

# VARIABILIDAD MITOCONDRIAL EN MUESTRAS PRE-COLOMBINAS DE LA PATAGONIA ARGENTINA. HACIA UNA VISIÓN DE SU POBLAMIENTO DESDE EL ADN ANTIGUO

Cristian M. Crespo<sup>1\*</sup>, María G. Russo<sup>1</sup>, Adam Hajduk<sup>2</sup>, José L. Lanata<sup>3</sup> y Cristina B. Dejean<sup>4</sup>

<sup>1</sup>CONICET-CEBBAD, Fundación de Historia Natural Félix de Azara. Universidad Maimónides. Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA). Argentina

<sup>2</sup>CONICET-Administración de Parques Nacionales. Museo de la Patagonia Francisco Pascasio Moreno. San Carlos de Bariloche. Argentina

<sup>3</sup>CONICET-UNRN, IIDyPCa. San Carlos de Bariloche. Argentina

<sup>4</sup>Sección Antropología Biológica. Instituto de Ciencias Antropológicas. Facultad de Filosofía y Letras. Universidad de Buenos Aires. CABA. Argentina

*PALABRAS CLAVE* ADN antiguo; linajes maternos; Patagonia argentina

**RESUMEN** Distintas disciplinas han intentado explicar el poblamiento y la evolución de las poblaciones cazadoras-recolectoras que habitaron la Patagonia argentina. La arqueología y la morfología craneal propusieron un escenario de poblamiento temprano caracterizado por una baja demografía, eventos de divergencias y efectos fundadores seriales. Estos postulados fueron avalados desde el análisis del ADN mitocondrial procedente de poblaciones originarias actuales, aunque son escasos aún los estudios en poblaciones precolombinas. Con el objeto de aumentar la información disponible, se analizó un total de 50 muestras de individuos de sitios arqueológicos y colecciones de museos de diversas regiones patagónicas con temporalidades desde los ca. 5600 14C años AP hasta tiempos históricos. Se logró asignar el linaje materno en 27 de ellas por RFLP y en 22 de

las mismas secuencias de la región hipervariable 1. Se detectaron los linajes A2, C1, D1, D1g, D1j y D4h3a. A través de los análisis estadísticos de los resultados obtenidos en este trabajo se observa una tendencia a la disminución de la diversidad mitocondrial hacia el sur. La comparación de las regiones geográficas analizadas sugiere la ausencia de diferencias estadísticamente significativas y de estructuración poblacional, lo cual puede indicar un origen común reciente y/o la existencia de flujo génico entre las regiones durante el Holoceno tardío. Adicionalmente, puede proponerse un cambio en el acervo genético mitocondrial en las poblaciones nativas actuales representado por las altas frecuencias del linaje B2, posiblemente relacionado con el proceso de araucanización a partir del siglo XVI. *Rev Arg Antrop Biol* 19(1), 2017. doi:10.17139/raab.2017.0019.01.07

*KEY WORDS* ancient DNA; maternal lineages; Argentinean Patagonia

**ABSTRACT** Different disciplines have attempted to explain the settlement and evolution of the hunter-gatherer populations who lived in the Argentinean Patagonia. Both archaeology and cranial morphology have suggested an initial settlement stage characterized by low demography, divergence events, and serial founder effects. These assumptions were supported by mitochondrial DNA analysis of extant native populations; studies in pre-Columbian groups being as yet scarce. In order to increase the information available, a total of 50 samples of individuals from archaeological sites and museum collections of various Patagonian regions, dated from ca. 5600 14C yr BP to historical times, were analyzed. It was possible to assign maternal lineage in 27 samples by

RFLP analysis and in 22 of them hypervariable region 1 was sequenced. Lineages A2, C1, D1, D1g, D1j and D4h3a were detected. Statistical analysis of the results obtained here suggested a tendency towards a lower mitochondrial diversity southward. Comparison of the geographical regions analyzed has shown no statistically significant differences or population structure, which may indicate a recent common origin and the existence of gene flow across regions during the late Holocene. Additionally, a change in the mitochondrial gene pool can be proposed in current native populations due to the high frequency of lineage B2, possibly related to the process of araucanization begun in the sixteenth century. *Rev Arg Antrop Biol* 19(1), 2017. doi:10.17139/raab.2017.0019.01.07

El poblamiento humano de la Patagonia argentina tradicionalmente ha sido estudiado por la arqueología y la importancia de esta región en la discusión de la ocupación del continente se debe principalmente a dos motivos: por un lado, a la existencia de un rico registro arqueológico que posee una gran profundidad temporal en relación a los fechados radiocarbónicos de otras regiones, tanto de Argentina como del continente americano y, por otro lado, porque la misma representa

\*Correspondencia a: Cristian M. Crespo. CONICET-CEBBAD. Fundación de Historia Natural Félix de Azara. Universidad Maimónides. Hidalgo 775 6° piso. 1405 CABA. Argentina. Email: cristianmcrespo@gmail.com

Financiamiento: UBACyT (F346); CONICET (PIP2850); Universidad de Río Negro (40B064); Fundación de Historia Natural Félix de Azara; Fundación Científica Felipe Fiorellino, Universidad Maimónides.

Recibido 29 Diciembre 2015; aceptado 1 Julio 2016

doi:10.17139/raab.2017.0019.01.07

el final del camino de la dispersión continental global del género *Homo* (Borrero, 2001; Miotti y Salemme, 2004; Prates et al., 2013; entre otros). Los interrogantes sobre la variabilidad biológica presente en los diferentes grupos humanos patagónicos y las posibles relaciones entre los mismos han sido estudiados desde la craneometría y el análisis morfométrico de piezas dentales, así como también a través de marcadores genéticos moleculares uni y biparentales desde hace ya algunas décadas, con el objetivo de identificar posibles procesos microevolutivos y modelar la estructura poblacional pasada.

El ADN mitocondrial (ADNmt) es actualmente el genoma más estudiado a nivel poblacional y el que mayores posibilidades de recuperación tiene en restos arqueológicos debido a sus características intrínsecas (Matisoo-Smith y Horsburgh, 2012). El análisis de los linajes mitocondriales procedentes de restos humanos precolombinos (ADN antiguo - ADN<sub>a</sub>) se ha convertido en una herramienta válida para contestar interrogantes vinculados al estudio de procesos de poblamiento, migraciones, relaciones entre poblaciones y cambios y/o continuidad poblacional mediante el cambio o continuidad en las frecuencias de los haplogrupos mitocondriales a través del tiempo y el espacio (Matisoo-Smith y Horsburgh, 2012).

El objetivo de este trabajo es estudiar la distribución y composición de linajes maternos procedentes de restos humanos de diferentes sitios arqueológicos y colecciones de museos de la Patagonia argentina, con el fin de realizar una mejor aproximación a la diversidad genética mitocondrial de los grupos cazadores-recolectores que habitaron el área. De esta manera se espera aumentar la información del acervo genético de las poblaciones precolombinas de la región. A su vez, se compararán los resultados obtenidos con las diferentes hipótesis sobre el poblamiento y variabilidad biológica esbozadas desde la arqueología y bioantropología, contribuyendo de esta manera a ampliar el conocimiento de la evolución de estos grupos humanos.

### **La arqueología del poblamiento de la Patagonia argentina**

La dispersión humana en la región patagónica se produjo hacia los ca. 13000-12000 años

<sup>14</sup>C AP (Miotti y Salemme, 2004; Prates et al., 2013; entre otros), momento que se encuentra caracterizado por grandes fluctuaciones climáticas producto de la transición Pleistoceno-Holoceno, dando lugar a un paisaje diferente al actual en cuanto a la disponibilidad de territorio habitable debido a la posición de los glaciares, el nivel de las aguas y las condiciones regionales (McCulloch et al., 2000, Rabassa et al., 2009, Ponce et al., 2011).

Borrero (1989-1990, 1996, 2001) fue el primero en proponer un modelo de poblamiento desde una perspectiva biogeográfica y metapoblacional, fundamentada en la disponibilidad y productividad ambiental (sobre todo por la disponibilidad de agua) y su relación con la distribución espacial y temporal del registro arqueológico. En dicho modelo, la ocupación de la Patagonia se habría dado en tres fases (exploración, colonización y ocupación efectiva del espacio), dependientes de los cambios ambientales y la disponibilidad de sectores para los grupos cazadores-recolectores. En este sentido, los sitios tempranos de la cuenca del río Deseado, la cuenca Magallánica y el norte de Tierra del Fuego serían los primeros núcleos poblacionales durante la primer fase (Miotti, 2003, 2006; Miotti y Salemme, 2004; Prates et al., 2013; entre otros).

La colonización comienza aproximadamente a los ca. 8000 años <sup>14</sup>C AP, donde se detectan ocupaciones en distintas regiones (Orquera y Piana, 1999; Borrero, 2008; Morello et al., 2012; Cassiodoro et al., 2013; Martínez et al., 2013; García-Guraieb et al., 2015; Zubimendi et al., 2015; entre otros). En este período se registran cambios importantes a nivel geológico, ya que se liberan sectores anteriormente glaciados, se conforma el Estrecho de Magallanes como principal barrera biogeográfica de la región y se detectan eventos transgresivos marinos (Miotti y Salemme, 2004; Miotti, 2006; Rabassa et al., 2009). Se percibe un aumento de sitios arqueológicos y una ocupación más sistémica con mayor variabilidad artefactual posiblemente relacionada con el inicio del desarrollo de adaptaciones regionales, proponiéndose posibles procesos de evolución cultural divergente posiblemente por vicarianza (Borrero 1989-1990, 1996, 2001).

La fase de ocupación efectiva del espacio comienza hacia el Holoceno tardío, aproxima-

damente a los ca. 3000 <sup>14</sup>C años AP, caracterizado por un aumento en la cantidad de sitios y la ocupación, por lo menos estacional, de espacios anteriormente vacíos o poco utilizados (Borrero, 2001; Miotti y Salemne, 2004). Se percibe en algunas regiones mayores densidades demográficas, posibles constreñimientos espaciales, la aparición de la territorialidad, la intensificación en ciertos recursos y la reducción de la movilidad con asentamientos más estables y prolongados (Borrero, 2008; Borrero et al., 2009, 2011; Favier Dubois, 2013; Martínez et al., 2013; Barberena et al., 2015; García Guraieb et al., 2015; entre otros).

El poblamiento de Patagonia puede ser visto como una progresión no lineal en la ocupación de los ambientes más óptimos (nodos) hacia las regiones menos “deseables”, posiblemente visitadas para alguna tarea en particular. Las principales rutas de dispersión habrían sido los cursos de agua permanente y posiblemente, el litoral atlántico (Miotti, 2006).

### **Antecedentes desde la bioantropología**

La morfometría craneal y dental ha aportado mucha información sobre el poblamiento de la región. Inicialmente se planteó a la robusticidad como característica de estas poblaciones, producto de la retención de la morfología de los primeros habitantes y una cierta homogeneidad a nivel poblacional cuando se las compara con otros grupos de América (Lahr, 1995). Sin embargo, análisis posteriores han propuesto un origen dual, caracterizado por una morfología pre-mongoloide o paleoamericana y otra de características mongoloides o amerindias (González-José et al., 2001, 2002; Pucciarelli, 2009; Sardi et al., 2005; entre otros), la cual a su vez sería reflejo de la diversidad en todo el continente y denotaría posibles eventos de reemplazo (Neves et al., 2003; Pucciarelli 2009; Hubbe et al., 2014; entre otros).

Otros han propuesto a la deriva como el principal proceso microevolutivo y al accionar de factores aleatorios y no aleatorios como principales mecanismos modeladores de la diversidad biológica presente en estas poblaciones (Sardi et al., 2005; Bernal et al., 2006; Pérez et al., 2007). La baja densidad demográfica y el relativo aislamiento biogeográfico podrían haber genera-

do escenarios proclives para la generación de efectos fundadores seriales, lo cual explicaría la correlación entre las distancias biológicas y geográficas observadas en piezas dentales del Holoceno Tardío (Bernal et al., 2010a, b). Este último modelo plantea múltiples expansiones y sucesivas dispersiones de grupos pequeños de cazadores-recolectores, por lo que cada una de ellas estaría reflejando sólo parte de la variación genética y morfológica del grupo primigenio.

Los primeros estudios de ADNmt en Patagonia fueron realizados en poblaciones originarias actuales de Argentina y Chile (Ginther et al., 1993; Baillet et al., 1994; Moraga et al., 2000; García et al., 2004, 2006) encontrando 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 las regiones más meridionales), posiblemente producto del efecto fundador.

Gracias a la secuenciación completa del ADNmt, posteriores investigaciones lograron confeccionar una filogenia de mayor resolución. Bodner et al. (2012), identificaron dos linajes específicos llamados D1g y D1j, que representarían la primera migración por una ruta costera pacífica debido a su ubicación geográfica y tiempos de coalescencia cercanos a los 15.000-18.000 años AP. Por su parte De Saint Pierre et al., (2012a, b) demostraron la existencia de un cline norte-sur de A2, B2, C1 y D1, desapareciendo los dos primeros e incrementándose los dos últimos, con una alta frecuencia de D1g en todos los casos. Adicionalmente define la presencia de dos clados (llamados B2l y C1b13) característicos de estas poblaciones y sólo descritos en Sudamérica con tiempos de coalescencia cercanos a los 15000 años AP. Asimismo, el linaje D4h3a parecería estar confinado al Sur de la Patagonia tanto chilena como argentina. Según estos autores, D1g y B2l aparecieron en cazadores-recolectores del extremo sur, junto a D4h3a, comprendiendo el 87,6% de la variación mitocondrial, sugiriendo extremo aislamiento de las poblaciones más al sur.

En restos humanos antiguos Lalueza et al., (1997) y posteriormente García-Bour et al., (2004) sobre las mismas muestras de grupos Kaweskar, Aonikenk, Yámana y Selk'nam descubrieron la presencia de los linajes C1, D1, D1g y D4h3a, explicando la ausencia de A2 y B2 por efecto fundador. Posteriormente, Mora-

ga et al. (2010), analizaron restos Kaweskar de los archipiélagos chilenos datados entre 1700 y 150 años AP, hallando C1, D1g y D4h3a, avalando las hipótesis de un poblamiento pacífico y el accionar de la deriva como explicación de la reducción de las variedades mitocondriales. Sin embargo, Manríquez et al. (2011), hallaron los linajes C y B en individuos del sitio Baño Nuevo 1 en la Patagonia chilena datados en ca. 9000 años AP, demostrando la pérdida de distintos haplogrupos por efecto de deriva y aislamiento geográfico.

En los últimos años, en el marco de diversos congresos, se han presentado trabajos de ADN realizados sobre restos esqueléticos de diversos sectores y temporalidades de Patagonia argentina (Postillone y Dejean, 2013; Crespo et al., 2014; Postillone et al., 2015, 2016, Crespo et al., 2016), las cuales han avalado las hipótesis planteadas anteriormente sobre la presencia y distribución de alguno de estos linajes maternos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Las muestras analizadas

Se analizaron un total de 50 muestras de individuos procedentes de sitios arqueológicos y colecciones de museos de diferentes regiones de la Patagonia argentina, los cuales poseen una cronología desde el Holoceno Medio hasta la época de contacto hispano indígena (Tabla 1 y Fig. 1).

Se seleccionaron piezas dentales de cada individuo para realizar los análisis además de un hueso largo procedente de la colección del museo Rosa Novak, Puerto San Julián, provin-



**Fig. 1.** Regiones geográficas de donde proceden las muestras analizadas en este trabajo (puntos verdes). NPC: Norpatagonia costera (n: 23). NPA: Norpatagonia andina (n: 17). CST: Costa de Santa Cruz (n: 6). CdB: Canal de Beagle (n:4).

cia de Santa Cruz. Cada muestra fue elegida siguiendo los lineamientos descritos en Dejean et al. (2014), excluyendo de los análisis aquellas que mostraran fisuras, quebraduras o excesivo desgaste debido a sus mayores probabilidades de poseer contaminación por exposición de su parte interna y para preservar el material óseo de cada museo y sitio arqueológico.

**TABLA 1.** Muestras analizadas en este trabajo

Muestra	Parte esquelética	Sitio/Colección	Región	Provincia	<sup>14</sup> C años AP	Referencia
Ah1	1 M subadulto	El Trébol	Bariloche	Río Negro	Ca. 5600	Hajduk, A. Com. Pers.
Ah2	Incisivo inferior	El Trébol	Bariloche	Río Negro	Ca. 5600	Hajduk, A. Com. Pers.
FD16	1 PM Inf. Izq.	SAOPC-1	San Antonio Oeste	Río Negro	Ca. 4800	Favier Dubois, C. Com. Pers.

M: molar. PM: pre-molar. Inf: inferior. Sup: superior. Der: derecho. Izq: izquierdo. Nd: no disponible.

**TABLA 1.** Muestras analizadas en este trabajo (Continuación)

Muestra	Parte esquelética	Sitio/Colección	Región	Provincia	<sup>14</sup> C años AP	Referencia
FD15	Hueso mastoideo	SAOPC-30	San Antonio Oeste	Río Negro	4795±54	Favier Dubois y Scartascini 2012
FD9	2 M Inf. Izq.	SAOPC-29	San Antonio Oeste	Río Negro	3135±52	Favier Dubois et al. 2009
FD4	3 M Inf. Izq.	SAOBA Cultura	San Antonio Oeste	Río Negro	Ca. 3100	Favier Dubois, C. Com. Pers.
FD8	1 M Sup. Izq.	SAOPC-24	San Antonio Oeste	Río Negro	Ca. 3000	Favier Dubois, C. Com. Pers.
FD7	2 M Inf. Izq.	SAOBA-I/291	San Antonio Oeste	Río Negro	2330±49	Favier Dubois y Scartascini 2012
FD5	2 M Inf. Izq.	Buque Sur II	Las Grutas	Río Negro	2195±49 2300±49	García Guraieb et al. 2010
FD12	2 M Inf. Izq.	Buque Sur I	Las Grutas	Río Negro	2195±49 2300±49	García Guraieb et al. 2010
FD13	3 M Inf. Izq.	Buque Sur III	Las Grutas	Río Negro	2195±49 2300±49	García Guraieb et al. 2010
FD14	3 M Inf. Der.	Buque Sur IV	Las Grutas	Río Negro	2195±49 2300±49	García Guraieb et al. 2010
FD2	3 M Sup. Izq.	FSM	San Antonio Este	Río Negro	Ca. 1600	Favier Dubois, C. Com. Pers.
FD11	3 M Inf. Izq.	CM-Parador Nativo	Las Grutas	Río Negro	1513±48	Favier Dubois et al. 2009
FD6	2 M Inf. Izq.	BQ-Cima de los Huesos	San Antonio Oeste	Río Negro	1173±45 1225±47	Favier Dubois et al. 2009
FD1	3 M Inf. Der.	BF6-Costa	San Antonio Este	Río Negro	796±45	Favier Dubois et al. 2009
FD10	Canino Sup. Izq.	CM-Criadero	Las Grutas	Río Negro	689±44	Favier Dubois et al. 2009
Ah3	2 M Inf. Izq.	Puerto Tranquilo 1	Isla Victoria, Bariloche	Río Negro	640±60	Hajduk et al. 2007
FD3	2 PM Sup. Der.	SV-1	San Antonio Este	Río Negro	421±43	Favier Dubois et al. 2009
Ah4	3 M Inf. Der.	Rebolledo Arriba	Aluminé	Neuquén	S XVI	Hajduk 1981-1982
BP1	Incisivos subadulto	Cerro Comandante Díaz	San Martín de los Andes	Neuquén	S XVI	Pérez y Reyes 2009
BP3	1 M Inf. Der.	Cerro Comandante Díaz	San Martín de los Andes	Neuquén	S XVI	Pérez y Reyes 2009

M: molar. PM: pre-molar. Inf: inferior. Sup: superior. Der: derecho. Izq: izquierdo. Nd: no disponible.

**TABLA 1.** Muestras analizadas en este trabajo (Continuación)

Muestra	Parte esquelética	Sitio/Colección	Región	Provincia	<sup>14</sup> C años AP	Referencia
BP7	3 M inf.	7 Manzanos	San Martín de los Andes	Neuquén	S XVI	Pérez. Com. Pers.
BP8	2 M Inf.	Newen Antug	San Martín de los Andes	Neuquén	S XVI	Pérez. Com. Pers.
BP9	3 M Inf.	Newen Antug	San Martín de los Andes	Neuquén	S XVI	Pérez. Com. Pers.
Ah5	3 M Inf. Izq.	Valle Encantado	Bariloche	Río Negro	S XVII	Hajduk y Albornoz 1999
Da1	2 PM Sup. Izq.	Museo Rosa Novak	Puerto San Julián	Santa Cruz	Nd	Nd
Da2	2 PM Sup. Der.	Museo Rosa Novak	Puerto San Julián	Santa Cruz	Nd	Nd
Da3	3 M Sup. Der.	Museo Rosa Novak	Puerto San Julián	Santa Cruz	Nd	Nd
Da4	1 PM Sup. Der.	Museo Rosa Novak	Puerto San Julián	Santa Cruz	Nd	Nd
FSJ	Fémur Izq.	Museo Rosa Novak	Puerto San Julián	Santa Cruz	Nd	Nd
MB28	2 M Inf. Izq. 2 M Inf. Der.	Museo de la Patagonia	Bariloche	Río Negro	Nd	Nd
MB34	3 M Sup. Der. 2 M Sup. Der.	Museo de la Patagonia	San Blas	Bs. As.	Nd	Nd
MB21	2 M Inf. Der. 1 M Inf. Der.	Museo de la Patagonia	Santa Cruz	Santa Cruz	Nd	Nd
MB36	1 M Sup. Izq. 1 M Sup. Der.	Museo de la Patagonia	Ushuaia	Ushuaia	Nd	Nd
MB12	1 M Sup. Izq. 2 M Sup. Der.	Museo de la Patagonia	San Antonio Este	Río Negro	Nd	Nd
MB20	3 M Inf. Der. 3 M Sup. Izq.	Museo de la Patagonia	San Blas	Bs. As.	Nd	Nd
MB26	2 M Sup. Izq. 2 M Sup. Der.	Museo de la Patagonia	Bariloche	Río Negro	Nd	Nd
MB17	2 M Sup. Izq. 2 M Sup. Der.	Museo de la Patagonia	San Antonio Este	Río Negro	Nd	Nd
MB27	1 M Sup. Der. 3 M Inf. Der.	Museo de la Patagonia	Lago Mascaradi, Bariloche	Río Negro	Nd	Nd
MB37	1 M Inf. Izq. 1 M Sup. Der.	Museo de la Patagonia	Ushuaia	Ushuaia	Nd	Nd

M: molar. PM: pre-molar. Inf: inferior. Sup: superior. Der: derecho. Izq: izquierdo. Nd: no disponible.

**TABLA 1.** Muestras analizadas en este trabajo (Continuación)

Muestra	Parte esquelética	Sitio/Colección	Región	Provincia	<sup>14</sup> C años AP	Referencia
MB31	3 M Sup. Der.	Museo de la Patagonia	Lago Mascaradi, Bariloche	Río Negro	Nd	Nd
	3 M Inf. Izq.					
MB48	3 M Inf. Izq.	Museo de la Patagonia	San Antonio Este	Río Negro	Nd	Nd
	2 M Inf. Izq.					
MB25	3 M Inf. Izq.	Museo de la Patagonia	Bariloche	Río Negro	Nd	Nd
	3 M Sup. Der.					
MB40	3 M Sup. Der.	Museo de la Patagonia	Bariloche	Río Negro	Nd	Nd
	3 M Inf. Der.					
MB18	1 PM Der.	Museo de la Patagonia	San Antonio Este	Río Negro	Nd	Nd
	2 PM Der.					
MB22	3 M Inf. Der.	Museo de la Patagonia	Bariloche	Río Negro	Nd	Nd
	1 M Inf. Izq.					
MB33	3 M Inf. Izq.	Museo de la Patagonia	Ushuaia	Ushuaia	Nd	Nd
	3 M Sup. Der.					
MB52	3 M Inf. Izq.	Museo de la Patagonia	San Antonio Este	Río Negro	Nd	Nd
	2 M Sup. Der.					
MB13	2 M Sup. Izq.	Museo de la Patagonia	Ushuaia	Ushuaia	Nd	Nd
	1 M Sup. Der.					

M: molar. PM: pre-molar. Inf: inferior. Sup: superior. Der: derecho. Izq: izquierdo. Nd: no disponible.

### **Protocolos de laboratorio tendientes a evitar y eliminar la contaminación**

Todos los análisis fueron realizados en el Centro de Estudios Biológicos, Biotecnológicos, Ambientales y de Diagnóstico (CE-BBAD, Universidad Maimónides, Argentina), el cual cuenta con un laboratorio separado físicamente, y dedicado exclusivamente al análisis de especímenes antiguos. Todos los operadores involucrados utilizaron doble par de guantes, cofias, guardapolvos y batines descartables y su ADNmt fue previamente tipificado con el objeto de identificar posibles contaminaciones con ADN de los investigadores. Se utilizaron materiales plásticos descartables, los cuales fueron irradiados con luz UV por 45 minutos antes de ser utilizados. Los reactivos y soluciones fueron alicuotados y de uso exclusivo para ADN antiguo. Todas las superficies y equipos de laboratorio fueron lavados con hipoclorito de sodio 10% y

etanol 70% y enjuagados con agua libre de DNAsas y RNAsas, para posteriormente ser irradiados con luz UV por 45 minutos antes y después de cada tarea. Las áreas de trabajo pre y post amplificación se encuentran estrictamente separadas.

Debido a los posibles problemas de contaminación asociados al análisis de muestras humanas antiguas y sobre todo a aquellas que no fueron recuperadas en ambientes controlados y con un registro detallado de su manipulación (Yang y Watt, 2005; Matisoo-Smith y Horsburgh, 2012; entre otros), estrictos protocolos de descontaminación fueron llevados adelante con el fin de remover el ADN exógeno de la superficie de cada muestra. Para las piezas dentales se utilizó hipoclorito de sodio según diversas recomendaciones y posteriormente tandas de 45 minutos de luz UV en cada cara de la pieza (Kemp y Glenn-Smith, 2005; Dissing et al., 2008; Barta et al., 2013; entre otros).

### **Obtención del material óseo**

Se obtuvo la dentina de cada pieza dental por desbaste utilizando la técnica reportada en otros trabajos (Kuch et al., 2007; Dejean et al., 2014). Para el caso del hueso, el acopio del material se realizó siguiendo los protocolos descriptos en Gibbon et al. (2009). Se obtuvo en cada caso aproximadamente 300/400mg de material óseo, realizándose alícuotas de entre 70 y 80mg (Kuch et al., 2007; Dejean et al., 2014) para cada muestra de cada individuo con el fin de poner a prueba diferentes protocolos de extracción y poder autenticar los análisis con diferentes extracciones y tipificaciones de cada individuo. Adicionalmente, para los individuos procedentes del museo de la Patagonia, se realizó una contraprueba mediante el análisis de una segunda pieza dental.

Luego de finalizado el trabajo con cada una de las muestras, las mismas fueron remontadas con un monómero autocurable de uso odontológico preservando de esta manera la morfología externa para posteriores análisis (Dejean et al., 2014).

### **Extracción y tipificación del ADNmt**

El material óseo de cada individuo fue descalcificado y las proteínas digeridas con Proteinasa K. La solución obtenida fue extraída con solventes orgánicos y el sobrenadante de cada extracto fue purificado y concentrado por medio de columnas de sílica (ver protocolo de extracción en Russo et al., 2016, en este mismo volumen).

Se determinaron los haplogrupos mitocondriales mediante la técnica de RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) y la secuenciación de la Región Hipervariable-1 (RHV-1) del genoma mitocondrial. Para ambas técnicas se utilizaron los cebadores y las condiciones de reacción descriptas por Russo et al., 2016 (en este volumen). Las reacciones de secuenciación se llevaron a cabo utilizando los mismos cebadores empleados en la amplificación de cada fragmento, en un secuenciador automático 3130 *XL Genetic Analyzer con BigDye™ Terminator Sequencing Kit* (Applied Biosystems), por la Unidad de Genómica del Instituto de Biotecnología del INTA.

### **Análisis de las secuencias obtenidas**

Se consideraron como auténticos sólo aquellos resultados que pudieron reproducirse tan-

to por RFLP como por la secuenciación de la RHV-1 desde múltiples extracciones y ampliificaciones de cada una de las muestras. Se corroboró que ninguno de los perfiles obtenidos coincidiera con el perteneciente a los operadores que procesaron las muestras (CMC y CBD).

Se obtuvo una secuencia consenso de los múltiples fragmentos amplificados de la RHV-1 para cada individuo analizado, las cuales fueron leídas y alineadas a la Secuencia de Referencia de Cambridge revisada (Andrews et al., 1999) con el programa MEGA 5.1 (Tamura et al., 2011). Se determinaron los haplotipos de cada individuo mediante el programa Haplogrep (Klöss-Brandstätter et al., 2011) la cual se encuentra basado en Phylotree (Van Oven y Kayser, 2008) y mediante búsqueda bibliográfica.

### **Análisis estadísticos**

Se realizaron dos agrupaciones Norte-Sur diferentes según las divisiones propuestas por Borrero (2008). La primera estableciendo como límite el paralelo 44° y la segunda por el Estrecho de Magallanes (Tabla 2). En ambos casos, debido a que el tamaño muestral es pequeño en el grupo Sur, se incluyeron secuencias antiguas publicadas por otros investigadores procedentes del Sur de los archipiélagos chilenos y del Canal de Beagle (Tabla 2).

Se investigó si existen diferencias genéticas estadísticamente significativas entre los grupos Norte-Sur propuestos a través del Análisis Molecular de la Varianza (AMOVA) con el programa Arlequin v.3.5.1.3 (Excoffier y Schneider, 2010) y su significancia fue obtenida con 1000 permutaciones. El modelo de evolución molecular utilizado fue TN93+G (Tamura y Nei, 1993) -G=0,36- elegido con el programa MEGA 5.1 (Tamura et al., 2011).

Por otro lado, se estudió la variabilidad genética en la región analizando diversas poblaciones precolombinas y originarias actuales (Tabla 3). Para cada una de las poblaciones y de los grupos Norte-Sur previamente propuestos, se calculó el número de haplotipos, la diversidad haplotípica y la diversidad nucleotídica con el programa DnaSP v.5.10 (Librado y Rozas, 2009). Estos mismos estadísticos se calcularon además para cada haplogrupo (A2, B2, C1 y D1) a fin de comparar la diversidad presente en



**TABLA 2.** Agrupamiento propuesto para las comparaciones y cálculos estadísticos a partir de los individuos precolombinos de las distintas regiones patagónicas

Límite Norte/Sur	Grupos	Poblaciones incluidas	Referencia
Paralelo 44°	Norte del paralelo 44°	Norpatagonia andina	Este trabajo
		Norpatagonia costera	Este trabajo
	Sur del paralelo 44°	Costa de Santa Cruz	Este trabajo
		Canal de Beagle	Este trabajo y Dejean et al. (2008)
		Archipiélagos Chilenos	Moraga et al. (2010)
Estrecho de Magallanes	Norte del estrecho de Magallanes	Norpatagonia andina	Este trabajo
		Norpatagonia costera	Este trabajo
		Costa de Santa Cruz	Este trabajo
	Sur del estrecho de Magallanes	Canal de Beagle	Este trabajo y Dejean et al. (2008)
		Archipiélagos Chilenos	Moraga et al. (2010)

**TABLA 3.** Grupos precolombinos y actuales utilizados para las comparaciones y cálculos estadísticos

Población	Localidad	n	Hg A	Hg B	Hg C	Hg D	Referencias
<b>Precolombinas</b>							
Kaweskar	Archipiélagos chilenos, Chile	6	0	0	50	50	Moraga et al. (2010)
Yámana	Canal de Beagle, Argentina	2	0	0	50	50	Dejean et al. (2008)
<b>Actuales</b>							
Yámana	Ukika, Puerto Williams e Isla Navarino, Chile	21	0	0	48	52	De Saint Pierre et al. (2012a)
Kaweskar	Punta Arenas, Chile	13	8	0	38	54	Moraga et al. (2010)
Mapuche Isla Huapi	Isla Huapi, Valdivia, Chile	34	0	24	35	41	Moraga et al. (2000)
Mapuche Anecón	Anecón Grande, Río Negro, Argentina	39	15	38	21	26	Ginther et al. (1993)
Mapuche Temuco	Temuco, Chile	19	0	37	42	21	De Saint Pierre et al. (2012a)

\*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 informarla, pero no tenerla en cuenta para los posteriores análisis.

**TABLA 3.** Grupos precolombinos y actuales utilizados para las comparaciones y cálculos estadísticos. (Continuación)

Población	Localidad	n	Hg A	Hg B	Hg C	Hg D	Referencias
Actuales Mapuche Lonco Vaca	Lonco Vaca, Aguada Guzmán y Cerro Policia, Río Negro, Argentina	51	8	44	18	30	De Saint Pierre et al. (2012a)
Huilliche	San Juan, Chile.	58	10	26	19	45	De Saint Pierre et al. (2012a)
Pehuenche	Trapa Trapa, Bio Bio, Chile	42	7	26	29	38	De Saint Pierre et al. (2012a)
Tehuelche	Loma Redonda y El Chaliá, Chubut, Argentina	29	0	21	21	58	De Saint Pierre et al. (2012a)
<b>Total</b>		<b>314</b>	<b>5.4</b>	<b>21,6</b>	<b>29.3</b>	<b>43.7</b>	

\*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 informarla, pero no tenerla en cuenta para los posteriores análisis.

cada linaje hallado, incluyendo en los mismos a los grupos antiguos y actuales.

Para correlacionar la distancia genética entre pares de individuos con la distancia geográfica de los mismos dentro del conjunto de datos se realizó un análisis de Procrustes. Para ello se utilizaron todas las secuencias precolombinas obtenidas en este trabajo como aquellas disponibles en bibliografía (Tabla 3) y 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 que figura en el registro museístico de cada individuo analizado. Las distancias genéticas entre pares de secuencias se calcularon con el programa MEGA 5.1 (Tamura et al., 2011), siendo TN93 (Tamura y Nei, 1993) el modelo evolutivo que más se ajustaba al conjunto de datos. A partir de esta matriz de distancias genéticas se realizó un Análisis de Componentes Principales y se extrajeron los dos primeros ejes de variación, utilizando la función *pca* del paquete *vegan* (Oksanen et al., 2009) disponible en R 3.0 (R Core Team, 2014). Posteriormente para estos ejes se obtuvo la rotación que mejor se

ajusta a las coordenadas geográficas utilizando las funciones *procrustes* y *protest* de *vegan*. Las coordenadas genéticas y geográficas obtenidas fueron mapeadas con la aplicación QGIS 2.2.0 (QGIS Foundation Project 2011).

Los haplotipos obtenidos de cada individuo fueron comparados con las secuencias de poblaciones precolombinas y originarias actuales de la región (Tabla 2) mediante la construcción de redes medianas para los linajes C1, D1 y D4h3a con el programa NETWORK v.4.6.3.1 (Bandelt et al., 1999; fluxus-engineering.com). Los pesos evolutivos de cada sitio polimórfico fueron aplicados siguiendo los cálculos hechos por Soares et al., (2009). Para los linajes A2 y B2 no se construyeron redes debido a la baja cantidad de secuencias disponibles de los mismos en la región y a la poca representatividad que poseen en el conjunto de las muestras antiguas analizadas.

## RESULTADOS

De los 50 individuos analizados en este trabajo pudieron tipificarse por RFLP 27 de ellas (57% de recuperación), mientras que en las 23 restantes (46%) se obtuvieron amplificaciones espurias o fueron negativas. La mayoría de los haplogrupos presentes correspondieron a D

(55,6%), seguido de C (37%) y A (7,4%), estando ausente el haplogrupo B. El primero de estos linajes es el que posee mayor antigüedad (3.100 14C años AP) y se presenta hasta tiempos históricos. El segundo se detecta a partir de

los 1.588 14C años AP también hasta tiempos históricos, mientras que A se encuentra asociado a momentos del Holoceno final y de contacto hispano-indígena (ver Tabla 4). La distribución espacial demuestra que tanto C como D se en-

**TABLA 4.** Resultados por RFLP y secuencias obtenidas para la RHV-1

Muestra	RFLP	Fragmento 1 (15984 a 16186)	Fragmento 2 (16101 a 16258)	Fragmento 3 (16204-16410)	<sup>14</sup> C años AP	Haplotipo inferido
FD4	D	N/A*	16223T	16242T, 16311C, 16325C, 16326C	3144±52	D1j1a
FD5	D	N/A*	16223T	16242T, 16311C, 16325C, 16326C	2195±49 2300±49	D1j1a
FD13	D	Sin mutaciones	16169T, 16187T, 16223T	16325C, 16326C	2195±49 2300±49	D1g+16169T
FD2	C	Sin mutaciones	16223T	16298C, 16325C, 16327T	1588±46	C1/C1b
FD6	D	16092C?***	16187T, 16189C, 16223T	16362C	1173±45 1225±47	D1g2a
FD1	D	Sin mutaciones	16223T	16241G, 16298C, 16301T, 16342C, 16362C	796±45	D4h3a2
FD10	A	16111T	16192T, 16223T	16290T, 16319A, 16362C	689±44	A2
FD3	D	N/A*	16223T	16242T, 16311C, 16325C, 16326C	421±43	D1j1a
Ah5	A	Sin mutaciones	16223T	16290T, 16319A, 16362C	S XVII	A2
Da2	D	16051G	16223T	16241G, 16301T, 16342C, 16362C	Nd**	D4h3a5
Da3	C	Sin mutaciones	16223T	16298C, 16325C, 16327T	Nd**	C1/C1b
Da4	D	Sin mutaciones	16223T	16242T, 16311C, 16325C, 16326C	Nd**	D1j1a
MB34	D	16093C, 16126C	16223T	16259T, 16325C, 16362C	Nd**	D1
MB21	C	Sin mutaciones	16171G, 16223T	16298C, 16325C, 16327T	Nd**	C1/C1b
MB36	C	Sin mutaciones	16223T	16291T, 16298C, 16325C, 16327T	Nd**	C1/C1b

\*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 ampliificaciones, por lo que se decidió informarla, pero no tenerla en cuenta para los posteriores análisis.

**TABLA 4.** Resultados por RFLP y secuencias obtenidas para la RHV-1 (Continuación)

Muestra	RFLP	Fragmento 1 (15984 a 16186)	Fragmento 2 (16101 a 16258)	Fragmento 3 (16204-16410)	<sup>14</sup> C años AP	Haplotipo inferido
MB12	D	Sin mutaciones	16187T, 16189C, 16209C, 16223T	16325C, 16362C	Nd**	D1g5
MB27	C	Sin mutaciones	16223T	16298C, 16325C, 16327T	Nd**	C1/C1b
MB37	C	Sin mutaciones	16223T	16298C, 16325C, 16327T, 16362C	Nd**	C1/C1b
MB48	D	Sin mutaciones	16187T, 16189C, 16209C, 16223T	16325C, 16362C	Nd**	D1g5
MB40	D	Sin mutaciones	16223T	16241G, 16298C, 16301T, 16342C, 16362C	Nd**	D4h3a2
MB22	C	Sin mutaciones	16223T	16298C, 16325C, 16327T, 16390A	Nd**	C1/C1b
MB13	D	Sin mutaciones	16223T	16241G, 16301T, 16342C, 16362C	Nd**	D4h3a
MB28	D	N/A*	N/A*	N/A*	Nd**	Nd**
MB20	C	N/A*	N/A*	N/A*	Nd**	Nd**
MB27	C	N/A*	N/A*	N/A*	Nd**	Nd**
MB18	C	N/A*	N/A*	N/A*	Nd**	Nd**
MB52	D	N/A*	N/A*	N/A*	Nd**	Nd**

\*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 informarla, pero no tenerla en cuenta para los posteriores análisis.

cuentran presentes en todas las regiones analizadas, mientras que A sólo se encuentra en Norpatagonia, tanto en su vertiente atlántica como andina (Fig. 2).

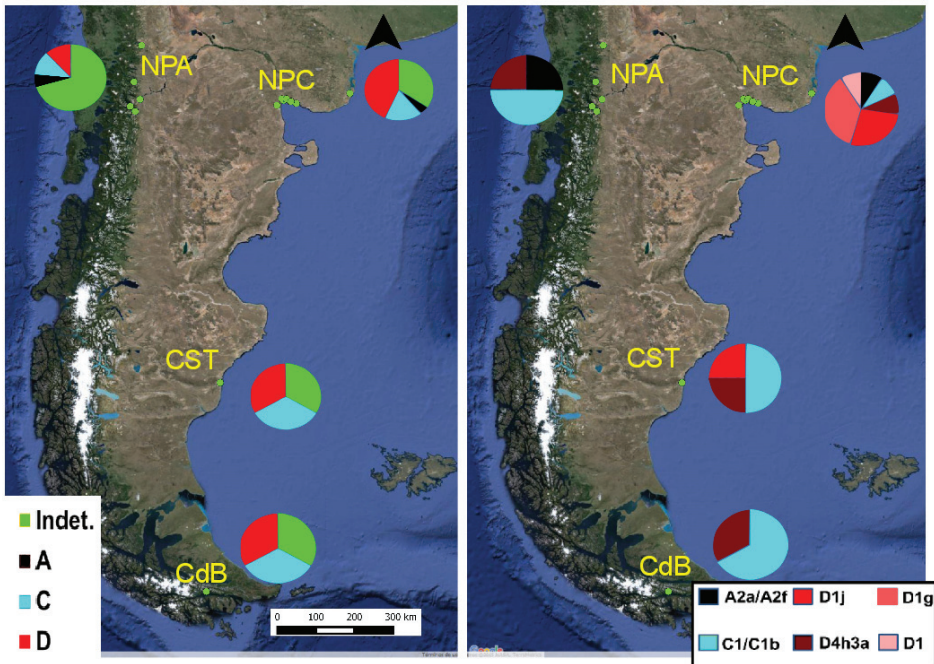
### Caracterización de los linajes obtenidos

Se identificó el linaje mitocondrial mediante la secuenciación de la RHV-1 en 22 muestras (44% de recuperación), mientras que en las 28 restantes (56%) no se obtuvieron amplicaciones o las mismas fueron espurias y no se pudieron determinar o confirmar el segmento completo de la región analizada. En todos los casos positivos las secuencias fueron concordantes con los resultados obtenidos por RFLP (Tabla 4).

Se observa que dentro del linaje D se encuentran las variedades D1j (18,18%), D1g (18,18%), D4h3a (18,18%) y un D1 (4,54%).

Las muestras correspondientes al linaje C (31,81%) se clasificaron como C1/C1b debido a que su mayoría presentan las mutaciones nodales y la región analizada posee poca resolución para discriminar variedades más específicas de este haplogrupo. El linaje A (9,09%) presentó la variedad nodal en un individuo, mientras que el restante pudo clasificarse como A2. En este caso tampoco pudo discriminarse un clado específico con la secuenciación de la RHV-1.

El linaje D1j presentó la mayor profundidad temporal, seguido por D1g, C1 y A2. A su vez, el mismo fue hallado tanto al norte como al sur de Patagonia, pero en sectores exclusivamente costeros (Fig. 2). Los linajes D4h3a y C1 se detectaron en todas las regiones analizadas. Por su parte, D1g y A2 sólo fueron hallados en Norpatagonia (sólo en el sector costero el primero y en los sectores costero y andino, el segundo).



**Fig. 2.** Izquierda: distribución geográfica de los haplogrupos obtenidos. 1: Norpatagonia costera (n:23). 2: Norpatagonia andina (n:17). 3: Costa de Santa Cruz (n:6). 4: Canal de Beagle (n:4). Derecha: distribución geográfica de los linajes obtenidos por secuenciación de la RHV-1. 1: Norpatagonia costera (n: 11). 2: Norpatagonia andina (n: 4). 3: Costa de Santa Cruz (n: 4). 4: Canal de Beagle (n:3).

## Variabilidad y diferenciación genética en Patagonia

Los análisis de variabilidad realizados demuestran que los grupos armados según la región de procedencia de cada muestra poseen niveles similares de diversidad haplotípica y nucleotídica, siendo la de Norpatagonia andina la menor de todas (Tabla 5). De las agrupaciones Norte-Sur propuestas, los niveles de diversidad haplotípica resultaron similares, pero la nucleotídica resultó menor en los sectores meridionales en ambos casos, más allá de la inclusión de los individuos de la costa de Santa Cruz en cualquiera de los grupos. A su vez, se observan magnitudes similares cuando se comparan con los grupos modernos, pero en este caso la variabilidad menor se encuentra en grupos actuales Kaweskar y Yámana (Tabla 5).

Cuando se comparan los linajes se observa que la menor variación se encuentra en C1, seguida por A2. La diversidad haplotípica de B2 y D1 son las mayores, pero la nucleotídica es superior en D1, lo cual demuestra mayor variabilidad dentro de este linaje (Tabla 5).

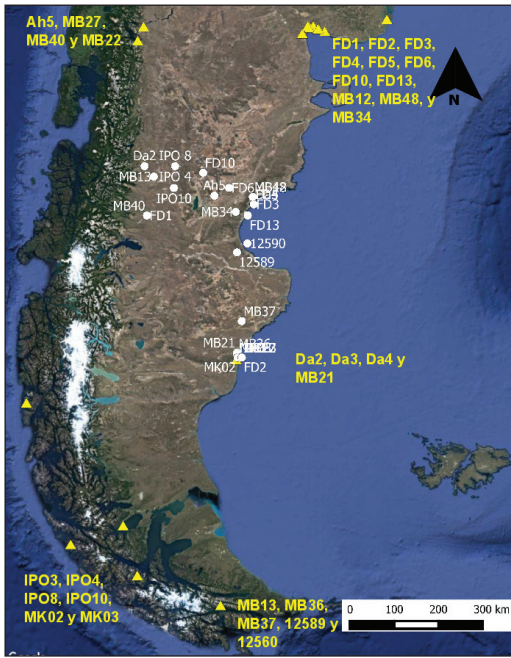
El AMOVA realizado no evidencia diferencias genéticas entre los grupos del Norte y Sur de Patagonia, tanto tomando como límite el paralelo 44° como al Estrecho de Magallanes ( $p=0,15543$ ;  $F_{st}=0,03965$  y  $p=0,23851$ ;  $F_{st}=0,01924$ , respectivamente). Esto estaría demostrando la ausencia de estructuración poblacional con los datos de ADN disponibles hasta el momento. Consistentemente, el análisis de Procrustes demostró una baja correlación entre las distancias genéticas y geográficas ( $r=0,3366$ ) la cual no resultó ser estadísticamente significativa ( $p=0,061$ ) (Fig. 3).

La red mediana del linaje C1 presenta una topología unimodal en estrella, la cual suele interpretarse como producto de un cuello de botella seguido de expansión poblacional (Fig. 4). La mayor cantidad de los individuos se ubican en la posición nodal de este haplogrupo, estando unos pocos individuos de diversas poblaciones modernas y antiguas diferenciadas por unas pocas mutaciones. De las muestras analizadas en este trabajo sólo dos se diferenciaron por una mutación: una de la costa de Santa Cruz (MB21)

**TABLA 5.** Variabilidad genética mitocondrial en las muestras antiguas y modernas analizadas.

Población.	n	h	Hd	$\pi$
Precolombinas analizadas en este trabajo				
Norpatagonia Costera	11	8	0.927	0.015
Norpatagonia Andina	4	3	0.833	0.015
Canal de Beagle	3	3	1	0.016
Costa Santa Cruz	4	4	1	0.018
Precolombinas disponibles en bibliografía				
Kaweskar	6	4	0.867	0.014
Canal de Beagle	2	2	1	0.012
Grupos antiguos propuestos				
Norte de paralelo 44°	19	11	0.918	0.016
Sur de paralelo 44°	11	9	0.964	0.013
Norte de Estrecho de Magallanes	15	9	0.924	0.016
Sur de Estrecho de Magallanes	15	12	0.971	0.013
Actuales				
Huilliche San Juan, Chile	58	19	0.93	0.018
Pehuenche Bio Bio, Chile	42	13	0.88	0.018
Mapuche Anecón Grande, Argentina	39	13	0.912	0.016
Mapuche Lonco Vaca, Aguada Guzman y Cerro Policía, Argentina	51	26	0.958	0.020
Mapuche Temuco, Chile	19	15	0.971	0.018
Tehuelche Loma Redonda y el Chalia, Argentina	29	14	0.929	0.019
Yámanas Ukika, Puerto Williams e Isla Navarino, Chile	21	6	0.786	0.014
Kaweskar Punta Arénas, Chile	13	8	0.897	0.017
Por linajes				
A2	23	9	0.854	0.007
B2	84	24	0.937	0.008
C1	92	26	0.615	0.003
D1	109	28	0.909	0.008

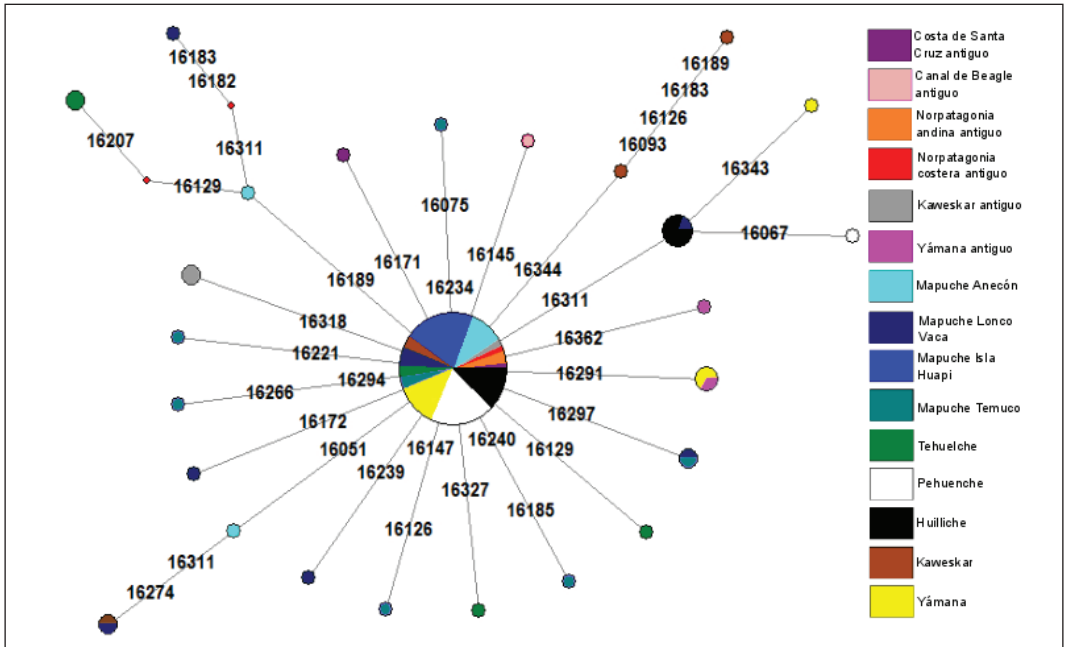
n: cantidad de individuos. h: cantidad de haplotipos. Hd: diversidad haplotípica.  $\pi$ : diversidad nucleotídica



**Fig. 3.** Mapa de la región patagónica en el cual se marcan los puntos geográficos de las muestras analizadas en este trabajo utilizadas para el análisis de Procrustes (puntos amarillos) y la ordenación de las distancias genéticas en base las distancias geográficas (puntos blancos). La flecha negra indica el norte geográfico.

con la mutación 16171G y otra procedente del Canal de Beagle (MB36) con la mutación 16291T (Tabla 3).

La red que incluye los linajes D1 y D4h3a presenta una topología multimodal (Fig. 5). El motivo nodal del primero (16223T, 16325C y 16362C) posee una baja representación y sólo se encuentra presente en Yámana. Sólo un individuo antiguo analizado aquí presenta este clado (MB34), pero con las mutaciones adicionales 16093C, 16126C y 16259T. Las variedades mayoritarias fueron D1j, D1g y D4h3a. Cuatro individuos (FD3, FD4, FD5 del Golfo de San Matías y Da4 de la costa de Santa Cruz) presentaron la variedad D1j (D1+16242T y 16311C) compartida por grupos Mapuche de Anecón y Lonco Vaca. Por su parte, el linaje D1g (D1+16187T) estuvo presente en cuatro individuos del Golfo de San Matías. La muestra FD6 presentó las mutaciones 16189C y @16325C, compartiendo motivos con múltiples grupos actuales. Uno de los extractos de esta muestra presentó la mutación 16092C y compartiría haplotipo con grupos Tehuelche, Mapuche y Pehuenche, pero no pudo confirmarse hasta el momento. Dos individuos (MB12 y MB48) presentaron las muta-



**Fig. 4.** Red mediana de haplotipos del linaje C1. El tamaño de las tortas es proporcional a la frecuencia de ese haplotipo.

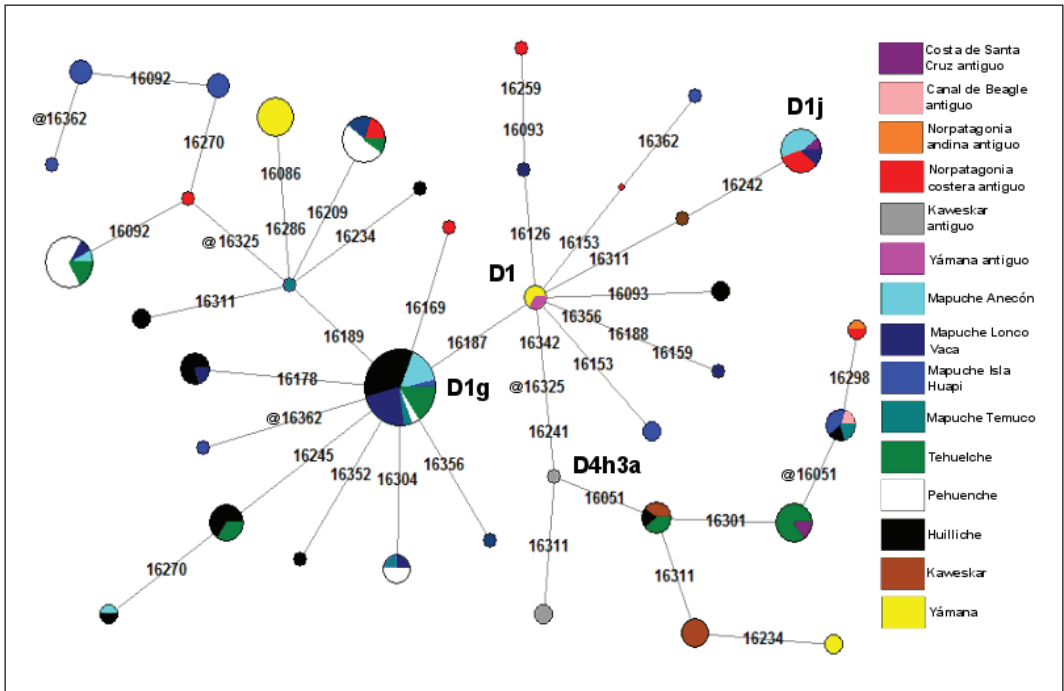


Fig. 5. Rede mediana de haplotipos para los linajes D1 (incluyendo las variedades D1g y D1j) y D4h3a. El tamaño de las tortas es proporcional a la frecuencia de ese haplotipo. El @ indica las posiciones revertantes de cada clado

ciones 16189C y 16209C, la cual es compartida por Mapuche, Tehuelche y Pehuenche. La última muestra perteneciente a este linaje es FD13, la cual posee la mutación 16169T y no es compartida por ninguna población actual o antigua aquí analizada.

El linaje D4h3a se halló en cuatro individuos. En tanto que FD1 del Golfo de San Matías y MB40 de Norpatagonia Andina presentaron el mismo haplotipo caracterizado por las mutaciones 16298C y 16301T y no compartidas por ninguna población. Por su parte Da2 de la costa de Santa Cruz presentó las mutaciones 16051G y 16301T, compartiendo haplotipo con Tehuelche. El último individuo perteneciente a este linaje es MB13 procedente del Canal de Beagle y posee la mutación 16301T compartiendo esta variedad con Huilliche y Mapuche.

Sólo las muestras Ah5 (Norpatagonia andina) y FD10 (Norpatagonia costera) presentaron el linaje A2. La primera de ellas presentó su forma nodal, la cual está presente en Mapuche y la segunda de ellas posee las mutaciones 16111T y 16192T y no se encuentra dentro del conjunto de las poblaciones utilizadas para las comparaciones.

## DISCUSIÓN

El estudio de los haplotipos mitocondriales a través del espacio patagónico con las muestras antiguas analizadas hasta el momento da cuenta de una ausencia de diferenciación y estructuración poblacional dentro de la Patagonia argentina desde el análisis de este marcador. Tanto los estudios de diversidad genética, como el AMOVA, la correlación entre las distancias biológicas y geográficas y las redes realizadas apuntan hacia una baja diferenciación entre las regiones analizadas y a una escasa cantidad de linajes maternos en todos los grupos antiguos estudiados. Muchos de los haplotipos hallados se encuentran dispersos en distintos lugares de Patagonia y son compartidos por diversos grupos antiguos y actuales, lo cual también apoya la noción de cierta continuidad poblacional. Este hecho también podría estar reflejando la baja demografía planteada desde el registro arqueológico (Borrero, 2001; Miotti y Salemme, 2004) y un origen poblacional común con poco flujo génico con otras regiones geográficamente



más distantes y posiblemente eventos de efectos fundadores seriales. Los resultados acompañan muchos de los postulados propuestos desde la craneometría en cuanto a la homogeneidad hallada en las poblaciones de diversos sectores de la Patagonia (Lahr, 1995, González-José et al., 2001, 2002). A su vez, también apoya las investigaciones previas en grupos antiguos y actuales en cuanto a la baja diversidad genética mitocondrial hallada en esta región y la pérdida de diversidad de linajes maternos hacia el Sur reflejada en la ausencia del linaje B2 y la muy baja frecuencia de A2 en Norpatagonia y su ausencia en regiones más meridionales (Lalueza et al., 1997, Moraga et al., 2000, García-Bour et al., 2004, Moraga et al., 2010).

Una cuestión llamativa es la distribución encontrada para ciertos linajes. Los modelos de poblamiento de la región han postulado una ruta Pacífica con un ingreso transcordillerano para los clados D1g, D1j y D4h3a (Bodner et al., 2012; De Saint Pierre et al., 2012a). Recientemente se ha postulado para D1j un posible origen en el Centro y Noroeste de Argentina fundamentado en la alta frecuencia hallada de este linaje en la actualidad y el hallazgo del mismo en restos humanos de ca. 4200 <sup>14</sup>C años AP (García et al., 2012). Sin embargo, los análisis aquí realizados demuestran su presencia en la costa Atlántica desde los 3100 <sup>14</sup>C años AP, lo cual podría explicarse por un origen poblacional común siguiendo una ruta de poblamiento interior o costera atlántica hasta Patagonia o eventos de flujo génico. Para los linajes D1g y D4h3a se observa una situación similar, los cuales también poseen una locación atlántica. Este hecho puede estar demostrando que la distribución de las variedades mitocondriales y su diversidad en momentos pre-colombinos pudo ser diferente a la que se encuentra en la actualidad, cuestión posiblemente avalada por el hallazgo de dos haplotipos (muestras FD13 y MB34, Tabla 3) no descritos hasta el momento. Desde el estudio de los sitios arqueológicos tempranos también se ha postulado la importancia del litoral atlántico como corredor de dispersión de los primeros grupos humanos (Miotti 2006).

Siguiendo la misma lógica, resulta interesante la frecuencia detectada del haplogrupo B2 en grupos modernos Mapuche, Tehuelche, Huilliche y Pehuenche, ya que en los individuos

antiguos de Argentina no se ha encontrado dicho linaje. Este hecho ha sido explicado por De Saint Pierre et al., (2012b) debido a migraciones provenientes del Centro de Chile asociadas con el proceso de Araucanización a partir del Siglo XVI. Adicionalmente, diversos estudios etnohistóricos han señalado la existencia de poliginia, virilocalidad y posiblemente casamientos mixtos dentro de la estructura social Mapuche (Boccaro, 1999). Estos hechos podrían explicar las discrepancias halladas con respecto a la ausencia de dicho linaje en muestras antiguas de Norpatagonia y su presencia en poblaciones actuales o indicar un problema de muestreo en las poblaciones precolombinas y modernas. Seguramente a partir del siglo XVI y como producto del flujo génico desde la Araucanía, el acervo genético mitocondrial de Norpatagonia podría haberse modificado, incorporando nuevas variedades (como B2).

Según el modelo arqueológico de poblamiento, la Patagonia presentaría un escenario proclive para que ocurrieran divergencias poblacionales, y por ende, sería esperable que se encontraran diferencias genéticas significativas entre las regiones muestreadas debido a procesos de “vicarianza” (Borrero, 1989-1990, 1996), producto de la baja demografía de las poblaciones cazadoras-recolectoras y el establecimiento de barreras biogeográficas. 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, cabría esperar que bajos niveles de variación genética mitocondrial fueran la regla.

Si bien esto puede ser verdad para los primeros momentos del poblamiento, el registro arqueológico del Holoceno tardío muestra grandes radios de movilidad logística y/o redes de interacción amplias, los cuales se encuentran avalados por diferentes evidencias arqueológicas de contacto entre distintas regiones (Caracotche et al., 2005; Gómez Otero y Stern, 2005; Tessone et al., 2005; Orquera y Gómez Otero, 2007; Favier Dubois et al., 2009; Martínez et al., 2009; Silveira et al., 2010; Carballo Marina et al., 2011; Stern et al., 2012; entre otros), 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.

Recientemente, Borrero et al. (2011), ha planteado para el sur de Patagonia a través de indicadores isotópicos y relatos etnográficos la posible existencia de grupos socialmente muy dinámicos y que posiblemente poseyeran sistemas de visitas, intercambio de información y bienes y la búsqueda de pareja o casamientos mixtos, siendo posible la conformación de grupos culturales mezclados y socialmente abiertos a nivel supra-regional a partir de los 2000 años AP. De ser cierta esta posibilidad, podría pensarse si este esquema no es también aplicable a sectores más septentrionales.

Dicho flujo génico entre diferentes regiones de la Patagonia se habría dado a partir de un conjunto muy pequeño de variantes mitocondriales y de origen común relativamente reciente. Con el correr de los milenios habría disminuido la diferenciación inter-poblacional alcanzando 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 cada región, no siendo suficientes estas últimas para diferenciarlos significativamente.

De todas maneras, el número de individuos analizados aún es pequeño, por lo que podría esperarse que al aumentar el muestreo y ampliar las regiones y temporalidades analizadas puedan observarse patrones diferentes a los aquí hallados.

## CONCLUSIONES

Distintas líneas de evidencia han postulado para las poblaciones cazadoras-recolectoras una baja demografía y el accionar de la deriva génica para explicar los patrones observados en cuanto a la distribución del registro arqueológico y la variabilidad biológica encontrada. Las secuencias de la RHV-1 del ADNmt de restos humanos precolombinos analizados en este trabajo parecen avalar estas hipótesis. La mayoría de los haplotipos hallados se encuentran presentes en diferentes sectores de la región y a su vez, compartidos por muchos de los grupos originarios actuales, dificultando la identificación de dife-

rencias genéticas estadísticamente significativas entre los diferentes grupos antiguos analizados, pero siendo siempre mayor la variabilidad de los grupos septentrionales. Por otro lado, la distribución de los linajes D1g, D1j y D4h3a es diferente a la propuesta desde el análisis de grupos actuales, sugiriendo la importancia de los sectores atlánticos en la dispersión humana.

Adicionalmente, se ha detectado en grupos modernos frecuencias considerables del linaje B2, estando el mismo ausente en los individuos precolombinos analizados. Si bien esta ausencia podría vincularse con un problema de muestreo en individuos antiguos, es probable que los procesos de migración trasandina (araucanización) hayan introducido nuevas variedades mitocondriales. Este hecho podría haber modificado la composición y diversidad del acervo genético de las poblaciones del área.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo financiero institucional recibido. También agradecemos al Dr. Favier Dubois, al Lic. Alberto Pérez, al Museo de la Patagonia “Francisco P. Moreno” y al Museo regional “Rosa Novak” por facilitarnos las muestras analizadas en este trabajo y a los dos revisores anónimos por los aportes realizados para mejorar este artículo.

## LITERATURA CITADA

- Andrews R, Kubacka I, Chinnery P, Lightowlers N, Turnbull D, Howell N. 1999. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for Human mitochondrial DNA. *Nat Genet* 23:147. doi:10.1038/13779
- Baillet G, Rothhammer F, Carnese F, Bravi C, Bianchi N. 1994. Founder mitochondrial haplotypes in Amerindian populations. *J Hum Genet* 54:27-33.
- Bandelt H, Forster P, y Röhl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol* 16:37-48. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036
- Barberena R, Prates L, De Porras M. 2015. The human occupation of North Western Patagonia (Argentina): paleoecological and chronological trends. *Quatern Int* 356:111-126. doi: 10.1016/j.quaint.2014.09.055
- Barta J, Monroe C, Kemp B. 2013. Further evaluation of the efficacy of contamination removal from bone Surface. *Forensic Sci Int* 231:340-348. doi:10.1016/j.forsciint.2013.06.004
- Bernal V, Pérez I, González P. 2006. Variation and causal factors of craniofacial robusticity in Patagonian hunter-gatherers from the Late Holocene. *Am J Hum Biol* 18:748-765. doi: 10.1002/ajhb.20546
- Bernal V, Pérez I, González P, Sardi M, Pucciarelli H. 2010a.

- Spatial patterns and evolutionary processes in southern South America: a study of dental morphometric variation. *Am J Phys Anthropol* 142:95-104. doi: 10.1002/ajpa.21206
- Bernal V, Pérez S, González P, Diniz-Filho A. 2010b. Ecological and evolutionary factors in dental morphological diversification among modern human populations from southern South America. *P Roy Soc Lond B Bio* 277:1107-1112. doi: 10.1098/rspb.2009.1823
- Boccaro G. 1999. Etnogénesis mapuche: resistencia y reestructuración entre los indígenas del centro-sur de Chile (siglos XVI-XVIII). *Hispanic Am Hist Rev* 79:425-461.
- Bodner M, Perego U, Huber G, Fendt L, Rock A, Zimmermann B, Olivieri A, Gómez-Carballa A, Lancioni H, Angerhofer N, Bobillo M, Corach D, Woodward S, Salas A, Achilli A, Torroni A, Bandelt H, Parson W. 2012. Rapid coastal spread of first Americans: novel insights from South American's Southern Cone mitochondrial genome. *Genome Res* 22:811-820. doi:10.1101/gr.131722.111
- Borrero LA. 1989-1990. Evolución cultural divergente en la Patagonia austral. *Anal Inst Pat* 19:133-140.
- Borrero LA. 1996. The Pleistocene-Holocene transition in Southern South America. En: Straus L, Eriksen B, Erlandson J, Yesner D, editores. *Human at the end of the ice age: the archaeology of Pleistocene-Holocene transition*. New York: Plenum Press. p 339-354.
- Borrero LA. 2001. El poblamiento de la Patagonia. Toldos, milodones y volcanes. Buenos Aires: Emecé editores.
- Borrero LA. 2008. Early occupations in the southern cone. En: Silverman H, Isbell W editores. *Handbook of South American Archaeology*. New York: Springer. p 59-77.
- Borrero LA, Barberena R, Franco N, Charlin J, Tykot R. 2009. Isotopes and rocks: geographical organization of southern patagonian hunter-gatherers. *Int J Osteoarcheol* 19:309-327. doi:10.1002/oa.1036
- Borrero LA, Martin F, Barberena R. 2011. Visits, "fuegians", and information networks. En: Whallon R, Lovis W, Hitchcock R, editores. *Information and its role in hunter-gatherer bands*. Los Angeles: The Cotsen Institute of Archaeology Press. UCLA. p 249-265.
- Caracotche M, Cruz I, Espinosa S, Carballo Marina F, Belardi J. 2005. Rescate arqueológico en el Parque Nacional Monte León (Santa Cruz, Argentina). *Magallania* 33:143-163. doi:10.4067/S0718-22442005000200010
- Carballo Marina F, Belardi J, 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. doi:10.4067/S0718-22442011000200015
- 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, Martínez C, Pasqualini S. 2013. Arqueología del Holoceno medio y tardío en Patagonia meridional: poblamiento humano y fluctuaciones climáticas. *Diálogo Andino* 41:5-23. doi:10.4067/S0719-26812013000100002
- Crespo CM, Postillone MB, Russo MG, Bravi CD, Avena SA, Favier Dubois C, Hajduk A, Arrigoni G, Lanata JL, Dejean CD. 2014. Genetic diversity in maternal amerindian lineages in Argentinian Patagonia. *Actas XVII Mundial Congress of Prehistoric and Protohistoric Science*. Burgos, España.
- Crespo CM, Favier Dubois C, Russo MG, Lanata JL, Dejean CB. 2016. First analysis of ancient mtDNA and genetic diversity in northern Patagonia, Río Negro province, Argentina. Manuscrito presentado en la revista *Journal of Archaeological Science*.
- De Saint Pierre M, Bravi C, Motti J, Fuku N, Tanaka M, Llop E, Bonatto S, 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. doi:10.1371/journal.pone.0043486
- De Saint Pierre M, Gandini F, Perego U, Bodner M, Gómez-Carballa A, Corach D, Angerhofer N, Woodward S, Semino O, Salas A, Parson W, Moraga M, Achilli A, Torroni A, Olivieri A. 2012b. Arrival of Paleo-Indians to the Southern Cone of South America: New Clues from Mitogenomes. *Plos One* 7:e51311. doi: 10.1371/journal.pone.0051311
- Dejean CB, Keyser C, Avena S, Dugoujon J, Ludes B, Crubezy E, Carnese F. 2008. Análisis genético de muestras esqueléticas provenientes del Canal de Beagle. *Actas del X Congreso Asociación Latinoamericana de Antropología Biológica, La Plata*.
- Dejean CB, Crespo CM, Carnese FR, Lanata JL. 2014. Ancient DNA research, scope and limitations. First genetic analysis in museum samples from San Julian, Santa Cruz, Argentina. En: Kligmann D, Morales M, editores. *Physical, chemical and biological markers in Argentine archaeology: theory, methods and applications*. Oxford: British Archaeological Reports. Archaeopress. p:53-62.
- Dissing J, Kristinsdottir M, Friis C. 2008. On the elimination of extraneous DNA in fossil human teeth with hypochlorite. *Journal Archaeol Sci* 35:1445-1452.
- Excoffier L, Lischer H. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Res* 10:564-567. doi:10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x
- Favier Dubois C, Stern C, Cardillo M. 2009. Caracterización de la distribución y tipos de obsidiana presentes en la costa rionegrina, Argentina. En: Salem M, Santiago F, Alvarez M, Piana E, Vázquez M, Mansur ME, editores. *Arqueología de Patagonia: una mirada desde el último confin*. Ushuaia: Editorial Utopías. p 349-360.
- Favier-Dubois C, Scartascini F. 2012. Intensive fishery scenarios on the north Patagonian coast (Río Negro, Argentina) during the mid-Holocene. *Quatern Int* 256:62-70. doi:10.1016/j.quaint.2011.07.041
- 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, Tivoli A, editores. *Tendencias teórico-metodológicas y casos de estudio en la arqueología de la Patagonia*. San Rafael: Museo de Historia Natural de San Rafael y Sociedad Argentina de Antropología. p 87-96.
- García F, Moraga M, Vera S, Aspíllaga E, Rothhammer F. 2004. Origen y micro-diferenciación de la población humana del archipiélago de Chiloé. *Rev Chil Hist Nat* 77:539-546. doi: 10.4067/S0716-078X2004000300012
- García F, Moraga M, Vera S, Henríquez H, Llop E, Aspíllaga E, Rothhammer F. 2006. mtDNA microevolution in southern Chile's archipelagos. *Am J Phys Anthropol* 129:473-481. doi:10.1002/ajpa.20297
- García A, Pauro M, Bravi C, Demarchi D. 2012. Phylogeography of mitochondrial haplogroup D1: an early spread of subhaplogroup D1j from Central Argentina. *Am J Phys Anthropol* 149:583-590. doi:10.1002/ajpa.22174
- García-Bour J, Pérez-Pérez A, Álvarez S, Fernández E, López-Parra A, Arroyo-Pardo E, Turbón D. 2004. Early population differentiation in extinct aborigines from Tierra del Fuego-Patagonia: ancient mtDNA sequence and Y-chromosome STR characterization. *Am J Phys*

- Anthropol 123:361-370. doi:10.1002/ajpa.10337
- García Guraieb S, Mariano C, Favier Dubois C. 2010. El buque Sur: un entierro primario múltiple de 2300 años en la costa del golfo San Matías, Río Negro, Argentina. *Magallania* 38:135-146. doi:10.4067/S0718-22442010000100008
- García-Guraieb S, Goñi R, Tessone A. 2015. Paleodemography of late Holocene hunter-gatherers from Patagonia (Santa Cruz, Argentina): an approach using multiple archaeological and bioarchaeological indicators. *Quatern Int* 356:147-158. doi:10.1016/j.quaint.2014.09.054
- Gibbon V, Penny C, Strkalj G, Ruff P. 2009. Brief communication: minimally invasive bone sampling method for DNA analysis. *Am J Phys Anthropol* 139:596-599. doi:10.1002/ajpa.21048
- Ginther C, Corach D, Penacino GA, Rey JA, Carnese FR, Hutz MH, Anderson A, Just J, Salzano FM, King MC. 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, editores. *DNA fingerprinting: state of the science*. Basel: Birkhauser Verlag. p 211-219.
- Gómez Otero J, Stern C. 2005. Circulación, intercambio y uso de obsidias en la costa de la provincia del Chubut (Patagonia argentina) durante el Holoceno tardío. *Intersecciones antropol* 6:93-108.
- González-José R, Dahinten S, Hernández M. 2001. The settlement of Patagonia: a matrix correlations study. *Hum Biol* 2:233-248. doi:10.1353/hub.2001.0019
- González-José R, García-Moro C, Dahinten S, Hernández M. 2002. Origin of Fuegian-Patagonians: a using R matrix and matrix permutation methods. *Am J Hum Biol* 14:308-320. doi:10.1002/ajhb.10033
- Hajduk A, 1981-1982. Cementerio "Rebolledo arriba", departamento de Aluminé, provincia del Neuquén. *Relaciones* 2:125-145.
- Hajduk A, Alborno 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*. Neuquén-Buenos Aires: INAPL-Universidad del Comahue. p 371-391.
- Hajduk A, Alborno A, Lezcano M. 2007. Nuevos pasos en pos de los primeros bariloenses. *Arqueología del Parque Nacional Nahuel Huapi*. En: Vázquez C, Palacios O, editores. *Patrimonio cultural: la gestión, el arte, la arqueología y las ciencias exactas aplicadas*. Bariloche: Comisión Nacional de Energía Atómica. p 175-194.
- Hubbe M, Okumura M, Bernardo D, Neves W. 2014. Cranial morphological diversity of early, middle and late Holocene Brazilian groups: implications for human dispersion un Brazil. *Am J Phys Anthropol* 155:546-558. doi:10.1002/ajpa.22607
- Kemp B, Glenn-Smith D. 2005. Use of bleach to eliminate contaminating DNA from the surface of bones and teeth. *Forensic Sci Int* 154:53-61. doi:10.1016/j.forsciint.2004.11.017
- Klöss-Brandstätter A, Sanger T, Lutz-Bonengel S, Parson W, Beraud-Colomb E, Wen B, Kong Q, Bravi C, Bandelt H. 2005. Phantom mutation hotspots in human mitochondrial DNA. *Electrophoresis* 26:3414-3429. doi:10.1002/elps.200500307
- Kuch M, Grocke D, Knif M, Gilbert M, Youngusband B, Young T, Marshall I, Willerslev E, Stoneking, M, Poinar, H. 2007. A preliminary analysis of the DNA and diet of the extinct beothuk: a systematic approach to ancient human DNA. *Am J Phys Anthropol* 132:594-604. doi:10.1002/ajpa.20536
- Lahr M. 1995. Patterns of modern human diversification: implications for Amerindian origin. *Am J Phys Anthropol* 38:163-198. doi: 10.1002/ajpa.1330380609
- Lalueza C, Pérez-Pérez A, Prats E, Cornudella L, Turbón D. 1997. Lack of founding amerindian mitochondrial DNA in extinct aborigines from Tierra del Fuego-Patagonia. *Hum Mol Genet* 6:41-46. doi: 10.1093/hmg/6.1.41
- Librado P, Rozas J. 2009. DnasP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25:1451-1452. doi:10.1093/bioinformatics/btp187
- Manriquez G, Moraga M, Santoro C, Aspíllaga E, Arriaza B, Rothhammer, F. 2011. Morphometric and ADNmt analyses of archaic skeletal remains from southwestern South America. *Chungara* 43:283-292. doi:10.4067/S0717-73562011000200009
- Martínez G, Zangrando F, Prates L. 2009. Isotopic ecology and human palaeodiets in the lower basin for the Colorado river basin, Buenos Aires province, Argentina. *Int J Osteoarchaeol* 19:281-296. doi:10.1002/oa.1057
- Martínez G, Flensburg B, Bayala, P. 2013. Chronology and human settlement in Northeastern Patagonia (Argentina): patterns of site destruction, intensity of archaeological signal and population dynamics. *Quatern Int* 301:123-134. doi: 10.1016/j.quaint.2013.03.027
- Matisoo-Smith E, Horschburgh A. 2012. *DNA for archaeologist*. Walnut Creek: Left Coast Press.
- McCulloch R, Bentley M, Purves R, Hulton N, Sugden D, Clapperton C. 2000. Climatic inferences from glacial and palaeoecological evidence at the last glacial termination, Southern South America. *J Quaternary Sci* 15:409-417. doi:10.1002/1099-1417(200005)15:4<409::AID-JQS539>3.0.CO;2-#
- Miotti L. 2003. Patagonia: a paradox for building images of the first Americans during the Pleistocene/Holocene transition. *Quatern Int* 109-110:147-173. doi: 10.1016/S1040-6182(02)00210-0
- 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 JC editor. *2do Simposio Internacional El Hombre Temprano en América*. México: CONACULTA-INAH. p 155-188.
- Miotti L, Salemme M. 2004. Poblamiento, movilidad y territorios entre las sociedades cazadoras-recolectoras de Patagonia. *Complutum* 15:177-206.
- Moraga M, Rocco P, Miquel J, Nervi F, Llop E, Chakraborty R, Rothhammer F, Carvallo P. 2000. Mitochondrial DNA polymorphisms in Chilean aboriginal populations: implications for the peopling of the Southern Cone of the continent. *Am J Phys Anthropol* 113:19-29. doi:10.1002/1096-8644(200009)113:1<19::AID-AJPA3>3.0.CO;2-X
- Moraga M, de Saint Pierre M, Torres F, 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. doi:10.4067/S0718-22442010000200006
- Morello F, Borrero LA, Massone M, Stern C, García-Herbst A, McCulloch R, Arroyo-Kalin M, Calás E, Torres J, Prieto A, Martínez I, Bahamonde G, Cárdena, P. 2012. Hunters-gatherers, biogeographic barrier and development of human settlement in Tierra del Fuego. *Antiquity* 86:71-87. doi:10.1017/S0003598X00062463
- Neves W, Prous A, González-José R, Kipsnir R, Powell J. 2003. Early human skeletal remains from Santa Do

- Riacho, Brazil: implications for the settlement of the new world. *J Hum Evol* 45:19-42. doi:10.1016/S0047-2484(03)00081-2
- Oksanen J, Kindt R, Legendre P, O'Hara B, Simpson G, Soilymos P, Henry M, Stevens H, Wagner H. 2009. *Vegan: community ecology package*. R package version 1.15-4. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- Orquera L, Piana E. 1999. Arqueología de la región del canal de Beagle. Publicaciones de la Sociedad Argentina de Antropología. Buenos Aires: Sociedad Argentina de Antropología.
- Orquera L, Gómez Otero J. 2007. Los cazadores -recolectores de las costas de Pampa, Patagonia y Tierra del Fuego. *Relaciones* 32:75-99.
- Pérez A, 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. doi: 10.4067/S0718-22442009000100009
- Pérez I, Bernal V, González P. 2007. Morphological differentiation of aboriginal human populations from Tierra del Fuego (Patagonia): implications for South American peopling. *Am J Phys Anthropol* 133: 067-1079. doi:10.1002/ajpa.20633
- Ponce J, Rabassa J, Coronato A, Borrromei A. 2011. Palaeogeographical evolution of the Atlantic coast of Pampa and Patagonia from the Last Glacial Maximum to the Middle Holocene. *Biol J Linn Soc* 103:363-379. doi:10.1111/j.1095-8312.2011.01653.x
- Postillone MB, Dejean, CB. 2013. Análisis preliminar de estudios de ADN antiguo e muestras del Museo Regional de Rada Tilly, Chubut. *Actas XVIII Congreso Nacional de Arqueología Argentina*, La Rioja, Argentina.
- Postillone MB, Dejean CB, Serna A, Prates L. 2015. Ancestría genética de dos individuos inhumados en tiempos de la Campaña del Desierto (Sitio Chimpay, Río Negro). *Actas XII Jornadas Nacionales de Antropología Biológica*, Corrientes, Argentina.
- Postillone MB, Flensburg G, Dejean CB, Martínez G. 2016. Linajes maternos de los individuos del sitio arqueológico Paso Alsina I (Patagones, Buenos Aires). *XIX Congreso Nacional de Arqueología Argentina*, Tucumán, Argentina.
- Prates L, Politis G, Steele J. 2013. Radiocarbon chronology of the early human occupation of Argentina. *Quatern Int* 301:104-122. doi:10.1016/j.quaint.2013.03.011
- Pucciarelli H. 2009. Explicando el Paleoamericano y su probable extinción a través de inferencias comparativas y experimentales. *Runa* XXX:9-27.
- QGis DT. 2011. Quantum Gis geographic information system. En: *Open Source Geospatial Foundation Project*.
- R Core Team 2014. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Rabassa J, Coronato A, Gordillos S, Candel M, Martínez M. 2009. Paleoambientes litorales durante el inicio de la transgresión marina Holocena en Bahía La Pataia, canal de Beagle, Parque Nacional Tierra del Fuego. *Rev Asoc Geol Arg* 65:648-659.
- Russo M, Gheggi M, Avena S, Dejean C, Cremonte M. 2016. Linajes mitocondriales en muestras de esquina de Huajra (Jujuy, Argentina). Aportes al estudio de la ocupación incaica en la región y la procedencia de sus habitantes. *Revista Argentina de Antropología Biológica*, en este volumen.
- Sardi M, Ramirez-Rozzi F, González-José R, Pucciarelli H. 2005. South Amerindian craneofacial morphology: diversity and implications for Amerindian evolution. *Am J Phys Anthropol* 128:747-756. doi:10.1002/ajpa.20235
- Silveira M, López L, Pastorino G. 2010. Movilidad, redes de intercambio y circulación de bienes en el Sudoeste de Neuquén (Norpatagonia, Argentina). *Los moluscos marinos del Lago Triful*. Intersecciones antropol 11:227-236.
- Soares P, Ermini L, Thomson N, Mormina M, Rito T, Röhl A, Salas A, Oppenheimer S, Macaulay V, Richards M. 2009. Correcting for purifying selection: an improved human mitochondrial molecular clock. *Am J Hum Genet* 84:740-759. doi: 10.1016/j.ajhg.2009.05.001
- Stern C, Pereda I, Aguerre A. 2012. Multiple primary and secondary source for chemically similar obsidians from the area of Portada Conuenco, west-central Neuquen, Argentina. *Archaeometry* 54:442-453. doi:10.1111/j.1475-4754.2011.00642.x
- Tamura K, Nei M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol Biol Evol* 10:512-526.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony methods. *Mol Biol Evol* 28: 2731-2739. doi:10.1093/molbev/msr121
- Tessone A, Zangrando F, Barrientos G, Valencio S, Panarello H, 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. doi:10.4067/S0718-22442005000200003
- Van Oven M, Kayser M. 2008. Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA. *Hum Mutat* 30:e386-e394. doi:10.1002/humu.20921
- Yang D, Watt, K. 2005. Contamination controls when preparing archaeological remains for ancient DNA analysis. *J Archaeol Sci* 32:331-336. doi: 10.1016/j.jas.2004.09.008
- Zubimendi M, Ambrustolo P, Zilio L, Castro A. 2015. Continuity and discontinuity in the human use of the North Coast of Santa Cruz (Patagonia Argentina) through its radiocarbon record. *Quatern Int* 356:127-146. doi:10.1016/j.quaint.2014.09.035