

Historias en código genético. Los aportes de los estudios de ADN antiguo en antropología y sus implicancias éticas

Autor:
Crespo, Cristian M.

Revista:
Runa: archivo para las ciencias del hombre

2010, 31(2), 153-174



Artículo

HISTORIAS EN CÓDIGO GENÉTICO. LOS APORTES DE LOS ESTUDIOS DE ADN ANTIGUO EN ANTROPOLOGÍA Y SUS IMPLICANCIAS ÉTICAS

Cristian M. Crespo*, Cristina B. Dejean**,
M. Bárbara Postillone***, José L. Lanata****
y Francisco R. Carnese*****

Resumen

Desde hace varias décadas, la antropología biológica comenzó a utilizar marcadores moleculares en estudios poblacionales. A partir de la década de 1990 se desarrollaron diferentes técnicas en biología molecular que permitieron extraer y tipificar ADN conservado en diferentes restos provenientes de museos y sitios arqueológicos. Los estudios de ADN antiguo relacionados con problemáticas arqueológicas conforman hoy un campo de estudio denominado Arqueogenética. Se presentan en este trabajo algunas de las aplicaciones del ADN antiguo. Se discuten las ventajas y limitaciones de estos estudios y su relación con temas éticos y legales.

Palabras clave: Arqueogenética, ADN Antiguo, Poblamiento Americano, Ética.

STORIES IN GENETIC CODE. THE CONTRIBUTION OF ANCIENT DNA STUDIES TO ANTHROPOLOGY AND THEIR ETHICAL IMPLICATIONS

Abstract

For several decades, biological anthropology has employed different molecular markers in population research. Since 1990 different techniques in molecular biology have been developed allowing preserved DNA extraction and its typification in different samples from museums and archaeological sites. Ancient DNA studies related to archaeological issues are now included in the field of Archaeogenetics. In this work we present some

* Tesista de Licenciatura de la Carrera de Cs. Antropológicas de la Facultad de Filosofía y Letras. UBA. Fundación de Historia Natural Félix Azara, Dpto de Ciencias Naturales y Antropológicas – Universidad Maimónides. Correo electrónico: cristianmcrespo@gmail.com. Fecha de realización: abril de 2010.

** Bioq. Tesista de Doctorado de la Facultad de Filosofía y Letras. UBA. Sección Antropología Biológica, ICA, Facultad de Filosofía y Letras, UBA. C.E.B.A.D. Universidad Maimónides. Correo electrónico: dejeancr@gmail.com

*** Tesista de la Licenciatura en Cs. Biológicas de la Universidad Maimónides. C.E.B.A.D. Universidad Maimónides. Correo electrónico: mariba_postillone@hotmail.com

**** Doctor en Antropología con Orientación en Arqueología. Universidad Nacional de Rio Negro. IIDyPCa. Conicet. Correo electrónico: jllanata@gmail.com

***** Doctor en Cs. Naturales de la Facultad de Cs. Naturales y Museo de la Universidad Nacional de La Plata y Profesor Consulto de la Facultad de Filosofía y Letras, UBA. Sección Antropología Biológica, ICA, Facultad de Filosofía y Letras, UBA. Correo electrónico: antbiol@filo.uba.ar

Fecha de entrega: mayo de 2010. Fecha aprobación: julio de 2010.

of ancient DNA applications in archaeology. We also discuss advantages and limitations for this kind of research and its relationship with ethic and legal norms.

Key words: Archaeogenetics, Ancient DNA, American Peopling, Ethics.

INTRODUCCIÓN

Desde hace ya varias décadas, la antropología biológica y otras disciplinas comenzaron a utilizar marcadores genéticos moleculares¹ en estudios poblacionales. Estas investigaciones permiten estimar la frecuencia, distribución y evolución diferencial de ciertos marcadores genéticos en diferentes poblaciones del mundo, con el fin de responder a interrogantes específicos sobre la historia evolutiva del género humano y su proceso de dispersión del género *Homo*, sus diferentes migraciones y los procesos demográficos que contribuyeron a conformar su estructura poblacional actual. Un trabajo pionero en el análisis del ADN mitocondrial de poblaciones humanas modernas fue publicado por Cann y colaboradores en 1987, que aportó datos sustanciales para comprender el origen del género *Homo* en África y su dispersión global. Este fue el sostén inicial de la “hipótesis de una Eva mitocondrial”.

Posteriormente, desde la primera extracción de ADN a partir de tejidos humanos momificados (Human Medical College, 1980) y gracias al desarrollo de nuevas técnicas en biología molecular como la reacción en cadena de la polimerasa (Mullis y Faloona, 1987), fue posible amplificar y caracterizar ADN conservado en restos humanos y otros organismos extintos (Pääbo et al., 1989; Hagelberg et al., 1989). En el año 2000, Renfrew propone el término de Arqueogenética para referirse a estudios que involucren el análisis de ADN antiguo, que junto a la información existente en poblaciones actuales incorpora la dimensión temporal en los estudios genético-poblacionales.

En este trabajo se describirán y analizarán algunas de las aplicaciones del ADN antiguo en investigaciones arqueológicas y bioantropológicas, considerando sus alcances y limitaciones junto a las implicancias legales y éticas de este tipo de estudios.

VENTAJAS Y LIMITACIONES DE LA UTILIZACIÓN DEL ADN ANTIGUO

La primera consideración en estas investigaciones está vinculada a la supervivencia y características del ADN que pueda obtenerse de restos arqueológicos. Si bien el ADN preservado en diferentes tejidos y partes esqueléticas puede extraerse exitosamente (Kaestle y Horsburgh, 2002), el mismo puede estar degradado, dependiendo de las condiciones ambientales del sitio arqueológico y/o del museo donde estaban depositados los restos. Luego de la muerte, los ácidos nucleicos se vuelven inestables, ya que comienzan procesos como la oxidación y la hidrólisis –que modifican químicamente las bases nucleotídicas– quedando solamente pequeños fragmentos amplificables (Hofreiter et al., 2001).

Diversos investigadores han señalado que durante la extracción y tipificación del ADN se deben extremar las medidas para evitar problemas vinculados con la contaminación y posterior autenticación de los resultados (Cooper y Poinar, 2000; Hofreiter et al., 2001;

Kaestle y Horsburgh, 2002; Hummel, 2003; Pääbo et al., 2004; Gilbert et al., 2005; entre otros). Por esa razón es necesario evaluar las probabilidades de extracción del ADN de las muestras antiguas, en función de su estado de preservación, lo cual evitaría la destrucción innecesaria de material arqueológico. Además, asumiendo que habitualmente el material llega contaminado, se debe proceder a su decontaminación y también prevenir la contaminación con ADN exógeno durante los procedimientos en el laboratorio.

Si bien existen diferentes protocolos para la extracción y tipificación del material genético de muestras antiguas –ver Hummel (2003) para una completa revisión técnica– la mayoría de los investigadores recomienda que:

- 1) el lugar de trabajo sea exclusivo para los estudios de ADN antiguo y esté aislado de lugares donde se manipulen muestras modernas.
- 2) el personal involucrado en todas las tareas utilice guantes, barbijos, mascarillas y guardapolvos descartables en todas las etapas del proceso de extracción.
- 3) antes de la extracción, las superficies de las muestras sean tratadas con hipoclorito de sodio y/o pulidas, a fin de remover los posibles contaminantes, especialmente ADN exógeno.
- 4) todos los materiales a emplear para extraer el ADN y analizarlo estén libres de ácidos nucleicos. Para ello será necesario tratar con hipoclorito de sodio e irradiar con UV accesorios tales como herramientas, mesadas, etcétera.
- 5) todos los instrumentos, reactivos, enzimas y soluciones sean sólo utilizados en el trabajo con ADN antiguo y se almacenen en lugares sin contacto con ADN moderno u otras fuentes de contaminación.

Una vez que el ADN ha sido obtenido, será necesario utilizar controles y blancos en todos los procesos de tipificación para descartar contaminación y la presencia de inhibidores que impidan la amplificación. Los controles deben ser tratados con las mismas soluciones y materiales con las que fueron trabajadas las muestras. Los resultados obtenidos deben ser reproducibles a partir de diferentes extracciones y amplificaciones del mismo material.

MARCADORES MOLECULARES MÁS EMPLEADOS

1. ADN mitocondrial

Las mitocondrias, que son organelas presentes en todas las células del organismo, poseen una cadena de ADN circular que ha sido completamente secuenciada (Anderson et al., 1981; Andrews et al., 1999). Este ADN es transmitido por vía materna sin recombinación (Danan et al., 1999; Eyre-Walker et al., 2001). Por esta razón es posible reconstruir los linajes maternos de una población, constituyéndose así en una herramienta poderosa a la hora de realizar reconstrucciones filogenéticas y estudiar la evolución de poblaciones o especies (Elshehman et al., 2003; Schurr, 2004). Además, la gran cantidad de genomas mitocondriales presentes en cada célula incrementa las posibilidades de éxito para su recuperación en

materiales antiguos (Hummel, 2003). Algunos autores postulan la posibilidad de la herencia de este genoma por vía paterna (Gyllensten et al., 1991; Awadalla et al., 1999). Sin embargo, se ha argumentado que si la herencia paterna del ADNmt es posible, su presencia sería reducida respecto del total de ADNmt presente en cualquier organismo, dado que existen procesos de destrucción, inactivación y dilución (Kraaysberg et al., 2004), por lo que pasaría desapercibido en la mayoría de los casos a la hora de realizar un análisis del mismo.

2. Microsatélites

Son secuencias de ADN no codificantes y de repeticiones cortas (Short Tandem Repeats, STR's). Están distribuidas en todo el genoma humano. Se estima que conforman aproximadamente el 20% del genoma total. Están caracterizadas por repeticiones de los mismos nucleótidos (entre dos y seis pares de bases) y están presentes en todos los cromosomas, incluyendo los sexuales. Son utilizados en investigación forense y también para la identificación y determinación del parentesco entre individuos. Desde la década de 1990 se emplean para el análisis de muestras antiguas prehistóricas e históricas (Hummel, 2003; Keyser-Tracqui et al., 2003; Carnese et al., 2010).

3. Amelogenina

Es un gen de copia simple localizado en la región Yp11.2 del cromosoma Y, y su homólogo en la región Xp22.3-p.22.1 del cromosoma X. El gen codifica para una proteína que regula el esmalte dental. Debido a que es dimórfico, posee diferente cantidad de pares de bases en cada uno de los cromosomas en los que está presente. Dicho marcador se utiliza en casos forenses y es de gran importancia en arqueología, ya que permite sexar individuos. El fragmento del gen que se amplifica es de 112 y 106 pares de bases en el cromosoma Y y X, respectivamente. Comparando los tamaños de los fragmentos obtenidos de su amplificación se puede realizar un sexado de las muestras: dos bandas para el sexo masculino y una para el femenino.

ESTUDIOS DEL ADN ANTIGUO EN INVESTIGACIONES ARQUEOLÓGICAS

En la actualidad uno de los objetivos más importantes en los estudios prehistóricos es reconstruir el medio ambiente en el cual las poblaciones humanas se desarrollaron y vivieron. Las reconstrucciones ambientales se realizan identificando flora y fauna en los sitios arqueológicos e infiriendo a través de las características de las especies presentes y sus hábitats preferidos, cómo podría o debería haber sido el ambiente en el momento en que las mismas fueron depositadas en el sitio, ya sea por agentes humanos u otros. Muchas veces es difícil realizar estas identificaciones a través del registro arqueológico debido a su fragmentación, descomposición y meteorización (Lanata, 1996; Gobalet, 2001).

En este aspecto las metodologías moleculares pueden constituirse en una importante herramienta para la reconstrucción de las prácticas culturales pretéritas, como por ejemplo en las investigaciones sobre:

a) Domesticación de plantas y animales y tipo de dieta. El tema ha sido abordado a través de enfoques moleculares que permitieron diferenciar y reconocer especies domesticadas en tiempos prehistóricos por parte de grupos humanos, en diferentes regiones del mundo. En América, se estudió este proceso también en muestras de camélidos, donde se hallaron diferencias genéticas entre las especies salvajes y las domesticadas (Kadwell et al., 2001; Marín et al., 2008). En recursos vegetales, se analizaron distintas variedades de maíz y se estimaron sus posibles lugares de origen y los momentos de su domesticación (Matsuoka et al., 2002; Clark et al., 2005; Lia et al., 2007).

b) Estratificación social: Otro de los tópicos importantes en la investigación prehistórica ha sido la emergencia de la diferenciación social. A través del análisis del ADN mitocondrial de las diferentes especies de pescado consumidas, Speller y colaboradores (2005) han llegado a proponer una adquisición diferencial de especies de salmónidos en poblaciones de la costa noroccidental de Canadá, solamente consumidas por algunos individuos de grupos Lillooet, hacia el 1500 A.P. Esta estratificación económica también fue apoyada por la información obtenida de los restos arqueológicos encontrados en el sitio (Hayden, 1997; Hayden y Adams, 2004).

c) Restos de coprolitos: Este tipo de vestigio ha sido utilizado para reconstruir la dieta de las poblaciones arqueológicas identificando varias especies de plantas y animales que fueron consumidas por humanos, e identificar los haplogrupos mitocondriales de los individuos asociados a estos restos (Poinar et al., 2001).

d) Restos biológicos diversos: Se ha logrado recuperar ADN de restos de plantas halladas en vasijas aztecas (Burger et al., 2000); identificar paleo-flora de sitios arqueológicos de 5.300 AP a partir de muestras de hierba (Rollo et al., 1994) y recuperar ADN de pictógrafos de 3.000 a 4.000 AP de sitios de la cultura Pecos, identificando restos de grasa animal y vegetal en la pintura utilizada (Reese et al., 1996).

e) Empleo de restos animales como datos "proxy": Estos datos suelen utilizarse frecuentemente en arqueología como un registro indirecto de información no obtenible por otros medios (p.e isótopos estables para determinación de paleodieta, condiciones climáticas, etc). El ADN extraído de los restos de animales presentes en los sitios arqueológicos ha sido empleado para trazar movimientos poblacionales prehistóricos. Se ha comenzado por estudiar la presencia de ratas (*Rattus exulans*) en distintas islas de Polinesia y Hawaii, y se hipotetizó que las mismas acompañaron a los humanos en varios de sus ingresos, hace aproximadamente 600 años. La variabilidad genética mitocondrial encontrada en las muestras analizadas indica que hubo diferentes flujos migratorios de esta especie (Matisoo-Smith et al., 2001 a y b).

f) Enfermedades producidas por microorganismos: Diversos procesos infecciosos pueden dejar marcas esqueléticas difíciles de identificar. Las técnicas de ADN antiguo han permitido establecer la presencia de organismos patógenos que pudieron afectar a poblaciones prehistóricas. El *Mycobacterium tuberculosis* ha podido ser identificado en momias andinas con una antigüedad de 140 a 1200 años D.C (Konomi et al., 2002), sugiriendo que la tuberculosis

podría haber estado presente en América antes de la llegada de los españoles. También ha sido utilizada esta metodología para estudiar epidemias históricas, como la “peste negra” (*Yersinia pestis*) a partir de piezas dentales del siglo XIV en el sudeste de Francia (Drancourt y Raoult, 2002) y lepra (*Mycobacterium leprae*) a partir de muestras obtenidas de cráneos de cementerios medievales de Escocia (Taylor et al., 2000).

NIVELES DE ESTUDIO DE ADN ANTIGUO EN HUMANOS

Según Herrmann y Hummel (1994) y Kaestle y Horsburgh (2002), los estudios en restos humanos pueden aplicarse teniendo en cuenta diferentes niveles de análisis. El más simple de todos es el individual y/o familiar, donde los estudios de ADN antiguo se utilizan para determinar sexo, reasociar restos esqueléticos desarticulados, rastrear enfermedades y también identificar antepasados o descendientes entre los individuos analizados (Stone et al., 1996; Gerstenberger et al., 1998). Para su resolución suelen utilizarse marcadores mitocondriales y nucleares, así como los microsatélites. Sin embargo, a estos últimos no siempre es posible tipificarlos en muestras antiguas. Un ejemplo de este nivel es el estudio realizado en una tumba del sitio arqueológico Cortaderas Derecha, en la provincia de Salta. En este caso se analizó a tres individuos, todos pertenecían al mismo linaje materno mitocondrial y además compartían alelos nucleares que sugerían una relación de parentesco entre ellos (Dejean et al., 2006).

El siguiente nivel, denominado local, se refiere a grupos pequeños, más amplios que los familiares, en los que se pueden identificar líneas maternas o paternas a través de haplogrupos y haplotipos en individuos temporalmente cercanos dentro de un mismo sitio o región. En grupos de este tamaño poblacional, en general no se verifica, como señalan Kaestle y Horsburgh (2002), una pérdida de la diversidad genética cuando se los compara con poblaciones actuales de la misma región, como se observó en el estudio realizado en Pampa Grande (provincia de Salta), en relación con los marcadores nucleares y haplotipos del ADNmt (Carnese et al., 2010).

Finalmente, el otro nivel propuesto es el poblacional, realizado a escalas temporales y espaciales más amplias que las locales, en el que también se pueden estudiar movimientos de grupos prehistóricos y resolver interrogantes acerca de la continuidad o reemplazo poblacional. Debido a que la variación genética es heredada de generación en generación, las poblaciones modernas deberían tener frecuencias génicas similares y/o compartir haplogrupos y haplotipos de marcadores uniparentales con grupos que habitaron sucesivamente las mismas regiones de un continente, cuando los mismos estuvieran emparentados. Si las frecuencias y/o linajes difieren, esto podría deberse a la acción de mecanismos microevolutivos o bien a que se trate de grupos de diferentes orígenes. Estos estudios han permitido analizar los cambios en la variabilidad genética de las poblaciones en sucesivos períodos temporales, como se evidencia en el estudio de Moraga et al. (2005), cuando se analizaron grupos que habitaron entre el 6.000 y el 500 A.P. los valles del norte de Chile, comparándolos con las poblaciones actuales. Entre otras

observaciones, es interesante mencionar los cambios que detectaron en las frecuencias de los haplogrupos mitocondriales B y A, con un incremento paulatino del primero y una marcada disminución del segundo.

APORTES DEL ADN ANTIGUO EN ESTUDIOS BIOANTROPOLÓGICOS Y DE POBLAMIENTO AMERICANO

La dispersión de *Homo sapiens* en América ha sido analizada desde diferentes enfoques y disciplinas. El proceso de dispersión humana en este continente no puede ser comprendido de manera integral desde una sola óptica y/o con la información generada sólo por una disciplina (Clark et al., 2004; Lanata et al., 2008). Las primeras aproximaciones fueron aportadas desde la arqueología a través del descubrimiento de particulares puntas de proyectiles en contextos de fauna extinta, las cuales fueron asociadas con los primeros pobladores del continente. Estas puntas se conocen con el nombre de Clovis, las cuales se tomaron como la tecnología representante de los inmigrantes iniciales (Haynes, 1966). Esta postura fue retomada posteriormente por Martin (1973) para modelar el poblamiento americano, estableciendo el consenso que apoyaba a esa cultura como el rasgo representativo de los primeros habitantes y el comienzo del paradigma "Clovis primero". Esta era la única imagen aceptable de los primeros pobladores americanos provenientes del noreste de Asia. Los sitios arqueológicos atribuidos a dicha cultura tienen un rango temporal acotado entre los 11.200 y 10.500 rcybp (Fiedel, 2000). Cualquier hallazgo arqueológico, para ser aceptado, tenía que ser posterior a este fechado. Actualmente, las investigaciones en sitios arqueológicos de cronologías anteriores a Clovis y con diferentes conjuntos artefactuales han contrastado con aquella imagen, demostrando que la dispersión por el continente y las adaptaciones de los primeros grupos humanos fueron mucho más complejas de lo que se creía (Meltzer, 1992; Adovasio, 1993; Dillehay, 1999, 2000; Fiedel, 2000, Borrero, 2001; Civalero y Franco, 2003; Miotti y Salemme, 2003; entre otros).

Desde la antropología biológica se han realizado estudios craneales para analizar la diversidad de las primeras poblaciones y poder estimar su lugar de procedencia a través de sus rasgos fenotípicos. Los primeros análisis craneométricos identificaron a las poblaciones americanas como cercanas biológicamente a las asiáticas debido a sus características "mongoloides" (Ossenberg, 1994, Brace, 2004). Sin embargo, recientes investigaciones han planteado la presencia de rasgos "pre-mongoloides" en las poblaciones iniciales, proponiendo una discontinuidad biológica entre los primeros habitantes de América y las subsiguientes poblaciones presentes en el continente (Steele y Powell, 1994). Asimismo, otros autores habían ya postulado que en el momento inicial del poblamiento existían poblaciones paleoamericanas con una morfología craneal generalizada, seguida por otra posterior de amerindios con características craneales "mongoloides" (Neves y Pucciarelli, 1998; Powell y Neves, 1999, Pucciarelli, 2004, Pucciarelli, 2009).

Los análisis del ADNmt en poblaciones modernas aportaron información adicional a este debate. Se han reconocido cinco haplogrupos mitocondriales presentes en toda Amé-

rica que han sido denominados A, B, C, D y X; este último detectado sólo en Norteamérica (Foster et al., 1996). Estos haplogrupos también están presentes en las poblaciones de Asia y en Siberia, (Schurr et al., 1990; Torroni et al., 1992; Horai et al., 1993; Kolman et al., 1996; Merriwether et al., 1996; Eshleman et al., 2003), concordando con la información arqueológica y craneométrica sobre la procedencia de los grupos americanos. Se ha postulado a las regiones de Altai en Asia o Amur en Siberia, al Norte de Mongolia, como los lugares de origen más probable de las poblaciones americanas, en base a ciertas evidencias genéticas y arqueológicas (Goebel et al., 2008).

A través del cálculo de coalescencia en muestras modernas se pudo estimar que dichos haplogrupos tendrían una edad aproximada de entre 20.000 y 30.000 años (Bonatto y Salzano, 1997a), excepto el haplogrupo B, que parece provenir de una migración posterior o que, alternativamente, su menor profundidad temporal podría deberse a un problema de muestreo (Schurr, 2004). Estas investigaciones han retrotraído unos milenios la fecha estimada por la arqueología, cuestionando el paradigma "Clovis primero", y apoyando la cronología de los sitios más antiguos de América como Monte Verde en el Sur de Chile con un fechado de 12.800 rcybp para su estrato más aceptado y Meadowcroft en el Este de E.E.U.U., que posee dataciones radiocarbónicas entre 19.000 y 11.000 rcybp concordantes con la estratigrafía del sitio (Fiedel, 2000).

A partir de los datos obtenidos de muestras prehistóricas, históricas y contemporáneas se ha hipotetizado, a través de cálculos demográficos y de diversidad genética, que el poblamiento americano podría haber sido producto de una sola migración (Bonatto y Salzano, 1997b; Hey, 2005; Dejean et al., 2007; Kitchen et al., 2008). El número de migrantes pudo haber sido muy reducido y aún así podría explicarse la distribución y variabilidad genética actual, aunque las poblaciones hayan estado expuestas a un aislamiento geográfico muy marcado antes de ingresar al continente americano, donde se habría dado posteriormente una rápida expansión demográfica (Hey, 2005; Tamm et al., 2007; Dejean et al., 2007; Kitchen et al., 2008).

Las investigaciones de ADN antiguo apoyan, en parte, estas observaciones. En estos estudios se han detectado, con porcentajes variables según los grupos analizados y con un rango temporal que va de los 10.300 A.P. hasta los tiempos históricos, los mismos haplogrupos mitocondriales que están presentes en poblaciones amerindias actuales. Una excepción es el hallazgo en un individuo del haplogrupo M, el cual tiene una posición nodal con respecto a los linajes C y D y que también se encuentra en poblaciones asiáticas actuales (Malhi et al., 2007). El haplogrupo X, por su parte, ha sido identificado y confirmado en muestras antiguas solamente en Norteamérica, como ocurre en poblaciones modernas (Malhi y Smith, 2002; Kuch et al., 2007) (Tabla 1).

Estos resultados sugieren una estrecha afinidad genética entre las poblaciones "antiguas" y "modernas", que podría sustentar la hipótesis de una única migración desde Asia o por varias oleadas migratorias, a partir de un mismo sustrato poblacional. Estos datos parecen contraponerse con ciertas investigaciones craneométricas que apoyan la migración de dos stocks poblacionales, fenotípicamente diferentes (Pucciarelli, 2009).

Tabla 1

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

Población/sitio	n	A	B	C	D	X	Indet.	Región	Fecha	Autores
Columbia Británica	3	33	0	0	0	0	67	Columbia Británica, Canadá.	5000 AP.	Malhi et al. (2007)
Alaska	1	0	0	0	100	0	0	Alaska, EE.UU.	10300 AP.	Kemp et al. (2007)
Beothuk	2	0	0	50	0	50	0	Newfoundland, Canadá	1770 DC.	Kuch et al. (2007)
Glacial Kame	18	17	61	17	5	0	0	Ontario, Canadá.	2900 AP.	Shook y Smith (2008)
Orendorf	11	46	0	27	27	0	0	Fulton, Illinois.	800 AP.	Shook y Smith (2008)
Morse	9	11	33	56	0	0	0	Fulton, Illinois.	2700 AP.	Shook y Smith (2008)
Great Western Park	6	40	0	60	0	0	0	Ontario, Canadá.	800 AP.	Shook y Smith (2008)
Saqqaq	1	0	0	0	100	0	0	Groenlandia.	Entre 3400 y 4500 AP.	Gilbert et al. (2008)
Centroamérica										
Maya	9	0	0	88	0	0	12	Copan, Honduras	Entre 1200 y 1600 AP.	Merriwether et al. (1997)
Maya	25	84	4	8	0	0	4	Quintana Roo, México	Entre 500 y 1400 AP.	Gonzalez-Oliver et al. (2001)
Tainos	27	0	0	75	25	0	0	La Caleta, República Dominicana.	Entre 670 y 1680 DC.	Lalueza Fox et al. (2001)
Ciboneys	47	7	0	60	33	0	0	Bahía Onda, Mogote y Canimar, Cuba	Entre 4700 y 1600 AP.	Lalueza Fox et al. (2003)
Sudamérica										
Kaweskar	19	0	0	16	84	0	0	Tierra del Fuego.	150 AP.	Lalueza Fox (1997)
Aonikenk	15	0	0	27	73	0	0	Tierra del Fuego.	150 AP.	Lalueza Fox (1997)
Yamana	11	0	0	91	9	0	0	Tierra del Fuego.	150 AP.	Lalueza Fox (1997)
No clasificado	2	0	0	0	100	0	0	Tierra del Fuego.	150 AP.	Lalueza Fox (1997)
Selknam	13	0	0	46	46	0	8	Tierra del Fuego.	150 AP.	Lalueza Fox (1997)
Colombia	6	50	16	34	0	0	0	Colombia	Entre 470 y 1800 DC.	Monsalve et al. (1996)

Población/sitio	n	A	B	C	D	X	Indet.	Región	Fecha	Autores
Indios Amazónicos	18	28	6	22	5	0	39	Indios Amazónicos. Brasil.	Entre 500 y 4000 AP.	Ribeiro dos Santos et al. (1996)
Chile	32	31	20	31	3	0	15	Valles de Azapa, Camarones y Lluta, Chile	Entre 2900 y 600 AP.	Moraga et al. (2001)
Tiwanaco	13	8	15	23	23	0	30	Tiwanaco, Bolivia	Entre 1000 y 2300 AP.	Rothhammer et al. (2003)
Sicán	28	21	25	4	25	0	25	Costa Nortes de Perú.	Entre 750 y 1375 DC.	Shimada et al. (2004)
Cortaderas Derecha	3	0	0	3	0	0	0	Salta, Argentina	1300 AP.	Dejean et al. (2006)
Lago Titicaca	14	50	36	7	7	0	0	Bolivia	Entre 6000 y 3900 AP.	Moraga et al. (2005)
Lago Titicaca	19	32	42	26	0	0	0	Bolivia	Entre 3900 y 1650 AP.	Moraga et al. (2005)
Lago Titicaca	15	20	53	20	7	0	0	Bolivia	Entre 1650 y 1000 AP.	Moraga et al. (2005)
Norte de Perú	57	5	40	14	2	0	39	Costa Norte de Perú	Entre 400 y 500 AP.	Shinoda et al. (2006)
Yamana	2	0	0	50	50	0	0	Canal de Beagle.	150 AP.	Dejean et al (2008)
Colombia	11	0	100	0	0	0	0	Planicies de altura de Este de Colombia	2000 AP.	Silva et al. (2008)
Patagones	3	0	0	0	67	0	33	Puerto San Julián, Santa Cruz	150 años AP.	Crespo et al. (2009)
Paracas-Nasca	130	2	18	28	52	0	0	Costa Sur de Perú, región de Palpa.	Entre 800 AP y 800 DC.	Fehren-Schmitz et al. (2009)
Candelaria	21	11	47	0	42	0	0	Pampa Grande (Salta)	1310 AP.	Camese et al. 2010

Tabla 1. Porcentajes de haplogrupos mitocondriales en muestras históricas y prehistóricas. El porcentaje correspondiente a indeterminados de Malhi et al. (2007) pertenece al haplogrupo M, nodal de los haplogrupos C y D. Rogan y Salvo (1990), Horai et al. (1991), Lalueza et al. (1993-1994), Merrilether et al. (1994) y Demarchi et al. (2001) no detectaron la delección de los 9bp en momias del Norte de Chile, en tejido blando ni en dientes del Norte, Centro y Sur de la Argentina. García-Bour et al. (2004) secuenciaron 24 restos de los 60 estudiados por Lalueza et al. (1997) y confirmaron la ausencia de los haplogrupos A y B en Tierra del Fuego-Patagonia.

Sin embargo, hay que tener en cuenta que las investigaciones de ADN antiguo son aún escasas, que los tamaños de las muestras analizadas son pequeños y que la mayor parte de los estudios, salvo excepciones, se ha circunscrito al análisis de ADN mitocondrial. Por consiguiente, entendemos que este debate aún permanece abierto y que, seguramente, se enriquecerá con nuevos aportes provenientes de los estudios arqueológicos, morfológicos y genéticos.

ASPECTOS ÉTICOS Y NORMATIVAS LEGALES

Como ocurre con cualquier estudio sobre restos humanos, es importante considerar las implicancias éticas, legales y sociales de estas investigaciones. Muchas de estas inquietudes éticas son novedosas, ya que es un campo nuevo de estudio y que tiene poco tiempo de trayectoria. Usualmente es posible extraer ADN de huesos largos con un daño mínimo y remontarlos para la reconstrucción de la pieza (Gibbon et al., 2009). Con los restos dentales ocurre lo mismo, ya que al trabajar con la pulpa dental, no es necesario producir ningún daño externo a la pieza, teniendo la posibilidad de rellenarla luego de la extracción (Crespo et al., 2009). De todas maneras, cabe la posibilidad de que las piezas arqueológicas analizadas sufran algún tipo de daño –i.e. fracturas o fisuras por su fragilidad o algún otro tipo de desgaste. En este caso es importante tener en cuenta la obligación primordial de preservar el material arqueológico sobre cualquier proyecto o interés de investigación.

Debido a que estos recursos son escasos e irremplazables, concordamos con otros autores (Kaestle y Horsburgh, 2002) en que los análisis que puedan llegar a implicar alguna acción destructiva sobre la/s pieza/s, sólo deben realizarse en los casos donde los resultados puedan llegar a ser informativos o resolutivos 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 o impida cualquier otro análisis posterior de las piezas tratadas. En muchos casos, el ADN antiguo puede no ser muy informativo en algunas investigaciones debido a las propias limitaciones de este tipo de análisis, ya señalados anteriormente.

Otra importante cuestión a considerar es la de realizar un análisis previo de las piezas ya que muchas veces las mismas no poseen las condiciones de preservación necesarias para realizar estas determinaciones, por lo que no deberían ser incorporadas a estos estudios. Estas muestras pueden ser conservadas para las futuras generaciones o hasta que se desarrollen nuevos métodos de extracción que no sean invasivos para la pieza.

CONSIDERACIONES LEGALES

En la actualidad, existen ciertos requisitos y normas legales a los cuales atenerse a la hora de realizar cualquier análisis sobre restos arqueológicos. Si bien diversas leyes han sido aprobadas en cuanto a la utilización y estudio de restos arqueológicos (tanto naturales como

culturales), el análisis sobre restos humanos debe tener un respeto y cuidado aún mayor. Para este fin disponemos de la Ley Nacional nº25.517. Por otro lado, en los últimos años y en vista de las crecientes investigaciones en relación al registro bio-cultural, la Asociación de Antropología Biológica Argentina ha expedido recomendaciones para el tratamiento y el quehacer en la investigación con este tipo de registro (AABA, 2007). Dicha acta apoya el estudio de los restos humanos teniendo en cuenta el respeto y responsabilidad que ello merece, sumado a la obligatoriedad de trabajar con las comunidades de origen a fin de evitar cualquier inconveniente, ante la posibilidad de solicitudes de recuperación a futuro de los mismos. Asimismo, aconseja cómo realizar una adecuada gestión y manejo de los restos humanos de las colecciones disponibles para su correcta catalogación, estudio y preservación.

Recientemente se dictaminó la formación del INAI (Instituto Nacional de Asuntos Indígenas) a través del decreto 710/2010. El mismo establece que dicha institución será la encargada de coordinar, articular y asistir en el seguimiento y estudio del cumplimiento de las directivas y acciones de la ley citada anteriormente. En cuanto a los restos humanos en posesión de diferentes organismos gubernamentales o privados, el INAI junto con el INAPL (Instituto Nacional de Antropología y Pensamiento Latinoamericano) serán los encargados de realizar los relevamientos necesarios a fin de identificar dichos restos como aborígenes y proponer su efectiva restitución a su comunidad de origen, además de mediar ante los posibles conflictos de intereses y verificar los diversos emprendimientos científicos que tengan por objeto a las comunidades aborígenes.

Las normas citadas anteriormente son relativamente novedosas e intervienen en el quehacer de las diferentes disciplinas que estudian el pasado de las poblaciones aborígenes. Creemos que las mismas deben ser tenidas en cuenta, sobre todo en el campo del ADN antiguo. De esta manera, estos marcos legales abren la posibilidad de poder trabajar en conjunto con las diferentes comunidades e instituciones que intervienen y actúan para la conservación de los restos humanos, y a su vez permiten enriquecer y ampliar el conocimiento de los procesos que atravesaron las poblaciones del pasado.

CONCLUSIONES

En este trabajo hemos transitado un camino que va desde los análisis acerca de las ventajas y limitaciones que tienen las investigaciones de ADN antiguo, siguiendo por las aplicaciones de estas determinaciones en los estudios arqueológicos y bioantropológicos y por los aportes que sus datos generan para una mejor comprensión de la problemática del poblamiento americano.

A partir de la evaluación realizada podríamos concluir que:

Si bien el análisis del ADN antiguo es laborioso, sabemos que la información que proporciona es valiosa y de aplicabilidad en diversas disciplinas. Actualmente se dispone de distintos medios técnicos para extraer y tipificar el ADN de muestras antiguas, evitar posibles contaminaciones y poder así reproducir y autenticar los datos obtenidos.

Estos estudios han aportado información adicional para investigar ciertas problemáticas sobre el pasado humano, completando la información generada desde otras disciplinas como la bioantropología y la arqueología. En esta última es donde el aporte del ADN antiguo ha demostrado tener una amplia variedad de aplicaciones, sobre todo en aquellos casos donde los procesos de "formación de sitio" implican alteraciones tanto antrópicas como no antrópicas que han modificado la supervivencia y visibilidad de los restos arqueológicos.

Para el caso particular de América el estudio de las poblaciones prehistóricas ha permitido observar una diversidad de haplogrupos mitocondriales presentes también en las poblaciones nativas actuales. Esto nos indicaría la existencia de una continuidad genética para los linajes maternos, desde los 10.300 A.P. hasta momentos históricos, sugiriendo así la idea de que una única migración podría explicar el poblamiento americano. Sin embargo, como fue señalado, será necesario obtener mayor información para llegar a una conclusión definitiva.

Con respecto a las cuestiones éticas se ha hecho referencia al conjunto de normas y reglamentaciones a seguir para realizar estos tipos de análisis. Atenerse a ellas obliga a consensuar con las comunidades originarias y/o con las autoridades del o los museos donde las piezas se encuentran depositadas. A su vez, el investigador debe cumplir con los requisitos fijados por los comités de ética independientes o de las instituciones a las que pertenece.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio contó con el apoyo financiero de UBACyT y CONICET.

NOTAS

¹ Los marcadores genéticos moleculares son segmentos de ADN ubicados en una posición particular de un genoma que poseen características propias de una región y/o población

BIBLIOGRAFÍA

- 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/aabra
- ADOVASIO, James. 1993. "The ones that will not go away. A biased view of pre-clovis populations in the New World". En: SOFFER, Olga y PRASLOV, Nicolai (Eds). *From Kostenki to Clovis*. New York: Plenum Press. pp.199-218.
- ANDERSON, Sharon, BANKIER, Alan, BARRELL, Bern et al. 1981. "Sequence and organization of human mitochondrial genome". *Nature*, 290: 257-265.
- ANDREWS, Richard. KUBACKA, Iwona. CHENNERY, Patrick et al. 1999. "Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for Human mitochondrial DNA". *Nature Genetics*, 23: 47.

- AWADALLA, Phillip, EYRE-WALKER, Adam y MAYNARD-SMITH, John. 1999. "Linkage disequilibrium and recombination in hominid mitochondrial DNA". *Science*, 286: 2524-2525.
- BONATTO, Sandro y SALZANO, Francisco. 1997a. "Diversity and age of the four major mtDNA haplogroups and their implications for the peopling of the New World". *American Journal of Human Genetics*, 61: 1413-1432.
- BONATTO, Sandro, y SALZANO, Francisco. 1997b. "A single and early migration for the peopling of the Americas supported by mitochondrial DNA sequence data". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94: 1866-1871.
- BORRERO, Luis. 2001. *El poblamiento de la Patagonia: toldos, milodones y volcanes*. EMECÉ editores. Buenos Aires.
- BRACE, Loring, RUSSELL, Nelson, y QINFENG, Pan. 2004. "Peopling of the New World: a comparative craniofacial view". En: BARTON, Michael, CLARKE, George, YESNER, David y PEARSON, George (Eds.). *The settlement of the American continent: A multidisciplinary approach to human biogeography*. University of Arizona Press. Tucson. pp. 28-39.
- BURGER, Joachim, HUMMEL, Suzanne y HERRMANN, Bernd et al. 2000. "Paleogenetics and cultural heritage. Species determination and STR genotyping from ancient DNA in art and artifacts". *Thermochimica Acta*, 365: 141-146.
- CANN, Rebecca, STONEKING, Mark y WILSON, Allan. 1987. "Mitochondrial DNA and human evolution". *Nature*, 325: 31-36.
- CARNESE, Francisco, MENDISCO, Fanny y KEYSER, Christine, et al. 2010. "Paleogenetical study of pre-Columbian samples from Pampa Grande (Salta, Argentina)". *American Journal of Physical Anthropology*, 141: 452-462.
- CIVALERO, Teresa y FRANCO, Nora. 2003. "Early human occupations in Western Santa Cruz province, Southernmost South America". *Quaternary International*, 109-110: 77-86.
- CLARK, Richard, TAVARÉ, Simon, y DOEBLEY John. 2005. "Estimating a nucleotide substitution rate for maize from polymorphism at major domestication locus". *Molecular Biology and Evolution*, 22: 2304-2312.
- CLARK, George, BARTON, Michael, PEARSON, George, et al. 2004. "An interdisciplinary perspective on long-term human biogeography and the Pleistocene colonization of the Americas". En: BARTON, Michael, CLARKE, George, YESNER, David y PEARSON, George (Eds.). *The settlement of the American continent: A multidisciplinary approach to human biogeography*. University of Arizona Press, Tucson. pp. 1-8.
- COOPER, Allan, y POINAR, Hendrik. 2000. "Ancient DNA: Do it Right or Not to All". *Science*, 289: 1139.
- CRESPO, Cristian, DEJEAN, Cristina, CARNESE, Francisco, et al. 2009. "Extracción y tipificación de ADN a partir de piezas dentales de muestras arqueológicas de la Prov. de Santa Cruz, Argentina". *Actas de las Novenas Jornadas de Nacionales de Antropología Biológica*. Puerto Madryn, Octubre 2009.

- DANAN, Claude, STERNBERG, Damien, VAN STEIRTEGHEM, André, et al. 1999. "Evaluation of parental mitochondrial inheritance in neonates intracytoplasmic sperm injection". *American Journal of Human Genetics*, 65: 463-473.
- DEJEAN, Cristina, KEYSER-TRACQUI, Christine, CRUBEZY, Eric, et al. 2006. "Análisis paleogenético de tres individuos provenientes del sitio arqueológico Cortaderas Derecha, Salta (Argentina)". *Actas del IX Congreso de la Asociación Latinoamericana de Antropología Biológica*. Ouro Preto, Brasil, Octubre del 2006.
- DEJEAN, Cristina, LANATA, José, MARTINO, Luis, et al. 2007. "Demografía y distribución de haplogrupos mitocondriales durante la dispersión inicial en las Américas". Simposio: Historia evolutiva de las poblaciones aborígenes americanas. *Actas VIII Jornadas Nacionales de Antropología Biológica*, Salta, Argentina, 1 al 5 de Octubre de 2007.
- DEJEAN, Cristina, KEYSER, Christine, AVENA, Sergio, et al. 2008. "Análisis genético de muestras esqueléticas provenientes del Canal de Beagle". *Actas del X Congreso Asociación Latinoamericana de Antropología Biológica*, La Plata, Octubre de 2008.
- DEMARCHI, Darío, DUTARI, Graciela, COLANTONIO, Sonia, et al. 2001. "Absence of 9-bp deletion of mitochondrial DNA in pre-hispanic inhabitants of Argentina". *Human Biology*, 73: 575-582.
- DILLEHAY, Tom. 1999. "The late Pleistocene culture of South America". *Evolutionary Anthropology*, 7: 206-216.
- DILLEHAY, Tom. 2000. "The settlement of Americas. A new perspective. En: *South American regions: the caribbean and pacific sides of the continent*". DILLEHAY, Tom (Eds.). Perseus Basics Books. New York. pp. 109-138.
- DRANCOURT, Michel, y RAOULT, Didier. 2002. "Molecular insights into the history of plague". *Microbes and Infection*, 4, 105-109.
- ESHLEMAN, Jason, MALHI, Ripan y SMITH, David. 2003. "Mitochondrial DNA studies of Native Americans: conceptions and misconceptions of the population prehistory of the Americas". *Evolutionary Anthropology*, 12: 7-18.
- EYRE-WALKER, Adam, y AWADALLA, Philip. 2001. "Does human mtDNA recombine?" *Journal of Molecular Evolution*, 53: 430-435.
- FEHREN-SCHMITZ, Lars, REINDEL, Markus, CAGIGAO, Elsa, et al. 2009. "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.
- FIEDEL, Stuart. 2000. "The peopling of the New World: present evidence, new theories and future directions". *Journal of Archaeological Research*, 8: 39-103.
- FOSTER, Peter. HARDING, Rosalind. TORRONI, Antonio, et al. 1996. "Origin and evolution of Native American mtDNA variation: a reappraisal". *American Journal of Human Genetics*, 59: 935-945.

- GARCÍA BOUR, Jaume, PEREZ-PEREZ, Alejandro, ALVAREZ, Sara, et al. 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.
- GERSTENBERGER, Jörg, HUMMEL, Suzanne, y HERRMANN, Bernd. 1998. "Assignment of an isolated skeletal element to the skeleton of Duke Christian II". *Ancient Biomolecules*, 2: 63-68
- GIBBON, Victoria, PENNY, Clem, STRKLJ, Goran, et al. 2009. "Brief Communication: Minimally invasive bone sampling method for DNA analysis". *American Journal of Physical Anthropology*, 139: 596-599.
- GILBERT, Thomas, BANDELT, Häns, HOFREITER, Michael, et al. 2005. "Assessing ancient DNA studies". *Trends in Ecology and Evolution*, 20: 541-544.
- GILBERT, Thomas, DJURHUUS, Durita, MELCHIOR, Linea, et al. 2007. "mtDNA from hair and nails clarifies the genetics relationship of the 15th century Qilakitsoq Inuit mummies". *American Journal of Physical Anthropology*, 133: 847-853.
- GILBERT, Thomas, KIVISILD, Toomas, GRONNOW, Bjarne, et al. 2008. "Paleo-eskimo mtDNA reveals matrilineal discontinuity in Greenland". *Science*, 320: 1787-1789.
- GOBALET, Kenneth. 2001. "A critique of faunal analysis: inconsistency among experts in blind test". *Journal of Archaeological Science*. 28: 377-386.
- GOEBEL, Ted, WATERS, Michael y O'ROURKE, Dennis. 2008. "The late Pleistocene dispersal of modern humans in America". *Science*, 319: 1497-1502.
- GONZALEZ-OLIVER, Angélica, MARQUEZ-MORFIN, Lourdes, JIMENEZ, José, et al. 2001. "Founding Amerindian mitochondrial DNA lineages in ancient Maya from Xcaret, Quintana Roo". *American Journal of Physical Anthropology*, 116: 230-235.
- GYLLENSTEN, Ulf, WHARTON Dan, JOSEFSSON, Agnetha, et al. 1991. "Paternal inheritance of mitochondrial DNA in mice". *Nature*, 352: 255-257.
- HAGELBERG, Erika, SYKES, Bryan, y HEDGES, Robert. 1989. "Ancient bone DNA amplified". *Nature*, 342: 485-485.
- HAUSWIRTH, William, DICKEL, Cynthia, DORAN, Glen, et al. 1991. "8000 year old brown tissue from the Windover site: anatomical, cellular and molecular analysis". En: ORTNER, Donald, y AUFDERHEIDE, Arthur (Eds.). *Human paleopathology. Current synthesis and future options*. Washington: Smithsonian Institute Press. pp. 60-72.
- HAYDEN, Brian. 1997. "Observation on the prehistoric social and economic structure of the North American Plateau". *World Archaeology*, 29: 242-261.
- HAYDEN, Bryan y ADAMS, Robert. 2004. "Ritual structure in transegalitarian communities". En: PRENTISS, William y KUIJT, Ian (Eds.). *Complex Hunter-Gatherers: evolution and organization of prehistoric communities on the Plateau of Northwestern North America*. University of Utah Press. pp. 84-102.

- HAYNES, Vince, C. 1966. "Elephant hunting in North America". *Scientific America*, 214: 104-112.
- HERRMANN, Bernd y HUMMEL, Suzanne. 1994. "Introduction". En: *Ancient DNA: recovery and analysis of genetic material from paleontological, archaeological, museum, medical and forensic specimen*. Springer-Verlag. New York. Pp. 1-12.
- HEY, Jody. 2005. "On the number of New World founders: a population genetic portrait of the peopling of the Americas". *Plos Biology*, 3: 0965-0975.
- HOFREITER, Michael, SERRE, David, POINAR, Hendrik, et al. 2001. "Ancient DNA". *Genetics*, 2: 353-359.
- HORAI, Satoshi, KONDO, Rumi, MURAYAMA, Kumiko, et al. 1991. "Phylogenetic affiliation of ancient and contemporary humans inferred from mitochondrial DNA". *Philosophical Transactions: Biological Sciences*, 333: 409-417.
- HORAI, Satoshi, KONDO, Rumi, HATTORI, Yuko, et al. 1993. "Peopling of the Americas, founded by four major lineages of mitochondrial DNA". *Molecular Biology and Evolution*, 10: 23-47.
- HUNAN MEDICAL COLLEGE. 1980. "Study of an ancient cadaver in Mawantui tomb no.1 of the Han dynasty in Changsha". *Beijing Ancient Memorial Press, Beijing*.
- HUMMEL, Suzanne. 2003. *Ancient DNA typing. Methods, strategies and applications*. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. New York.
- KADWELL, Miranda, FERNANDEZ, Matilde, STANLEY, Helen, et al. 2001. "Genetic analysis reveals the wild ancestors of the llama and the alpaca". *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences*, 268: 2575-2584.
- KAESTLE, Frederika, y SMITH, David. 2001. "Ancient mitochondrial DNA evidence for pre-historic population movement: the Numic expansion". *American Journal of Physical Anthropology*, 115:1-12.
- KAESTLE, Frederika, y HORSBURGH, Ann. 2002. *Ancient DNA in Anthropology: Methods, Applications and Ethics*. Yearbook of Physical Anthropology, 45: 92-130.
- KEMP, Brian, MALHI, Ripan, McDONOUGH, John, et al. 2007. "Genetic analyses of early Holocene skeletal remains from Alaska and its implications for the settlement of the Americas". *American Journal of Physical Anthropology*, 132: 605-621.
- KEYSER-TRACQUI, Christine, CRUBÉZY, Eric, y LUDES, Bertrand. 2003. "Nuclear and mitochondrial DNA analysis of a 2.000 year old necropolis in the Egyin Gol Valley of Mongolia". *American Journal of Human Genetics*, 73: 247-260.
- KITCHEN, Andrew, MIYAMOTO, Michael, y MULLIGAN, Connie. 2008. "A three stages colonization model of the peopling of the Americas". *Plos One*, 3: 1-7.
- KOLMAN, Connie, SAMBUUGHIN, Nyamkhisig y BERMINGHAM, Eldredge. 1996. "Mitochondrial DNA analysis of Mongolian populations and implications for the origin of the New World founders". *Genetics*, 142: 1321-1334.
- KONOMI, Nami, LEBWHOL, Eve, MOWBRAY, Ken, et al. 2002. "Detection of mycobacterial DNA in Andean Mummies". *Journal of Clinical Microbiology*, 40: 4738-4740.

- KUCH, Melanie, GROCKE, Darren, KNYF, Martin, et al. 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.
- KRAYTSBERG, Yevgenya, SCHWARTZ, Marianne, BROWN, Timothy, et al. 2004. "Recombination of human mitochondrial DNA". *Science*, 304: 981-983.
- LALUEZA, Carles, PEREZ, Alejandro, PRATS, Eva, et al. 1993-1994. "Ausencia de la delección de 9 bp COII/tRNALys en aborígenes de Fuego-Patagonia mediante análisis de ADN antiguo". *Anales del Instituto de la Patagonia*. 22: 181-191.
- LALUEZA-FOX, Carles, PÉREZ, Alejandro, PRATS, Eva, et al. 1997. "Lack of founding Amerindian mtDNA lineages in extinct Aborigines from Tierra del Fuego-Patagonia". *Human Molecular Genetics*, 6: 41-46.
- LALUEZA-FOX, Carles, CALDERON, Fernando, CALAFELL, Francesc, et al. 2001. "MtDNA from extinct Tainos and the peopling of the Caribbean". *Annals of Human Genetics*, 65: 137-151.
- LALUEZA-FOX, Carles, GILBERT, Thomas, MARTINEZ-FUENTES, Antonio, et al. 2003. "Mitochondrial DNA from pre-Columbian Ciboneys from Cuba and the prehistoric colonization of the Caribbean". *American Journal of Physical Anthropology*, 121: 97-108.
- LANATA, José. 1996. "Cambios para evolucionar: las propiedades del registro arqueológico y la evolución de los grupos humanos en Patagonia y Tierra del Fuego". En: *Arqueología. Solo Patagonia*. GÓMEZ OTERO, Julieta (Eds.). CENPAT-CONICET. Pto. Madryn. pp.99-196.
- LANATA, José, MARTINO, Luis, OSELLA, Ana, et al. 2008. "Demographic conditions necessary to colonize new spaces: the case for early human dispersal in the Americas". *World Archaeology*, 40: 520-537.
- LIA, Verónica, CONFALONIERI, Viviana, RATTO, Norma, et al. 2007. "Microsatellite typing of ancient maize: insights into the history of agriculture in southern South America". *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences*, 274: 545-554.
- LUCIANI, Stefania, FORNACIARI, Gino, RICKARDS, Olga, et al. 2006. "Molecular characterization of a pre-columbian mummy in situ copolite". *American Journal of Physical Anthropology*, 129: 620-629.
- MALHI, Ripan y SMITH, David. 2002. "Brief communication: haplogroup X confirmed in prehistoric North America". *American Journal of Physical Anthropology*, 119: 84-86.
- MALHI, Ripan, KEMP, Brian, ESHLEMAN, Jason, et al. 2007. "Mitochondrial haplogroup M discovered in Prehistoric North Americans". *Journal of Archaeological Science*, 34: 642-648.
- MARÍN, Juan, SPOTORNO, Angel, GONZALEZ, Benito, et al. 2008. "Mitochondrial DNA variation and systematics of the Guanaco (*Lama Guanicoe*, Artiodactyla: Camelidae)". *Journal of Mammalogy*, 89: 269-281.
- MARTIN, Paul. 1973. "The discovery of America". *Science*, 179: 969-974.

- MATISOO-SMITH, Elizabeth, y ALLEN, John. 2001a. "Name that rat: molecular and morphological identification of the Pacific rodent remains". *International Journal of Osteoarchaeology*, 11: 34-42.
- MATISOO-SMITH, Elizabeth, HORSBURGH, Ann, ROBINS, Judith, et al. 2001b. "Genetic variation in archaeological *Rattus exulans* remains from the Emily Bay settlement site, Norfolk Island". *Records of the Australian Museum. Supplement* 27: 81-84.
- MATSUOKA, Yoshihiro, VIGOUROUX, Yves, GOODMAN, Major, et al. 2002. "A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping". *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 99: 6080-6084.
- MELTZER, David. 1992. "Pleistocene peopling of the Americas". *Evolutionary Anthropology*, 1, 157-169.
- MERRIWETHER, Andrew, ROTHHAMMER, Francisco y FERRELL, Robert. 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, Andrew, HALL, William, VAHINE, Anders et al. 1996. "mtDNA variation indicates Mongolia may have been the source for the founding population for the New World". *American Journal of Human Genetics*, 59: 204-212.
- MERRIWETHER, Andrew, REED, David, y FERRELL, Robert. 1997. "Ancient and contemporary mitochondrial DNA variation in the Maya". En: *Bones of ancient Maya: Studies of ancient skeletons*. WHITTINGTON, Steve y REED, David (Eds.) Washington DC, Smithsonian Institute Press. pp. 208-217.
- MIOTTI, Laura y SALEMME, Mónica. 2003. "When Patagonia was colonized: people mobility at high latitudes during Pleistocene/Holocene transition". *Quaternary International*, 109-110: 77-86.
- MONSALVE, María, CARDENAS, Fernando, GUHL, Felipe, et al. 1996. "Phylogenetic analysis of mtDNA lineages in South American Mummies". *Annals of Human Genetics*, 60: 293-303.
- MORAGA, Mauricio, ASPILLAGA, Eugenio, SANTORO, Calogero, et al. 2001. "Análisis del ADN mitocondrial en momias del Norte de Chile avala la hipótesis del origen amazónico de las poblaciones andinas". *Revista Chilena de Historia Natural*, 74: 719-726.
- MORAGA, Mauricio, SANTORO, Calogero, STANDEN, Vivien, et al. 2005. "Microevolution in prehistoric andean populations: chronologic mtDNA variation in the desert valleys of Northern Chile". *American Journal of Physical Anthropology*, 127: 170-181.
- MULLIS, Kary, y FALOONA, Fred. 1987. "Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalysed chain reaction". *Methods in Enzymology*, 155: 335-350.
- NEVES, Walter y PUCCIARELLI, Héctor. 1998. "Extra-continental biological relationships of early South American human remain: a multivariate analysis". *Ciência e Cultura*, 41(6): 556-575.
- O'ROURKE Dennis, HAYES, Michael, y CARLYLE, Shawn. 2000. "Spatial and temporal stability of mtDNA haplogroup frequencies in native North America". *Human Biology*, 72: 15-34.

- OSSENBERG, Nancy. 1994. "Origins and affinities of the Native Peoples of Northwestern of North America: the evidence of cranial nonmetric traits". En: *Method and theory for investigating the peopling of the Americas*. BONNISCHSEN, Robson y GENTRY STEELE, David. (Eds.). Corvallis OR: Center for the Study of the First Americans. Department of Anthropology, Oregon State University. pp.79-115.
- PÄÄBO, Svante, HIGUCHI, Rusell, y WILSON, Allan. 1989. "Ancient DNA and the polymerase chain reaction". *The Journal of Biological Chemistry*, 264: 9709-9712.
- PÄÄBO, Svante, POINAR, Hendrik, SERRE, David, et al. 2004. "Genetics analyses form ancient DNA". *Annual Review of Genetics*, 38: 645-679.
- PARR, Ryan, CARLYLE, Shawn, y O'ROURKE, Dennis. 1996. "Ancient DNA of Fremont Amerindians of Great Salt Lake Wetlands". *American Journal of Physical Anthropology*, 99: 507-518.
- POINAR, Hendrik. KUCH, Melanie, SOBOLIK, Kristin, et al. 2001. "A molecular analysis of dietary diversity for three archaic Native Americans". *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 98: 4317-4322.
- POWELL, Joseph y NEVES, Walter. 1999. "Craniofacial morphology of the first Americans: pattern and process in the peopling of the New World". *American Journal of Physical Anthropology*, 29: 153-158.
- PUCCIARELLI, Hector. 2004. "Migraciones y variación craneofacial humana en América". *Complutum*, 15: 225-247.
- PUCCIARELLI, Héctor. 2009. "Explicando el Paleoamericano y su probable extinción a través de inferencias comparativas y experimentales". *Runa*, XXX: 7-27.
- RENFREW, Collin. 2000. "Archaeogenetics: towards a population prehistory of Europe". En: *Archaeogenetics: DNA and the population prehistory of Europe*. RENFREW, Collin y BOYLE, Katie (Eds). McDonald Institute Monographs. pp. 3-13.
- REESE, Rebecca, HYMAN, Marian, ROWE, Clinton, et al. 1996. "Ancient DNA from Texas pictographs". *Journal of Archaeological Science*, 23: 269-277.
- RIBEIRO DOS SANTOS, Andrea, SANTOS, Sidney, MACHADO, Ana, et al. 1996. "Heterogeneity of mitochondrial DNA haplotypes in pre-Columbian natives of the Amazon region". *American Journal of Physical Anthropology*, 101: 29-37.
- ROGAN, Peter y SALVO, Joseph. 1990. "Molecular genetics of pre-Columbian South American Mummies". *UCLA, Symposium of Molecular Cellular Biology*, 122: 223-234.
- ROLLO, Franco, ASCI, Walter. ANTONINI, Ippolito, et al. 1994. "Molecular ecology of Neolithic meadow: the DNA of the grass remains from the archaeological site of the Tyrolean Iceman". *Experientia*, 50: 576-584.
- ROTHHAMMER, Francisco, MORAGA, Mauricio, RIVERA, Mario, et al. 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.

- SCHURR, Theodore, BALLINGER, Scott, GAN, Yik, et al. 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, Theodore. 2004. "An Anthropological Genetic View of the Peopling of the New World". En: BARTON, Michael, CLARKE, George, YESNER, David y PEARSON, George (Eds.). *The settlement of the American continent: a multidisciplinary approach to human biogeography*. University of Arizona Press. pp. 11-27.
- SHIMADA, Izumi, SHINODA, Ken, FARNUM, Julie, et al. 2004. "An integrated analysis of pre-hispanic mortuary practices". *Current Anthropology*, 45: 369-402.
- SHINODA, Ken, ADACHI, Noboru, GUILLEN, Sonia. 2006. "Mitochondrial DNA analysis of ancient Peruvian highlanders". *American Journal of Physical Anthropology*, 131: 98-107.
- SILVA, Alejandro, BRICEÑO, Ignacio, BURGOS, Javier, et al. 2008. "Análisis de ADN mitocondrial en una muestra de restos óseos arcaicos del período Herrera en la sabana de Bogotá". *Biomédica*, 28: 569-577.
- SHOOK, Beth, y SMITH, David. 2008. "Using ancient mtDNA to reconstruct the population history of Northeastern North America". *American Journal of Physical Anthropology*, 137:14-29.
- SPELLER, Camilla, YANG, Dongya, y HAYDEN, Brian. 2005. "Ancient DNA investigation of prehistoric salmon resource utilization at Keatley Creek, British Columbia, Canada". *Journal of Archaeological Science*, 32: 1378-1389
- STEELE, David y POWELL, Joseph. 1994. "Paleobiological evidence of the peopling of the Americas: a morphometric view". En: BONNISCHSEN, Robson y GENTRY STEELE, David (Eds.). *Method and theory for investigating the peopling of the Americas*. Corvallis, OR: Center for the Study of the First Americans. Department of Anthropology, Oregon State University. pp, 141-164.
- STONE, Anne, MILNER, George, PÄÄBO, Svante, et al. 1996. "Sex determination of ancient human skeletons using DNA". *American Journal of Physical Anthropology*, 99: 231-238.
- STONE, Anne, y STONEKING, Mark. 1998. "mtDNA analysis of a prehistoric Oneota population: implications for the peopling of the New World". *American Journal of Human Genetics*, 62: 1153-1170.
- TAMM, Erika, KIVISILD, Toomas, REIDLA, Maere, et al. 2007. "Beringia standstill and spread of Native American founders". *Plos One*, 2(9): 1-6.
- TAYLOR, Michael, WIDDISON, Stephanie, BROWN, Ivor, et al. 2000. "A medieval case of lepomatous leprosy from 13-14th century Orkney, Scotland". *Scotland Journal of Archaeological Science*, 27: 1133-1138.
- TORRONI, Antonio, SCHURR, Theodore, YANG, Chi-Chuan, et al. 1992. "Native American mitochondrial DNA analysis indicates that the Amerind and Nadene populations were founded by two independent migrations". *Genetics*, 130: 153-162.