: 243-247.
- Kolman, C. y Bermingham, E. 1997. Mitochondrial and nuclear DNA diversity in the Chocó and Chibcha amerinds of Panamá. *Genetics*, 147: 1289-1302.
- Ladoukakis, E. y Zouros, E. 2001. Direct evidence for homologous recombination in mussel (*Mytilus Galloprovin Cialis*) mitochondrial DNA. *Molecular Biology Evolution*, 18: 1168-1175.
- Lalueza, C. Pérez-Pérez. A. Prats, E. Moreno, P. Pons, J. y Turbón, D. 1993-94. Ausencia de la delección de 9 bp COII/tRNALys en aborígenes de Fuego-Patagonia mediante análisis de DNA antiguo. *Anales del Instituto de la Patagonia*, 22: 181-191.
- Lalueza, C. Perez-Perez, A. Prats, E. Cornudella, L. y Turbón, D. 1997. Lack of founding amerindian mitochondrial DNA in extinct aborigines from Tierra del Fuego-Patagonia. *Human Molecular Genetics*, 6:41-46.
- Lalueza-Fox, C. Luna-Calderon, F. Calafell, F. Morera, B. y Bertranpetit, J. 2001. mtDNA from extinct Tainos and the peopling of the caribbean. *Annals Human Genetics*, 65:137-151.
- Lalueza-Fox, C. Shapiro, B. Bover, P. Alcover, J. Bertranpetit, J. 2002. Molecular phylogeny and evolution of the extinct bovid *Myotragus balearicus*. *Molecular Phylogenetic Evolution*, 25: 501-510.
- Lalueza-Fox, C. Gilbert, M. Martinez-Fuentes, A. Calafell, F. y Bertranpetit, J. 2003. Mitochondrial DNA from pre-columbian ciboneys from Cuba and the prehistoric colonization of the Caribbean. *American Journal of Physical Anthropology*, 121:97:108.

- Lalueza-Fox, C. Samprieto, M. Caramelli, D. Puder, Y. Lari, M. Calafell, F. Martínez-Maza, C. Bastir, M. Fortea, J. De la Rasilla, M. Bertranpetit, J. y Rosas, A. 2005. Neandertal evolutionary genetics: mitochondrial DNA data from the Iberian Peninsula. *Molecular Biology and Evolution*, 22: 1077-1081.
- Lalueza-Fox, C. Römpler, H. Caramelli, D. Stäubert, C. Catalano, G. Hughes, D. Rohland, N. Pilli, E. Longo, L. Condemi, S. de la Rasilla, M. Fortea, J. Rosas, A. Stoneking, M. Schöneberg, T. Bertranpetit, J. y Hofreiter, M. 2007. A melanocortin 1 receptor allele suggest varying pigmentation among neanderthals. *Science*, 318: 1453-1455.
- Lalueza-Fox, C. Gigli, E. de la Rasilla, M. Fortea, J. Rosas, A. Bertranpetit, J. y Krause, J. 2008. Genetic characterization of the ABO group in neandertals. *Molecular Biology Evolution*, 8: 342.
- 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 Brasileira de Antropología Biológica. Ouro Preto.
- Lanata, J.L. 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.
- Lassen, C. Hummel, S. y Herrmann, B. 1994. Comparison of DNA extraction and amplification from ancient human bone and mummified soft tissue. *International Journal of Legal Medicine*, 107: 152-155.
- Lawrence, D. Kemp, B. Eshleman, J. Jantz, R. Snow, M. George, D. y Smith, D. 2010. Mitochondrial DNA of protohistoric remains of an Arikara population from South Dakota: implications for the macro-Siouan language hypothesis. *Human Biology*, 82: 157-178.
- Leite, D. Leitao, A. Schaan, A. Marinho, A. Souza, S. Rodriguez-Carvalho, C. Cardoso, F. y Ribeiro dos Santos, A. 2014. Paleogenetic studies in Guajajara skeletal remains, Maranhao state, Brazil. *Journal of Anthropology*, <http://doi.org/10.1155/2014/729120>.
- León, R. Bran, D. Collantes, M. Paruelo, J. y Soriano, A. 1998. Grandes unidades de vegetación de la Patagonia extra andina. *Ecología Austral. Publicación de la Asociación Argentina de Ecología*, 8: 125-144.
- Leonard, J. Shanks, O. Hofreiter, M. Kreuz, E. Hodges, L. Ream, W. Wayne, R. y Fleischer, R. 2007. Animal DNA in PCR reagents plagues ancient DNA research. *Journal of Archaeological Science*, 34: 1361-1366.
- Lleonart, R. Riego, E. Rodríguez-Suarez, R. Travieso-Ruiz, R y De la Fuente, J. 1999. Analyses of DNA from ancient bones of a pre-colombian cuban woman and child. *Genetics and Molecular Biology*, 22,3:285-289.
- Lewis Jr, C. Tito, R. Lizarraga, 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.
- Lewis Jr, C. Lizarraga, B. Tito, R. López, P. Lannacone, G. Medina, A. Martínez, R. Polo, S. De la Cruz, A. Cáceres, A. y Stone, A. 2007. Mitochondrial DNA and the peopling of South America. *Human Biology*, 79: 159-178.
- Lewis Jr. C. Buikstra, J. y Stone, A. 2007b. Ancient DNA and genetic continuity in the South Central Andes. *Latin American Antiquity*, 18: 145-160.
- Lewis, Jr, C. y Long, J. 2008. Native South American genetic structure and prehistory inferred from hierarchical modeling of mtDNA. *Molecular Biology Evolution*, 25: 478-486.
- Lewis, Jr. C. 2010. Hierarchical modeling of genome-wide short tandem repeat (STR) markers infers Native American prehistory. *American Journal of Physical Anthropology*, 141: 281-189.
- Librado, P. y Rozas, J. 2009. DnasP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25: 1451-1452.

- Lima-Ribeiro, M. Varela, S. Nogués-Bravo, D. y Diniz-Filho, J. 2012. Potential suitable areas of giant ground sloths dropped before its extinction in South America: evidences from bioclimatic envelope modeling. *Natureza & Conservacao*, 10: 145-151.
- Lindahl, T. 1993. Inestability and decay of the primary structure of DNA. *Nature*, 362: 709-715.
- López, L. Silveira, M. y Stern, C. 2010. Uso de obsidias entre los cazadores-recolectores en el bosque de Lago Triful, Noroeste de la Patagonia, Argentina. *Magallania*, 38: 237-245.
- López Mazz, J. 2013. Early human occupation of Uruguay: radiocarbon database and archaeological implications. *Quaternary International*, 301: 94-103.
- Loreille, O. Diegoli, T. Irwin, J. Coble, M. y Parsons, T. 2007. High efficiency DNA extraction from bone by total demineralization. *Forensic Science International*, 1: 191-195.
- Lorenz, J. y Smith, D. 1996. Distribution of the four founding mtDNA haplogroups among Native North Americans. *American Journal of Physical Anthropology*, 101: 307-323.
- Lorenzen, E. Nogués-Bravo, D. Orlando, L. Weinstock, J. Binladen, J. Marske, K. Ugan, A. Borregaard, M. Gilbert, M. Nielsen, R. Ho, S. Goebel, T. Graf, K. Buers, D. Stenderup, J. Rasmussen, M. Campos, P. Leonar, J. Koepfli, K. Froese, D. Zazula, G. Stafford Jr, T. Sorensen, K. Batra, P. Haywood, A. Singarayer, J. Valdes, P. Boeskorov, G. Burns, J. Davydov, S. Haile, J. Jenkins, D. Kosintsev, P. Kuznetsova, T. Lai, X. Martin, L. McDonald, H. Mol, D. Meldgaard, M. Munch, K. Stephan, E. Sablin, M. Sommer, R. Sipko, T. Scott, E. Suchard, M. Tikhonov, A. Willerslev, R. Wayne, R. Cooper, A. Hofreiter, M. Sher, A. Shapiro, B. Rahbek, C. y Willerlev, E. 2011. Species-specific responses of late quaternary megafauna climate and humans. *Nature*, 479: 359-364.
- Lourandos, H. 1997. Continent of Hunter-Gatherers: New Perspectives in Australian Prehistory. Cambridge University Press.
- Luciani, S. Fornaciari, G. Rickards, O. Labarga, C. y Rollo, F. 2006. Molecular characterization of a pre-columbian mummy and in situ coprolite. *American Journal of Physical Anthropology*, 129:620-629.
- MacDonald, G. Bennett, K. Jackson, S. Parducci, L. Smith, F. Smol, J. y Willis, K. 2008. Impacts of climate change on species, populations and communities: palaeobiogeographical insights and frontiers. *Progress in Physical Geography*, 32: 139-172.
- Malaspinas, A. Lao, O. Schoroeder, H. Rasmussen, M. Raghavan, M. Moltke, I. Campos, P. Sagredo, F. Rasmussen, S. Gonçalves, V. Albrechtse, A. Allentoft, M. Johnson, P. Li, M. Reis, S. Bernardo, D. De Giorgio, M. Duggan, A. Bastos, M. Wang, Y. Stenderup, J. Moreno-Mayar, J. Brunak, S. Sicheritz-Ponten, T. Hodges, E. Hannon, G. Orlando, L. Price, D. Jensen, J. Nielsen, R. Hewemeier, J. Olsen, J. Rodrigues-Carvalho, C. Mirazon-Lahr, M. Neves, W. Keyser, M. Higham, T. Stoneking, M. Pena, S. y Willerslev, E. 2014. Two ancient human genomes reveal Polynesian ancestry among the indigenous Botocudos of Brazil. *Current Biology*, 24: R1035-R1937.
- Malhi, R. y Glenn-Smith, D. 2002. Brief communication: haplogroup X confirmed in prehistoric North America. *American Journal of Physical Anthropology*, 119:84-86.
- Malhi, R. Eshleman, J. Greenberg, J. Weiss, D. Schultz Shook, B. Kaestle, F. Lorenz, J. Kemp, B. Johnson, J. y Glenn-Smith, D. 2002. The structure of diversity within new world mitochondrial DNA haplogroups: implications for the prehistory of North America. *American Journal of Human Genetics*, 70: 905-919.
- Malhi, R. Kemp, B. Eshleman, J. Cybulski, J. Glenn-Smith, D. Cousins, S. y Harry, H. 2007. Mitochondrial haplogroup M discovered in prehistoric North Americas. *Journal of Archaeological Science*, 34:642-648.
- Malhi, R. Cybulski, J. Tito, R. Johnson, J. Harry, H. y Dan, C. 2010. Brief communication: mitochondrial haplotype C4c confirmed as a founding genome in the Americas. *American Journal of Physical Anthropology*, 141: 191-497.

- Malmström, H. Stora, J. Dalen, L. Holmlund, G. y Gotherström, A. 2005. Extensive human DNA contamination in extracts from ancient dogs bones and teeth. *Molecular Biology Evolution*, 10: 2040-2047.
- Malmström, H. Svensson, E. Gilbert, T. Willerslev, E. Gotherstrom, A. y Holmlund, G. 2007. More on contamination: the use of asymmetric molecular behavior to identify authentic ancient human DNA. *Molecular Biology Evolution*, 24: 998-1004.
- Malyarchuk, B. Rogozin, I. Berikov, V. y Derenko, M. 2002. Analysis of phylogenetically reconstructed mutational spectra in human mitochondrial DNA control region. *Human Genetic*, 111: 46-53.
- Mancini, M. Franco, N. y Brook, G. 2013. Palaeoenvironment and early human occupation of Southernmost South America (South Patagonia, Argentina). *Quaternary International*, 299: 13-22.
- Manel, S. Schwartz, M. Luikart, G. y Taberlet, P. 2003. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology and Evolution*, 18: 189-197.
- Mandrini, R. y Ortelli, S. 2002. *Los "araucanos" en las Pampas*. En: Boccara, G. (Eds.). Colonización, resistencia y mestizaje en las Américas (siglos XVI-XX). Ediciones Abya-Yala/Instituto Frances de Estudios Andinos. Quito. Pp: 237-257.
- Mandryk, C. Josenhans, H. Fedje, D. y Nathewes, R. 2001. Late quaternary paleoenvironments of Northwestern Northamerica: implications for inland versus coastal migration routes. *Quaternary Science Reviews*, 20: 301-314.
- Manríquez, G. Moraga, M. Santoro, C. Aspillaga, E. Arriaza, B. y Rothhammer, F. 2011. Morphometric and ADNmt analyses of archaic skeletal remains from Southwestern South America. *Chúngara*, 43: 283-292.
- Marangoni, A. Caramelli, D y Manzi, G. 2013. Homo Sapiens in the Americas. Overview of the earliest human expansion in the New World. *Journal of Anthropological Science*, 91: 1-19.
- Marinho, A. Miranda, N. Braz, V. Ribeiro Dos Santos, A. y Mendonca de Souza, S. 2006. Paleogenetic and taphonomic analysis of human bones from Moa, Beirada and Ze Espinho Sambaquis, Rio de Janeiro, Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 101: 15-23.
- Markgraf, V. Bradbury, J. Schwalb, A. Burns, S. Stern, C. Ariztegui, D. Gilli, A. Anselmetti, F. Stine, S. y Maidana, N. 2003. Holocene palaeoclimates of southern Patagonia: limnological and environmental history of lago Cardiel, Argentina. *The Holocene*, 13: 597-607.
- Marshall, C. Tench, P. Cook, D. y Kaestle, F. 2011. Brief communication: conjoined twins at Angel Mounds? An ancient DNA perspective. *American Journal of Physical Anthropology*, 146: 138-142.
- Martin, P. 1973. The discovery of America. *Science*, 179:969-74.
- Martínez, G. 2008-2009. Arqueología del curso inferior del Río Colorado: estado actual del conocimiento e implicaciones para la dinámica poblacional de cazadores-recolectores Pampeano-Patagónicos. *Cazadores Recolectores del Cono Sur. Revista de Arqueología*, 3: 71-92.
- Martínez, G. Zangrando, F. y Prates, L. 2009. Isotopic ecology and human palaeodiets in the lower basin for the Colorado River basin, Buenos Aires Province, Argentina. *International Journal of Osteoarchaeology*, 19: 281-296.
- Martínez, G. Flensburg, G. y Bayala, P. 2013. Chronology and human settlement in Northeastern Patagonia (Argentina): patterns of site destruction, intensity of archaeological signal and population dynamics. *Quaternary International*, 301: 123-134.
- Martino, L. Osella, A. Dorso, C. y Lanata, J. 2007. Fisher equation for anisotropic diffusion simulating South American Human dispersal. *Physical Review*, E:76.

- Mata-Miguez, J. Overholtzer, L. Rodríguez-Alegría, E. Kemp, B. y Bolnick, D. 2012. The genetic impact of Aztec imperialism: ancient mitochondrial DNA evidence from Xaltocan, México. *American Journal of Physical Anthropology*, 149: 504-516.
- Mateiu, L. y Ranala, B. 2008. Bayesian inference of errors in ancient DNA caused by post-mortem degradation. *Molecular Biology Evolution*, 7: 1503-1511.
- Matheson, C. Gurney, C. Esau, N. y Lehto, R. 2010. Assessing PCR inhibition from humic substances. *The Open Enzyme Inhibition Journal*, 3: 38-45.
- Matisoo-Smith, E. y Horsburgh, A. 2012. *DNA for archaeologist*. Left Coast Press, Walnut Creek, California.
- Matson, R. y Coupland, G. 1995. *The prehistory of the Northwest Coast*. New York: Academic Press.
- Mazieres, S. Gutard, E. Crubezy, E. Dugoujon, J. Bortolini, M. Bonato, S. Hutz, M. Bois, E. Tiouka, F. Larrouy, G. y Salzano, F. 2007. Uniparental (mtDNA, Y-chromosome) polymorphisms in French Guiana and two related populations- implications for the region's colonization. *Annals of Human Genetics*, 71: 1-12.
- Mazieres, S. 2011. Towards a reconciling model about the initial peopling of America. *Comptes Rendus Biologies*, 334: 497-504.
- McCulloch, R. Clapperton, C. Rabassa, J. y Carrant, A. 1997. The natural setting. *The glacial and post-glacial environmental history of Fuego-Patagonia*. En: McEwan, C. Borrero, L. y Prieto, A. Patagonia. Natural History, Prehistory and Ethnography at the Uttermost End of the Earth. Princenton University Press. Princenton, New Jersey, Pp: 13-31.
- McCulloch, R. Bentley, M. Purves, R. Hulton, N. Sugden, D. y Clapperton, C. 2000. Climatic inferences from glacial and palaeoecological evidence at the last glacial termination, Southern South America. *Journal of Quaternary Science*, 15: 409-417.
- Melton, P. Briceño, I. Gomez, A. Devor, E. Bernal, J. y Crawford, M. 2007. Biological relationship between Central and South American Chibchan speaking populations: evidence from mtDNA. *American Journal of Physical Anthropology*, 133: 753-770.
- Meltzer, D. 1989. Why don't know when the first people came to North America? *American Antiquity*, 53: 471-490.
- Meltzer, D. 1995. Clocking the first Americans. *Annual Review of Anthropology*, 24: 21-45.
- Meltzer, D. 2003. Peopling of North America. *Development in Quaternary Science*, 1: 539-563.
- Méndez, F. Watkins, J. y Hammer, M. 2012. Global genetic variation at OAS1 provides evidence of archaic admixture in Melanesian population. *Molecular Biology Evolution*, 29: 1513-1520.
- Méndez, F. Watkins, J. y Hammer, M. 2013. Neandertal origin of genetic variation at the cluster of OAS immunity genes. *Molecular Biology Evolution*, 30: 798-801.
- Mendisco, F. Keyser, C. Hollard, C. Seldes, V. Nielsen, A. Crubezy, E. y Ludes, B. 2011. Application of the iPLEX Gold SNP genotyping method for the analysis of Amerindian ancient DNA samples: benefits for ancient population studies. *Electrophoresis*, 32:1-8.
- Merriwether, A. Rothhammer, F. y Ferrel, R. 1994. Genetic variation in the New World: ancient teeth, bone and tissue as source of DNA. *Cellular and Molecular Life Science*, 50: 592-601.
- Merriwether, A. Reed, D. y Ferrel, R. 1997. Ancient and contemporary mitochondrial DNA variation in the Maya. En: Whittington, S. y Reed, D (Eds.). *Bones of Ancient Maya: Studies of ancient skeletons*. Washington DC, Smithsonian Institution Press. Pp: 208-217.

- Meyer, S. Weiss, G. y Von Heseler, A. 1999. Pattern of nucleotide substitution and rate heterogeneity in the hypervariable regions 1 and 2 of human mtDNA. *Genetics*, 152: 1103-1110.
- Meyer, M. Kircher, M. Gansauge, M. Li, H. Racimo, F. Mallick, S. Schraiber, J. Jay, F. Prüfer, K. de Filippo, C. Sudmant, P. Alkan, C. Fu, Q. Do, R. Rohland, N. Tandon, A. Siebauer, M. Green, R. Bryc, K. Briggs, A. Stenzel, U. Dabney, J. Shendure, J. Kitzman, J. Hammer, M. Shunkov, M. Derevianko, A. Patterson, N. Andrés, A. Eichler, E. Slatkin, M. Reich, D. Kelso, J. y Pääbo, S. 2012. A high coverage genome sequence from an archaic denisovan individual. *Science*, 338: 222-226.
- Meyer, M. FU, Q. Aximu-Petri, A. Glocke, I. Nickel, B. Arsuaga, J. Martinez, I. Gracia, A. Bermúdez de Castro, J. Carbonell, E. y Pääbo, S. 2013. A mitochondrial genome sequence a hominin from Sima de los Huesos. *Nature*, 505:403-406.
- Meyer, I. y Wagner, S. 2009. *The Little ice age in Southern South America: proxy and model based evidence. In: Past Climate Variability in South America and Surrounding Regions.* Vimeux, F. Sylvestre, F. y Khodri, M. (Eds.). Developments in Paleoenvironmental Research 14. Springer.
- Miotti, L. 2003. Patagonia: a paradox for building images of the first Americans during the Pleistocene/Holocene transition. *Quaternary International*, 109-110: 147-173.
- Miotti, L. Salemme, M. 2003. When Patagonia was colonized: people mobility at high latitudes during Pleistocene/Holocene transition. *Quaternary International*, 109-110: 95-111.
- Miotti, L. y Salemme, M. 2004. Poblamiento, movilidad y territorios entre las sociedades cazadoras-recolectoras de Patagonia. *Complutum*, 15: 177-206.
- Miotti, L. 2006. *La fachada atlántica como puerta de ingreso alternativa de la colonización humana de América del Sur durante la transición Pleistoceno/Holoceno.* En: Jimenez, J.C et al. (Eds.). Simposio Internacional del Hombre Temprano en América. Instituto Nacional de Antropología e Historia, México. Pp: 155-188.
- Mishmar, D. Ruiz-Pesini, E. Golik, P. Macaulay, V. Clark, A. Hosseini, S. Brandon, M. Easley, K. Chen, E. Brown, M. Sukernik, R. Olckers, A. y Wallace, D. 2003. Natural selection shaped regional mtDNA variation in humans. *Proceeding of the National Academy of Science*, 100: 171-176.
- Misner, L. Halvorson, A. Dreier, J. Ubelaker, D. y Foran, D. 2009. The correlation between skeletal weathering and DNA quality and quantity. *Journal of Forensic Science*, 4: 822-828.
- Mitchell, D. Willerslev, E. Hansen, A. 2005. Damage and repair of ancient DNA. *Mutation Research*, 571:265-276.
- Mohandesan, E. Mowla, S. Noobari, A. y Hofreiter, M. 2008. Ancient DNA from human and animal remains from North-West Iran. *Journal of Science, Islamic Republic of Iran*, 1: 3-8.
- Molak, M. y Ho, S. 2011. Evaluating the impact of post-mortem damage in ancient DNA: a theoretical approach. *Journal of Molecular Evolution*, 73: 244-255.
- Mondenutti, B. Balseiro, E. Dieguez, M. Quemaliños, C. y Albariño, R. 1998. Heterogeneity of fresh water patagonian ecosystems. *Ecología Austral. Publicación de la Asociación Argentina de Ecología*, 8: 155-165.
- Monroe, C. Grier, C. y Kemp, B. 2013. Evaluating the efficacy of various thermo-stable polymerases against co-extracted PCR inhibitors in ancient DNA samples. *Forensic Science International*, 228:142-153.
- Monsalve, M. Cardenas, F. Guhl, F. Delaney, A. y Devine, D. 1996. Phylogenetic analysis of mtDNA lineages in south American mummies. *American Journal of Human Genetics*, 60:293-303.
- Montiel, R. Malgosa, A. y Francalacci, P. 2001. Authenticating ancient human mitochondrial DNA. *Human Biology*, 5:689-713.

- Montiel, R. y Sivoli, C. 2007. Los criterios de autenticidad de ADN antiguo y su uso en estudios poblacionales humanos. *Boletín Antropológico*, 70: 215-229.
- 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. Rocco, P. Miquel, J. Nervi, F. Llop, E. Chakraborty, 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 Journal of Physical Anthropology*, 113: 19-29.
- Moraga, M. Aspillaga, E. Santoro, C. Standen, V. Carvallo, P. y Rothhammer, F. 2001. Análisis de ADN mitocondrial en momias del Norte de Chile avala la hipótesis de origen amazónico de poblaciones Andinas. *Revista Chilena de Historia Natural*, 74:719-726.
- Moraga, M. Santoro, C. Standen, V. Carvallo, P. y Rothhammer, F. 2005. Microevolution in prehistoric Andean population: chronologic mtDNA variation in the desert Valleys of Northern Chile. *American Journal of Physical Anthropology*, 127:170-181.
- Moraga, M. de Saint Pierre, M. Torres, F y Ríos, J. 2010. Vínculos de parentesco por vía materna entre los últimos descendientes de la etnia Kawesqar y algunos entierros en los canales patagónicos: evidencia desde el estudio de linajes mitocondriales. *Magallania*, 38: 103-114.
- Morales, M. Barberena, R. Belardi, J. Borrero, L. Cortegoso, V. Duran, V. Guerci, A. Goñi, R. Gil, A. Neme, G. Yacobaccio, H. y Zarate, M. 2009. Reviewing human-environment interactions in arid regions of Southern South America during the past 3.000 years. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 281: 283-295.
- Morello, F. Borrero, L. Massone, M. Stern, C. García-Herbst, A. McCulloch, R. Arroyo-Kalin, M. Calás, E. Torres, J. Prieto, A. Martínez, I. Bahamonde, G. y Cárdenas, P. 2012. Hunters-gatherers, biogeographic barrier and development of human settlement in Tierra del Fuego. *Antiquity*, 86: 71-87.
- Moreno, E. Zangrando, A. Tessone, A. Castro, A. y Panarello, H. 2011. Isótopos estables, fauna y tecnología en el estudio de los cazadores-recolectores de la costa Norte de Santa Cruz. *Magallania*, 39: 265-276.
- Moreno-Mayar, V. Rasmussen, S. Seguin-Orlando, A. Rasmussen, M. Lang, M. Flam, S. Lie, B. Glifillan, D. Nielsen, R. Thorsby, E. Willerslev, E. y Malaspinas, A. 2014. Genome wide ancestry patterns in Rapanui suggest pre-European admixture with Native Americans. *Current Biology*, 24: 2518-2525.
- 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. y Martin, P. 1975. Simulating overkill by paleoindians. *American Scientist*, 63:305-313.
- Moss, M. Judd, K. y Kemp, B. 2014. Can salmonids (oncorhynchus spp.) be identified to species using vertebral morphometrics? A test using ancient DNA from Coffman Cove, Alaska. *Journal of Archaeological Science*, 41: 879-889.
- Motti, J. 2012. Caracterización de linajes maternos en la población actual del Noroeste y Centro Oeste Argentinos. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Universidad Nacional de la Plata.
- Moy, C. Moreno, P. Dunbar, R. Kaplan, M. Francois, J. Villalba, R. y Haberzetti, T. 2009. *Climate change in Southern South America during the last two millennia*. In: Past Climate Variability in South America and Surrounding Regions. Vimeux, F. Sylvestre, F. y Khodri, M. (Eds.). Developments in Paleoenvironmental Research 14. Springer.
- Mulligan, C. 2006. Anthropological applications of ancient DNA: problems and prospects. *American Antiquity*, 71: 365-380.

- Mulligan, C. Kitchen, A. y Miyamoto, M. 2008. Updated three-stage model for the peopling of the Americas. *Plos One*, 3: e3199.
- Mullis, K. Faloona, F. Scharf, S. Saiki, R. Horn, G. y Erlich, H. 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 51: 263-273.
- Mullis, K. y Faloona, F. 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polumerase-catalysed chain reaction. *Methodology Enzymology*, 155:335-350.
- Muñoz, A. Caracotche, M. y Cruz, I. 2009. Cronología de la costa al Sur el Río Santa Cruz: nuevas dataciones radiocarbónicas en Punta Entrada y Parque Nacional Monte León (Provincia de Santa Cruz, Argentina). *Magallania*, 37: 19-38.
- Nacuzzi, L. 2007. Los grupos nómades de la Patagonia y el Chaco en el siglo XVIII: identidades, espacios, movimientos y recursos económicos ante la situación de contacto. Una reflexión comparativa. *Chúngara*, 39: 221-234.
- Nami, H. 2013. Archaeology, paleoindian research and lithic technology in the middle Negro river, Central Uruguay. *Archaeological Discovery*, 1: 1-22.
- Nami, H. y Castro, A. 2014. Fishtail points, technology and microwear analysis from the Negro River basin, Uruguay. *Archaeological Discovery*, 2: 65-70.
- Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press.
- Nei, M. y Li, J. 1987. Variances of average numbers of nucleotide substitution within and between population. *Molecular Biology Evolution*, 3: 290-300.
- 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.
- Neves, W. Prous, A. Gonzalez-Jose, R. Kipsnir, R. y Powell, J. 2003. Early human skeletal remains from Santa Do Riacho, Brazil: implications for the settlement of the new world. *Journal of Human Evolution*, 45: 19-42.
- Neves, W. Gonzalez-José, R. Hubbe, M. Kipnis, R. Araujo, A. y Blasi, O. 2004. Early holocene human skeletal remains from Cerca Grande, Lagoa Santa, Central Brazil, and the origins of the first Americans. *World Archaeology*, 4:479-501.
- Neves, W. y Hubbe, M. 2005. Cranial morphology or early americans from Lagoa Santa, Brazil: implications for the settlement of the New World. *Proceedings of the National Academy of Science*, 51: 18309-18314.
- Neves, W. Hubbe, M. y Correal, G. 2007. Human skeletal remains from Sabana de Bogotá. Colombia: a case of paleoamerican morphology late survival in South America? *American Journal of Physical Anthropology*, 133: 1080-1098.
- Nichols, J. 1990. Linguistic diversity and the first settlement of the New World. *Language*, 66: 475–521.
- Nichols, J.1992. *Linguistic diversity in space and time*. University of Chicago Press, Chicago.
- Nichols, J. 1997. Modeling Ancient Population Structure and Movement in Linguistic. *Annual Review of Anthropology*, 26: 359-384.
- Nichols, J. 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.
- Nielsen-Marsh, C. y Hedges, R. 2000. Patterns of diagenesis in bone 1: the effect of site environments. *Journal of Archaeological Science*, 27: 1139-1150.

- Noonan, J. Hofreiter, M. Smith, D. Priest, J. Rohland, N. Rabeder, G. Krause, J. Detter, C. Pääbo, S. Rubin, E. 2005. Genomic sequencing of Pleistocene cave bear. *Science*, 309: 597-600.
- Noonan, J. Coop, G. Kudaravalli, S. Smith, D. Krause, J. Alessi, J. Chen, F. Platt, D. Pääbo, S. Pritchard, J. y Rubin, E. 2006. Sequencing and analysis of Neanderthal genomic DNA. *Science*, 314: 1113-1118.
- Nores, R. y Demarchi, D. 2011. Análisis de haplogrupos mitocondriales en restos humanos de sitios arqueológicos de la Provincia de Córdoba. *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 13: 43-54.
- Nores, R. Fabra, M. y Demarchi, D. 2011. Variación temporal y espacial en poblaciones pre-hispánicas de Córdoba. *Revista del Museo de Antropología*, 4: 187-194.
- Oliveira, H. 2008. Molecular biology and the human past. A theory of archaeogenetics. *Archaeological Review from Cambridge*, 23.1:109-126.
- Olsen, M. Bengtsson, C. Bertelsen, M. Willerslev, E. y Gilbert, M. 2012. DNA from keratinous tissue part II: feathers. *Annals of Anatomy*, 194: 31-35.
- Orlando, L. Darlu, P. Toussaint, M. Bonjean, D. Otte, M. y Hanni, C. 2006. Revisiting Neandertal diversity with a 100,000 year old mtDNA sequence. *Current Biology*, 16: R400-402
- O'Rourke, D. Hayes, M. y Carlyle, S. 2000. Ancient DNA studies in physical anthropology. *Annual Review of Anthropology*, 29:217-242.
- O'Rourke, D. 2009. Human migrations: the two roads taken. *Current Biology*, 19: R203.
- O'Rourke, D. 2011. Contradictions and concordances in American colonization models. *Evolution: Education and Outreach*, 4: 244-253.
- Orquera, L. y Piana, E. 1999. *Arqueología de la región del canal de Beagle*. Publicaciones de la Sociedad Argentina de Antropología. Buenos Aires, Argentina.
- Orquera, L. y Gómez Otero, J. 2007. Los cazadores-recolectores de las costas de Pampa, Patagonia y Tierra del Fuego. *Relaciones de la Sociedad Argentina de Antropología*, 32: 75-99.
- 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 y D. Gentry Steele. Corvallis OR: Center for the Study of the First Americans. Department of Anthropology, Oregon State University. Pp.79-115.
- Ovchinnikov, I. Götherström, A. Romanoval, G. Kharitonov, V. Lidén, K. y Goodwin, W. 2000. Molecular analysis of Neandertal DNA from the northern Caucasus. *Nature*, 404:490-493
- Pääbo, S. 1984. Über den Nachweis von DNA in altägyptischen Mumien. *Das Altertum*, 30:213-218.
- Pääbo, S. Gifford, J. y Wilson A. 1988. Mitochondrial DNA sequences from a 7000-year old brain. *Nucleic Acids Research*, 16: 9775-9787.
- Pääbo, S. Higuchi, R. y Wilson, A. 1989. Ancient DNA and the polymerase chain reaction. The emerging field of molecular archaeology. *The Journal of Biological Chemistry*, 264:9709-9712.
- Pääbo, S. Poinar, H. Serre, D. Despres, V. Hebler, J. Rohland, N. Kuch, M. Krause, J. Vigilant, L. y Hofreiter, M. 2004. Genetic analyses from ancient DNA. *Annual Review of Genetics*, 38:645-679.
- Paixo-Cortes, V. Viscardi, L. Salzano, F. Bortolini, M. y Hunemeier, T. 2013. The cognitive ability of extinct hominins: bringing down the hierarchy using genomics evidence. *American Journal of Human Biology*, 25: 702-705.

- Pakendorf, B. y Stoneking, M. 2005. Mitochondrial DNA and human evolution. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 6: 165-183.
- Pandey, R. Singh, D. Sudhakar, G. y Rao, V. 2011. Ethanol re-precipitation removes PCR inhibitors from ancient DNA extract. *Journal of Anthropology*, 7: 167-172.
- Parr, R. Carlyle, S. y O'Rourke, D. 1996. Ancient DNA of Fremont amerindians of Great Salt Lake Wetlands. *American Journal of Physical Anthropology*, 99: 507-518.
- Parsons, T. Muniec, D. Sullivan, K. Woodyatin, N. Alliston-Grewer, R. Wilson, M. Berry, D. Holland, K. Weedn, V. Gill, P. y Holland, M. 1997. A high observed substitution rate in the human mitochondrial DNA control region. *Nature*, 15: 363-367.
- Paruelo, J. Beltrán, A. Jobbagy, E. Sala, O. y Golluscio, R. 1998. The climate of Patagonia: general patterns and control son biotic processes. *Ecología Austral. Publicación de la Asociación Argentina de Ecología*, 8: 85-101.
- Pauro, M. García, A. Nores, R. y Demarchi, D. 2013. Analysis of uniparental lineages in two villages of Santiago del Estero, Argentina, seat of "Pueblos de Indios" in colonial times. *Human Biology*, 85: 699-xx.
- Pelaez, P. 2001. *El poblamiento de América*. Ficha de Cátedra Fundamentos de Prehistoria, FFyL, UBA.
- Perego, U. Achilli, A. Angerhofer, N. Accetturo, M. Pala, M. Olivieri, A. Kashani, B. Ritchie, K. Scozzari, R. Kong, Q. Myres, N. Salas, A. Semino, O. Bandelt, H. Woodward, S. y Torroni, A. 2009. Distinctive paleo-indian migration routes from Beringia marked by two rare mtDNA haplogroups. *Current Biology*, 19: 1-8.
- Perego, U. Angerhofer, N. Pala, M. Olivieri, A. Lancioni, H. Kashani, B. Carossa, V. Ekins, J. Gomez-Carballa, A. Huber, G. Zimmermann, B. Corach, D. Babudri, N. Panara, F. Myres, N. Parson, W. Semino, O. Salas, A. Woodward, S. Achilli, A. y Torroni, A. 2010. The initial peopling of the Americas: a growing number of founding mitochondrial genomes from Beringia. *Genome Research*, 20: 1174-1179.
- Pérez, I. Bernal, V. y González, P. 2007. Morphological differentiation of aboriginal human populations from Tierra del Fuego (Patagonia): implications for South American peopling. *American Journal of Physical Anthropology*, 133: 1067-1079.
- Pérez, I. Bernal, V. Gonzalez, P. Sardi, M. y Politis, G. 2009. Discrepancy between cranial and DNA data of early Americans: implications for American peopling. *Plos One*, 4:e5746.
- Pérez, A. y Reyes, V. 2009. Técnica de impronta de hojas, algunas reflexiones acerca de su novedoso registro en la vertiente oriental de la cordillera de los Andes. *Magallania*, 37: 113-132.
- Pérez, A. 2010. La mirada de Ngenechen. Representaciones anfimorfadas aplicadas al pastillaje en la alfarería de la Patagonia Noroccidental Argentina. *Comenchingonia*, 13: 9-20.
- Pérez, I. 2011. Poblamiento humano, diferenciación ecológica y diversificación fenotípica en América. *Runa*, 32: 83-104.
- Pérez, I. Lema, V. Diniz-Filho, J. Bernal, V. Gonzalez, P. Gobbo, D. y Pucciarelli, H. 2011. The role of diet and temperature in shaping cranial diversification of South American human populations: an approach based on spatial regression and divergence rate test. *Journal of Biogeography*, 38:148-163.
- Pigneau, G. y Eyre-Walker, A. 2004. A reanalysis of the indirect evidence for recombination in human mitochondrial DNA. *Heredity*, 1-7.
- Pilli, E. Modi, A. Serpico, C. Achilli, A. Lancioni, H. Lippi, B. Bertoldi, F. Gelcich, S. Lari, M. y Caramelli, D. 2013. Monitoring DNA contamination in handled Vs. directly excavated ancient human skeletal remains. *Plos One*, 8: e52524.

- Pitblado, B. 2011. A tale of two migrations: reconciling recent biological and archaeological evidence for the Pleistocene peopling of the Americas. *Journal of Archaeological Research*, 19: 327-375.
- Pluciennik, M. 2006. Clash of cultures? Archaeology and genetics. *Documenta Praehistorica*, 33: 39-49.
- Poinar, H. Hoss, M. Bada, J. y Pääbo, S. 1996. Amino acid racemization and the preservation of ancient DNA. *Science*, 272:864,866.
- Poinar, H. y Stankiewicz, A. 1998. Protein preservation and DNA retrieval from ancient tissues. *Proceeding of National Academy of Science, USA*, 96:8426-8431.
- Poinar, H. Hofreiter, M. Spaulding, W. Martin, P. Stankiewicz, B. Bland, H. Evershed, R. Possnert, G. Pääbo, S. 1998b. Molecular coproscopy: dung and diet of the extinct ground sloth *Nothrotheriops shastensis*. *Science*, 281:402-406.
- Poinar, H. Kuch, M. Sobolk, K. Barnes, I. Stankiewicz, A. 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 National Academic of Science*, 98:4317-4322.
- Poinar, H. 2003. The top 10 list: criteria of authenticity for DNA from ancient and forensic samples. *International Congress Series*, 1239: 575-579.
- Politis, G. 2000. *La estructura del debate sobre el poblamiento de América*. Boletín de Fian (Fondo de investigaciones antropológicas de la república de Colombia). Bogota.
- Politis, G. Prates, L. y Pérez, I. 2008. *El poblamiento de América. Arqueología y Bioantropología de los primeros americanos*. Colección Ciencia Joven. Buenos Aires, Eudeba.
- Ponce, J. Rabassa, J. Coronato, A. y Borronei, A. 2011. Palaeogeographical evolution of the Atlantic coast of Pampa and Patagonia from the Last Glacial Maximum to the Middle Holocene. *Biological Journal of Linnean Society*, 103: 363-379.
- Postillone, MB, Crespo, CM. Russo, G. y Cardozo, DG. 2014. *Distribución de haplogrupos mitocondriales amerindios en muestras arqueológicas de Sudamérica*. En: Esnal, A. Funes, M. Grosso, M. Kuperszmit, N. Murgo, A. y Romero, G. (Comp). *Entre Pasados y Presentes IV. Estudios Contemporáneos en Ciencias Antropológicas*. C.A.B.A. ISBN: 978-987-25575-3-9. Pp: 347-363.
- Prado, J. Arroyo-Cabrales, J. Johnson, E. Alberdi, M. y Polaco, O. 2012. New world proboscidean extinctions: comparisons between North and South America. *Archaeological and Anthropological Science*, <http://dx.doi.org/10.1007/s12520-012-0094-3>
- Prates, L. Politis, G. y Steele, J. 2013. Radiocarbon chronology of the early human occupation of Argentina. *Quaternary International*, 301: 104-122.
- Prescott, G. Williams, D. Balmford, A. Green, R. y Manica, A. 2012. Quantitative global analysis of the role of climate and people in explaining extinctions. *Proceedings of the National Academy of Science*, 109: 4527-4531.
- Primorac, D. Andrelinovic, S. Definis-Gojanovic, M. Drmic, I. Rezac, B. Baden, M. Kennedy, M. Schanfield, M. Skakel, S. y Lee, H. 1996. Identification of war victims from mass graves in Croatia, Bosnia and Herzegovina by use of standard forensic methods and DNA typing. *Journal of Forensic Science*, 40: 891-894.
- Prüfer, K. Racimo, F. Patterson, N. Jay, F. Sankararaman, S. Sawyer, S. Heinze, A. Renaud, G. Sudmant, P. De Filippo, C. Li, H. Mallick, S. Dannemann, M. Fu, Q. Kircher, M. Kuhlwilm, M. Lachmann, M. Meyer, M. Ongyerth, M. Siebauer, M. Theunert, C. Tandon, A. Moorjani, P. Pickell, J. Mullikin, J. Vohr, S. Green, R. Hellmann, I. Johnson, P. Blanche, H. Cann, H. Kitzman, J. Shedure, J. Eichler, E. Lein, E. Bakken, T. Golovanova, L. Doronichev, V. Shunkou,

- M. Derevianko, A. Viola, B. Slatkin, M. Reich, D. Kelso, J. y Pääbo, S. 2013. The complete genome sequence of a Neanderthal from the Altai Mountains. *Nature*, 505: 43-49.
- Provust, M. Schwarz, R. Correia, V. Champlot, S. Braguier, S. Morel, N. Fernandez-Jalvo, Y. Grange, T. y Geigl, E. 2007. Freshly excavated fossil bones are best for amplification of ancient DNA. *Proceeding of National Academy of Science*, 3: 739-744.
- Pucciarelli H. 1989. Conceptualización de la Antropología Biológica. *Runa*, 7:27-31.
- Pucciarelli, H. 2004. Migraciones y variación craneofacial humana en América. *Complutum*, 15: 225-247.
- Pucciarelli, H. 2009. Explicando el paleoamericano y su probable extinción a través de inferencias comparativas y experimentales. *Runa*, 30: 9-27.
- Pucciarelli, H. Perez, S. y Politis, G. 2010. Early Holocene human remains from the Argentinean Pampas: additional evidence for distinctive cranial morphology of early South Americans. *American Journal of Physical Anthropology*, 143: 298-305.
- Pusch, C. Broghammer, M. y Blin, N. 2003. Molecular phylogenetic employing modern and ancient DNA. *Journal of Applications Genetics*, 44: 269-290.
- Pusch, C. y Bachmann, L. 2004. Spiking of contemporary human template DNA with ancient DNA extracts induces mutations under PCR and generates non authentic mitochondrial sequence. *Molecular Biology Evolution*, 21: 957-964.
- Rabassa, J. Coronato, A. y Salemme, M. 2005. Chronology of the Late Cenozoic Patagonian glaciations and their correlation with biostratigraphic units of the pampean region (Argentina). *Journal of South American Earth Science*, 20: 81-103.
- Rabassa, J. 2008. Late Cenozoic glaciations in Patagonia and Tierra del Fuego. *Developments in Quaternary Science*, 11: 151-205.
- Rabassa, J. Coronato, A. Gordillos, S. Candel, M. Martinez, M. 2009. Paleoambientes litorales durante el inicio de la transgresión marina Holocena en Bahía La Pataia, canal de Beagle, Parque Nacional Tierra del Fuego. *Revista de la Asociación Geológica Argentina*, 65: 648-659.
- Rabassa, J. Coronato, A. y Martinez, O. 2011. Late Cenozoic glaciations in Patagonia and Tierra del Fuego: and updated review. *Biological Journal of Linnean Society*, 103: 316-355.
- Rademaker, K. Hodgins, G. Moore, K. Zarrillo, S. Miller, C. Bromley, G. Leach, P. Reid, D. Álvarez, W. Sandweiss, D. 2014. Paleoindian settlement of the high altitude Peruvian Andes. *Science*, 346: 466-469.
- Radstrom, P. Knutsson, R. Wolffs, P. Lovenklev, M. y Lofstrom, C. 2004. Pre-PCR processing. *Molecular Biotechnology*, 262: 133-146.
- Raff, J. Tackney, J. y O'Rourke, D. 2010. South from Alaska: a pilot aDNA study of genetic history on the Alaska peninsula and the eastern Aleutians. *Human Biology*, 82: 677-693.
- Raff, J. Bolnick, D. Tackney, J. u O'Rourke, D. 2011. Ancient DNA perspective on American colonization and population history. *American Journal of Physical Anthropology*, 146: 503-514.
- Raghavan, M. Skoglund, P. Graf, K. Metspalu, M. Albrechtsen, A. Moltke, I. Rasmussen, S. Stafford Jr, T. Orlando, L. Metspalu, E. Karmin, M. Tambets, K. Rootsi, S. Magi, R. Campos, P. Balanouska, E. Balanowsky, O. Khusnutdinava, E. Litvinov, S. Osipova, L. Fedorova, S. Voevoda, M. De Giorgio, M. Sicheritz-Ponten, T. Brunak, S. Demeshchenko, S. Kivisild, T. Villems, R. Nielsen, R. Jakobsson, M. y Willerslev, E. 2014. Upper Palaeolithic Siberian genome reveals dual ancestry of Native Americans. *Nature*, 505: 87-91.

Ramachandran, S. Deshpande, O. Roseman, C. Rosenberg, N. Feldman, M. y Cavalli-Sforza, L. 2005. Support from the relationship of genetic and geographic distance in human populations for a serial founder effect originating in Africa. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, 102: 15942-15947.

Ramachandran, S. y Rosenberg, N. 2011. A test of influence of continental axes of orientation on patterns of human gene flow. *American Journal of Physical Anthropology*, 146: 515-529.

Rasmussen, M. Li, Y. Lindgreen, S. Pedersen, J. Albrechtsen, A. Moltke, I. Metspalu, M. Metspalu, E. Kivisild, T. Gupta, R. Bertalan, M. Nielsen, K. Gilbert, M. Wang, Y. Raghavan, M. Campos, P. Kamp, H. Wilson, A. Gledhill, A. Tridicos, S. Bunce, M. Lorenzen, E. Binladen, J. Guo, X. Zhao, J. Zhang, H. Li, Z. Chen, M. Orlando, L. Kristiansen, K. Bak, M. Tommerup, M. Andreassen, C. Fedorova, S. Osipova, L. Higham, T. Ramsey, C. Hansen, T. Nielsen, F. Crawford, M. Brunak, S. Sicheritz-Ponten, 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.

Rasmussen, M. Anzick, S. Waters, M. Skoglund, P. De Giorgio, M. Stafford Jr, T. Rasmussen, S. Moltke, I. Albrechtsen, A. Doyle, S. Poznik, D. Gusmundsdottir, V. Yadav, R. Malaspina, A. White, S. Alentoft, M. Cornejo, O. Tambets, K. Eriksson, A. Heintzman, P. Kermin, M. Korneliussen, T. Meltser, D. Pierre, T. Stenderup, J. Saag, L. Warmuth, V. Lopes, M. Malhi, R. Brunak, S. Sicheritz-Ponten, T. Barnes, I. Collins, M. Orlando, L. Balloux, F. Manica, A. Gupta, R. Metspalu, M. Bustamante, C. Jakobsson, M. Nielsen, R. y Willerslev, E. 2014. The genome of a late pleistocene human from a Clovis burial site in Western Montana. *Nature*, 506: 225-239.

Rasmussen, M. Sikora, M. Albrechtsen, A. Sand-Korneliussen, T. Moreno-Mayar, V. Poznik, D. Zollikofer, C. Ponce de León, M. Allentoft, M. Moltke, I. Jónsson, H. Valdiosera, C. Malhi, R. Orlando, L. Bustamante, C. Stafford Jr. T. Meltzer, D. Nielsen, R. y Willerslev, E. 2015. The ancestry and affiliation of Kennewick man. *Nature*, doi: 10.1038/nature14625.

Ray, N. Wegmann, D. Fagundes, N. Wang, S. Ruiz-Linares, A. y Excoffier, L. 2010. A statistical evaluation of models for the initial settlement of the American continent emphasizes the importance of gene flow with Asia. *Molecular Biology Evolution*, 27: 337-345.

Recasens, C. Ariztegui, D. Gebhardt, C. Gogorza, C. Haberzettl, T. Hahn, A. Kliem, P. Lise-Pronovost, A. Lucke, A. Maidana, N. Mayr, C. Ohlendorf, C. Schabitz, F. ST-Onge, G. Wille, M. Zolitschka, B. and the Pasado Science Team. 2012. New insights into paleoenvironmental changes in Laguna Potrok Aike, southern Patagonia, since the Late Pleistocene: The PASADO multiproxy record. *The Holocene*, 22: 1323-1335.

Reich, D. Green, R. Kircher, M. Krause, J. Patterson, N. Durand, E. Viola, B. Briggs, A. Stenzel, U. Johnson, P. Maricic, T. Good, J. Marques-Bonet, T. Alkan, C. Fu, Q. Mallick, S. Li, H. Meyer, M. Eichler, E. Stoneking, M. Richards, M. Talamo, S. Shunkov, M. Derevianko, A. Hublin, J. Kelso, J. Slatkin, M. y Pääbo, S. 2010. Genetic history of an archaic hominin group from Denisova Cave in Siberia. *Nature*, 468: 1053-1060.

Reich, D. Patterson, N. Campbell, D. Tandon, A. Mazieres, S. Ray, N. Parra, M. Rojas, W. Duque, C. Mesa, N. García, L. Trienan, O. Blair, S. Mestre, A. Dib, J. Bravi, C. Baille, G. Corach, D. Hunemeier, T. Bortolini, M. Salzano, F. Petzl-Erler, M. De Acuña-Añonso, V. Aguilar-Luna, C. Canizales-Quinteros, S. Tusie-Luna, T. Riba, L. Rodriguez-Cruz, M. López-Alarcón, M. Zolezzi, I. Fernández-López, J. Contreras, A. Jimenez-Sanchez, G. Gomez-Vásquez, M. Molina, J. Carracedo, A. Salas, A. Gallo, C. Poletti, G. Witonsky, D. Alkorta-Aranburu, G. Sukernik, R. Osipova, L. Fedorova, S. Vasquez, R. Villena, M. Moreau, C. Barrantes, R. Pauls, D. Excoffier, L. Bedoya, G. Ronthhammer, F. Dugoujon, J. Larrouy, G. Klinta, E. Labuda, D. Kidd, J. Kudd, K. Di Rienzo, A. Freimer, N. Price, A y Ruiz-Linares, A. 2012. Reconstructing Native American population history. *Nature*, 488: 370-374.

Reidla, M. Kivisild, T. Metspalu, E. Kaldma, K. Tambets, K. Tolk, H. Parik, J. Loogväli, E. Derenko, M. Malyarchuk, B. Bermisheva, M. Zhadanov, S. Pennarun, E. Gubina, M. Golubenko, M. Damba, L. Fedorova, S. Gusar, V. Grechanina, E. Mikerezi, I. Moisan, J. Cheventre, A. Khusnutdinova, E. Osipova, L. Stepanov, V. Voevoda, M. Achilli, A. Rengo, C. Rickards, O. De Stefano, G. Papiha, S. Beckman, L. Janicijevic, B. Rudan, P. Anagnou, N. Michalodimitrakis, E. Koziel, S. Usanga, E. Geberhinot, T. Herrstadt, C. Howell, N. Torroni, A. y Villems, R. 2003. Origins and diffusion of mtDNA haplogroup X. *American Journal of Human Genetic*, 73: 1178-1190.

- Renfrew, C. 2000. *Archaeogenetics: towards a population prehistory of Europe*. En: Renfrew, C. y Boyle, K (Eds.). *Archaeogenetics: DNA and the population prehistory of Europe*. McDonald Institute Monographs.
- Renfrew, C. 2001. From molecular genetics to archaeogenetics. *Proceedings of National Academic of Science*, 9: 4830-4832.
- Renfrew, C. 2010. Archaeogenetics, towards a new synthesis? *Current Biology*, 20: 162-165.
- Reumer, J. Ten Broek, C. y Calis, F. 2014. Extraordinary incidence of cervical ribs indicates vulnerable condition in Late Pleistocene mammoths. *PeerJ*, 2:e318.
- Reyes-Báez, O. San Roman, M. y Moraga, M. 2011. Archipiélago de los Chonos: nuevos registros arqueológicos y bioantropológicos en los canales septentrionales. Isla Traiguén, Región de Aisén. *Magallania*, 39: 293-301.
- Ribeiros 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. y Sykes, B. 1995. Authenticating DNA extracted from ancient skeletal remains. *Journal of Archaeological Science*, 22: 291-299.
- Rickards, 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 American populations. *American Journal of Human Genetics*, 65: 519-530.
- Roberts, K. Calloway, C. 2007. Mitochondrial DNA amplification success rate as a function of hair morphology. *Journal of Forensic Science*, 52: 40-47.
- Rodríguez, M. y Delrio, W. 2000. *Los Tehuelche. Un paseo etnohistórico*. En: El Gran Libro de la Provincia de Santa Cruz. Barcelona: Alfaro-Milenio. Pp: 428-460.
- Rodríguez Cuenca, J. 2003. *Dientes y los orígenes americanos*. En: Dientes y diversidad humana: avances de la antropología dental. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Rogan, P. y Salvo, J. 1990a. Molecular genetics of pre-columbian South American Mummies. *UCLA Symposium in Molecular Evolution*, 122:223-234.
- Rogan, P y Salvo, J. 1990b. Study of nucleic acids isolated from ancient remains. *Yearbook of Physical Anthropology*, 33: 195-214.
- Rohland, N. y Hofreiter, M. 2007a. Ancient DNA extraction from bones as teeth. *Nature protocols*, 7: 1756-1762.
- Rohland, N. y Hofreiter, M. 2007b. Comparison and optimization of ancient DNA extraction. *Biotechniques*, 3: 343-352.
- Rohland, N. Seidel, H. y Hofreiter, M. 2010. A rapid column-based ancient DNA extraction method for increased sample throughput. *Molecular Ecology Resources*, 10: 677-683.
- Rokas, A. Ladoukakis, E. y Zouros, E. 2003. Animal mitochondrial DNA recombination revisited. *Trends in Ecology and Evolution*, 18: 411-417.
- Römpler, H. Rohland, N. Lalueza-Fox, C. Willerslev, E. Kuznetsova, T. Rabeder, G. Bertranpetit, J. Schoneberg, T. Hofreiter, M. 2006. Nuclear gene indicates coat-color polymorphism in mammoths. *Science*, 313: 62.
- Rosenberg, N. Mahajan, S. Ramachandran, S. Zhao, C. Pritchard, J. y Feldman, M. 2005. Clines, cluster and effect study design on the inference of human population structure. *Plos Genetics*, 1: e70.

- Rothhammer, F. Llop, E. Carvallo, P. y Moraga, M. 2001. Origin and evolutionary relationships of Native Andean populations. *High Altitude Medicine and Biology*, 2: 227-233.
- Rothhammer, F. Moraga, M. Rivera, M. Santoro, C. Standen, V. Garcia, F. y Carvallo, P. 2003. Análisis de ADNmt de restos esqueléticos del sitio arqueológico de Tiwanaku y su relación con el origen de sus constructores. *Chúngara*, 35:269-274.
- Rothhammer, F. y Dillehay, T. 2009. The Late Pleistocene colonization of South America: an interdisciplinary perspective. *Annals of Human Genetics*, 73: 540-549.
- Ruhlen, M. 1987. *A Guide to the World's Languages. Vol. 1: Clasificación*. 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 Languages. Edited by S. Lamb and E. Douglas Mitchell. Stanford University Press. Stanford.
- Ruhlen, M. 1994. *Linguistic Evidence for the Peopling of the Americas*. En: 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. Department of Anthropology. Oregon State University.
- Saiki, P. Scharf, S. Faloona, F. Mullis, K. Horn, G. Erlich, H. y Arnheim, N. 1985. Enzymatic amplification of P-globulin genomic sequence and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 230: 1350-1354.
- Saiki, R. Gelfand, D. Stoffel, S. Scharf, S. Higuchi, R. Horn, G. Mullis, K. y Erlich, H. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239: 487-491.
- Sala, A. y Corach, D. 2014. Analysis of admixture and genetic structure of two Native American groups of Southern Argentinean Patagonia. *Molecular Biology Reports*, 41: 1533-1543.
- Salamon, M. Tuross, N. Arensburg, B. y Weiner, S. 2005. Relatively well preserved DNA is present in the crystal aggregates of fossil bones. *Proceedings of National Academy of Science*, 102:13723-13788.
- Salas, A. Jaime, J. Álvarez-Iglesias, V. y Carracedo, A. 2008. Gender bias in the multiethnic genetic composition of Central Argentina. *Journal of Human Genetics*, 53: 662-674.
- Salzano, F. 2002. Molecular variability in Amerindians: widespread but uneven information. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 74: 223-263.
- Salzano, F. 2011. The prehistoric colonization of the Americas: evidence and models. *Evolution: Education and Outreach*, 4: 199-204.
- Sampietro, M. Gilbert, T. Lao, O. Caramelli, D. Lari, M. Bertranpetit, J. y Lalueza-Fox, C. 2006. Tracking down human contamination in ancient human teeth. *Molecular Biology Evolution*, 23: 1801-1807.
- Samuels, D. Li, C. Li, B. Song, Z. Torstenson, E. Clay, H. Rokas, A. Thorton-Wells, T. Moore, J. Hughes, T. Hoffman, R. Haines, J. Murdock, D. Mortlock, D. y Williams, S. 2013. Recurrent tissue-specific mtDNA mutations are common in humans. *Plos Genetics*, 9: e1003929.
- Sánchez-Quinto, F. y Lalueza-Fox, C. 2015. Almost 20 years of neanderthal palaeogenetics: adaptation, admixture, diversity, demography and extinctions. *Philosophical Transaction of the Royal Society of London Biology*, 370: 21130374.
- Sandoval, K. Buentello-Malo, L. Peñalosa-Espinosa, R. Avelino, H. Salas, A. Calafell, F. y Comas, D. 2009. Linguistic and maternal genetic diversity are not correlated in Native Mexicans. *Human Genetics*, 126: 521-531.

- Sandweiss, D. y Rademaker, K. 2011. El poblamiento del Sur peruano: costa y sierra. *Boletín de Arqueología PUCP*, 15: 275-293.
- Sans, M. Mones, P. Figueiro, G. Barreto, I. Motti, J. Coble, M. Bravi, C. y Hidalgo, P. 2014. The mitochondrial history of a former Native American village in Northern Uruguay. *American Journal of Human Biology*, 27: 407-416.
- Sardi, M. Ramirez-Rozzi, F. González-José, R. y Pucciarelli, H. 2005. South Amerindian craniofacial morphology: diversity and implications for amerindian evolution. *American Journal of Physical Anthropology*, 128: 747-756.
- Sauer, C. 1944. A Geographical Sketch of Early Man in America. *Geographical Review*, 34:543-554.
- Scheinson, V. 2003. Hunter-gatherer archaeology in South America. *Annual Review of Anthropology*, 32: 339-361.
- Schmidt, T. Hummel, S. y Herrmann, B. 1995. Evidence of contamination in PCR laboratory disposables. *Naturwissenschaften*, 82: 423-431.
- Schmitz, R. Serre, D. Bonani, G. Feine, S. Hillgruber, F. Krainitzki, H. Pääbo, S. y Smith, F. 2002. The Neandertal type site revisited: Interdisciplinary investigations of skeletal remains from the Neander Valley, Germany. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, 20:13342-13347.
- Schmidt Dias, A. 2004. Diversificar para poblar: el contexto arqueológico brasileño en la transición Pleistoceno-Holoceno. *Complutum*, 15: 249-263.
- 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 Frequencies Suggesting They Derived from Four Primary Maternal Lineages. *American Journal of Human Genetics*, 46:613-623.
- 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 Colloquium, Oregon State University, edited by R. Bonnichsen, pp 41-77. Center for the study of the first Americans, Oregon State University, Corvallis.
- 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. 2002. A molecular anthropological perspective and the peopling of the Americas. *Athena Review*, 2: 62-107.
- Schurr, T. 2004a. *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. 2004b. The peopling of the New World: perspectives from molecular anthropology. *Annual Review of Anthropology*, 33: 551-583.
- Schurr, T y Sherry, S. 2004. Mitochondrial DNA and Y Chromosome diversity and the peopling of the Americas: evolutionary and demographic evidence. *American Journal of Human Biology*, 16: 420-439.
- Schwarz, C. Debruyne, R. Kuch, M. McNally, E. Schwarcz, H. Aubrey, A. Bada, J. y Poinar, H. 2009. New insights from old bones: DNA preservation and degradation in permafrost preserved mammoth remains. *Nucleic Acid Researchs*, 37: 3215-3229.
- Schwartz, M. y Vissing, J. 2002. Paternal inheritance of mitochondrial DNA. *The New England Journal of Medicine*, 347: 576-580.

Scorrano, G. Valentini, F. Martinez-Labarga, C. Rolfo, M. Flammenghi, A. Lo Vetro, D. Martinni, F. Casoli, A. Ferraris, G. Palleschi, G. Palleschi, A. y Rickards, O. 2014. Methodological strategies to assess the degree of bone preservation for ancient DNA studies. *Annals of Human Biology*, 42: 10-19.

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

Serre, D. Langaney, A. Chech, M. Teschler-Nicola, M. Paunovic, M. Mennecier, P. Hofreiter, M. Possnert, G. y Pääbo, S. 2004. No evidence of neandertal mtDNA contribution to early modern humans. *PLoS Biology*, 2: 313-317.

Shapiro, B. Drummond, A. Rambaut, A. Wilson, M. Matheus, P. Sher, A. Pybus, O. Gilbert, T. Barnes, I. Binladen, J. Willerslev, E. Hansen, A. Baryshnikov, G. Burns, J. Davydov, S. Driver, J. Froese, D. Harington, C. Keddie, G. Kosintsev, P. Kunz, M. Martin, L. Stephenson, R. Storer, J. Tedford, R. Zimou, S. y Cooper, A. 2004. Rise and fall of the beringian steppe bison. *Science*, 306: 1561-1565.

Shields, G. Schmiechen, A. Frazier, B. Reed, A. Voevoda, M. Reed, J. y Ward, R. 1993. mtDNA sequences suggest a recent evolutionary divergence for Beringian and Northern North America 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. A middle Sican case Study. *Current Anthropology*, 45:369-402.

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

Shitara, H. Hayashi, J. Takahama, S. Kaneda, H. y Yonekawa, H. 1998. Maternal inheritance of mouse mtDNA in interspecific hybrids: segregation of the leaked paternal mtDNA followed by the prevention of subsequent paternal leakage. *Genetics*, 148: 851-857.

Sigurdardottir, S. Hekgason, A. Gulcher, J. Stefansson, K. y Donnelly, P. 2000. The mutation rate in the human mtDNA control region. *American Journal of Human Genetics*, 66: 1299-1609.

Silva, J. Bonatto, S. Holanda, A. Ribeiro-Dos-Santos, K. Paixao, B. Goldman, G. Abe-Sandes, K. Rodriguez-Delfin, L. Barboza, M. Paco-Larson, M. Pertzl-Erler, M. Valente, V. Santos, S. y Zago, M. 2002. Mitochondrial genome diversity of Native Americans supports a single early entry of founder populations into America. *American Journal of Human Genetics*, 71: 187-192.

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

Silveira, M. López, L. y Pastorino, G. 2010. Movilidad, redes de intercambio y circulación de bienes en el Sudoeste de Neuquén (Norpatagonia, Argentina). Los moluscos marinos del Lago Traful. *Intersecciones en Antropología*, 11: 227-236.

Smith, C. Chamberlain, A. Riley, M. Stringer, C. y Collins, M. 2003. The thermal history of human fossil and the likelihood of successful DNA amplification. *Journal of Human Evolution*, 45: 203-217.

Smith, S. Hayes, G. Cabana, G. Huff, C. Coltrain, J. y O'Rourke, D. 2009. Inferring population continuity versus replacement with aDNA: a cautionary tale from Aleutian islands. *Human Biology*, 81: 407-426.

Snow, M. Durand, K. y Smith, D. 2010. Ancestral Puebloan mtDNA in context of the greater Southwest. *Journal of Archaeological Science*, 37: 1635-1645.

Soares, P. Ermini, L. Thomson, N. Mormina, M. Rito, T Röhl, A. Salas, A. Oppenheimer, S. Macaulay, V. y Richards, M. 2009. Correcting for purifying selection: an improved human mitochondrial molecular clock. *American Journal of Human Genetics*, 84: 740-759.

- Sosa, C. Vispe, E. Nuñez, C. Baeta, M. Casalod, Y. Bolea, M. Hedges, R. y Martinez-Jarreta, B. 2013. Association between ancient bone preservation and DNA yield: a multidisciplinary approach. *American Journal of Physical Anthropology*, 151: 102-109.
- Solorzano, E. Díaz, N. Montiel, R. y Malgosa, A. 2009. *Análisis del ADN mitocondrial de tres series antiguas mexicanas*. En: Lory, J. y Peñaloza, A. (Eds.). Estudios de Antropología Biológica, Volúmen XIV. Instituto de Investigaciones Antropológicas. Universidad Nacional Autónoma de México. ISSN 1405-5066. Pp: 243-259.
- Spencer, M. y Howe, C. 2004. Authenticity of ancient DNA result: a statistical approach. *American Journal of Human Genetic*, 75: 240-250.
- Stanford, D y Bradley, B. 2000. *The Solutrense solution*. En: The puzzle of the first Americans. Special report. Scientific American Discovering, 54-55.
- Stanford, D. 1991. *Clovis, origins and adaptations: an introductory perspective*. En: Clovis. Origins and adaptations. Edited by R. bonnichsen and K.L. Tummire. Center for the study of the first Americans. Oregon. Pp, 1-13.
- Steele, J.J. Adams, J. y Sluckin, T. 1998. Modelling paleoindian dispersal. *World Archaeology*, 30:286-305.
- Steele, J. 2010. Radiocarbon dates as data: quantitative strategies for estimating colonization front speeds and event densities. *Journal of Archaeological Science*, 37: 2017-2030.
- Stern, C. Pereda, I. y Aguerre, A. 2012. Multiple primary and secondary source for chemically similar obsidians from the area of Portada Convuco, West-Central Neuquen, Argentina. *Archaeometry*, 54: 442-453.
- Stiller, M. Green, R. Ronan, M. Simons, J. Du, L. He, W. Egholm, M. Rothberg, J. Keates, S. Ovodov, N. Antipina, E. Baryshnikov, G. Kuzmin, Y. Vasilevski, A. Wuenschell, G. Termini, J. Hofreiter, M. Jaenicke-Despres, V. y Pääbo, S. 2006. Patterns of nucleotide misincorporations during enzymatic amplification and direct large scale sequencing of ancient DNA. *Proceedings of National Academy of Science, USA*, 103: 13578-13584.
- Stiller, M. Molak, M. Prost, S. Rabeder, G. Baryshnikov, G. Rosedahl, W. Munzel, S. Bocherens, H. Grandl-D'anglade, A. Hilpert, B. Germonpre, M. Stasyk, O. Panhasi, R. Tintori, A. Rohland, N. Mohandesan, E. Ho, S. Hofreiter, M. y Hnapp, M. 2013. Mitochondrial DNA diversity and evolution of the Pleistocene cave Bear complex. *Quaternary International*, 339-340: 224-231.
- Stine, S. y Stine, M. 1990. A record from lake Cardiel of climate change in Southern South America. *Nature*, 245: 705-708.
- Stine, S. 1994. Extreme and persistent drought in California and Patagonia. *Nature*, 369: 546-549.
- 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.
- Stoneking, M. 1995. Ancient DNA: how do you know when you have it and what can you do with it? *American Journal of Human Genetics*, 57: 1259-1262.
- Stoneking, M. 1997. The human genome project and molecular anthropology. *Genome Research*, 7: 87-91.
- Stone, A. y Stoneking, M. 1993. Ancient DNA from a pre-Columbian Amerindian population. *American Journal of Physical Anthropology*, 92: 463-471.
- Stone, A. y Stoneking, M. 1996. Genetic analyses of an 8.000 year-old native American skeleton. *Ancient Biomolecules*, 1:83-87.
- 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 Genetics*, 62:1153-1170.

- Stone, A. Stoneking, M. 1999. Analysis of ancient DNA from a prehistoric Amerindian cemetery. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Biology*, 354:153-159.
- Stoneking, M. 2000. Hypervariable sites in the mtDNA control region are mutational hot spots. *American Journal of Human Genetics*, 67: 1029-1032.
- Storey, A. Athems, J. Bryant, D. Carson, M. Emery, K. De France, S. Higham, C. Huynen, L. Intoh, M. Jones, S. Kirch, P. La Defoged, T. McCoy, P. Morales-Muniz, A. Quiroz, D. Reifz, E. Robins, J. Walter, R. y Matisoo-Smith, E. 2012. Investigating the global dispersal of chickens in prehistory using ancient mitochondrial DNA signatures. *Plos One*, 7: e39171.
- Sun, C. Kong, Q. y Zhang, Y. 2007. The role of climate in human mitochondrial DNA evolution: a reappraisal. *Genomics*, 89: 338-342.
- 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.
- Sutovsky, P. Moreno, R. Santos, J. Dominko, T. Simerly, C. y Schatten, G. 2000. Ubiquitinated sperm mitochondria, selective proteolysis, and the regulation of mitochondrial inheritance in mammalian embryos. *Biology Reproduction*, 63:582-590.
- Swadesh, Morris. 1972. *What is glottochronology?* En: M. Swadesh, The origin and diversification of languages. Pp. 271–284. London: Routledge & Kegan Paul.
- Taboada-Echalart, P. Álvarez-Iglesias, V. Heinz, T. Vidal-Bralo, L. Gómez-Carballa, A. Catelli, L. Pardo-Seco, J. Pastoriza, A. Carracedo, A. Torres-Balanza, A. Rocabado, O. Vullo, C. y Salas, A. 2013. The genetic legacy of the precolonial period in contemporary bolivians. *Plos One*, 8: e58980.
- Tamm, E. Kivisild, T. Reidla, M. Metspalu, M. Glenn-Smith, D. Mulligan, C. Bravi, C. Rickards, O. Martinez-Labarga, C. Khusnutdinova, E. Fedorova, S. Gobulenko, M. Stepanov, V. Gubina, M. Zhadanov, S. Ossipova, L. Damba, L. Voevoda, M. Dipierri, J. Villems, R. y Malhi, R. 2007. Beringian standstill and spread of Native American founders. *Plos One* 2: e829.
- Tamura, K. y Nei, M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10:512-526.
- Tamura, K. Peterson, D. Peterson, N. Stecher. G. Nei, M. and Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-2739.
- Taylor, R. y Turnbull, D. 2005. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Natural Reviews Genetics*, 6: 389-402.
- Tessone, A. Zangrando, F. Barrientos, G. Valencio, S. Panarello, H. y Goñi, R. 2005. Isótopos estables del carbono en Patagonia meridional: datos de la cuenca del lago Salitroso (Provincia de Santa Cruz, República Argentina). *Magallania*, 33: 21-28.
- Theves, C. Keyser-Tracqui. C. Crubezy. E. Salles, J. Ludes, B. y Telmon, N. 2006. Detection and quantification of the age related point mutation A189G in the human mitochondrial DNA. *Journal of Forensic Science*, 51: 865-873.
- Thomas, R. Schaffner, W. Wilson, A. y Pääbo, S. 1989. DNA phylogeny of the extinct marsupial wolf. *Nature* 340: 465–467

- Thomas, M. Cook, C. Miller, K. Waring, M. y Hagelberg, E. 1998. Molecular instability in the COII-tRNA_{Lys} intergenic region of the human mitochondrial genome: multiple origins of the 9-bp deletion and heteroplasmy for expanded repeats. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Biological Science*, 353: 955-965.
- Thomson, V. Labrasseur, O. Austin, J. Hunt, T. Burney, D. Denham, T. Rawlence, N. Wood, J. Gongora, J. Flink, L. Linderholm, A. Dobney, K. Larson, G. y Cooper, A. 2014. Using ancient DNA to study the origins and dispersal of ancestral Polynesian chickens across the Pacific. *Proceedings of the National Academy of Science of the United State of America*, 111: 4826-4831.
- Torres, M. Bravi, C. Bortolini, M. Duque, C. Callegari-Jacques, S. Ortiz, D. Bedoya, G. Restrepo, H. y Ruiz-Linares, A. 2006. A revertant of the major founder American haplogroup C common in populations from Northern South America. *American Journal of Human Biology*, 18: 59-65.
- Torrioni, A. Schurr, T. Yang, C. Szathmery, E. Williams, R. Schanfield, M. Troup, G. Knowler, W. Lawrence, D. Weiss, K. y Wallace, D. 1992. Native American mitochondrial DNA analysis indicates that Amerind and the Nadene populations were founded by two independent migrations. *Genetics*, 130: 153-162.
- Torrioni, A. Sukernik, R. Schurr, T. Starikovskaya, Y. Cabell, M. Crawford, M. Comuzzie, A. y Wallace, D. 1993a. mtDNA variation of aboriginal Siberians reveals distinct genetic affinities with Native Americans. *American Journal of Human Genetics*, 53: 591-608.
- Torrioni, A. Schurr, T. Cabell, M. Brown, M. Neel, J. Larsen, M. Smith, D. Vullo, C. y Wallace, D. 1993b. Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNA's. *American Journal of Human Genetics*, 53: 563-590.
- Torrioni, A. Neel, J. Barrantes, R. Schurr, T. y Wallace, D. 1994a. Mitochondrial DNA "clock" for the Amerinds and its implications for timing their entry into North America. *Proceedings of National Academy of Science*, 91: 1158-1162.
- Torrioni, A. Chen, Y. Semino, O. Santachiara-Beneceretti, A. Scott, C. Lott, M. Einter, M. y Wallace, D. 1994. mtDNA and Y-chromosome polymorphisms in four native American populations from Southern Mexico. *American Journal of Human Genetics*, 54: 303-318.
- Trueman, C. y Martill, D. 2002. The long term survival of bone: the role of bioerosion. *Archaeometry*, 44: 371-382.
- Turner II, C. 1984. Advances in the Dental Search for Native Americans Origins. *Acta Anthropogenetic*, 8:23-78.
- Turner II, C. 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. Department of Anthropology. Oregon State University.
- Turner II, C. 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.
- Turner II, C. y Scott, G. 2007. *The dentition of American Indians: evolutionary results and demographic implications following colonization from Siberia*. In: Henke W, Tattersall I, (Eds). Handbook of Paleoanthropology, Vol.3. Berlin: Springer-Verlag. Pp 1901-1941.
- Turner-Walker, G. 2008. The chemical and microbial degradation of bones and teeth. *Advances in Human Paleopathology*, Cap 1, 2-29.
- Van Oven, M. y Kayser, M. 2008. Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA. *Human Mutation*, 30: e386-e394.
- Vernot, B. y Akey, J. 2014. Resurrecting surviving Neanderthal lineages from modern human genomes. *Science*, 343: 1017-1021.

- Villalba, R. 1994. Tree-ring and glacial evidence for the medieval warm epoch and the little ice age in Southern South America. *Climate Change*, 26: 183-197.
- Wallace, Garrison, K. y Knowler, W. 1985. Dramatic founder effects in Amerindian mitochondrial DNAs. *American Journal of Physical Anthropology*, 68:149-155.
- Wallace, D. y Torroni, A. 1992. American Indian prehistory as written in the mitochondrial DNA: a review. *Human Biology*, 64: 403-416.
- Wannajuk, M. Sangthong, P. Natapintu, S. Wonnapijits, P. Vuttipongchaikij, S. Kubera, A. Won-In, K. Mingmuang, M. y Surt, W. 2013. Ancient DNA of pigs in Thailand: evidence of multiple origins of Thai pigs in the Late Neolithic period. *Science Asia*, 39: 456-465.
- Wandeler, P. Smith, S. Morin, P. Pettifor, R. y Funk, S. 2003. Patterns of nuclear DNA degeneration 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. *Proceeding of the National Academy of Science, USA* 90:10063-10067.
- Ward, R. Redd, A. Valencia, D. Frazier, B. y Pääbo, S. 1993. Genetic and linguistic differentiation in the Americas. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, 90: 10663-10667.
- Ward, R. Salzano, F. Bonatto, S. Hut, M. Coimbra Jr, C. y Santos, R. 1996. Mitochondrial DNA polymorphisms in three Brazilian Indian tribes. *American Journal of Human Biology*, 8: 317-327.
- Waters, M. y Stafford Jr. T. 2007. Redefining the age of Clovis: implications for the peopling of the Americas. *Science*, 315: 1122-1126.
- Waters, M. Forman, S. Jennings, T. Nordt, L. Driese, S. Feinberg, J. Keene, J. Hallingan, J. Lindquist, A. Pierson, J. Hallmark, C. Collins, M. y Wiederhold, J. 2011. The Buttermilk Creek complex and the origins of Clovis at the Debra L. Friedkin sites, Texas. *Science*, 331: 1599-1603.
- Wayne, R. Leonard, J y Cooper, A. 1999. Full of sound and fury: the recent history of ancient DNA. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 30: 457-477.
- Willerslev, E. Hansen, A. Binladen, J. Brand, T. Gilbert, M. Shapiro, B. Bunce, M. Wiuf, C. Gilichinsky, D. Cooper, A. 2003. Diverse plant and animal genetic records from Holocene and Pleistocene sediments. *Science*, 300: 791-795.
- Willerslev, E. y Cooper, A. 2005. Ancient DNA. *Proceeding of the Royal Society of Biology*, 272:3-16.
- Wilson, I. 1997. Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification. *Applied and Environmental Microbiology*, 10:3741-3751.
- Wilson, A. Taylor, T. Ceruti, M. Chavez, J. Reinhard, J. Grimes, V. Meier-Augenstein, W. Cartmell, L. Stern, B. Richards, M. Worobey, M. Barnes, I. y Gilbert, T. 2007. Stable isotopes and DNA evidence for ritual sequence in Inca child sacrifice. *Proceeding of the National Academy of Science*, 104:16456-16461.
- 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.
- Winters, M. Barta, J. Monroe, C. y Kemp, B. 2011. To clone or not to clone: method analysis for retrieving consensus sequences in ancient DNA samples. *Plos One*, 6: e21247.
- Woodward, S. Weyand, N. y Bunnell, M. 1994 DNA sequence from Cretaceous period bone fragments. *Science*, 266: 1229-1232.

- Yang, D. Eng, B. Wayne, J. Duda, J. y Saunders, S. 1998. Technical note: improved DNA extraction from ancient bones using silica-based spin columns. *American Journal of Physical Anthropology*, 105:539-543.
- Yang, D. Eng, B. y Saunders, S. 2003. Hypersensitive PCR, ancient human mtDNA and contamination. *Human Biology*, 75: 355-364.
- Yang, D. and Watt, K. 2005. Contamination controls when preparing archaeological remains for ancient DNA analysis. *Journal of Archaeological Science*, 32: 331-336.
- Yao, Y. y Zhang, Y. 2003. Pitfalls in the analysis of ancient human mtDNA. *Chinese Science Bulletin*, 8: 826-830.
- Yao, Y. Bravi, C. y Bandelt, H. 2004. A call for mtDNA data quality control in forensic Science. *Forensic Science International*, 141: 1-6.
- Yi, S y Clark, C. 1985. The Diuktai culture and the New World origins. *Current Anthropology*, 26:1-21.
- Yoder, A. y Delefosse, T. 2002. The rise and fall of ancient DNA studies. *Ancient DNA*, Pp. 9-14.
- Yotova, V. Lefebvre, J. Moreau, C. Gbeha, E. Hovhannesian, K. Burgeois, S. Bedarida, S. Azevedo, L. Amorin, A. Sarkiscan, T. Avogbe, P. Chabin, N. Dicko, M. Amouzou, E. Sanni, A. Thomson, J. Boettcher, B. Scott, R. y Labuda, D. 2011. An x-linked haplotype of Neanderthal origin is present among all non-African populations. *Molecular Biology and Evolution*, 28: 1957-1962.
- Zimmermann, J. Hajibabael, M. Blackburn, D. Hanken, J. Cantin, E. Posfai, J. y Evans Jr, T. 2008. DNA damage in preserved specimens and tissue samples: Molecular assessment. *Frontiers in Zoology*, 5: 18-30.
- Zischler, H. Hoss, M. Handt, O. von Haeseler, A. van der Kuyl, A. y Goudsmit, J. 1995. Detecting dinosaur DNA. *Science*, 268: 1192–1193.
- Zsurka, G. Kraytsberg, Y. Kudwa, T. Kornblum, C. Elger, C. Khrapko, K. y Kunz, W. 2005. Recombination of mitochondrial DNA detected in skeletal muscle of individual's whit multiple mitochondrial DNA heteroplasmy. *Nature Genetic*, 37: 873-877.
- Zsurka, G. Hample, 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.

Apéndice.

11.1. Tablas.

<i>Sitio</i>	<i>Región</i>	¹⁴ C años AP	<i>Referencia</i>
<i>Norteamérica y Centroamérica</i>			
Rancho La Ampollo y el Cedral	San Luis de Potosí, México	30.000	Politis et al. (2008)
Valsequillo	Puebla, México	27.000-11.500	Fiedel (2000)
Bluefish Cave	Yukón, Canada	25.000-12.210	Fiedel (2000)
Tlapacoya 1	Cuenca de México	22.000	González et al. (2014)
Meadowcroft	Sudoeste de Pensilvania, EE.UU	19.000-11.000	Fiedel (2000)
Topper	Carolina del Sur, EE.UU	16.000	Fiedel (2000)
Debra L. Friedkin	Texas, EE.UU	15.500-13.200	Waters et al. (2011)
Wilson Butter Cave	Idaho, EE.UU	15.000-14.500	Fiedel (2000)
Cactus Hill	Sudeste de Virginia, EE.UU.	15.000	Fiedel (2000)
Izapan	Cuenca de México	14.700	González et al. (2014)
Saltville	Virginia, EE.UU	14.500	Politis et al. (2008)
Mudlake	Wisconsin	13.500	Waters y Stafford Jr. (2007)
Chesrow	Sudeste de Wisconsin, EE.UU	13.450	Fiedel (2000)
Fort Rock Cave	Oregon, EE.UU	13.200-10.200	Fiedel (2000)
Paisley Cave	Oregon, EE.UU	13.100	Hockett y Jenkins (2013)
Arlington Spring	Isla Santa Rosa, EE.UU	13.000	Erlandson et al. (2011)
Page Ladson	Florida, EE.UU	12.570	Dumbar (2006)
Schaefer Mammoth	Kenosha, Wisconsin, EE.UU	12.570	Joyce (2006)
Herbier	Wisconsin	12.500	Waters y Stafford Jr. (2007)
Broken Mammoth	Alaska, EE.UU	11.770	Waters y Stafford Jr. (2007)
Swan Point	Alaska, EE.UU	11.671	Faught (2008)
Naharon	Península de Yucatán, México	11.650	Politis et al. (2008)
Mesa	Alaska, EE.UU	11.600	Peláez (2001)
Walker Road	Alaska, EE.UU	11.600	Faught (2008)
Mead	Alaska, EE.UU	11.586	Faught (2008)
Manis Mastodon	Península Olímpica, Washington, EE.UU	11.560	Fiedel (2000)
Daisy Cave	Isla San Miguel, EE.UU	11.500	Erlandson et al. (2011)
Dry Creek	Alaska, EE.UU	10.625	Faught (2008)
<i>Sudamérica</i>			
Pedra Furada	Noreste de Brasil	40.000	Peláez (2001)
Monte Verde 1	Sur de Chile	33.370	Dillehay (1997)
Arroyo Vizcaíno	Canelones, Uruguay	30.000-27.000	Fariña et al. (2014)
Santa Elina	Mato Grosso, Brasil	25.000	Politis et al. (2008)
Tagua-Tagua	Noreste de Brasil	17.000	Fiedel (2000)
Pubenza	Río Magdalena, Colombia	16.400	Aceituno y Loaiza (2014)
Taima-Taima	Venezuela	14.000-12.000	Fiedel (2000)
La Pochola	Valle del Cauca, Colombia	13.098	Dickau et al. (2015)
El Jordan	Cordillera Central, Colombia	12.910	Aceituno y Loaiza (2014)
Piedra Museo AEP-1	Sur de Patagonia	12.890	Prates et al. (2013)

Monte Verde 2	Sur de Chile	12.800	Dillehay (1999)
Los Toldos	Sur de Patagonia	12.600	Prates et al. (2013)
Pucuncho	Sur de Perú	12.800-11.500	Rademaker et al. (2014)
Cuncaica	Sur de Perú	12.400-11.500	Radameker et al. (2014)
El Abra 2	Sabana de Bogotá, Colombia	12.400	Aceituno y Loaiza (2014)
Arroyo Seco 2	Región Pampeana, Argentina	12.240	Prates et al. (2013)
Itaparica	Noreste de Brasil	12.000	Schmidt Dias (2004)
Tres Arroyos	Magallanes	11.880	Miotti y Salemme (2004)
Tibitó	Sabana de Bogotá, Colombia	11.740	Aceituno y Loaiza (2014)
Los Burros	Costa Atlántica, Uruguay	11.690	López Mass (2013)
Cueva Lago Sofía	Sur de Patagonia	11.570	Miotti y Salemme 2004
Cerro Tres Tetas	Sur de Patagonia	11.560	Prates et al. (2013)
Baño Nuevo 1	Sur de Patagonia	11.480	Miotti y Salemme (2004)
Cerro La China	Región Pampeana, Argentina	11.150	Prates et al. (2013)
Pedra Pintada/Monte Alegre	Noreste de Brasil	11.145	Schmidt Dias (2004)
Quebrada Santa Julia	Choapa, Chile	11.090	Jackson et al. (2007)
El Alto 3	Córdoba, Argentina	11.010	Prates et al. (2013)
Fell I	Cuenca Magallánica	11.000	Miotti y Salemme (2004)
Cueva Casa del Minero	Sur de Patagonia	10.999	Prates et al. 2013
Pay Paso	Norte de Uruguay	10.930	López Mass (2013)
Cerro Tres Tetas	Sur de Patagonia	10.915	Prates et al. (2013)

Tabla 11.1. Sitios arqueológicos tempranos pre y para-clovis más citados en la bibliografía consultada.

Población	N	A%	B%	C%	D%	X%	Ind.%	Localidad	¹⁴ C años AP	Referencia
Norteamérica										
Paisley 5 Miles Point Caves	6	17	83	0	0	0	0	Oregon, EE.UU	12.300	Gilbert et al. (2008b)
Xenote	1	0	0	0	100	0	0	Quintana Roo, México	10.976	Chatters et al. (2014)
Anzick Site	1	0	0	0	100	0	0	Montana, EE.UU	10.705	Rasmussen et al. (2014)
On Your Knees	1	0	0	0	100	0	0	Alaska, EE.UU.	10.300	Kemp et al. (2007)
Wizard's Beach	1	0	0	100	0	0	0	Nevada, EE.UU	9.225	Kaestle y Smith 2001 (en Chatters et al. 2014)
Kennewick	1	0	0	0	0	100	0	Washintong	9200-8340	Rasmussen et al. (2015)
Windower	14	0	7,1	0	21,4	0	71,5	Florida, EE.UU	9.000-8.000	Hauswirth et al. (1991)
Pyramid Lake	18	11	33	0	56	0	0	Nevada, EE.UU	9.000 a 800	Kaestle y Smith (2001)
Hourglass Cave.	1	0	100	0	0	0	0	Oeste de Colorado, EE.UU	8.000	Stone y Stoneking (1996)
Columbia Británica	4	75	0	0	25	0	0	Oeste de Canadá	6.000-5.000	Cui et al. (2013)
Stillwater Marsh	22	4,4	36	0	55,3	0	4,4	Gran Cuenca, EE.UU	6.000-300	O'Rourke et al. (2000)
CA.MNT.831	7	57,1	0	28,6	0	0	14,3	Monterrey, EE.UU	5.253-200	Breschini y Haversat (2008)
Columbia Británica	3	33,3	0	0	0	0	66,4	Columbia Británica, Canadá.	5.000	Malhi et al. (2007)
Paleo-eskimo	1	0	0	0	100	0	0	Bahía Disko, Groenlandia	3.900-3.100	Gilbert et al. (2008a)
Cecil	16	0	6	56	38	0	0	Sudoeste EE.UU	3.600-2.860	Eshleman 2002 (en Raff et al. 2011)
Aleutianos tempranos	11	73	0	0	23	0	0	Aleutianas	3.500 -1200	Smith et al. 2009 (en Raff et al. 2011)
Stillwater Marsh	21	5	38	0	57	0	0	Nevada, EE.UU	3.290-290	Kaestle y Smith (2001)
Glacial Kame	18	17	61	17	5	0	0	Ontario, Canadá	2.900	Schultz-Shook y Smith (2008)
Morse	9	11	33	56	0	0	0	Fulton, Illinois	2.700	Schultz-Shook y Smith (2008)
Hinds Cave	3	0	33	67	0	0	0	Texas. EE.UU.	2.300-2.200	Poinar et al. (2001)
Dorset	2	0	0	0	100	0	0	Ártico/Subártico	2.260-1.216	Hayes 2002 (en Raff et al. 2011)
Sitios varios	7	14	29	29	14	0	14	Diversas regiones de EE.UU	2.250-350	Bolnick et al. (2012)
Port Moller	4	25	0	0	50	0	25	Ártico/Subártico	2.070	Raff et al. (2010)

								o		
Alaska	18	36	15	49	0	0	0	Península de Alaska	2.070-938	Raff et al. (2010)
Applegate	6	0	33,3	66,7	0	0	0	Sudoeste EE.UU	2050-1765	Eshleman 2002 (en Raff et al. 2011)
Anazasi	22	23	59	9	0	0	9	Sudoeste EEUU.	2.010-1.010	O'Rourke et al. (2000)
Cook	23	4	8,7	43,3	44	0	0	Sudoeste EE.UU	2.000	Eshleman 2002 (en Raff et al. 2011)
Hopewell	39	23	12	49	13	3	0	Illinois	1.775	Bolnick y Smith (2007)
Ohio Hopewell	34	38	3	38	21	0	0	Noreste EE.UU	1.700	Mills 2003 (en Raff et al. 2011)
Anazasi	27	22	56	15	0	0	7	Arizona, Utah y Nuevo México	1.630-540	Carlyle et al. 2000
Great Salt Lake Fremont	43	0	73	13	7	0	7	Great Salt Lake Fremont. EEUU.	1.500-500	Parr et al. 1996 / O'Rourke et al. (2000)
Vantage	1	0	0	0	0	100	0	Washington, Columbia River near Vantage	1340	Malhi y Smith (2002)
Brooks River	8	63	24	0	13	0	0	Ártico/Subártico	1.318- 938	Raff et al. (2010)
Schild	118	13	6	10	5	0	66	Ártico/Subártico	1.318- 938	Raff et al. (2010)
Mink Island	6	17	0	0	83	0	0	Ártico/Subártico	1.215-1.029	Raff et al. (2010)
Late Woodland	5	0	40	40	0	0	20	Oeste de EE.UU	1.200-350	Kolman y Tuross (2000)
Schild Late Woodland	19	30	10	15	10	35		Noreste EE.UU	1.200	Raff 2008 (en Raff et al. 2011)
Thule	15	100	0	0	0	0	0	Ártico/Subártico	1.130-628	Hayes 2002 (en Raff et al. 2011)
Aleutianos	27	55	0	0	45	0	0	Umnak Island	1.100	Smith et al. (2009)
Tommy y Mine Cayón, San Juan	48	16	60	14	10	00		Nuevo México	1.100-250	Snow et al. (2010)
Aleutianos2	52	23	0	0	77	0	0	Umnak Island	1.000-400	Smith et al. 2009 (en Raff et al. 2011)
Sadlermiut	18	56	0	0	44	0	0	Ártico/Subártico	977-682	Hayes 2002 (en Raff et al. 2011)
Schild Mississippian	47	36	13	21	13	17	0	Sudeste EE.UU	900 AP	Raff 2008 (en Raff et al. 2011)
Angel Mound	2	50	0	50	0	0	0	Ohio, Indiana, EE.UU	900-550	Marshall et al. (2011)
Ventana Cave, Castle Mountain, Arizona	3	0	0	33	0	0	67	Arizona, EE.UU	900-550	Handt et al. (1996)
Orendorf	11	46	0	27	27	0	0	Fulton, Illinois. EE.UU	800	Schultz-Shook y Smith (2008)

Great Western Park	6	40	0	60	0	0	0	Ontario, Canadá	800	Schultz-Shook y Smith (2008)
Grupo Oneota	108	31,5	12	42,6	8,3	0	5,6	Illinois, EEUU.	650	Stone y Stoneking (1998)
Inuit	8	100	0	0	0	0	0	Groenlandia	500	Gilbert et al. (2007)
Tatshenshini-Alsek	1	100	0	0	0	0	0	Alaska	500	Monsalve et al. (2002)
Arikara	63	40	23	19	6	0	12	Dakota del Sur	350-100	Lawrence et al. (2010)
Beothuk	2	0	0	0	50	50	0	Newfoundland, Canadá	180	Kuch et al. (2007)
Centroamérica										
Ciboneys	47	7	0	60	33	0	0	Bahía Onda, Mogote y Caminar. Cuba	4.700-1.600	Lalueza Fox et al. (2003)
Cuba	1	100	0	0	0	0	0	La Havana, Cuba	2.220	Leonart et al. (1999)
Maya	9	0	0	88	0	0	12	Copan, Honduras	1.600-1.200	Merriwether et al. (1997)
Maya	25	84	4	8	0	0	4	Quintana Roo, México	1.400-500	González-Oliver et al. (2001)
Pre-conquista	11	27	27	0	36	0	10	Xaltocan, México	1.300	Mata-Miguez et al. (2012)
Tainos	27	0	0	75	25	0	0	La Caleta. República Dominicana	1.280-270	Lalueza Fox et al. (2001)
Xaltocan	3	67	33	0	0	0	0	Xaltocan, México	800-400	Bolnick et al. (2012)
Tlatelolco	30	46	37	6	10	0	0	Tlatelolco	600-550	Solorzano Navarro et al. (2009)
Aztecas	14	57	21	7	14	0	0	Tlatelolco	500	De la Cruz et al. (2008)
Uto-Aztecas	23	65	13	4	18	0	0	Tlatelolco	500	Kemp et al. (2005b)
Tetetzontlilco	30	73	7	17	3	0	0	Tizayuca	450-400	Solorzano Navarro et al. (2009)
Texcalac	30	47	23	10	10	0	0	Tlaxcala	250-150	Solorzano Navarro et al. (2009)
Post-conquista	26	46	23	4	23	0	23	Xaltocan, México	700-400	Mata-Miguez et al. (2012)
Sudamérica										
Baño Nuevo 1	4	0	75	25	0	0	0	Sur de Chile	9.000	Manríquez et al. (2011)
Quebrada de Acha	4	25	0	50	25	0	0	Tarapacá, Norte de Chile	9.000-7.500	Manríquez et al. (2011)
Tagua Tagua (Cuchipuy)	4	0	0	100	0	0	0	Centro de Chile	8.000	Manríquez et al. (2011)
Lauricocha	5	80	20	0	0	0	0	Perú centro andino	7.871-3.337	Fehren-Schmitz et al. (2015)
Argentina	24	0	20,8	16,7	4,2	0	58,3	Sur de la región pampeana	7.800-4.578	Figueiro (2013)

Camarones 14	4	25	50	25	0	0	0	Norte de Chile	7.500	Manríquez et al. (2011)
Chen Chen	27	33,3	33,3	14,8	3,7	0	14,8	Valle de Moquegua, sur de Perú	7.200-1.000	Lewis Jr. et al. (2007b)
Norte de Chile	14	50	36	7	7	0	0	Norte de Chile	6.000-3.9000	Moraga et al. (2005)
Córdoba	48	16	23	39	20	0	0	Sierras y llanuras de Córdoba	4.525-345	Nores et al. (2011)
Sambaquis	13	0	0	31	0	0	69	Río de Janeiro	4.160-3.960	Marinho et al. (2006)
Indios amazónicos	18	28	6	22	5	0	39	Brasil	4.000-500	Ribeiro dos Santos et al. (1996)
Norte de Chile	19	32	42	26	0	0	0	Norte de Chile	3.900-1.650	Moraga et al. (2005)
Centro Argentina	2	0	50	50	0	0	0	Centro de Prov. De Córdoba	3.500-2.000	Figueiro (2013)
Sierras Centrales	35	23	26	34	17	0	0	Córdoba, Argentina	3.360-345	Nores et al. (2011)
Chile	32	31	22	31	3	0	13	Valles de Azapa, Camarones y Lluta, Chile	2.900-600	Moraga et al. (2001)
Sur de Brasil	14	0	7,2	14,2	0	0	78,6	Sur de Brasil	2.500-200	Figueiro (2013)
Tiwanaco	13	8	15	23	23	0	31	Bolivia	2.300-1.000	Rothhammer et al. (2003)
Argentina	7	14,3	0	42,9	28,5	0	14,3	Sur de Región Pampeana	2.245-2.470	Figueiro (2013)
Colombia	11	0	100	0	0	0	0	Este de Colombia	2.000	Silva et al. (2008)
Uruguay	18	5,5	16,7	11,2	11,2	0	55,5	Oeste de Uruguay	1.910-400	Figueiro (2013)
Uruguay	20	15	30	30	5	0	20	Este de Uruguay	1.700-300	Figueiro (2013)
Kaweskar	7	0	0	55	45	0	0	Archipiélagos Chile	1.700-250	Moraga et al. (2010)
Norte de Chile	15	20	53	20	7	0	0	Norte de Chile	1.650-1.000	Moraga et al. (2005)
Colombia	6	50	16	34	0	0	0	Colombia	1.543-213	Monsalve et al. (1996)
Pampa Grande	21	11	47	0	42	0	0	Salta, Argentina	1310	Carnese et al. (2010)
Cortaderas Derecha	3	0	0	100	0	0	0	Salta, Argentina	1.300	Dejean et al. (2006)
Sicán	28	21	25	4	25	0	25	Costa Norte de Perú	1.260-600	Shimada et al. (2004)
Paracas-Nasca	130	3,3	16,7	27,7	52,3	0	0	Costa Sur de Perú	1.200-800	Fehren-Schmitz et al. (2010)
Valles altos del Río Palpa y	56	7,1	51,8	33,9	7,2	0	0	Valle del Río Palpa, Sur de	1.200-800	Fehren-Schmitz et al. (2011)

Viscas								Perú		
La Purnia	17	35	41	0	24	0	0	La Purnia, Santander, Colombia	1.090	Casas-Vargas et al. (2011)
Cuzco	1	0	0	0	100	0	0	Perú	1.033-840	Luciani et al. (2006)
Conchopata	16	29	50	14	7	0	0	Costas de Perú	1.000-500	Kemp et al. (2009)
Huari	18	17	22	55	6	0	0	Costa de Perú	1.000-500	Kemp et al. (2009)
Los Amarillos	18	72	6	6	17	0	0	Jujuy, Argentina	1.000-500	Mendisco et al. (2011)
Llullaillaco	3	0	0	33	64	0	0	Noroeste de argentina	690-520	Wilson et al. (2007)
Norte de Perú	57	5	40	14	2	0	39	Costa Norte de Perú	500-400	Shinoda et al. (2006)
Nahuelquín 1	1	0	0	0	100	0	0	Isla Traiguén, Chile	430	Reyes-Báez et al. (2011)
Tompullo 2	24	8,3	70,8	4,2	16,7	0	0	Arequipa, Perú	400-300	Baca et al. (2012)
Guajajara	12	20	0	20	20	0	40	Brasil	300-150	Leite et al. (2014)
Patagónicos	60	0	0	38,3	60	0	1,7	Patagonia Argentina	150	Lalueza et al. (1997)
Yamana	2	0	0	50	50	0	0	Isla Hoste, Chile	150	Dejean et al. (2008)
Botocudos	14	0	14,3	85,7	0	0	0	Vale do jaquitinhonha, Minas Gerais, Brasil	100	Gonçalves et al. (2010)
Perú	3	0	33	0	33	0	34	Momias de Perú	Sin fechar	Carpenter et al. (2013)

Tabla 11.2. Porcentajes de haplogrupos mitocondriales en muestras históricas y prehistóricas. El porcentaje correspondiente a indeterminados de Malhi et al. (2007) y de Carpenter et al. (2013) pertenecen al haplogrupo M, el cual es nodal de los linajes C y D. Rogan y Salvo (1990a), Horai et al. (1991), Lalueza et al. (1993-1994), Merriwether et al. (1994) y Demarchi et al. (2001) no detectaron la delección de lo 9 pares de base en momias del Norte del Chile, en tejido blando y 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. El porcentaje de indeterminados de Leite et al. 2014 corresponde al haplogrupo africano L.

	Ah5	FD10	Da3	FD2	MB22	MB21	MB36	MB37	MB27	CdB125	MK02	MK03	IP03	Da2	Da4	FD1	FD3	FD4	FD5	FD6	FD13	MB48	MB12	MB13	MB40	MB34	CdB12	IP04	IP08	IP010
Ah5	0,000	0,005	0,017	0,017	0,017	0,020	0,021	0,014	0,017	0,0209	0,020	0,020	0,017	0,017	0,014	0,017	0,014	0,014	0,014	0,011	0,014	0,017	0,017	0,014	0,017	0,017	0,008	0,014	0,014	0,011
FD10	0,005	0,000	0,024	0,024	0,024	0,027	0,027	0,021	0,024	0,027	0,027	0,027	0,024	0,024	0,021	0,024	0,021	0,021	0,021	0,017	0,021	0,024	0,024	0,020	0,024	0,024	0,014	0,020	0,020	0,017
Da3	0,017	0,024	0,000	0,000	0,000	0,002	0,002	0,002	0,000	0,002	0,002	0,002	0,000	0,024	0,015	0,017	0,015	0,015	0,015	0,018	0,015	0,018	0,018	0,021	0,017	0,018	0,008	0,021	0,021	0,017
FD2	0,017	0,024	0,000	0,000	0,000	0,002	0,002	0,002	0,000	0,002	0,002	0,002	0,000	0,024	0,015	0,017	0,015	0,015	0,015	0,018	0,015	0,018	0,018	0,021	0,017	0,018	0,008	0,021	0,021	0,017
MB22	0,017	0,024	0,000	0,000	0,000	0,002	0,002	0,002	0,000	0,002	0,002	0,002	0,000	0,024	0,015	0,017	0,015	0,015	0,015	0,018	0,015	0,018	0,018	0,021	0,017	0,018	0,008	0,021	0,021	0,017
MB21	0,020	0,027	0,002	0,002	0,002	0,000	0,005	0,005	0,002	0,005	0,005	0,005	0,002	0,027	0,017	0,020	0,017	0,017	0,017	0,021	0,017	0,021	0,021	0,024	0,020	0,021	0,011	0,024	0,024	0,020
MB36	0,021	0,027	0,002	0,002	0,002	0,005	0,000	0,005	0,002	0,005	0,005	0,005	0,002	0,027	0,018	0,021	0,018	0,018	0,018	0,021	0,018	0,021	0,021	0,024	0,021	0,021	0,011	0,024	0,024	0,021
MB37	0,021	0,021	0,002	0,002	0,002	0,005	0,005	0,000	0,002	0,005	0,005	0,005	0,002	0,020	0,011	0,014	0,011	0,011	0,011	0,015	0,011	0,015	0,015	0,017	0,014	0,015	0,005	0,017	0,017	0,014
MB27	0,021	0,024	0,000	0,000	0,000	0,002	0,002	0,002	0,000	0,002	0,002	0,002	0,000	0,024	0,015	0,017	0,015	0,015	0,015	0,018	0,015	0,018	0,018	0,021	0,017	0,018	0,008	0,021	0,021	0,017
CdB12589	0,021	0,027	0,002	0,002	0,002	0,005	0,005	0,005	0,002	0,000	0,005	0,005	0,002	0,027	0,017	0,020	0,017	0,017	0,017	0,021	0,017	0,021	0,021	0,024	0,020	0,021	0,011	0,024	0,024	0,020
MK02	0,021	0,027	0,002	0,002	0,002	0,005	0,005	0,005	0,002	0,005	0,000	0,000	0,002	0,027	0,017	0,020	0,017	0,017	0,017	0,021	0,017	0,021	0,021	0,024	0,020	0,021	0,011	0,024	0,024	0,020
MK03	0,021	0,027	0,002	0,002	0,002	0,005	0,005	0,005	0,002	0,005	0,000	0,000	0,002	0,027	0,017	0,020	0,017	0,017	0,017	0,021	0,017	0,021	0,021	0,024	0,020	0,021	0,011	0,024	0,024	0,020
IP03	0,021	0,024	0,000	0,000	0,000	0,002	0,002	0,002	0,000	0,002	0,002	0,002	0,000	0,024	0,015	0,017	0,015	0,015	0,015	0,018	0,015	0,018	0,018	0,021	0,017	0,018	0,008	0,021	0,021	0,017
Da2	0,021	0,024	0,024	0,024	0,024	0,027	0,027	0,020	0,024	0,027	0,027	0,027	0,024	0,000	0,020	0,005	0,020	0,020	0,020	0,017	0,020	0,024	0,024	0,002	0,005	0,024	0,014	0,008	0,008	0,005
Da4	0,021	0,021	0,015	0,015	0,015	0,017	0,018	0,011	0,015	0,017	0,017	0,017	0,015	0,020	0,000	0,021	0,000	0,000	0,000	0,015	0,011	0,015	0,015	0,017	0,021	0,015	0,005	0,011	0,011	0,014
FD1	0,021	0,024	0,017	0,017	0,017	0,022	0,021	0,014	0,017	0,020	0,020	0,020	0,017	0,005	0,021	0,000	0,021	0,021	0,021	0,017	0,021	0,024	0,024	0,002	0,000	0,024	0,014	0,008	0,008	0,005
FD3	0,022	0,021	0,015	0,015	0,015	0,017	0,018	0,011	0,015	0,017	0,017	0,017	0,015	0,020	0,000	0,021	0,000	0,000	0,000	0,015	0,011	0,015	0,015	0,017	0,021	0,015	0,005	0,011	0,011	0,014
FD4	0,022	0,021	0,015	0,015	0,015	0,017	0,018	0,011	0,015	0,017	0,017	0,017	0,015	0,020	0,000	0,021	0,000	0,000	0,000	0,015	0,011	0,015	0,015	0,017	0,021	0,015	0,005	0,011	0,011	0,014
FD5	0,022	0,021	0,015	0,015	0,015	0,017	0,018	0,011	0,015	0,017	0,017	0,017	0,015	0,020	0,000	0,021	0,000	0,000	0,000	0,015	0,011	0,015	0,015	0,017	0,021	0,015	0,005	0,011	0,011	0,014
FD6	0,022	0,017	0,018	0,018	0,018	0,021	0,021	0,015	0,018	0,021	0,021	0,021	0,018	0,017	0,015	0,017	0,015	0,015	0,015	0,000	0,008	0,005	0,005	0,014	0,017	0,018	0,008	0,014	0,014	0,011
FD13	0,022	0,021	0,015	0,015	0,015	0,017	0,018	0,011	0,015	0,017	0,017	0,017	0,015	0,020	0,011	0,021	0,011	0,011	0,011	0,008	0,000	0,008	0,008	0,017	0,021	0,015	0,005	0,017	0,017	0,014
MB48	0,022	0,024	0,018	0,018	0,018	0,021	0,021	0,015	0,018	0,021	0,021	0,021	0,018	0,024	0,015	0,024	0,015	0,015	0,015	0,005	0,008	0,000	0,000	0,021	0,024	0,018	0,008	0,021	0,021	0,017
MB12	0,022	0,024	0,018	0,018	0,018	0,021	0,021	0,015	0,018	0,021	0,021	0,021	0,018	0,024	0,015	0,024	0,015	0,015	0,015	0,005	0,008	0,000	0,000	0,021	0,024	0,018	0,008	0,021	0,021	0,017
MB13	0,022	0,020	0,021	0,021	0,021	0,024	0,024	0,017	0,021	0,024	0,024	0,024	0,021	0,002	0,017	0,002	0,017	0,017	0,017	0,014	0,017	0,021	0,021	0,000	0,002	0,021	0,011	0,005	0,005	0,002
MB40	0,022	0,024	0,017	0,017	0,017	0,020	0,021	0,014	0,017	0,020	0,020	0,020	0,017	0,005	0,021	0,000	0,021	0,021	0,021	0,017	0,021	0,024	0,024	0,002	0,000	0,024	0,014	0,008	0,008	0,005
MB34	0,022	0,024	0,018	0,018	0,018	0,021	0,021	0,015	0,018	0,021	0,021	0,021	0,018	0,024	0,015	0,024	0,015	0,015	0,015	0,018	0,015	0,018	0,018	0,021	0,024	0,000	0,008	0,021	0,021	0,017
CdB12590	0,023	0,014	0,008	0,008	0,008	0,011	0,011	0,005	0,008	0,011	0,011	0,011	0,008	0,014	0,005	0,014	0,005	0,005	0,005	0,008	0,005	0,008	0,008	0,011	0,014	0,008	0,000	0,011	0,011	0,008
IP04	0,023	0,020	0,021	0,021	0,021	0,024	0,024	0,017	0,021	0,024	0,024	0,024	0,021	0,008	0,011	0,008	0,011	0,011	0,011	0,014	0,017	0,021	0,021	0,005	0,008	0,021	0,011	0,000	0,000	0,002
IP08	0,023	0,020	0,021	0,021	0,021	0,024	0,024	0,017	0,021	0,024	0,024	0,024	0,021	0,008	0,011	0,008	0,011	0,011	0,011	0,014	0,017	0,021	0,021	0,005	0,008	0,021	0,011	0,000	0,000	0,002
IP010	0,023	0,017	0,017	0,017	0,017	0,020	0,021	0,014	0,017	0,020	0,020	0,020	0,017	0,005	0,014	0,005	0,014	0,014	0,014	0,011	0,014	0,017	0,017	0,002	0,005	0,017	0,008	0,002	0,002	0,000

Tabla 11.3. Matriz de distancias genéticas entre pares de secuencias realizado con el programa MEGA 5.1 (Tamura et al. 2011). Se utilizó para dicho cálculo el modelo evolutivo TN93 (Tamura y Nei 1993).

Muestra	C ¹⁴ años AP	Procedencia	Haplotipo	Linaje inferido	Población	Ubicación geográfica	País	Referencia
FD4, FD5, FD3 y Da4	De 3.100 a 400	Costa de Norpatagonia y costa de Santa Cruz.	D1 + 16242T y 16311C	D1j	Mapuche	Río Negro	Argentina	De Saint Pierre et al. (2012a)
					Wichí y Pilaga	Formosa	Argentina	Cabana et al. (2006)
					Diaguita y cosmopolitas	Catamarca	Argentina	Bodner et al. (2012), Motti (2012)
					Coyas y cosmopolitas	Salta y Jujuy	Argentina	Álvares-Iglesias et al. (2007), Bodner et al. (2012)
					Cosmopolita	Buenos Aires	Argentina	Bobillo et al. (2010)
					Cosmopolitas	San Juan	Argentina	Motti (2012)
					Cosmopolitas	Mendoza	Argentina	Motti (2012)
					Cosmopolita	Tucumán	Argentina	Bodner et al. (2012)
					Cosmopolita	Córdoba	Argentina	Salas et al. (2008), Bodner et al. (2012), García et al. (2012).
					Rural	Santiago del Estero	Argentina	Pauro et al. (2013)
					Cosmopolita	Corrientes	Argentina	Bobillo et al. (2010)
					Cosmopolita	Neuquén	Argentina	Catelli et al. (2011)
					Cosmopolita	La Rioja	Argentina	Catelli et al. (2011)
					Cosmopolita	Jujuy	Argentina	Cardoso et al. (2013)
Cosmopolita	Valparaiso, Maule y Bío Bío.	Chile	Bodner et al. (2012)					
Cosmopolita	Rio Grande do Sul y Sao Pablo	Brasil	Bodner et al. (2012)					
Cosmopolita	Varias	Uruguay	Sans et al. (2014)					
FD13	2.300	Costa Norpatagonia	D1 + 16169T y 16189T	D1g + 16169T	NE	NE	NE	NE
FD2, Da3, MB27 y MB22	1588	Costa de Norpatagonia, costa de Santa Cruz y Norpatagonia andina	C1 nodal	C1/C1b	Kaweskar antiguos y actuales	Archipiélagos chilenos	Chile	Moraga et al. (2010), García-Bour et al. (2004)
					Yámanas antiguos y actuales	Archipiélagos chilenos	Chile	García-Bour et al. (2004), Dejean et al. (2008), De Saint Pierre et al. (2012a)

					Aonikenk antiguos	Punta Delgada	Chile	García-Bour et al. (2004)
					Wichí	Formosa	Argentina	Cabana et al. (2006)
					Mapuche y Cosmopolitas	Río Negro	Argentina	Ginther et al. (1993), De Saint Pierre et al. (2012), Bobillo et al. (2010)
					Mapuche	Isla Huapi	Chile	Moraga et al. (2000)
					Mapuche	Temuco	Chile	De Saint Pierre et al. (2012a)
					Tehuelche	Chubut	Argentina	De Saint Pierre et al. (2012a)
					Pehuenche	Bío Bío	Chile	De Saint Pierre et al. (2012a)
					Huilliche	San Juan	Chile	De Saint Pierre et al. (2012a)
					Coyas	Noa	Argentina	Álvares-Iglesias et al. (2007)
					Ascendencia Mapuche y Tehuelche	Provincias varias	Argentina	Sala y Corach (2014)
					Cosmopolitas	Chiloé y IX Región	Chile	Horai et al. (1993)
					Poblaciones varias	Centro	Argentina	Catelli et al. (2011), Pauro et al. (2013)
					Poblaciones varias	Centro y Noa	Argentina	Catelli et al. (2011), Motti (2012), Cardoso et al. (2013)
					Cosmopolitas	Buenos Aires	Argentina	Catelli et al. (2011), Bobillo et al. (2010)
					Cosmopolitas	Amazonas	Brasil	Feio dos Santos et al. (2006)
					Cosmopolitas	Centro-Sur	Brasil	Alves-Silva Et al. (2000)
					Cosmopolitas	Varias	Uruguay	Sans et al. (2014)
					Cosmopolitas	Sur	Brasil	Fridman et al. (2014)
FD6	1173	Costa Norpatagonia	D1 + 16092C?,	D1g2a	Mapuche	Río Negro	Argentina	Ginther et al. (1993)

			16187T, 16189T y @16325		Tehuelche	Chubut	Argentina	De Saint Pierre et al. (2012a)
					Pehuenche	Bío Bío	Argentina	De Saint Pierre et al. (2012a)
					Ascendencia Mapuche y Tehuelche	Provincias varias	Argentina	Sala y Corach (2014)
					Cosmopolitas	Río Negro	Argentina	Bobillo et al. (2010), Bodner et al. (2012)
FD1 y MB40	796	Costa de Norpatagonia y Norpatagonia andina	D4h3a + 16298C	D4h3a2	Cosmopolitas	Bío Bío	Chile	Perego et al. (2009)
FD10	689	Costa de Norpatagonia	A2 + 16111T y 16192T	A2a/A2f	Ascendencia Mapuche y Tehuelche	Chubut	Argentina	Sala y Corach (2014)
					Cosmopolitas	Chiloé y IX Región	Chile	Horai et al. (1993)
					Cosmopolitas	Sudeste	Brasil	Alves-Silva et al. (2000)
					Cosmopolitas	Centro Sur	Brasil	Feio dos Santos et al. (2006)
					Cosmopolitas	Córdoba, Buenos Aires y San Juan	Argentina	Catelli et al. (2011)
Ah5	Ca. 300	Norpatagonia andina	A2 nodal	A2	Coyas	Noa	Argentina	Cardoso et al. (2013)
					Pilagá	Formosa	Argentina	Cabana et al. (2006)
					Coyas	Noa	Argentina	Álvares-Iglesias et al. (2007)
					Cosmopolitas	Santa Fé	Argentina	Catelli et al. (2011)
					Cosmopolitas	Córdoba	Argentina	Pauro et al. (2013)
					Cosmopolitas	Varias	Brasil	Friedman et al. (2014)
					Cosmopolitas	Alagoas	Brasil	Barbosa et al. (2008)
					Cosmopolitas	Chiloe y IX Región	Argentina	Horai et al. (1993)
					Cosmopolitas	Centro Sur	Brasil	Feio dos Santos et al. (2006)

					Cosmopolitas	La Paz	Bolivia	Taboada-Echalar et al. (2013)
Da2	Nd	Costa de Santa Cruz	D4h3a + 16051G	D4h3a5	Tehuelche	Chubut	Argentina	De Saint Pierre et al. (2012a)
MB34	Nd	Costa de Norpatagonia	D1 + 16093C, 16126C y 16259T	D1	NE	NE	NE	NE
MB21	Nd	Costa de Santa Cruz	C1 + 16171G	C1b/C1b13	Cosmopolitas	Chiloé y IX Región	Chile	Horai et al. (1993)
					Cosmopolitas	Río Negro	Argentina	Bravi, C. Comunicación personal
					Cosmopolitas	Lavalle	Mendoza	Bravi, C. Comunicación personal
MB36	Nd	Ushuaia	C1 + 16291T	C1/C1b	Yámanas	Archipiélagos chilenos	Chile	Moraga et al. (2000)
MB12 y MB48	Nd	Costa de Norpatagonia	D1 + 16187T, 16189T y 16209C	D1g5	Kaweskar antiguos	Archipiélagos chilenos	Chile	García-Bour et al. (2004)
					Aonikenk antiguos	Cerro Johnny	Argentina	García-Bour et al. (2004)
					Pehuenche	Bío Bío	Chile	De Saint Pierre et al. (2012a)
					Mapuche	Río Negro	Argentina	De Saint Pierre et al. (2012a)
					Tehuelche	Chubut	Argentina	De Saint Pierre et al. (2012a)
					Cosmopolitas	Chiloé y IX Región	Chile	Horai et al. (1993)
					Cosmopolitas	Río Negro	Argentina	Bobillo et al. (2010), Bodner et al. (2012)
					Cosmopolitas	Córdoba	Argentina	Catelli et al. (2011)
MB37	Nd	Ushuaia	C1 + 16362C	C1b/C1b13	Coyas	Noa	Argentina	Álvarez-Iglesias et al. (2007)
					Rural	La Paz	Bolivia	Taboada-Echalar et al. (2013)
					Cosmopolitas	Varias	Argentina	Catelli et al. (2011)
					Cosmopolitas	Noa	Argentina	Tamm et al. (2007)

					Cosmopolitas	Centro Sur	Brasil	Feio dos Santos et al. (2006)
MB13	Nd	Ushuaia	D4h3a nodal	D4h3a	Mapuche	Isla Huapi	Chile	Moraga et al. (2000), De Saint Pierre et al. (2012a)
					Mapuche	Temuco	Chile	De Saint Pierre et al. (2012a)
					Huilliche	San Juan	Chile	De Saint Pierre et al. (2012a)
					Cosmopolita	La Paz	Bolivia	Taboada-Echalart et al. (2013)
					Cosmopolita	Varias	Chile	Perego et al. (2009)
					Cosmopolita	Buenos Aires	Argentina	Catelli et al. (2011), Bobillo et al. (2010)
					Cosmopolita	Córdoba	Argentina	Catelli et al. (2011)

Tabla 11.4. Poblaciones que poseen los mismos haplotipos que los hallados en las muestras analizadas en esta tesis para la RHV-1. Muchas de las mismas poseen variantes de estos haplotipos diferenciadas por sólo uno o dos pasos mutacionales, pero no fueron considerados para la confección de esta tabla.

11.2. Figuras.

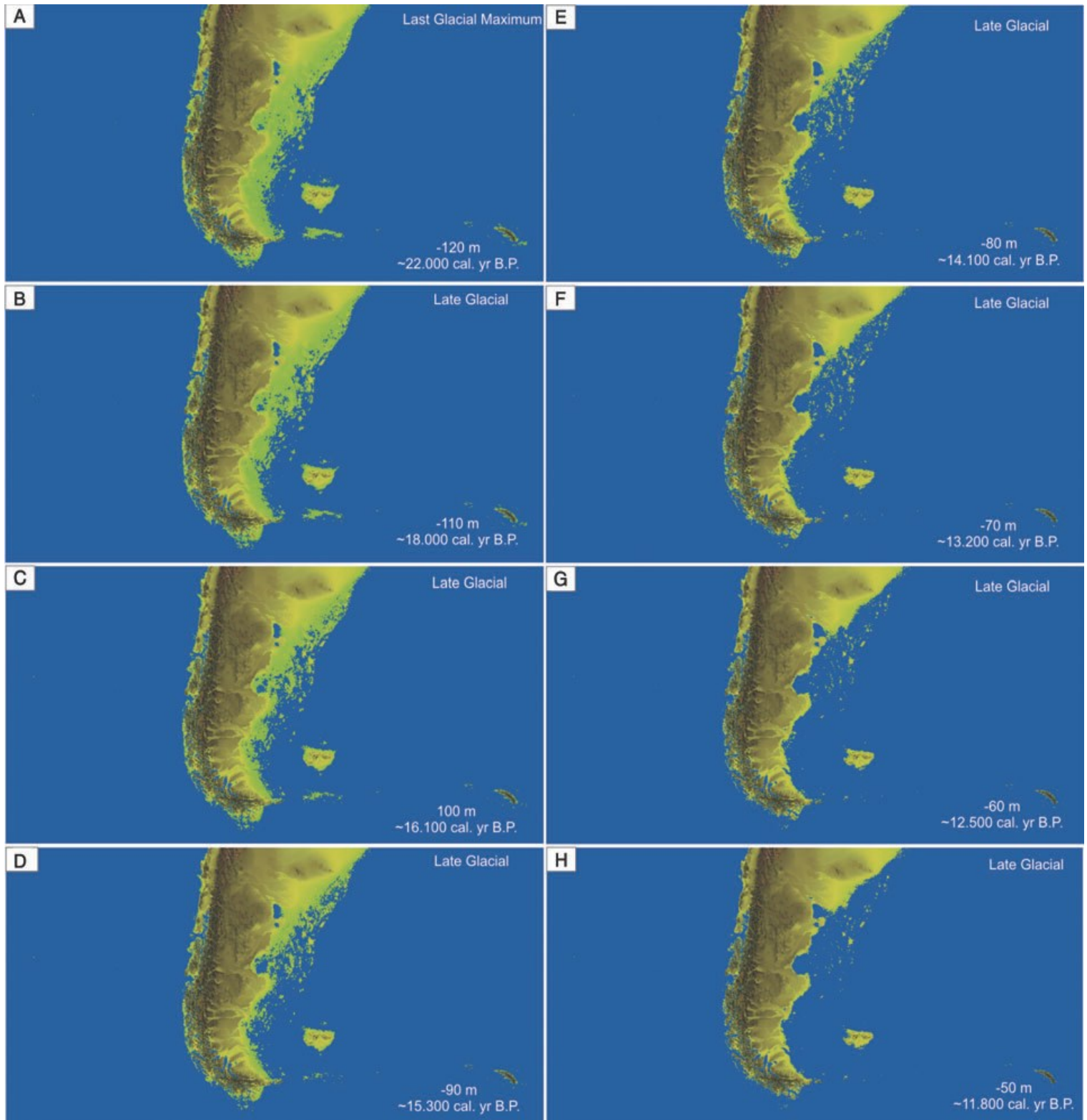


Figura 11.1. Modelo de evolución paleogeográfica de la costa de la región de Pampa-Patagonia desde los 22.000 años cal AP (cuadro A) hasta los 11.800 años cal AP (cuadro H). Se observan los cambios producidos por la elevación del nivel de las aguas desde el UMG.

11.3. Reactivos y soluciones utilizados.

Solución de descalcificación: EDTA 0,5 M a pH 8. Esta solución se preparo con agua calidad biología molecular y las sales utilizadas fueron de uso exclusivo para ADNa. Esta solución fue irradiada durante 45 minutos antes y después de cada utilización.

Solución de digestión: 0,8 ml de buffer de extracción (conteniendo cada 250 ml de H₂O calidad biología molecular, 1,25 ml de Tris Cl 2M, 2,5 ml de EDTA 0,5 M, 10,2 grs de acetato de sodio, 0,2 ml de sodio dodecil sulfato al 10%) y 50 ul de proteinasa K 20mg/ml. Todos los reactivos utilizados tambien fueron de uso exclusivo para ADNa. Esta solución fue irradiada durante 45 minutos antes y después de cada utilización. Debido a que la luz UV degrada las enzimas, la proteinasa K no se irradiada y era agregada a la solución de extracción al momento de uso, pero se realizaban alícuotas de la misma para evitar el pipeteo constante y posibles focos de contaminación.

Extracción a partir del fémur: se extrajo material óseo a través de una pequeña incisión en la fosa intercondilea (la cual fue pre tratada con etanol 10% y lijada previamente), que luego fue desbastada desde dentro y recuperado el polvo de hueso en tubos plásticos estériles según lo recomendado por otras investigaciones (Gibbon et al. 2009). Para la extracción de esta muestra se siguieron los mismos protocolos que los utilizados en las piezas dentales pero con 200 mg de material óseo como punto de partida para cada extracto.