

**ANÁLISIS DE ADN MITOCONDRIAL EN RESTOS ÓSEOS HUMANOS
PREHISPÁNICOS:
FILIACIONES INTRA E INTER POBLACIONALES EN COLOMBIA.**

DANIEL ALFREDO URICOECHEA PATIÑO

UNIVERSIDAD DE LA SABANA DOCTORADO EN BIOCENCIAS 2023

**ANÁLISIS DE ADN MITOCONDRIAL EN RESTOS ÓSEOS HUMANOS
PREHISPÁNICOS:
FILIACIONES INTRA E INTER POBLACIONALES EN COLOMBIA.**

DANIEL ALFREDO URICOECHEA PATIÑO

Biólogo

**Tesis o trabajo de investigación presentada como requisito parcial para optar al título de:
Doctor en Biociencias**

DIRECTOR:

IGNACIO BRICEÑO BALCÁZAR. PHD

UNIVERSIDAD DE LA SABANA DOCTORADO EN BIOCIENCIAS 2023

Agradecimientos

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a mi director Ignacio Briceño Balcázar por brindarme su guía y apoyo, convirtiéndose en el faro que iluminó mi camino a lo largo de esta investigación. Su respaldo y confianza han sido un tesoro inestimable, no solo en el desarrollo de este proyecto, sino también en mi crecimiento personal y profesional. Agradezco su generosidad al proporcionarme los recursos necesarios para llevar a cabo todas las actividades propuestas, desde mis primeros pasos en el doctorado hasta las interacciones con destacados expertos en genética.

Quiero extender mi gratitud a mis compañeros de grupo, quienes se encuentran inmersos en maestrías, doctorados o en el ámbito laboral. Sus valiosos conocimientos y experiencias, tanto profesionales como personales, han sido una fuente inagotable de aprendizaje. Durante mis estancias en el laboratorio, su colaboración ha sido de gran ayuda. Agradezco su pronta y atenta disposición para resolver mis dudas y preocupaciones, lo cual se reflejó en los logros obtenidos.

Deseo ofrecer un agradecimiento especial a José Vicente Rodríguez, del Laboratorio de Antropología Física de la Universidad Nacional de Colombia, por su inestimable colaboración al proporcionar acceso a las muestras óseas y compartir su amplio conocimiento con nosotros. También quiero expresar mi gratitud a aquellos amigos y profesores que han estado a mi lado durante mi travesía personal en la Universidad de La Sabana y durante mi breve estancia en la Universidad de Southampton en el Reino Unido. Agradezco especialmente a Andrew Collins por aceptar ser mi colaborador durante esta experiencia, confiando en mis metas y logrando resultados sorprendentes.

Y, por supuesto, mi más profundo y sincero agradecimiento va dirigido a mi familia. Sin su apoyo, colaboración e inspiración, esta ardua tarea no habría sido posible. A mi madre, Nubia, le agradezco su ejemplo de tenacidad y honestidad, así como su apoyo económico. A mi hermano Camilo, le agradezco su compañía y momentos de diversión. A mis abuelos, tíos y primos, les agradezco su amor incondicional, que recargó mi vida de fuerzas para enfrentar grandes desafíos. Y a mi hermosa esposa, quien representa la ternura que hace que mi vida sea un torbellino de amor y sonrisas.

Por último, pero no menos importante, deseo agradecer a la Universidad de La Sabana por brindarme acceso a sus laboratorios, donde pude llevar a cabo este trabajo y conocer a excelentes profesionales que enriquecieron mi limitada experiencia con su vasto conocimiento.

RESUMEN

El análisis genético de 33 muestras de nativos americanos antiguos de tres localidades en Colombia

reveló una alta diversidad genética y la presencia de haplogrupos fundadores en cuatro poblaciones americanas. El estudio identificó haplotipos distintos asociados con diferentes regiones y poblaciones.

El haplogrupo A5 incluía haplotipos exclusivos presentes en las poblaciones actuales de América Central, mientras que el haplogrupo A2ah consistía en haplotipos de Bolivia, y el haplogrupo A2i contenía haplotipos del centro de Estados Unidos. Además, se identificaron los haplogrupos A2ad2 y A2af1b1, siendo este último el que englobaba haplotipos de poblaciones nativas americanas dispersas por América Central.

Dentro del haplogrupo B, los subhaplogrupos B2 y B2a se asociaron con comunidades nativas americanas a lo largo de la costa noroeste de Estados Unidos y Canadá, mientras que el subhaplogrupo B2g1 se relacionó con los habitantes actuales de San Diego y México. El subhaplogrupo B4 presentó tres haplotipos distintos: B4j, que era único y no se encontraba en ninguna otra parte del mundo; B4a1c3, que mostraba conexiones con Asia oriental, América Central y del Sur; y B4c1a1a, que se ha reportado previamente en Asia oriental.

El haplogrupo C1 presentó dos haplotipos (C1C4 y C1b5b) y mostró una distribución en toda América Latina. El haplogrupo D presentó dos haplotipos: D4h3a, asociado con una segunda migración costera hacia América, y D4j1a, que se sugiere que se originó en Asia oriental, pero también se ha encontrado en otras regiones como el centro de Estados Unidos, Irán y Hong Kong.

Estos hallazgos proporcionan evidencia de la heterogeneidad inter-poblacional entre las poblaciones prehispánicas en Colombia, destacando el paisaje genético diverso y la compleja historia poblacional de la región.

ABSTRACT

The genetic analysis of 33 ancient Native American samples from three locations in Colombia revealed high genetic diversity and the presence of founding haplogroups for four American populations. The study identified distinct haplotypes associated with different regions and populations.

Haplogroup A5 included exclusive haplotypes found in current Central American populations, while haplogroup A2ah consisted of haplotypes from Bolivia, and haplogroup A2i contained haplotypes from the central United States. Additionally, haplogroups A2ad2 and A2af1b1 were identified, with the latter encompassing haplotypes from scattered Native American populations across Central America.

Within haplogroup B, subhaplogroups B2 and B2a were linked to Native American communities along the northwest coast of the United States and Canada, while subhaplogroup B2g1 was associated with present-day inhabitants of San Diego and Mexico. The B4 subhaplogroup exhibited three distinct haplotypes: B4j, which was unique and not found elsewhere in the world; B4a1c3, which showed connections to East Asia, Central, and South America; and B4c1a1a, previously reported in East Asia.

The C1 haplogroup presented two haplotypes (C1C4 and C1b5b) and displayed distribution throughout Latin America. The D haplogroup showed two haplotypes: D4h3a, associated with a second coastal migration to the Americas, and D4j1a, which was suggested to have originated in East Asia but has also been found in the central United States, Iran, and Hong Kong.

These findings provide evidence for inter-populational heterogeneity among Pre-Hispanic populations in Colombia, highlighting the diverse genetic landscape and complex population history of the region.

1. INTRODUCCIÓN

Los estudios arqueológicos en Colombia muestran una ocupación que data de aproximadamente 8000 a.C., generalmente diferenciada en tres periodos: una ocupación temprana de cazadores-recolectores, y dos grupos diferenciados de alfareros y agricultores, que fueron encontrados por los conquistadores españoles en el siglo XVI. Estos grupos fueron conocidos, según la toponimia registrada en las crónicas, con nombres que dieron origen a diferentes toponimias como los Calimas, Aburráes y Laches.

Las discusiones y problemáticas arqueológicas más recientes han propuesto la existencia de tres periodos prehispánicos: el periodo Agroalfarero, entre 500 y 900 d.C. ± 100 años; el Formativo, entre 1400 a.C. y 400 a.C. ± 200 años; y el Paleoindio, entre 5000 a.C. y 8000 a.C. ± 2000 años.

Los principales modelos que sentaron las bases de dicha propuesta han sido enriquecidos, así como cuestionados, por posteriores investigaciones arqueológicas y genéticas.

Evidencias arqueológicas sugieren sucesivas oleadas migratorias procedentes del norte del país que se asentaron en grandes valles, logrando una integración regional que constituyeron grupos tardíos de mayor densidad poblacional, alcanzando un alto nivel de organización social y político con una economía que se sustentaba en la producción de productos agrícolas (Rodríguez Cuenca, 1999), asentamientos que permitió la diferenciación de una gran variedad de poblaciones nativo americanas en Colombia y una gran diversidad de lenguas.

La extracción y el análisis de ADN antiguo (aADN) provenientes de restos óseos encontrados en excavaciones arqueológicas indígenas se ha empleado generalmente para tratar de profundizar los orígenes de la población de Colombia, a fin de conocer la estructura genética de dichas poblaciones y en tratar de resolver algún tipo de relación genética entre estas poblaciones (paleo indios, poblaciones

actuales) en base en la estructura genética encontrada y dar soporte u otra alternativa en el marco de las filiaciones genéticas que se encuentren (Reemplazos, migraciones, mezclas), información genética valiosa que nos darán pautas para desarrollar la teoría del poblamiento a través del tiempo en nuestros territorios por parte de comunidades prehispánicas.

Aunque actualmente la posibilidad de analizar por estos medios grupos indígenas ya extintos ha estado en constante mejoramiento continuo, existe una gran cantidad de rescates arqueológicos que se deben estudiar, hasta lograr tener una base de datos grande de la mayoría de polimorfismos de secuencia de ADN mitocondrial (ADNmt) encontrados en los diferentes grupos indígenas que habitaron Colombia y que es necesario rescatar e investigar.

Con este trabajo se pretende establecer la estructura genética de 3 grupos poblacionales prehispánicos “Calima”, Lache y Aburráes, de Colombia para estipular las relaciones filogenéticas de estos individuos entre sí y con otros grupos de interés. Este conocimiento dará contribuciones desde un punto de vista molecular la naturaleza genética de las comunidades precolombinas que poblaron el territorio colombiano y su relación con grupos nativos americanos y pobladores antiguos y actuales.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general:

- Establecer la estructura genética y las relaciones filogenéticas intrapoblacionales de ocupación prehispánica del Valle del Cauca (Palmira), Antioquia (Aburráes) y Boyacá (Laches) e interpoblacional con otros grupos humanos.

2.2. Objetivos específicos:

- Determinar la variabilidad genética con base en el análisis de las secuencias de la región hipervariable I (HVSI) del ADNmt.
- Caracterizar la diversidad genética y las relaciones de parentesco de las poblaciones mediante la determinación de los diferentes polimorfismos encontrados.

3. MARCO TEÓRICO

Colombia, debido a su ubicación privilegiada en el istmo centroamericano y su variada geografía, ha sido un punto de paso y asentamiento para diversas poblaciones con diferentes lenguas a lo largo de los siglos. Este flujo migratorio ha contribuido a la notable diversidad lingüística y genética que se encuentra en el país. El conocimiento de las lenguas indígenas ha aumentado con el tiempo, y se han realizado estudios sobre la estructura genética de la población colombiana. Sin embargo, es importante seguir investigando para obtener nuevos elementos que ayuden a comprender mejor esta estructura genética y complementar los hallazgos existentes utilizando técnicas moleculares actuales y nuevos marcadores genéticos.

El origen y poblamiento de los seres humanos se remonta a hace cientos de miles de años. Los primeros homínidos como el *Homo erectus* y el *Homo neanderthalensis* evolucionaron en Europa y Oriente Medio, mientras que el *Homo sapiens*, el ancestro más reciente del ser humano moderno, apareció en África. Los hombres de Neanderthal y Cromañón coexistieron en Europa occidental durante un período de tiempo, y se ha postulado que no son ancestros directos de los humanos modernos, sino una especie o línea evolutiva separada.

En cuanto al poblamiento de América, existen diferentes teorías. Algunos investigadores sostienen que los seres humanos llegaron desde Asia a través del Estrecho de Bering, mientras que otros sugieren que también hubo migraciones desde el océano Pacífico o incluso a través de la Antártida.

En el contexto de Colombia, existen más de 80 etnias indígenas que conservan sus propios idiomas. Estas etnias pertenecen a diversas familias lingüísticas, como la chibcha (kogui, wiwa, arhuaco, tule, chimila y u'wa), caribe (yukpa, carijona), arawak (wayuunaiki, kurripako, piapoco, yukuna), barbacoa (awá, guambiano), chocó (embera y wounaan), guahibo (sikuani, cuiba, hitnu, iguanito, guayabero), tucano (desano, piratapuyo, cubeo, tanimuca, coreguaje, siona), macú-puinave (nukak, jupda, puinave),

witoto-bora, sáliba, quechua (hablado por los Inga), entre otros. Algunas lenguas, como los camsá, kofán y tikuna, no se ha determinado con certeza a qué familia lingüística pertenecen.

Es importante destacar que muchas de estas lenguas indígenas están en peligro de extinción o ya se han extinguido, debido a la influencia de la conquista europea y a la pérdida de transmisión intergeneracional. La preservación de estas lenguas es fundamental para mantener viva la diversidad cultural y lingüística de Colombia, así como para comprender la historia y los orígenes de las poblaciones actuales.

La diversidad étnica en Colombia también se refleja en la presencia de comunidades afrocolombianas, que tienen sus propias tradiciones culturales y, en algunos casos, lenguas criollas basadas en el español y las lenguas africanas traídas por los esclavos durante la época colonial.

3.1. Valle del Cauca

El Valle del Cauca constituye uno de los treinta y dos departamentos que, junto con Bogotá, Distrito Capital, integran la República de Colombia. Su sede administrativa es Santiago de Cali y se encuentra situado en la región Andina y Pacífico. Limita al norte con Chocó y Risaralda, al este con Quindío y Tolima, al sur con Cauca y al oeste con el océano Pacífico.

- **Periodos de ocupación Prehispánica**

En el Valle del Cauca, se pueden distinguir dos áreas principales de ocupación prehispánica en la cordillera Occidental: la cultura Ilama, que se remonta a principios del Holoceno, aproximadamente entre 9.600 y 4.000 años a.C., y otra población conocida como Yotoco, que tuvo su existencia alrededor de los siglos I y V-VIII d.C.

Durante el periodo Ilama, también denominado Bolo Temprano, las comunidades aprovecharon los suelos fértiles de origen aluvial y volcánico de la cordillera Occidental y el valle de inundación del río Cauca. Estas poblaciones desarrollaron una economía centrada en la agricultura y la caza, construyendo

canales y jarillones para gestionar el agua. En la cordillera Occidental, las viviendas se ubicaban en terrazas artificiales, mientras que en el valle se utilizaban viviendas palafíticas para evitar las inundaciones. La cerámica de este periodo se caracterizaba por ser fina, con colores rojos sobre crema y decoración incisa.

Durante este tiempo, se destacaban las representaciones del chamán o sabedor, asociadas con la capacidad de transformarse en animal durante estados de trance. También se encontraban representaciones femeninas frecuentes en las figuras antropomorfas, mostrándolas con cabello lacio, collares y adornos corporales. En cuanto a las representaciones masculinas, variaban, sugiriendo posibles distintas categorías de individuos dentro de la sociedad Ilama.

Las prácticas funerarias en este periodo se caracterizaban por la presencia de cementerios extensos en la cima de las lomas y agrupaciones de tumbas en las áreas planas. En algunos casos, se descubrieron tumbas majestuosas con cámaras amplias y una gran cantidad de objetos, como máscaras y alcarrazas zoomorfas.

Posteriormente, entre finales del primer milenio a.C. y mediados del primer milenio d.C., las poblaciones experimentaron un periodo prolongado de humedad, lo que las llevó a retirarse hacia terrenos más elevados. Durante esta época, se evidencia la transición entre Ilama y Yotoco como una evolución del periodo anterior. En la región Calima, se construyeron camellones y zonas de drenaje.

- **Período Yotoco**

El periodo comprendido entre los siglos I y V-VIII d.C. en la región Calima, situada en la cordillera Occidental, constituye un periodo de gran interés arqueológico. Durante esta época, se observa una cierta homogeneidad en el periodo Ilama, mientras que el periodo Yotoco experimenta una diversificación y expansión territorial que alcanza incluso Guacarí al norte. Esto da origen al Yotoco clásico en la región Calima y al Malagana en el río Bolo y parte del valle del río Cauca.

No existe un consenso sobre las fechas exactas de inicio y finalización de este periodo, indicando una duración variable en diferentes regiones donde tuvo lugar su expansión territorial. Además, la transición entre los periodos Ilima y Yotoco fue gradual, con desarrollos paralelos e independientes tanto en la región Calima como en el valle del río Cauca.

Durante este periodo, se registró un notable aumento de la población, y se construyeron terrazas más amplias, conocidas como "tambos", en las laderas para la vivienda. Se estableció una extensa red de caminos, y se crearon sistemas de eras y zanjas para la agricultura, especialmente para cultivos como maíz, calabaza, frijol y otros productos agrícolas en el valle del Dorado. También se intensificó la deforestación.

En el valle del río Cauca, se encuentran evidencias de ocupación desde los inicios del primer milenio d.C., en sitios como el río Bolo, Coronado y otros lugares tempranos (Malagana, La Cristalina, Coronado, Estadio Deportivo Cali, Santa Bárbara, El Sembrador) que datan aproximadamente del 400 a.C. al 500 d.C. Estos sitios podrían representar variantes regionales del periodo Yotoco.

En relación con la cerámica, se clasifica en categorías de burda, intermedia y fina. Las vasijas del grupo burdo son grandes y simples, de color marrón oscuro, con paredes gruesas y sin decoración. Las vasijas del grupo intermedio son más pequeñas y delgadas, a veces con engobe rojo e incisiones en el borde, y algunas pueden presentar un rostro modelado en el cuello. Las vasijas finas, características del estilo Yotoco, son pequeñas, de paredes delgadas, con arena fina en la pasta y colores rojo, naranja, crema o una combinación de estos colores.

En cuanto a la orfebrería de este periodo, uno de los temas predominantes es el "rostro Yotoco", que puede representar un rostro humano o divino, o una combinación de humano y animal. Estos rostros se

encuentran en elementos como alfileres, pendientes y palillos utilizados para extraer la cal de los poporos. Además, se han descubierto máscaras ceremoniales con rostros Yotoco.

El contexto arqueológico de Coronado, ubicado en Palmira, es de interés. El sitio se encuentra en una terraza aluvial subsecuente y antigua, con suelos fértiles provenientes de los zanjones Mirriñao y Zambrano. Durante la excavación, el sitio se dividió en tres áreas, cada una con distintas estructuras antrópicas y tumbas. Las tumbas eran en su mayoría de pozo con fosa frontal, con diferentes formas y orientaciones de los esqueletos. La mayoría de las tumbas eran entierros primarios, donde los cuerpos se inhumaban inmediatamente después de la ceremonia mortuoria.

Se estima que el yacimiento de Coronado se ubica cronológicamente entre el 200 a.C. y el 200 d.C., aunque estas fechas son aproximadas y pueden variar según las evidencias encontradas.

Tabla 1 Fechas de radiocarbono de las tumbas de Coronado

Código	Tumba	Beta-Analytic	Fecha	Calibrada
Cal 5	5	121151	200±70 d.C.	120-435 d.C.
Cal 10	10	121153	140±40 d.C.	
Cal 17	17	121154	140±50 d.C.	
Cal 47	47	121155	10±30 d.C.	
Cal 6	6	121152	200±80 a.C.	385 a.C-25 d.C

3.2. Jericó (Boyacá)

Jericó es una localidad colombiana situada en la provincia de Valderrama, dentro del departamento de Boyacá. Se halla a una distancia de 158 km de Tunja, la capital departamental. Destaca por ser el

municipio más elevado de Boyacá y ocupa el tercer lugar en cuanto a altitud a nivel nacional en Colombia.

- **Los Laches**

Las antiguas civilizaciones que denominaremos población Lache se encontraba ubicada en el extremo norte del altiplano Cundiboyacense; en la parte media del valle formado por el río Chicamocha, en su margen derecha, en términos de los municipios actuales de Jericó y Chita. Altitudinal mente oscila entre los 1.600 y 3.700 msnm. La temperatura en la zona fluctúa entre los 10-12° C. en las zonas más altas de clima frío y de páramo; hasta los 24° C. en las márgenes de los ríos Chicamocha y Chitano, lugares donde predomina el clima frío seco y templado seco. La precipitación promedio anual oscila entre los 500-2.000 mm, en cercanías a los ríos Chicamocha y Chitano, hasta 2.000-4.000 mm, en las áreas de mayor altitud. Las coordenadas aproximadas de sus puntos extremos son: 6° 05' a los 6° 12' de Latitud Norte y los 72° 25' a 72° 40' de Longitud al Oeste de Greenwich.

- **Geomorfología**

Desde el punto de vista geológico, esta región se atribuye principalmente al periodo Cretáceo. Este periodo se caracteriza por una sucesión de transgresiones marinas y por las variaciones en el nivel del suelo del Miogeosinclinal de la Provincia Andina Oriental.

Geomorfológicamente es una provincia montañosa cortada por ríos, quebradas y zanjones, su topografía es abrupta; originada por los fuertes movimientos tectónicos a que fue sometida la Cordillera Oriental y a las aguas de escorrentía que han formado las quebradas y los ríos. Las geoformas del área determinan que su relieve sea quebrado presentando grandes diferencias altitudinales, atravesadas por valles y cañones con pendientes superiores al 70%; en varios lugares se presentan pequeñas mesetas o terrazas con inclinaciones suaves. Existen en algunas de ellas indicios de asentamientos indígenas, que se

evidencian por la presencia en superficie de elementos culturales (cerámica y lítica).

Los principales cursos de agua son los ríos Chicamocha y Chitano, que cruzan la región de norte a sur y de oriente a occidente respectivamente, en los cuales desembocan gran número de quebradas y cursos de agua menores. Ambos forman profundos cañones, donde se manifiestan diferencias ambientales notorias en distancias relativamente cortas.

- **Paleo clima**

En época prehispánica el clima de la región fue probablemente más húmedo; aunque era una región que presentaba problemas de sequedad. Las diferencias básicas, con la época actual, radicaban en el uso de la tierra lo que tenía implicaciones al nivel de su cobertura. Existiendo una mayor protección para el suelo debido a la existencia de mejor cobertura vegetal. Asimismo, aunque los vestigios arqueológicos son abundantes, debido al prolongado lapso de ocupación de la zona, debió existir una menor presión por los recursos naturales lo que conllevó a una mayor diversidad y abundancia de flora y fauna (Hammen, 1992) Intercalados con las áreas de bosque y vegetación baja habría parcelas para cultivos de subsistencia; este medio sería muy propicio para la caza de fauna silvestre (venados, aves, roedores, lagartos, ranas, insectos, etc.) y la recolección de recursos del bosque (miel). Desde este ecosistema se tendría un fácil acceso a los páramos, donde practicarían la caza y recolección de productos para la alimentación, medicina, construcción, etc. Este es el caso de la trementina que se obtendría en los páramos (a partir del frailejón -*Espeletia grandiflora*-) y cuyo uso sería la iluminación.

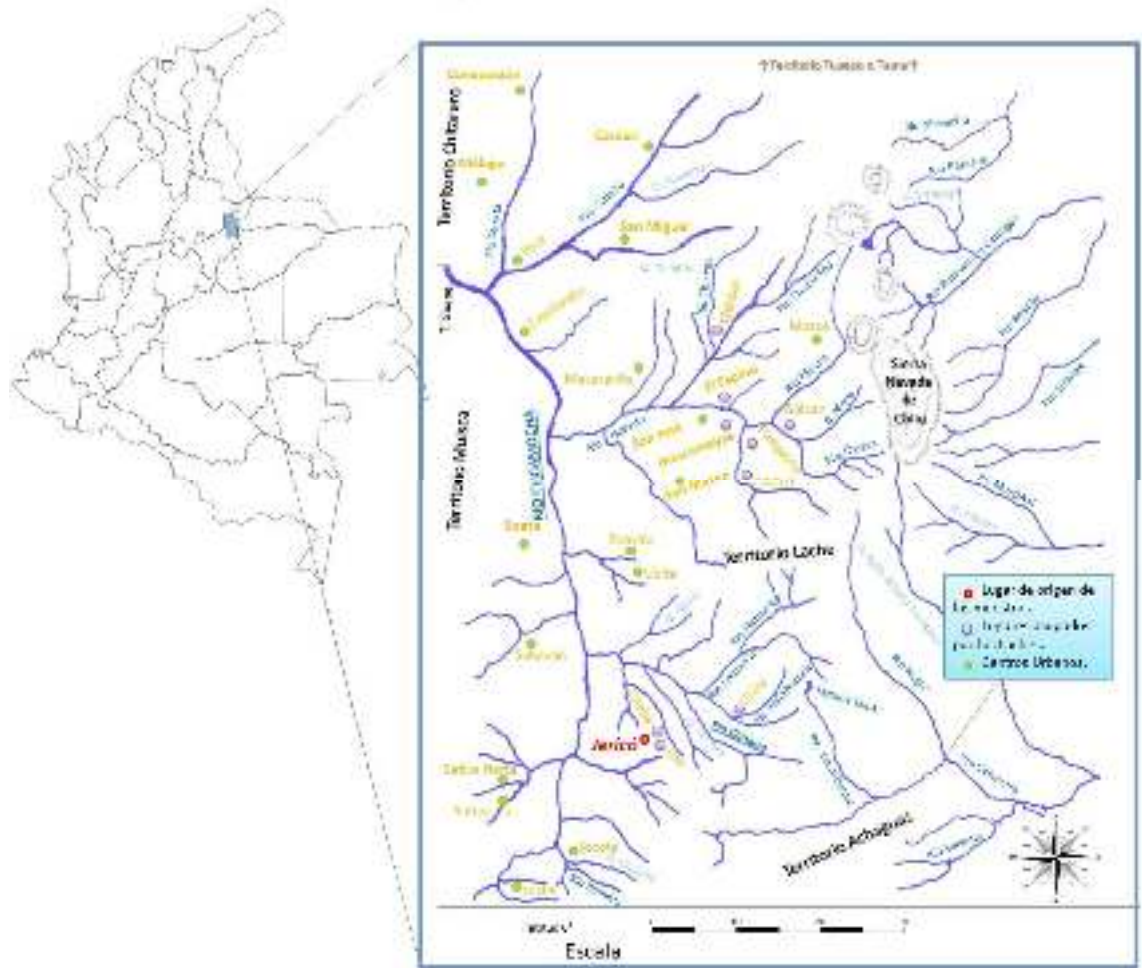


Figura 1 Mapa de Ubicación de los Laches

- **Etnografía de los Laches.**

En el siglo XVI, al llegar los españoles a la región de Chita y Jericó, habitada por comunidades de la etnia Lache o U'wa, específicamente los cacicazgos de Chita, Ura, Cheva y Ogamora dentro de la confederación del Cocuy, se observa que estas comunidades rendían tributo al cacique del Cocuy antes de la llegada de los cristianos. La información etnohistórica disponible proporciona detalles sobre la organización social, actividades económicas y densidad poblacional de estas comunidades.

En el repartimiento de Chita, encomendado a Gonzalo Jiménez de Quesada y Fernando Berrio en el siglo XVI y XVII, se destaca la complejidad socio-política de la región. Se identifican caciques y capitanes como Don Miguel, Don Juan, Don Pablo, Francisco, entre otros, que gobernaban diferentes parcialidades. La densidad poblacional era notable, y se mencionan lugares como Bichacuca, Bimiza y Chichaguey, cuyos caciques tenían subordinados a varios indígenas.

La ausencia de la mención de la parcialidad de Chita en documentos de la visita de Juan López de Cepeda en 1571 suscita interrogantes sobre su existencia como entidad independiente. Se sugiere que Bichacuca fue una parcialidad crucial, evidenciada por la cantidad de tributos, especialmente mantas de algodón, que entregaban al encomendero.

Chita se destacó económicamente en la colonia, especialmente en la producción textil. Los caciques y capitanes de Chita pagaban tributo en mantas de algodón, cueros de venado y trementina. Este tributo, junto con los servicios personales, evidencia la complejidad organizativa de las parcialidades y su capacidad para cumplir con las demandas del encomendero.

La caza de venados desempeñaba un papel crucial en la economía de Chita, y los indígenas dedicaban cueros de venado como tributo, utilizados también en la confección de petacas y otros objetos. Se destaca la posible importancia de la domesticación del venado y su papel simbólico en la mitología de

la región.

La información documental, aunque se centra en el siglo XVI, arroja luz sobre la ocupación prolongada de la región y sirve como guía para la prospección arqueológica, revelando la presencia de comunidades prehispánicas, en particular los Laches, desde siglos antes de la llegada de los europeos.

- **Descripción de los restos encontrados en Jericó**

Los restos arqueológicos fueron analizados con base en el Método de Reconstrucción Biológica, en el nivel de análisis individual (Rodríguez, 1994). A partir de la individualización de la muestra por sexo y edad, se procedió a la caracterización morfológica de la población.

- **Individuo Lac 3**

De los 6 individuos que conforman la muestra, éste presenta mayor grado de alteración, evidenciado en sus escasos huesos registrados; razón que imposibilita un detallado estudio, llevando a considerar que se trata de un espécimen en mal estado de conservación.

Los pocos rasgos de dimorfismo sexual apreciados en el fragmento iliaco, permiten estimar que se trata de un individuo adulto de sexo masculino. La escotadura ciática tiende a ser homogénea, lo que nos llevaría a pensar en el sexo opuesto, no obstante, predominan los rasgos característicos masculinos en los otros segmentos, es así como la morfología de huesos largos, también denota la complexión física bien desarrollada del individuo.

Edad: 35-40 años, Sexo: Masculino

- **Individuo Lac 21**

Se trata de un individuo adulto masculino que presenta la mayor parte de sus huesos, aunque en regular

estado de conservación, dadas las condiciones del terreno de inhumación, pese a ello hay que destacar el "buen" estado en que se encuentra el sistema dental.

Sobre el rostro hay huellas de exposición al fuego, que afectaron principalmente la parte derecha, comprometiendo la capa periódica en los huesos de la cara y superficie vestibular de los dientes. Por otra parte, presenta incisivos en pala grado 5 según escala de (0-6) en laterales y un poco menor en los centrales.

No fue posible reconstruir la estatura ni determinar la lateralidad, debido tanto a la ausencia como al precario estado de los huesos. Con relación a las diferentes características osteológicas analizadas en el esqueleto craneal: obliteración de las suturas, desgaste dental; en la superficie auricular del ilion se advierten puntos de micro porosidad que indican que se trata de un individuo adulto joven, la obliteración de la región pélvica sugiere una edad mayor de 20 y menor de 25 años.

Edad: 20-25 Sexo: Masculino

Estatura según tibia: $155 \pm 2,81$ cm.

- **Individuo Lac 25**

Por los rasgos osteológicos analizados en los diferentes huesos del esqueleto, la edad del individuo comprende entre los 15 y 20 años. Aunque se desconocen las características de cráneo y sistema dental.

Los centros secundarios de osificación permiten aproximar su edad en la cohorte de 18 a 20 años.

Para los efectos correspondientes a la reconstrucción de estatura sólo se pudo medir la tibia derecha: 156 ± 2.81 cm. Las pocas expresiones de actividad muscular expresadas en la cintura escapular nos orientan a considerar que el individuo era diestro.

Edad: 15-20 Sexo: Masculino

Estatura según tibia: $156 \pm 2,81$ cm

- **Individuo Lac 26**

De la muestra de estudio, por sus características osteo biológicas este es el individuo más joven, pues corresponden a un infante. Los huesos están fragmentados, las partes recuperadas son porciones epifisarias de huesos largos.

El individuo presenta dentición mixta (decidual y permanente). Con relación a la secuencia de formación y erupción dental propuesta por Ubelaker, la edad aproximada del individuo está alrededor de los 6 años ± 24 meses (Ubelaker, 1989:115). Las características sexuales presentes en el cráneo, especialmente en la mandíbula: alvéolos de caninos en forma de U, sobresaliendo con relación a los demás dientes, mentón prominente y cuadrangular, región goniaca más pronunciada (Schutkosky, 1983 en Rodríguez, 1993: 138), permiten inferir que corresponde a un individuo de sexo masculino.

- **Individuo Lac 31**

De los seis individuos que conforman la muestra, éste presenta menor grado de alteración. Se trata de un individuo adulto medio, medianamente robusto. Se advierte un desgaste dental homogéneo más acentuado que en el maxilar. Pérdida postmortem de incisivo lateral izquierdo. Marcada acumulación de cálculo tanto en incisivos como en caninos, en estos últimos se presenta cresta distal accesoria y líneas hipoplásicas en su tercio cervical. En términos generales, se refleja un marcado estrés medioambiental, reflejado en la agenesia y las hipoplasias.

Edad: 20-25 Sexo: Masculino

Estatura según tibia: $156 \pm 2,81$ cm

- **Individuo Lac 50**

No se encuentra información.

3.3. El Valle de Aburrá

El Valle de Aburrá, ubicado en el centro de Antioquia, Colombia, presenta una población de aproximadamente 3,213,000 habitantes y abarca 10 municipios. La información sobre los Aburráes es limitada debido a la expansión urbana que ha borrado muchos sitios arqueológicos. La investigación de Graciliano Arcila ha contribuido a trazar la historia social del valle a lo largo de unos 10,000 años.

En el ámbito arqueológico, se han identificado períodos como el Tardío y de Contacto, desde el siglo IX hasta el XVI. Sitios como El Volador y La Colinita han revelado entierros característicos del período Tardío. La ocupación temprana se sugiere en la ladera oriental, mientras que la occidental, con sitios como El Volador, estuvo ocupada principalmente por los indios aburráes durante el Tardío.

La cronología propuesta abarca desde cazadores-recolectores hace 10,000 años hasta las sociedades agrícolas y alfareras encontradas por los conquistadores en el siglo XVI. El período de Tardío, entre los siglos IX y XVI, se caracteriza por cambios en la cerámica y las prácticas funerarias, con tumbas de pozo con cámara lateral destacando en este período.

A pesar de que muchas tumbas han sido saqueadas, algunas han sido excavadas por arqueólogos, y se ha informado de la existencia de estructuras similares en otras partes de Colombia.

La aproximación para reconstruir el pasado histórico del se basa en las propuestas de los arqueólogos y antropólogos, los cuales tienen como base los hallazgos de los cementerios precolombinos encontrados en las diferentes excavaciones, así como la posición de los entierros funerarios y los ajuares encontrados en ellos. De esta manera se dio paso a encontrar huesos antiguos y dientes, los cuales

fueron utilizados para detectar la huella genética que dejó el poblamiento en Colombia.

4 Trazando la Evolución a Través del ADN Mitocondrial: Una Mirada Profunda a la Simbiosis Eucariótica y su Impacto en la Herencia Genética

Las mitocondrias, organelos celulares encargados de la generación de energía metabólica, poseen una estructura de doble membrana y su propio genoma en su matriz interna. Su replicación es independiente de la división celular, lo que sugiere una conexión con los antiguos antepasados procariotas. La simbiosis que dio origen a las mitocondrias ocurrió hace aproximadamente 200 millones de años, cuando una célula nucleada incorporó un procariota aeróbico, estableciendo una relación simbiótica crítica para la evolución eucariótica.

El ADN mitocondrial, de tamaño reducido, exhibe variabilidad debido a la evolución divergente. Incluye genes como rRNA, tRNA y algunos encargados de codificar proteínas asociadas al transporte de electrones y la síntesis de ATP. A pesar de su evolución, mantiene similitudes con los procariotas; ciertos componentes, como los ARNr mitocondriales, se parecen más a los encontrados en bacterias que a los presentes en los eucariotas del citoplasma celular. Asimismo, los codones utilizados por las mitocondrias para especificar aminoácidos difieren de los codones estándar de los eucariotas.

La gran cantidad de estudios del ADN mitocondrial (ADNmt) publicadas en las 5 últimas décadas ha hecho de esta molécula una de las más estudiadas en las investigaciones en sistemas genéticos. Es abundante en la gran mayoría de células humanas, tiene herencia uniparental y no recombinante, por último, tiene una tasa mayor de mutación comparada con el genoma nuclear, lo que ha hecho del ADNmt una herramienta atractiva para investigadores de diversas disciplinas (Behar *et al.*, 2007).

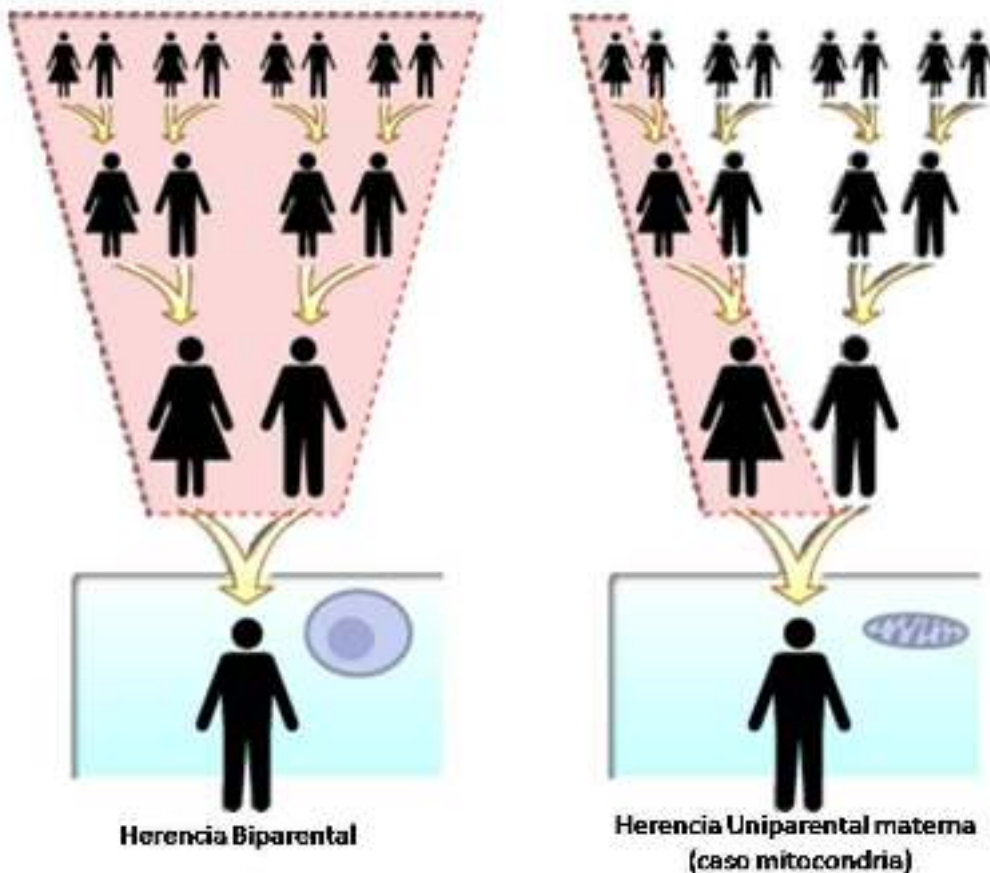


Figura 2. Tipos de herencia.

El equipo de Anderson describió el genoma completo del ADNmt en 1981 (Anderson *et al.*, 1981) y luego, su secuencia fue revisada por el equipo de Andrews (Andrews *et al.*, 1999) no encontrando cambios significativos en la región control. Por esto el genoma descrito por Anderson se conoce como CRS o Cambridge Reference Sequence y se utiliza como patrón de comparación de secuencias en análisis de ADNmt.

El material genético mitocondrial humano consiste en un ADN circular cerrado de doble cadena que reside en el citosol de las mitocondrias celulares. Este genoma, con una longitud de aproximadamente ~16569 pares de bases (pb), presenta variaciones en la población y solo codifica una fracción reducida de las proteínas mitocondriales. Las proteínas restantes son codificadas por el ADN nuclear (nADN).

(Mishmar *et al.*, 2003).

Las dos cadenas del ADN mitocondrial presentan una distribución asimétrica de guaninas y citocinas, lo que genera un coeficiente de sedimentación diferente, resultando en una cadena ligera (L) y otra pesada (H). La mayoría de las secuencias codificantes (28 genes) se encuentran en la cadena H, distribuyéndose de manera compacta e incluso solapándose. El ADNmt contiene información para 38 genes, incluyendo 2 genes para ARN ribosomal (12S y 16S), 22 genes para ARN de transferencia (tARN) y 14 genes estructurales. Estos últimos (ADN nuclear) codifican diversas subunidades de los complejos enzimáticos presentes en el sistema de fosforilación oxidativa (OXPHOS). Dichos complejos incluyen tres subunidades del citocromo c-oxidasa (COI, II y III), una subunidad del citocromo b (cyt b) óxido-reductasa (complejo III), siete subunidades (ND-1, 2, 3, 4, 4L, 5 y 6) del complejo NADH deshidrogenasa (Complejo I) y dos subunidades (6 y 8) del complejo ATP sintetasa (Complejo V) (Wallace, 1989).

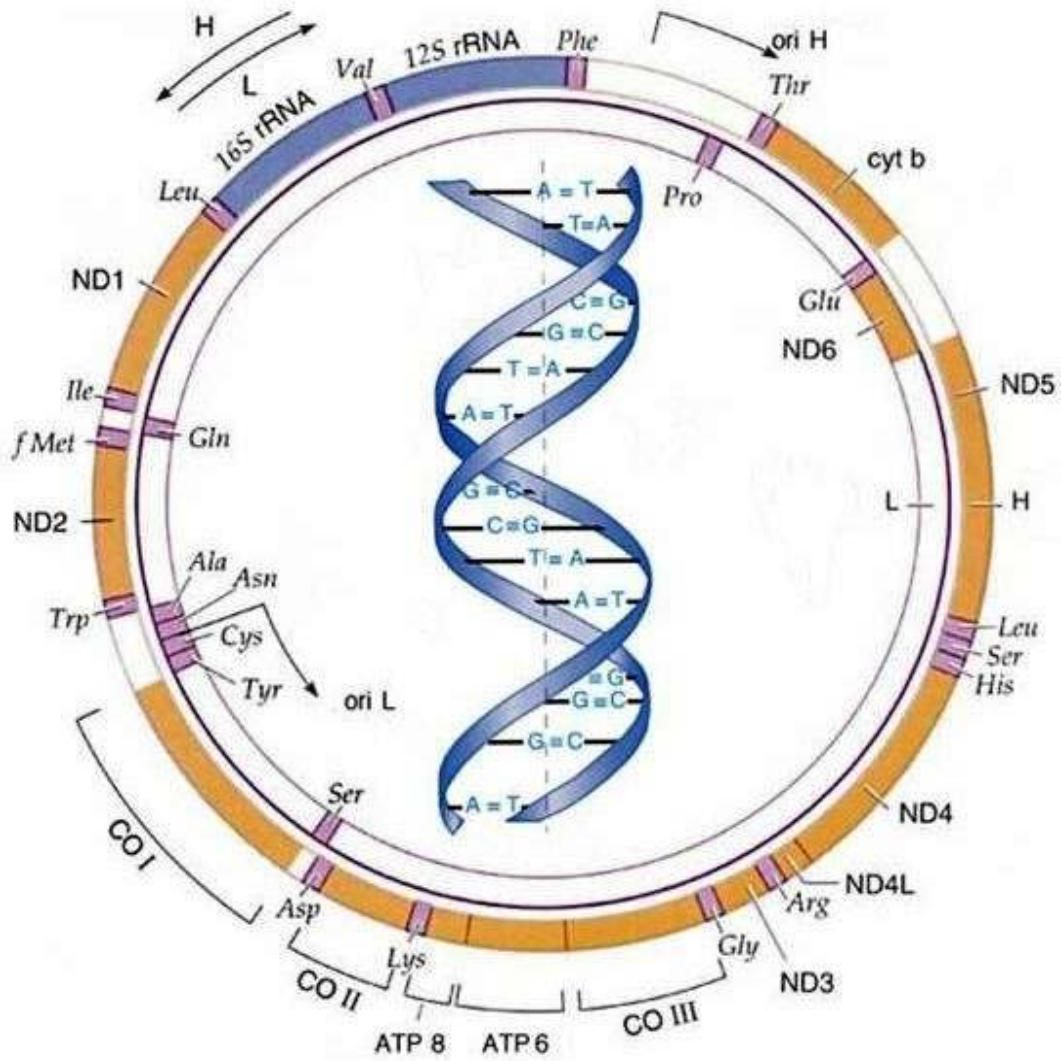


Figura 3. Mapa genético del ADN mitocondrial humano. Esta molécula codifica para siete subunidades del Complejo I NADH Deshidrogenasa (ND1, ND2, ND3, ND4, ND4L, ND5 Y ND6), un citocromo b del Complejo III (Cyt b), tres Citocromos Oxidasas del Complejo IV (CO I, COII y COIII) y dos ATPasas del complejo V (ATP 8 y ATP 6). Posee los genes de la subunidad grande y pequeña del rRNA (en AZUL) y 22 tRNAs (en color rosado). En la parte superior se observa la Región Control o D-loop.

La región no codificante, también conocida como D-Loop o región de control, abarca alrededor de 1122 pares de bases y se sitúa entre los genes que codifican para el ARN de transferencia de la prolina y el de la fenilalanina. Dentro de esta región específica, se encuentran elementos clave como el origen de replicación de la cadena H, promotores para la transcripción de ambas hebras (L y H), sitios de unión de factores de transcripción (Tfam), tres bloques de secuencias conservadas asociadas al inicio de la replicación (CSBI, II y III), y secuencias relacionadas con la terminación de cadenas (Foran, Hixson, & Brown, 1988). Es crucial destacar que la región de control se caracteriza por una elevada tasa de mutación, siendo esta 10 veces mayor que en las regiones codificantes (Vigilant, Stoneking, Harpending, Hawkes, & Wilson, 1991), y por su marcada variabilidad dentro de la población.

Esta variabilidad se concentra en tres segmentos hipervariables: HVSI (posiciones 16024-16365), HVSII (posiciones 73-340) y HVSIII (posiciones 438-574) (Budowle *et al.*, 1999). La HVSI, debido a su alto polimorfismo, ha sido ampliamente utilizada en disciplinas como Antropología, Genética y Medicina Forense.

La región no codificante, también llamada región de control, contiene los promotores de la transcripción, el origen de replicación de la cadena pesada, sitios de unión de factores de transcripción y secuencias asociadas a la terminación del bucle de deslizamiento o D-Loop. Dentro de esta secuencia, se han identificado dos segmentos con tasas de mutación 10 veces superiores a la región codificante, conocidos como Región Hipervariable I (HVRI), que incluye las posiciones 16.024 y 16.383, y la Región Hipervariable II (HVRII), que abarca desde la posición ~57 hasta ~372 (Howell & Smejkal, 2000).

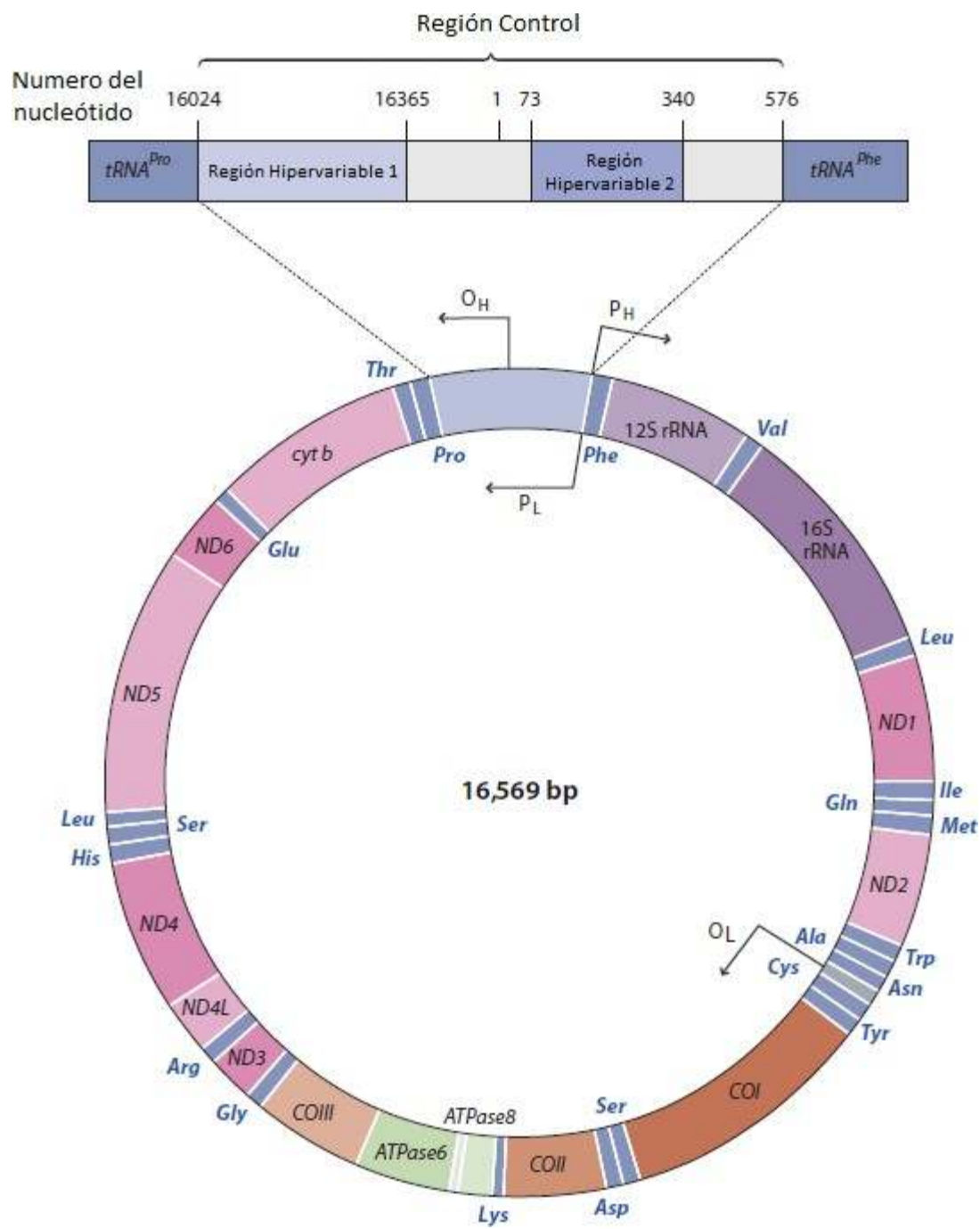


Figura 4. Región control. Se muestran las 2 zonas hipervariables HVI y HVII

Para la el 22 de agosto de 2017 se han reportado 37545 secuencias en GenBank con un tamaño mayor

que 15,4 kbps y 66676 secuencias de región de control con tamaño 0,4-1,6 kbps. (Lott *et al.*, 2013)

El ADNmt en una herramienta especialmente útil para los estudios de evolución humana, migración e historia poblacional en la reconstrucción del pasado de las poblaciones humanas por características especiales:

- **Características del ADNmt**

Poliplasmia

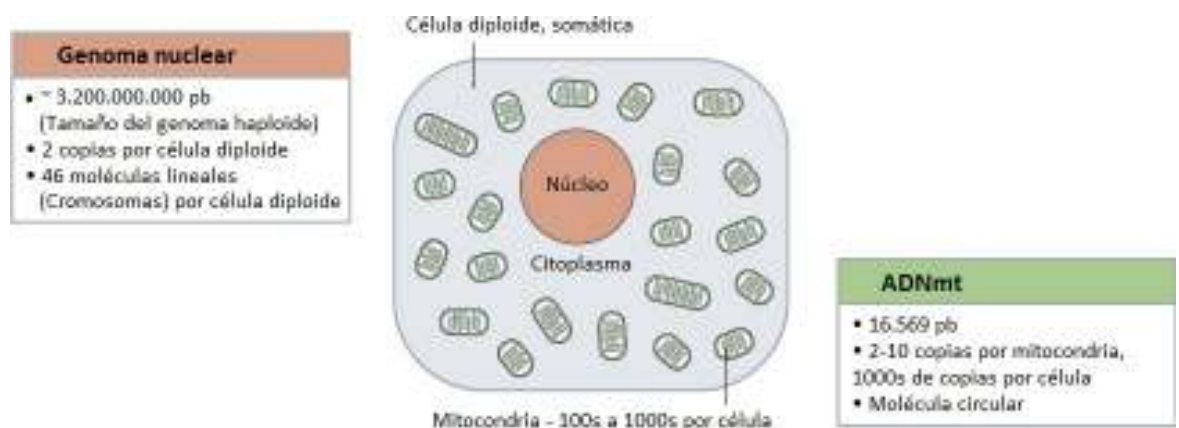


Figura 5. Poliplasmia. Muchas mitocondrias por célula y por ende mucho más material genético.

El ADNmt presenta un alto número de copias en las células humanas. Las células somáticas son diploides y por lo tanto contienen dos copias de algún gen nuclear o segmento de ADN, por el contrario, Cada mitocondria alberga entre 2 y 10 duplicados de la molécula de ADN, y simultáneamente, cada célula puede albergar cientos de mitocondrias. Debido a esta circunstancia, la cantidad de copias en cada célula variará entre 1,000 y 10,000 copias de ADNmt, dependiendo del órgano y tejido específico. (Calloway, Reynolds, Herrin, Anderson, & Anderson, 2000; Pakendorf & Stoneking, 2005; Wiesner, Rüegg, & Morano, 1992). Esta propiedad, permite obtener abundante ADNmt para su análisis, y también hace que esta molécula sea de elección para los análisis de ADN antiguo y para ciertas

aplicaciones de ADN forense.

- **Homoplasma**

La homoplasma es cuando todas las copias de ADNmt son idénticas, en un individuo particular, pero pueden surgir mutaciones, mantenerse ó amplificarse en diferentes niveles

y coexistir con el ADNmt nativo, pasando a una condición de heteroplasma (Comas, Pääbo, & Bertranpetit, 1995; Holt, Miller, & Harding, 1989).

- **Heteroplasma**

El concepto de heteroplasma se refiere a la presencia de diferentes tipos de ADN mitocondrial (ADNmt) en una misma mitocondria, célula o individuo, en contraste con la homoplasma, que ocurre cuando hay un único tipo de ADNmt. La heteroplasma en el ADNmt puede originarse por errores durante su replicación o debido a daños causados por radicales libres generados durante el metabolismo oxidativo. Cuando la heteroplasma afecta a las moléculas de ADNmt en el oocito, existe la posibilidad de transmitirla a la descendencia, la cual suele presentar niveles variables debido a la segregación aleatoria de las mitocondrias durante la oogénesis (Howell & Smejkal, 2000).

La heteroplasma es una condición extremadamente rara donde la prevalencia en la población mundial no supera el 5%. Las mitocondrias se replican y su genoma es distribuido aleatoriamente a las células hijas y por lo tanto, el comienzo de una condición de heteroplasma. El número considerable de mutaciones y particularmente, transiciones que aparecen en la heteroplasma son probablemente eliminadas por deriva y/o por selección actuando en diferentes niveles de la organización del ADNmt. Una consecuencia de esto es encontrar un “efecto umbral” en ADNmt ligado a enfermedades mitocondriales; la mutación tiene que alcanzar un cierto porcentaje, por lo general más alto que el 60-80 % para poder confirmar una verdadera heteroplasma y manifestar efectos patológicos. La célula

produce menor energía, más especies reactivas al oxígeno (ROS), hay un incremento en la apoptosis. Las mutaciones pueden causar diferentes enfermedades dependiendo de la severidad del problema en la mitocondria y el tejido afectado.

La heteroplasmia constituye la primera manifestación del polimorfismo, ya que si hay una mutación en alguna molécula de ADN mitocondrial (ADNmt) de un oocito, el individuo descendiente presentará inicialmente una combinación de moléculas originales y mutantes. Para que el polimorfismo se establezca, es necesario que la mutación se transmita a los descendientes, alcance un estado homoplásmico a nivel individual y, eventualmente, se fije en la población. Aunque existe la posibilidad de que la nueva mutación se pierda en diversas etapas del proceso, hay evidencias que sugieren que la homoplasmia puede lograrse en una o dos generaciones (Cree *et al.*, 2008).

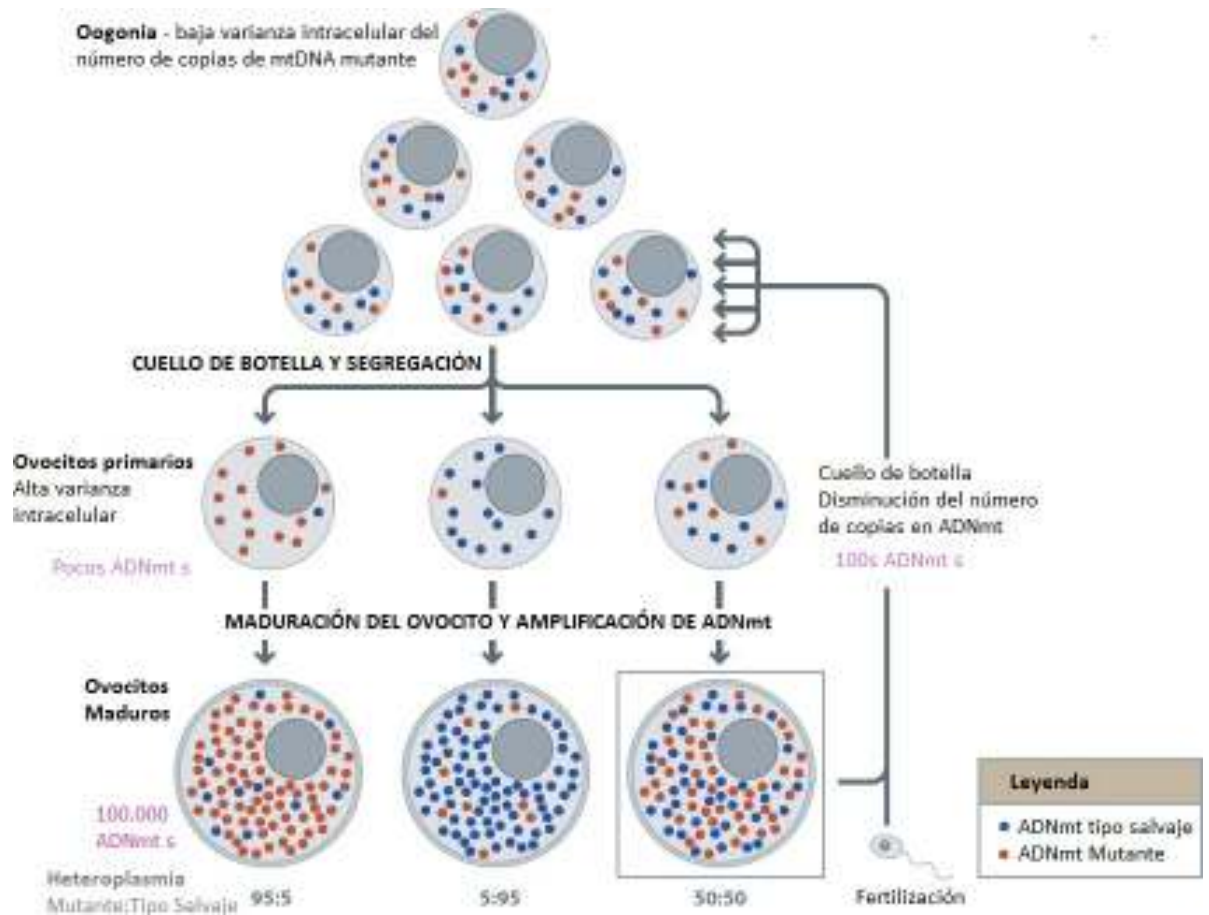


Figura 6. Esquema de Heteroplasmia: Flechas. Segregación mitótica y deriva genética; a. Célula con homoplasma (mitocondrias con mismo materia genético “color Gris”);b. mutación en el materia genético del ADNmt de una célula (mitocondrias con material genético diferente);c. vuelta a estado inicial retro La singularidad de esta característica hace altamente aconsejable la investigación del ADNmt en situaciones en las que el material genético inicial es extremadamente limitado o se encuentra considerablemente degradado, como suele ocurrir en el análisis de restos antiguos.

- **Herencia materna**

Otra propiedad genética del ADNmt es su herencia materna. La cual hace que El ADN mitocondrial se hereda de manera no mendeliana a través de la línea materna. Aunque tanto hombres como mujeres poseen ADN mitocondrial, solo las mujeres son responsables de transmitirlo a su descendencia, puesto que la mitocondria del espermatozoide se pierde en el momento de la fecundación. (Poulton &

Marchington, 2002)

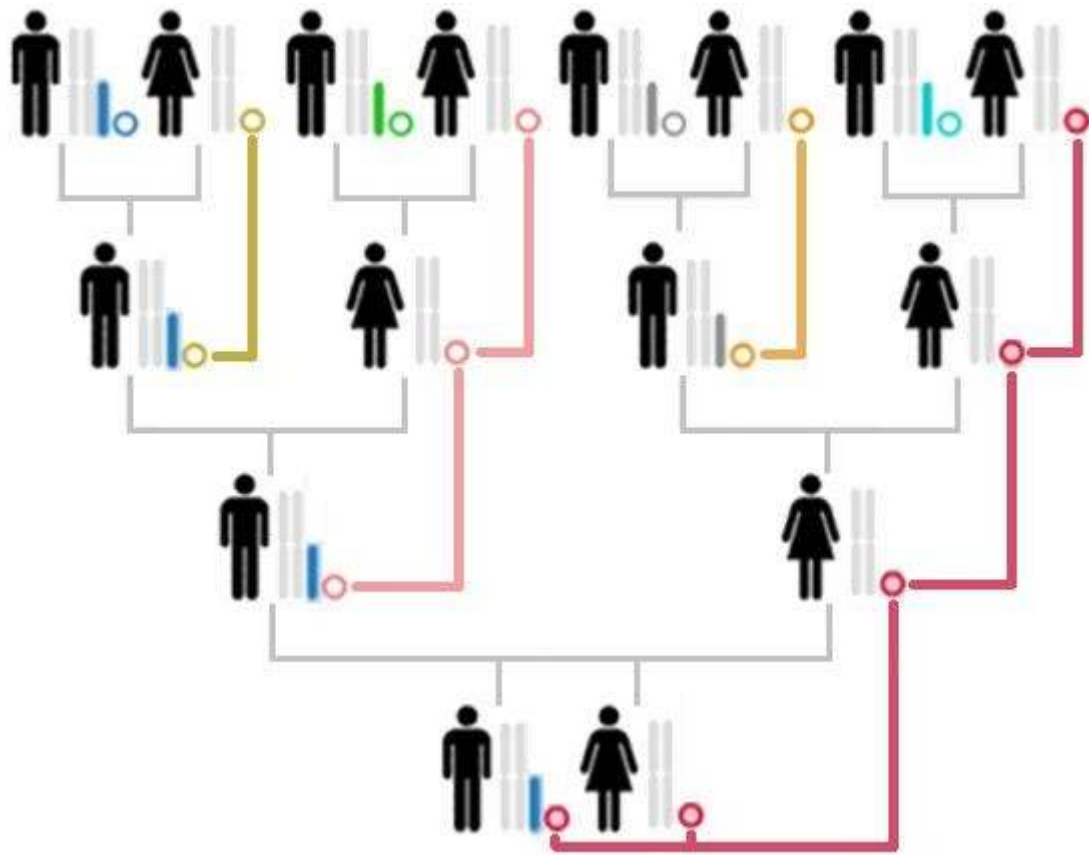


Figura 7 Patrón de herencia mitocondrial.

• Evolución

Las conclusiones derivadas de las investigaciones sobre el ADN mitocondrial se basan en la premisa de que sigue un modelo de evolución neutral, donde la mayoría de las mutaciones son seleccionadas de manera neutral (Kimura, 1991), y su fijación ocurre al azar debido a la deriva genética. La velocidad de evolución del ADN mitocondrial es significativamente mayor que la del ADN nuclear. Varios factores pueden explicar esta característica, como la generación de energía mediante la fosforilación oxidativa, la alta concentración de radicales libres de oxígeno mutagénicos en la mitocondria, la falta

de protección por histonas que la hace más vulnerable a mutaciones y la menor eficacia del sistema de reparación en comparación con el núcleo (Hagelberg, 2003; Parsons *et al.*, 1997).

Históricamente, se han utilizado dos métodos para explorar la variabilidad mitocondrial en humanos: el análisis de polimorfismos de restricción enzimática (RFLP, por sus siglas en inglés), generalmente en todo el genoma mitocondrial, y la secuenciación de ciertas regiones del ADN mitocondrial, especialmente las regiones hipervariables (HVSI y/o HVSII) de la Región de Control (Upholt & Dawid, 1977).

La aparición y difusión de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y los avances en las técnicas de secuenciación han facilitado un nuevo enfoque en el estudio molecular de las poblaciones humanas, mediante la secuenciación de fragmentos de la molécula del ADN mitocondrial. La resolución proporcionada por estos nuevos análisis de secuenciación supera significativamente la de los análisis de restricción más avanzados, lo que permite un examen más detallado de los tipos mitocondriales individuales, conocidos como haplotipos.

En cuanto a los polimorfismos del ADN, se refieren a la existencia natural de diversas formas en las secuencias de ADN. Se definen como la "aparición conjunta de dos o más formas discontinuas de una especie, de tal manera que la más rara no puede mantenerse simplemente por mutación periódica". Estos polimorfismos pueden clasificarse en dos categorías principales: Polimorfismos de Secuencia, que implican cambios en uno o más nucleótidos en una secuencia de ADN y son menos variados, y Polimorfismos de Longitud, que se producen por inserción o deleción de uno o más nucleótidos y se encuentran en el ADN repetitivo, especialmente en los microsátélites y minisátélites.

Desde los años noventa, los polimorfismos más destacados en las ciencias forenses son los minisatélites y microsátélites, caracterizados por su alta variabilidad, un elevado nivel de heterocigosidad, distribución regular en el genoma y su tamaño reducido, lo que facilita su detección mediante la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). Estos polimorfismos microsateleitales pueden originarse por cambios en el tamaño de los alelos o por modificaciones en la secuencia de la unidad de repetición.

- **Haplogrupo**

Un haplogrupo se puede caracterizar como un conjunto de haplotipos que comparten específicas sustituciones diagnósticas, identificadas mediante enzimas de restricción o secuenciación directa, y que comparten un origen común. Esto significa que los polimorfismos distintivos de cada haplogrupo se originaron exclusivamente en las líneas precursoras de todos los haplotipos que forman parte de él (Cann, Stoneking, & Wilson, 1987).

La aplicación de esta metodología en muestras de diferentes continentes ha revelado la existencia de ubicaciones geográficas específicas para los haplogrupos mitocondriales, lo que ha permitido diferenciar clústeres típicamente africanos, europeos y asiáticos. Este aspecto ha sido de gran utilidad para inferir modelos migratorios dentro y fuera de cada continente, ya que se ha observado que determinados clústeres mitocondriales, conformados por haplotipos, comparten polimorfismos específicos y comparten un origen común (Cann & Wilson, 1983). Esto significa que cada polimorfismo que define un haplogrupo generó exclusivamente líneas ancestrales de todos los

haplotipos (Felsenstein, 1981). Estos haplogrupos se han clasificado con letras y se encuentran distribuidos en regiones específicas del mundo. Por ejemplo, los haplogrupos L1, L2, L3, N y M se encuentran en África y Medio Oriente. Los linajes H, I, J, K, T, U, V y W se han identificado en Europa (Torroni *et al.*, 1996), mientras que los linajes F y G están presentes en Asia. Los linajes A, B, C y D se encuentran en Asia y en poblaciones nativas americanas (Bailliet, Rothhammer, Carnese, Bravi, & Bianchi, 1994; Horai *et al.*, 1993). El linaje X se halla en Europa y en un pequeño número de nativos americanos (Brown *et al.*, 1998a; D. G. Smith, Malhi, Eshleman, Lorenz, & Kaestle, 1999). Estas distribuciones indican que los haplogrupos son específicos de cada continente y han sido una herramienta valiosa para estudios poblacionales, permitiendo inferir diversas hipótesis sobre poblamiento y procesos evolutivos.

Los haplogrupos A-D del ADNmt han sido identificados en poblaciones indígenas de Norte, Centro y Sur América. Inicialmente, se definieron mediante RFLPs en la región codificante, pero al secuenciar la región D-loop del ADNmt, se reveló que la variación de la secuencia estaba fuertemente correlacionada con el análisis de restricción, y se pudieron definir los cuatro haplogrupos analizando solo la región D-loop (Forster, Harding, Torroni, & Bandelt, 1996; Merriwether, Rothhammer, & Ferrell, 1995).

Haplogrupos	Polimorfismos
A	223, 290, 319, 362
B	189,217
C	223, 298, 325, 327
D	223, 325, 362
X	223,278

Tabla 2 Haplogrupos Amerindios. Localización de los polimorfismos que definen los haplogrupos Amerindios.

Los cuatro haplogrupos han sido identificados en los tres grupos lingüísticos nativoamericanos

(Amerindio, Na-Dene, Eskimo-Aleutiano) propuestos por Greenberg *et al.* (1986). Los Na-Dene y Esquimo-Aleutianos, ancestros de estas poblaciones, muestran un perfil genético diferente al de los Amerindios, con predominancia de los haplogrupos A y D, probablemente perdiendo el haplogrupo B y presentando bajas frecuencias del haplogrupo C (Rubicz, Schurr, Babb, & Crawford, 2003). En Siberia y el este de Asia, los haplogrupos A, C y D son comunes, mientras que el haplogrupo B es más frecuente en las regiones del sur del este de Asia y raro en Siberia.

En las poblaciones amerindias, el haplogrupo A disminuye en frecuencia de Norte a Sur, mientras que los haplogrupos C y D aumentan en esa dirección. El haplogrupo B mantiene frecuencias constantes a lo largo de América (Malhi, Schultz, & Smith, 2001). Estas distribuciones reflejan la continuidad genética entre Asia y América y señalan diferenciaciones genéticas dentro de regiones específicas.

En cuanto a las enfermedades relacionadas con mutaciones sistémicas del ADNmt, se han asociado con una amplia gama de trastornos degenerativos en sistemas como el nervioso central, el corazón, el músculo, el sistema endocrino, el riñón y el hígado. Las mutaciones de base generalmente se transmiten por vía materna, afectando genes polipéptidos, ARN estructurales o causando mutaciones missense. Las mutaciones de inserción-delección pueden ser espontáneas o heredadas maternamente, y también pueden ser heredadas mendelianamente debido a mutaciones nucleares predisponentes. Además, se ha observado asociación con enfermedades como el síndrome de depleción del ADN mitocondrial, la Neuropatía óptica hereditaria de Leber (NOHL) y condiciones relacionadas con la pérdida de fuerza muscular, como el síndrome de Leigh o la encefalomielopatía necrotizante subaguda (Marsac *et al.*, 1991; Vilkki, Savontaus, Kalimo, & Nikoskelainen, 1989).

- **Estudio de filogenia**

A medida que se recopilaba más información sobre la variabilidad del ADN mitocondrial (ADNmt) en poblaciones humanas, los métodos tradicionales de reconstrucción filogenética resultaban menos eficaces, llevando al desarrollo de nuevas herramientas específicas. En 1995, se introdujo un método exitoso conocido como "Método de las redes medias" o "Median Networks" (Bandelt, Forster, Sykes, & Richards, 1995). Esta técnica, que se basa en la construcción de redes medianas, permite resumir árboles parsimoniosos en una única red, identificando sustituciones homoplásicas para facilitar la interpretación evolutiva (Bandelt, Forster, & Rohl, 1999).

Los Median Networks, también llamados Median Joining Networks, ofrecen información valiosa sobre la historia demográfica de una población, como las filogenias en forma de estrella que indican una expansión demográfica. Este patrón sugiere que una variante mitocondrial experimenta un aumento en frecuencia debido a condiciones reproductivas favorables a lo largo del tiempo. Los descendientes de este haplotipo pueden experimentar nuevas mutaciones, y en ocasiones, la variante ancestral se pierde debido a la deriva genética. La filogenia representada como una estructura en forma de estrella revela subgrupos o sub-clústeres cuando se producen procesos similares (Bandelt, Macaulay, & Richards, 2000).

En cuanto al ADN antiguo (aADN), que proviene de restos arqueológicos como huesos, dientes o tejidos blandos, se caracteriza por su fragmentación debido a reacciones de oxidación e hidrólisis post mortem. A pesar de su fragmentación, el aADN ofrece la ventaja de proporcionar directamente muestras del pasado, aunque generalmente se trata de casos individuales en lugar de poblaciones biológicas

completas. A diferencia del estudio de secuencias de ADN contemporáneo, el análisis de aADN permite inferir eventos poblacionales en tiempo real y comprender los procesos evolutivos a lo largo de la historia.

Los estudios de secuencias de ADN contemporáneas proporcionan solo una evidencia del proceso histórico que han formado en largos periodos de tiempo. El estudio de ADN antiguo (aADN) nos permite inferir acerca de la historia poblacional en el tiempo real que sucedieron los diferentes procesos evolutivos.

Los primeros estudios en muestras antiguas pudieron ser caracterizadas a partir de piel de animal y momias humanas (Higuchi, Bowman, Freiberger, Ryder, & Wilson, 1984). En estudios posteriores por Pääbo se obtuvieron secuencias de ADN de momias egipcias datadas de 2400 años (Pääbo, 1985). Estos resultados fueron sorprendentes ya que era posible hacer un análisis molecular de muestras antiguas. También demostraron que el material genético sobreviviente en las muestras antiguas era principalmente de origen microbiano, y el ADN endógeno estaba limitado por bajas concentraciones, fragmentos cortos el ADNmt. El desarrollo de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) hizo posible amplificar y caracterizar el aADN de diferentes hallazgos arqueológicos (Pääbo, 1989). Sin embargo, la enorme sensibilidad de la PCR incremento la posibilidad de amplificar ADN moderno contaminante. Como consecuencia, los resultados de falsos positivos en contaminación intra-laboratorio es uno de los mayores problemas en el análisis de aADN.

Debido a las dificultades asociadas con la recuperación y análisis de aADN, numerosos métodos se han desarrollado para optimizar la recuperación, el estudio y la autenticidad del aADN.

Diferentes estudios demuestran que los restos óseos son considerados una fuente óptima de aADN

debido a la unión del ADN a la hidroxiapatita disminuyendo la degradación de la molécula (Cooper & Poinar, 2000; Gilbert *et al.*, 2005).

- **Bioquímica del aADN**

La degradación molecular es uno de los obstáculos principales para la recuperación del aADN. Los ácidos nucleicos gradualmente se degradan con el tiempo a través de procesos como la hidrólisis y oxidación (Lindahl, 1993), y consecuentemente solo se pueden obtener fragmentos cortos de aADN con rango de tamaño entre 100 y 500pb (Handt, Höss, Krings, & Pääbo, 1994; Höss, Jaruga, Zastawny, Dizdaroğlu, & Pääbo, 1996; S Pääbo, 1989). La hidrólisis es un rompimiento de los enlaces glucosídicos entre el azúcar y la base en presencia de agua, resultando en la formación de sitiosapurínicos y apirimidínicos (AP). Aunque los sitios AP son generados por las purinas y pirimidinas, la mayoría son formadas por las bases purínicas (Lindahl, 1993). Los daños hidrolíticos también pueden ocurrir dentro de las bases nitrogenadas por la desaminación, y así causar la modificación de la base. El primer blanco de este tipo de daño son las pirimidinas, la citocina (C), y 5-metilcitosina. La modificación de estos nucleótidos resulta de su conversión a uracilo o timina (T), respectivamente. Estos productos químicos resultarían en una transición de C → T en la amplificación de la molécula de ADN (Briggs *et al.*, 2007; Brotherton *et al.*, 2007).

La desaminación puede también ocurrir en las purinas (adenina [A] y Guanina [G]), sin embargo, estas son menos observadas en los daños postmortem. Cuando la desaminación ocurre en una adenina, se genera la hipoxantina, el cual se aparea preferiblemente con la citocina, causando una transición que genera una unión de una A a una G. Cuando la guanina es desaminada, se genera la xantina, la cual se aparea con la citocina (Lindahl, 1993). En este caso, no ocurre una mutación dentro de la secuencia.

El daño oxidativo puede también tener efectos mutagénicos sobre la molécula de ADN, ayudando en el proceso de fragmentación por lesiones en ADN de las bases causando cadenas frágiles que se pueden romper. La principal causa del daño oxidativo son las variedades de oxígeno reactivas, principalmente los radicales hidroxilos, y el peróxido de hidrogeno (Pääbo *et al.*, 2004). El producto de oxidación más encontrado es la 8- hidroxiguanina de la guanina, aunque los ataques oxidativos pueden ocurrir en las dobles uniones de las purinas y pirimidinas, el cual lleva a la fragmentación del anillo (Dizdaroglu, Jaruga, Birincioglu, & Rodriguez, 2002). Cuando se fragmenta el anillo del azúcar o de la base, la amplificación no se daría más allá de este sitio debido al bloqueo de la ADN polimerasa (Pääbo, *et al.*, 2004). Una vez que la 8-hidroxiguanina es formada, preferencialmente se une con la adenina en lugar de la citocina, induciendo una transversión de una G/C a una T/A durante la siguiente amplificación (Dizdaroglu *et al.*, 2002). Las substituciones de bases pueden ser divididas en dos tipos, en transiciones y transversiones. Para las transiciones de tipo 1 se observan como un cambio de una T→ C o A→ G, dentro del tipo 2 es un cambio de una C→T o una G→A. Las transversiones tipo 1 son cambios de una A→C, T→G, A→T, ó T→A, dentro de las transversiones tipo 2 es una C→A, G→T, C→G, ó G→C. Las transiciones y transversiones son divididas en dos tipos debido a la naturaleza complementaria del ADN.

- **Autenticidad del aADN**

Uno de los principales problemas de los estudios en aADN es la contaminación. El aADN se encuentra en concentraciones muy pequeñas, está dañado y la amplificación es difícil, por el contrario, el ADN moderno es abundante y está en buenas condiciones, siendo muy fácil su amplificación.

Los productos de PCR pueden contener entre 10^{12} - 10^{15} moléculas amplificadas en un volumen de

50µl de reacción (Willerslev, *et al.*, 2005). El movimiento del aire cuando abrimos un tubo de PCR o transferir líquidos de un tubo a otro, puede dispersar aerosoles microscópicos, el cual puede tener fácilmente alrededor de un millón de copias del ADN plantilla por 0.005µl. estos aerosoles se pueden rápidamente distribuir en las superficies del laboratorio, en los corredores, en el personal de laboratorio, y en los sistemas de aire. Los laboratorios de aADN deben ser especializados y estar completamente asilados y específicos para investigaciones de aADN. Los reactivos deben aptos para biología molecular libres de ADNsas y RNAsas, los utensilios del laboratorio deben tener una descontaminación completa con exposición prolongada de radiación UV (45W, 72h), limpieza con ácidos (2.5M HCl, 48h) y/o hipoclorito de sodio (50%, 48h) (Willerslev & Cooper, 2005). Los mayores problemas de la contaminación pueden ocurrir antes del análisis del laboratorio. Cuando las muestras arqueológicas han sido manipuladas en el momento de la excavación por una variedad de individuos, ellos pueden contribuir a la contaminación de las muestras. Por este motivo se deben tener precauciones antes de analizar las muestras como remover la superficie del hueso lijándolo, irradiando la superficie con UV la superficie del hueso, limpiando con hipoclorito de sodio, y luego si se puede proceder a realizar la extracción de ADN.

- **Criterios de autenticidad.**

Cooper y Poinar (2000) recomendaron 9 criterios para evaluar la autenticidad del aADN (Tabla 3). Estos incluyen el blanco de ADN de extracción y controles de PCR. Los controles negativos son simplemente tubos que no se les adiciona ADN, el cual son procesados durante todos los pasos de extracción y amplificación como si en ellos existiera muestra. La presencia de amplificación de algún control blanco indica contaminación y el experimento debe ser repetido (Cooper & Poinar, 2000).

La replicación independiente de los resultados en otro laboratorio puede ser un fuerte argumento en

contra de la contaminación o diseñar un Primer completo para toda la región amplificada, el cual verifica la no amplificación de la muestra debido a que se encuentra el ADN fragmentado, dando como criterio de autenticidad que se trata de ADN antiguo.

La cuantificación del número de copias de ADN por el cual la PCR empezó es útil para asegurar la calidad de las secuencias de un ADN antiguo. Si la amplificación empieza con pocas moléculas de ADN, los errores en el primer ciclo se incorporarían en todas las moléculas del producto final de PCR. Si la PCR empieza de 1000 o más moléculas, los errores en la amplificación disminuirían y no se necesitaría verificar las malas incorporaciones de nucleótidos (Hofreiter, Serre, Poinar, Kuch, & Pääbo, 2001).

Nueve Criterios de Autenticidad (Cooper & Poinar, 2000).

Lugar de trabajo físicamente aislado:	Las muestras separadas y ADN extraído de los productos de PCR amplificados.
Amplificaciones control:	Controles negativos, incluyendo todos los reactivos que se usan para la amplificación, pero omitiendo la alícuota de ADN arcaico.
Comportamiento molecular apropiado:	La amplificación debe ser más intensa para fragmentos de menor tamaño, ya que los fragmentos de ADN de mayor longitud se consideran contaminación. Esto se debe a que el ADN tiende a fragmentarse con el tiempo, y se espera detectar fragmentos de aproximadamente 100-200 pares de bases (pb). Además, es esencial que las secuencias de ADN presenten un sentido filogenético claro.
Reproducibilidad:	Los resultados deben ser consistentes al reproducirlos con la misma muestra o con muestras diferentes del mismo espécimen. Se aconseja llevar a cabo al menos dos procesos independientes de extracción, amplificación y secuenciación para cada muestra.
Clonación:	Las secuencias obtenidas directamente de productos de PCR deben ser verificadas a través de la clonación para determinar la proporción entre el ADN endógeno y exógeno, errores inducidos por daños en las moléculas.
Replica independiente:	Extracción y secuenciación en laboratorios independientes y por investigadores diferentes

Preservación bioquímica:	Una sobrevivencia indirecta de la sobrevivencia del ADN arcaico puede obtenerse evaluando la cantidad total, la composición y la intensidad del cambio diagénico en los aminoácidos y otros residuos.
Cuantificación:	El número de copias de ADN estudiado debe ser cuantificado a través de PCR competitivo. Cuando el número de copias inicial es muy bajo (<1000) será imposible excluir la posibilidad de contaminación esporádica, especialmente para ADN humano.

Tabla 3. Criterios de autenticidad del aADN. Tomado de (M. Thomas P. Gilbert *et al.*, 2005).

A pesar de sus limitaciones, el ADN antiguo ha probado ser una herramienta valiosa para la reconstrucción de árboles filogenéticos, especialmente en situaciones donde los análisis basados en poblaciones contemporáneas necesitan confirmación, se busca conexión con poblaciones antiguas de la región o se estudian grupos ya extintos. No obstante, este enfoque enfrenta desafíos técnicos significativos debido a la degradación del material genético en los especímenes, lo que lo convierte en un campo de estudio tecnológicamente difícil y complejo.

3.4. Migraciones

El panorama propuesto en plasma humano, por las evidencias genéticas de ADNmt muestra concordancia con el modelo de migración a través del Estrecho de Bering, por cuanto la variabilidad de los haplogrupos mitocondriales en nativos americanos pueden considerarse una submuestra de aquellos haplogrupos presentes en Asia, con base en lo cual se planteó que los primeros colonizadores del Nuevo Mundo podían agruparse en cuatro haplogrupos mitocondriales denominados A, B, C y D, aunque la teorías de cómo fue el poblamiento en el territorio son objeto de discusión.(Bandelt *et al.*, 2003; Torroni *et al.*, 1992a).

Adicional a los cuatro haplogrupos publicados inicialmente se reportó la presencia de un quinto haplogrupo fundador, el haplogrupo X, el cual se encuentra en aproximadamente el 3% de los nativos

americanos modernos y que, además, ha sido reportado en individuos de Asia occidental y Europa. Dada la ausencia de este haplogrupo en el oriente asiático, de donde se cree que debieron surgir las oleadas humanas que entraron al Nuevo Mundo, se plantearon diversas hipótesis para explicar su presencia en Norte América, entre las cuales cabe mencionar aquella según la cual el haplogrupo X proviene de una migración trasatlántica proveniente de la península ibérica durante el holoceno. (Brown *et al.*, 1998b)

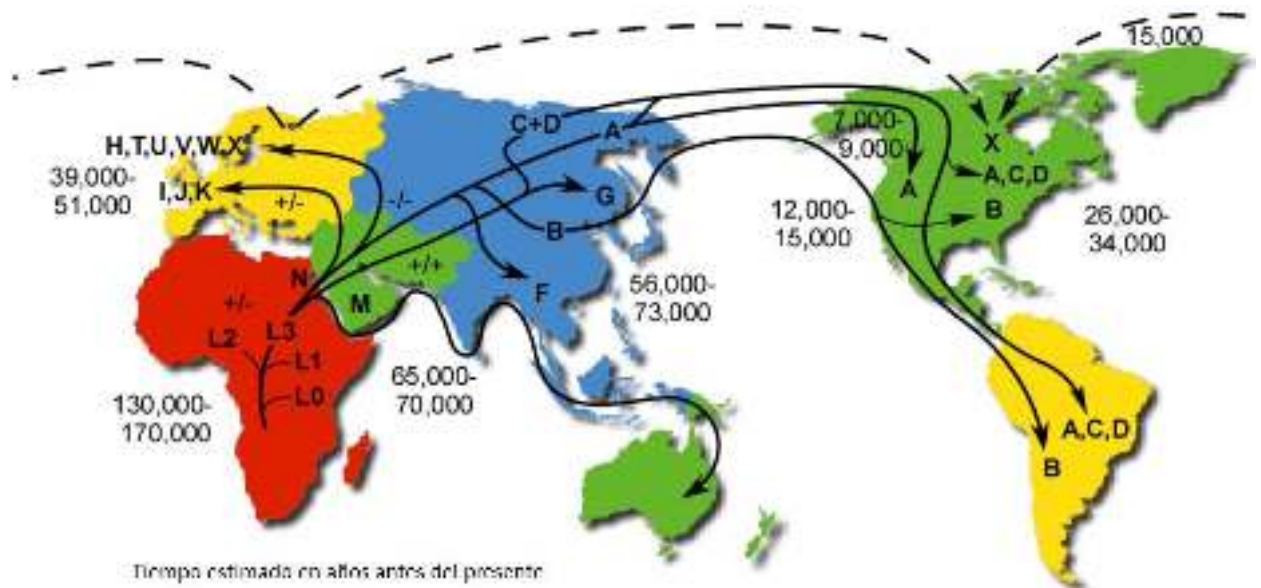


Figura 8. Panorama Mundial de los haplogrupos y su relación con la migración.

A partir de investigaciones sobre el ADN mitocondrial de las poblaciones originarias del continente americano, los científicos han alcanzado conclusiones diversas y en ocasiones contradictorias respecto a la cantidad y la cronología de las migraciones desde Asia hacia América (Ballinger *et al.*, 1992;

Bandelt *et al.*, 2003; Merriwether *et al.*, 1995).

En términos generales, varios investigadores han sugerido que los resultados de las secuencias de ADN mitocondrial y la información sobre diversidad genética respaldan la idea de que el Nuevo Mundo fue inicialmente poblado a través de un único episodio migratorio, seguido por expansiones a lo largo de todo el continente (Horai *et al.*, 1993).

Considerando la diversidad y la abundancia de argumentos acerca del poblamiento en América, el debate sobre la llegada de seres humanos al territorio americano emerge como un ámbito claramente controvertido y en constante evolución, que merece la atención de diversas comunidades científicas, como historiadores, antropólogos, arqueólogos y genetistas.

4. METODOLOGIA

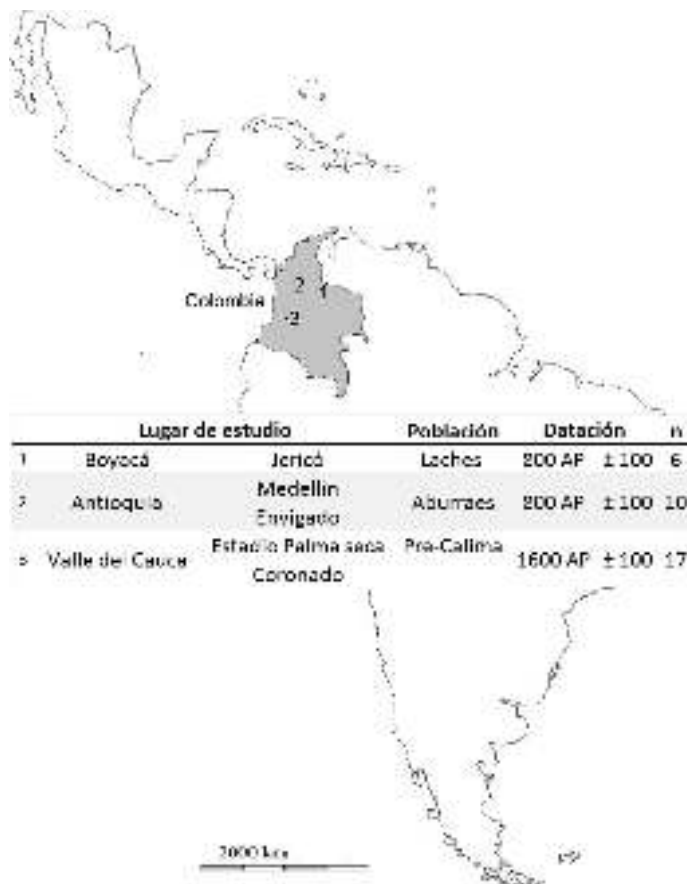
4.1. Poblaciones de estudio

23 muestras óseas en total se lograron extraer ADN antiguo.

6 muestras de la población Lache fueron extraídas en 1994 por trabajos desarrollados por el antropólogo Pablo Fernando Pérez Riaño (Pérez Riaño Pablo Fernando, 1999) en la zona de Jericó, Boyacá Colombia en las coordenadas 6°05'6.12" N y 72°25'72.40" O de cronología tardía 800 AP.

En Antioquia, se encontraron 10 individuos hallados en tres sitios diferentes: Cerro del Volador (1 Individuo), Cerro de la Colinita (1 Individuo), Medellín y Alto de las Flores (8 Individuos), municipio de Envigado por trabajos desarrollados por Pablo Aristizábal Espinosa (Aristizábal Espinosa, 2015). Por otra parte, se estudiaron 17 muestras de la región del Valle del Cauca pertenecientes a Coronado, Palmira, por parte de José Vicente Rodríguez y Sonia Blanco. En dos sitios diferentes, Coronado

ubicado en las coordenadas 3° 29'47,7N 76° 21'19,5O y estadio del Deportivo Cali, en Palmaseca 3°31'18"N 76°25'01"O.(Cuenca *et al.*, 2005).



4.2. Limpieza del Hueso y Diente

Dentro de la cabina de flujo se utilizó una bolsa plástica con cierre hermético de tamaño mediano, a la que previamente se ha hecho un corte diagonal de aproximadamente 12 cm en uno de los extremos laterales de la bolsa, de tal manera que solo permita la entrada del moto-tool (previamente armado con la respectiva fresa).

Se introdujo el hueso o diente dentro de la bolsa plástica y se sujetó con la pinza, con la otra mano se maniobró el moto-tool retirando la capa externa del hueso o diente.

Debido a la degradación y el estado del hueso y del diente no se descarta la bolsa con el polvo obtenido de la capa externa, debido a que se encontraba el hueso muy esponjoso y los dientes muy degradados, necesitando la mayor cantidad del pulverizado.

- **Pulverización de Hueso y diente**

Al realizar la limpieza de las piezas óseas y dentales se realiza el siguiente procedimiento para la pulverización:

En una bolsa plástica se retira capa por capa del hueso y el diente con el moto-tool, siguiendo el mismo procedimiento indicado anteriormente.

Esta pulverización se hace por separado entre cada individuo con todos los materiales estériles como se enuncio anteriormente. Se realiza cambio de guantes entre cada pulverización.

Se pulveriza el hueso y el diente, deslizando la fresa del moto-tool al hueso, recogiendo el polvo, dentro de la bolsa hasta completar 2gr de muestra.

Se utilizó como método secundario para la pulverización de diente, una lata de aluminio previamente estéril y cortada por la mitad en una prensa manual limpia con hipoclorito de sodio al 5% e irradiada con UV, donde estas dos se introducían en una cabina de flujo laminar y en el centro de la lata sujeta a la prensa se colocaba el diente girando manualmente la prensa triturando el diente y las fracciones del mismo caían en al fondo de la lata, obteniendo así el pulverizado del diente, esto se realizaba cuando con la fresa de tungsteno no lo fragmentaba.

Este polvo se transvasó a un tubo Falcón de 15mL, previamente marcado y listo para la digestión.

- **Extracción de ADN en Hueso y Diente**

Se realizó el siguiente protocolo.

- Se llena con 2gr o más de polvo de hueso o fragmento de diente en un tubo Falcón de 15 ml.
- Se completa a 5,0 ml de solución de lisis celular – Probe2
- Se adiciona 500 ul de proteinasa K 1mg/g*.

□ *Para Re suspender la proteinasa K se agrega 8ml de buffer de solución de lisis celular – Probe a 100 gr de proteinasa K para una concentración final de 12,5 mg/ml.

- Se sella la tapa del tubo Falcón con papel Parafilm.
- Se asegura la gradilla donde se depositan los tubos Falcón con papel vinipel.
- Se tapa la gradilla después con papel aluminio.
- Se asegura con tornillos la gradilla a la incubadora con agitación y se deja durante 72 horas a 56°C a 3600 rpm.
- Se sacan los tubos Falcón de la incubadora y se centrifugan a 3000 rpm durante 5 minutos.
- Se retira cuidadosamente el sobrenadante.
- Se adiciona al sobrenadante 900 ul de solución de precipitante de proteínas.
- Mezclar por inversión durante 5 minutos.
- Reposar de 5 a 25 minutos a -4°C.
- Centrifugar a 4000 rpm por 20 minutos.

- Tomar sobrenadante en un nuevo tubo Falcón (Se puede repetir los pasos desde la adición del precipitante de proteínas hasta la centrifugación, dejando homogenizada la mezcla y libres de proteínas).
- En un tubo Falcón nuevo con 5ml de isopropanol frio se adiciona el sobrenadante.
- Mezclar por inversión durante 5 minutos.
- Reposar de 5 a 25 minutos a -4°C .
- Centrifugar al máximo durante 15 minutos.
- Descartar el sobrenadante.
- Adicionar 5ml de Etanol al 70% en las paredes del tubo Falcón.
- Centrifugar el máximo durante 15 minutos.
- Descartar el sobrenadante (Repetir mínimo una vez).
- Dejar los tubos secando sobre una toalla de papel absorbente previamente estéril, el tiempo que dure evaporándose el etanol.
- Hidratar con 150ul de Agua Ultra-pura.
- Dejar en el shaker una tarde rehidratando.

- **Detección de ADN**

La presencia e integridad de los extractos obtenidos fueron verificados por electroforesis en gel de agarosa al 2% teñido con Syber® Safe. Se confirmó la concentración e integridad de los extractos

mediante el uso de un tras iluminador, las muestras exitosas fueron escogidas para la amplificación.

- **Amplificación de la región hipervariable 1 del ADNmt**

Para determinar los haplotipos mitocondriales de los individuos en estudio se amplificó un fragmento de 388pb de la región hipervariable de la mitocondria HVRI (posiciones de nucleótidos 16024-16408) relativa a la secuencia de referencia Cambridge (rCRS), con ayuda de un conjunto de cuatro pares de primer de PCR sobrelapados (Figura) con un rango de longitud de 157-180 pb. desarrollado para poblaciones prehispánicas americanas (Fehren-Schmitz *et al.* 2009).

Nombre		Secuencia (5'-3')	Tamaño
primer par	Primer H 15995	GCT AAG ATT CTA ATT TAA ACT ATT CT	26 bp
H 15995 - L16174)	Primer L 16174	GGA TTG GGT TTT TAT GTA CTA C	22 bp
Segundo par	Primer H 16105	TGC CAG CCA CCA TGA ATA TTG TAC	24 bp
H 16105 - L16256	Primer L 16256	GCT TTG GAG TTG CAG TTG ATG TGT	bp 24
Tercer par	Primer H 16194	ATG CTT ACA AGC AAG TAC AGC AA	bp 23
H 16194 - L16360	Primer L 16360	GAG AAG GGA TTT GAC TGT AAT GTG	24 bp
Cuarto par	Primer H 16261	CCT CAC CCA CTA GGA TAC CAA CAA	24 bp
H 16261 - L16429	Primer L 16429	GCG GGA TAT TGA TTT CAC GGA	21 bp

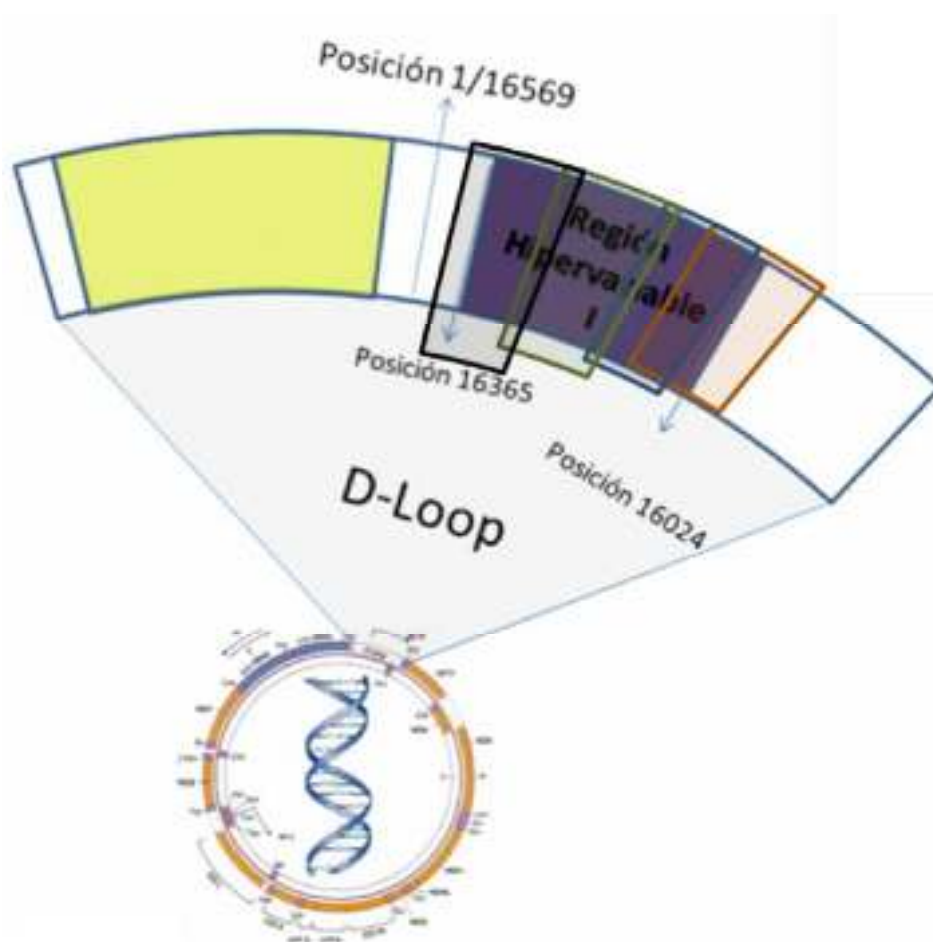


Figura 19 Esquema de Primers utilizados para amplificar la región hipervariable I.

Se estandarizó la siguiente amplificación para un volumen final de 10ul, 0.5 unidades de AmpliTaq-Gold™ ADN hot start Polymerase, 2mM MgCl (ambos de Applied Biosystems) 1.25mM dNTPs (Sigma) y 0.5mM de cada primer para utilizar un volumen de extracción de 0.5ul. Las amplificaciones PCR para cada par de primer fue la misma, una temperatura inicial de 95°C por 8 minutos, 40 ciclos de 94°C, 59.6°C y 72° cada uno de 1 minuto desarrollados en MAXYGENE THERM-1000. Se chequeo en gel de agarosa al 2% el producto de PCR y su calidad, las mejores bandas se re-amplificaron para

un volumen final de 50ul utilizando las mismas condiciones mencionadas para ser secuenciadas directamente. Controles negativos de extracción y PCR fueron permanentemente usados durante este estudio.

Se verificó la existencia y calidad de los productos amplificados obtenidos mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5% con tinción de Syber® Safe. La confirmación de la concentración y la presencia de la banda esperada se realizó comparando con el estándar de peso molecular HyperLadder™ II (Bioline).

- **4.6.1. Replicación independiente**

Para detectar posibles contaminaciones en el laboratorio se realizaron varias extracciones, y amplificaciones de una misma muestra. Y observamos la repetibilidad de los resultados en el mismo laboratorio por 3 investigadores diferentes y en un laboratorio externo.

- **Secuenciación**

Todas las muestras fueron enviadas a un laboratorio externo en Seúl, Corea para ser secuenciadas.

- **Precauciones para el análisis de ADN antiguo**

Los análisis se realizaron en el laboratorio de ADN arcaico del grupo de Genética Humana de la Universidad de la Sabana, el cual cumple con los parámetros sugeridos por Hummel (Hummel, 2003) derivados de trabajos anteriores teniendo áreas específicas para cada método realizado.

- **Control De Contaminación**

Teniendo en cuenta las recomendaciones sugeridas para trabajar con aADN y para evitar contaminaciones durante los procesos experimentales se desarrollaron los siguientes procedimientos:

- **Implementación de Áreas de pre y post-PCR separadas**

Cumpliendo con uno de los criterios sugeridos por (Cooper & Poinar, 2000; Gilbert *et al.*, 2008; Hummel, 2003), el laboratorio donde se realizaron los procedimientos tiene un área exclusiva para el análisis de aADN en el centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de la Sabana en Chía, Colombia. Donde se contó con las aéreas separadas para extracción, PCR y post-PCR. Se utilizaron cabinas y equipos únicos para muestras antiguas, las micropipetas, el material estéril, bata, gorro, tapabocas y guantes, de uso exclusivo para cada procedimiento de manipulación con aADN e independientes para cada área. Todos los reactivos fueron guardados en sitios separados, los tubos con productos amplificados fueron guardados en compartimentos separados. Esto se realizó para evitar contaminación cruzada.

- **Insumos**

Los tubos Falcon utilizados y todo el material de plástico que se empleó para cada procedimiento fueron nuevos y estériles con autoclave. También se utilizaron puntas de micropipetas con filtro resistente a aerosoles libre de RNAsas y ADNsas.

- **Limpieza del área de trabajo**

Las áreas de trabajo contaban con luz UV para irradiar todo el cuarto, además antes de cada proceso la cabina se limpiaba con hipoclorito de sodio al 5% y posteriormente con alcohol etílico al 70%, finalmente se irradiaba con luz UV todo el material a utilizar (pipetas, gradillas, material de plástico, guantes, bata, gorro, tapabocas) por 50 minutos.

- **Preparación de Reactivos**

Los reactivos que se utilizaron para la preparación de las soluciones fueron grado molecular, exclusivos para la extracción de aADN. Además, se utilizó material de vidrio como son los beakers, las pipetas de vidrio con volúmenes variables para llevar a cabo estas preparaciones, los cuales eran previamente esterilizados y los equipos de pesaje fueron previamente limpios para evitar adherencias de polvo. Se empleó agua mili-Q estéril para la preparación de estas soluciones. Los reactivos fueron pesados en una balanza exclusiva para aADN utilizando guantes, tapabocas. Una vez pesados fueron transferidos en recipientes de vidrio estériles y resuspendidos con el agua ultrapura. Posteriormente auto clavados.

- **Preparación De Reactivos Método Probe**

Para la extracción, es necesario preparar los siguientes reactivos:

SDS 10%

Para preparar 200ml

20g SDS

200ml de H₂O destilada

Colocar en agitación magnética muy suave para evitar el exceso de espuma.

Auto clavar

Almacenar a temperatura ambiente

4.8.1.1. EDTA 0.5 M pH 8.0

Para preparar 500ml

350ml de H₂O destilada

Se precalienta el H₂O en horno microondas por 7 minutos 93.05g de EDTA

Mezclar en un Erlenmeyer con magneto hasta homogenización completa adicionando el EDTA suavemente.

Auto clavar en alícuotas de 100ml Almacenar a temperatura ambiente

4.8.1.2. Buffer De Lisis Celular (Reactivo #2 Probe)

Para preparar 1000ml

50ml de EDTA 0,5 M pH 8,0

200ml de SDS 10%

600 ml de H₂O destilada

Mezclar cuidadosamente (evitando la formación de espuma) en un Erlenmeyer hasta homogenización completa.

Completar a 1000ml en una probeta con H₂O destilada. No auto clavar

Almacenar a temperatura ambiente en alícuotas de 500ml

4.8.1.3. Solución Precipitantes De Proteínas (Reactivo #3 Probe)

Para preparar 500ml

385.4g De Acetato de Amonio 100ml de H₂O destilada.

Mezclar en un Erlenmeyer usando magneto hasta completar homogenización, calentar.

Completar a 500ml con agua destilada. Auto clavar en alícuotas de 250ml Almacenar a 4°C en lugar oscuro

• Uso de Controles Positivos y Negativos

El uso de controles positivos fue utilizado en el proceso de estandarización de los protocolos para observar la eficiencia del método, esta muestra proviene de un extracto de ADN del autor de la tesis.

En los ensayos con las muestras a analizar, no se utilizó el control positivo para evitar la contaminación.

La extracción de las muestras se realizó por separado utilizando en cada día un par de primers diferentes y adicionalmente control negativo de extracción. Para la amplificación se incluyó un control negativo

de PCR. Cuando se realizó la Re amplificación el producto del control negativo de la primera reacción fue amplificado junto con las otras muestras, y adicionalmente un nuevo control negativo para esta segunda amplificación.

La presencia de una banda del tamaño esperado en alguno de los blancos utilizados indicaba contaminación. En caso de tener indicios de contaminación, las muestras eran descartadas y se procedía a repetir todo el proceso.

- **Reproducibilidad de los resultados.**

Se examinaron 12 muestras seleccionadas al azar utilizando los procedimientos mencionados anteriormente en un laboratorio dedicado exclusivamente al ADN antiguo en la Pontificia Universidad Javeriana. Estas muestras fueron procesadas por otro investigador en dicho laboratorio con el objetivo de identificar posibles contaminaciones y garantizar la reproducibilidad de los resultados.

5. ANÁLISIS DE DATOS

Comparación de las secuencias con la secuencia de referencia de Cambridge (CRS)

El ensamblaje de la HVR I y la detección de polimorfismos fueron realizados mediante el programa CLC Genomics Workbench 3.6.5 tomando como plantilla la secuencia (rCRS).

Este ensamblaje se realizó con la astringencia más alta para asegurar el máximo posible de confiabilidad permitiéndonos seleccionar solos los polimorfismos que se alineaban al menos en dos secuencias en una dirección forward y reverse.

Se tomó un conceso de al menos dos secuencias para detectar los polimorfismos de extractos

independientes de la misma muestra.

Determinación de haplogrupos

Para determinar los haplotipos correspondientes se hizo una verificación manual mediante el software EMPOP ADNmt database, v3/R11 que otorga la máxima verosimilitud para esta estimación, se ubicó geográficamente el haplotipo determinado, de igual manera se realizó una determinación final mediante el software HaploGrep 2.0.19. El cual demuestra una gran confiabilidad y es la herramienta utilizada en análisis de genoma, exomas, y secuencias (Weissensteiner, Forer, *et al.*, 2016; Weissensteiner, Pacher, *et al.*, 2016).

Determinación de estructura genética.

A pesar de la existencia de diversos métodos para evaluar la diferenciación y la estructura genética, estas medidas están intrínsecamente relacionadas y se enfocan en el análisis de las frecuencias alélicas. Algunos métodos comparan estas frecuencias alélicas, mientras que otros estiman la proporción de variación genética dentro y entre poblaciones, así como dentro y entre los grupos que las conforman. Estos métodos suelen hacer uso del estadístico F_{st} o sus equivalentes, permitiendo una comparación clara y cuantitativa de la diferenciación entre las poblaciones bajo estudio. Además, existen medidas más elaboradas que posibilitan la reconstrucción de genealogías de poblaciones, incluyendo distancias genéticas mediante métodos de agrupamiento como UPGMA o Neighbor Joining.

Se utilizó el software Arlequín 3.5.2.2 para determinar la diversidad haplotípica, número medio de diferencias por parejas, diversidad nucleotídica, distancias genéticas, test de neutralidad e índices de variación genética entre las secuencias individuales de la población.

Estadísticos F. De Wright.

Wright fue el creador de los estadísticos F, los cuales tienen diversas aplicaciones en los estudios de la estructura poblacional. En poblaciones pan míticas, donde no hay correlación entre genes homólogos y la unión de gametos para las frecuencias génicas, la subdivisión de poblaciones, que se aparean dentro de sí mismas, puede generar una correlación esperada entre las uniones de gametos. Wright propuso los "Índices de Fijación" o Estadísticos F para analizar la variación de frecuencia génica entre subpoblaciones, siendo los más utilizados F_{is} , F_{it} y F_{st} , los cuales representan distintos niveles de correlación entre uniones de gametos o alelos.

En el contexto de poblaciones jerárquicas, se emplean F_{is} para la correlación entre uniones de gametos dentro de una subpoblación, F_{it} para la correlación entre gametos que producen la relación individual para la población total, y F_{st} para la correlación entre gametos al azar dentro de subpoblaciones en relación con los gametos de la población total.

En el análisis genético de haplotipos, se construyeron redes medianas reducidas para determinar las relaciones genéticas entre los haplotipos del estudio y compararlos con otras poblaciones. Estas redes se calcularon y construyeron utilizando el programa Network 4.0, basándose en publicaciones previas de secuencias de ADNmt en nativos americanos (Forster *et al.*, 1996).

Para el análisis de las secuencias obtenidas y otras reportadas por distintos autores, se seleccionaron dos métodos de matrices de distancia: Neighbor Joining y Redes de medianas reducidas. Para fortalecer la validez estadística del método Neighbor Joining, se realizó un Bootstrapping del conjunto de secuencias estudiadas, generando árboles correspondientes y utilizando un método para hallar el árbol consenso.

Los métodos filogenéticos de matrices de distancia, como Neighbor Joining, se basan en calcular distancias genéticas entre pares de grupos analizados y buscar un árbol que prediga estas distancias de manera cercana. Las distancias genéticas en estos análisis representan estimativos de la longitud de las ramas del árbol filogenético (Felsenstein, 2005).

Método de Unión de Vecinos (Neighbor Joining):

La técnica de Unión de Vecinos, desarrollada por Saitou y Nei en 1987, es un enfoque multivariante que identifica pares de unidades taxonómicas operacionales (OTUs) o "vecinos" con el objetivo de minimizar la distancia total entre las ramas del árbol en cada iteración, partiendo de una estructura de árbol inicial tipo estrella. A diferencia de métodos exhaustivos que exploran todas las topologías posibles, este método construye el árbol de manera aditiva paso a paso, centrándose en la inferencia de un árbol aditivo vinculado al análisis de grupos "clúster". La técnica elimina la necesidad de datos ultramétricos y evita asumir divergencia de linajes, ya que une los linajes para formar el árbol (Nei, 1987).

UPGMA (Media Aritmética de Grupos No Ponderada):

Similar al método de Unión de Vecinos, UPGMA se emplea extensamente para agrupar unidades taxonómicas (OTU's) correspondientes a las poblaciones bajo estudio. Inicia seleccionando la distancia más pequeña entre dos poblaciones en la matriz de distancia genética y forma el primer agrupamiento para construir el árbol. Calcula la similitud promedio de las unidades taxonómicas dentro del "clúster" formado y busca la distancia de valor más pequeño en la nueva matriz.

Redes de Medianas Reducidas:

En estudios de ADNmt humano, donde se presentan desafíos asociados con homoplasias y filogenias

tipo estrella, se recurre a las redes de medianas reducidas como alternativa a las metodologías basadas en árboles filogenéticos bifurcantes como Unión de Vecinos. Según Herrnstadt *et al.* (2002), estas redes ofrecen una representación clara de posibles soluciones y permiten distinguir caracteres conflictivos. Las redes de medianas reducidas engloban todos los árboles de máxima parsimonia y su análisis inicia con la conversión de datos de secuencia a formato binario. Agrupando las posiciones variables y construyendo redes secuencialmente mediante vectores intermedios que conectan lógicamente los haplotipos. La construcción de la red considera frecuencias y pesos, pero estos se utilizan en etapas posteriores del procedimiento (Bandelt, 1999)

Análisis de Componentes Principales o Multidimensional:

Esta técnica estadística busca reducir la dimensionalidad de un conjunto de datos al identificar y ordenar intuitivamente las causas de su variabilidad. El análisis multidimensional de estructuras mediante proximidades (MDS) se utiliza para representar objetos a partir de coeficientes de proximidad entre estímulos, expresados como distancias en un espacio de menor dimensión. Las distancias evaluadas suelen ser genéticas.

ALSCAL (Alternating Least Squared sCALing):

ALSCAL, un algoritmo fundamental para el análisis MDS no métrico, fue desarrollado por Takane, Young y de Leeuw en 1977. Este método, basado en mínimos cuadrados alternantes, permite la aplicación de Multidimensional Scaling y Multidimensional Unfolding. Es especialmente útil para controlar las relaciones genéticas entre individuos, equilibrando la preocupación por los falsos positivos y el poder estadístico, aspecto que puede variar según el tipo de muestra de asociación (Young, Takane, & Lewyckyj, 1978).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis poblacionales de Aburráes, Laches y prePrePrecalimas

Un total de 33 individuos fueron tipificados, encontrando los 4 haplogrupos fundadores (A 47%, B 29%, C 15% Y D 9%) y 21 subhaplogrupos. Se encontraron 25 sitios polimórficos puntuales y cada individuo fue único, 18 variantes altamente informativas, 88 transiciones C↔T, 14 A↔G, 13 transversiones. A↔C y 1 T↔G. los cambios en las posiciones 16290, 16217, 16327 y 16223 con respecto a la rCRS asignó el haplogrupo A, B, C y D correspondiente (Lott *et al.*, 2013). La frecuencia de haplogrupos de cada población fue en Aburráes 60% A, 10% B, 20%C y 10%D, en Calima 29% A, 47% B, 12% C y D, y en Laches 68% A, y 17% B y C, no se encontró D.

Después de una reevaluación del árbol filogenético de ADN mitocondrial en 2012 (Behar *et al.*, 2012), han aparecido una gran cantidad de herramientas ofimáticas como mitotool (Fan & Yao, 2013) y haplogrep (Kloss-Brandstätter *et al.*, 2011), que han permitido tipificar de una manera confiable más polimorfismos dando como resultado que con pocos datos se llegue a determinar un haplogrupo con cierta certeza. Una asignación del haplogrupo implica la alineación de la secuencia del ADNmt a una secuencia de referencia, el cual se ajusta a un conjunto de variantes que se puede clasificar con precisión en un haplogrupo correspondiente derivado de un consenso mundial que a su vez esta anotado en un árbol filogenético de libre acceso <http://www.phylotree.org> (H. J. Bandelt *et al.*, 1999), e igualmente gracias a un enfoque de máxima verosimilitud (Röck, Dür, van Oven, & Parson, 2013) por medio de un base de datos de 35000 tipificaciones <http://empop.online/> (Parson & Dür, 2016) en gran parte del mundo se puede verificar si existen otros individuos que compartan ciertas variaciones del ADNmt y así mismo asignar un haplogrupo de manera inicial.

Para determinar los Subhaplogrupos y haplotipos fue necesario utilizar HaploGrep 2.0, aunque ya se encontró las valoraciones están entre 0.55 y 0,77, dada la naturaleza del ADN antiguo y la correspondencia de haplogrupos con la herramienta de mitomaster en mitomap donde se reportan variaciones de haplotipos que corresponden en el mismo rango se decidió trabajar con los haplotipos encontrados.

Población	Muestras	Haplogrupo Encontrado	Valoración	Polimorfismos encontrados
Aburraes	Abu1	A2+(64)+@153	0,66	16111T 16223T 16290T
	Abu2	A2af1b1b	0,59	16168T 16223T 16290T 16362C
	Abu3	A15	0,69	16129A 16223T 16290T 16319A 16362C
	Abu4	C5	0,71	16223T 16288C 16298C 16311C 16327T
	Abu5	A2i	0,70	16111T 16223T 16290T 16319A 16325C 16362C
	Abu6	D4j1a	0,65	16086C 16183C 16223T
	Abu7	C1c4	0,61	16223T 16274A 16327T
	Abu8	A15	0,67	16290T 16319A 16362C
	Abu9	A2ah	0,67	16098G 16111T 16223T 16290T
	Abu10	B2s	0,62	16217C 16325C
PreCalimas	Cal3	A2ab	0,63	16223T 16290T 16291T
	Cal4	D4h3	0,54	16223T 16319A 16342C
	Cal4a	A2ad1	0,66	16175G 16223T 16290T
	Cal4b	D4o1	0,62	16183G 16290T
	Cal5	A2	0,57	16086C 16111T 16223T 16290T
	Cal6	B2a	0,63	16111T 16217C
	Cal8	B4j	0,59	16217C 16223T 16355T
	Cal9	B4c1a1a	0,69	16086C 16217C
	Cal10	A15	0,55	16086C 16223T 16290T
	Cal11	B4j	0,74	16182C 16183C 16189C 16217C 16223T
	Cal19	A15	0,63	16086C 16183C 16223T 16290T 16319A
	Cal25	C1b5b	0,63	16249C 16298C 16325C 16327T
	Cal26	B4a1c3	0,70	16182C 16183C 16189C 16194C 16217C
	Cal27	C1	0,58	16325C 16327T
	Cal29	B2g1	0,66	16182C 16183C 16189C 16217C 16298C
Cal31	B4c1a1a	0,69	16086C 16217C	
Cal34	B4a1c3	0,70	16183C 16189C 16194C 16217C	
Laches	Lac3	A15	0,63	16290T 16319A
	Lac21	A15	0,67	16290T 16298G 16319A 16362C
	Lac25	A15	0,77	16223T 16290T 16319A 16362C
	Lac26	C1	0,62	16298C 16325C 16327T
	Lac31	B4a1c3	0,70	16183C 16189C 16194C 16217C
	Lac50	A15	0,77	16223T 16290T 16319A 16362C

Tabla 5 haplotipos asignados bajo el programa de haplogrep

Así mismo se construyó un árbol filogenético para mostrar las relaciones evolutivas que tienen una ascendencia común entre cada muestra tipificada. en la cual cada individuo tipificado por las iniciales en su población Lac=lache, Cal=Calima, y Abu= Aburráes se encontraron mezclados compartiendo alguna línea evolutiva común.

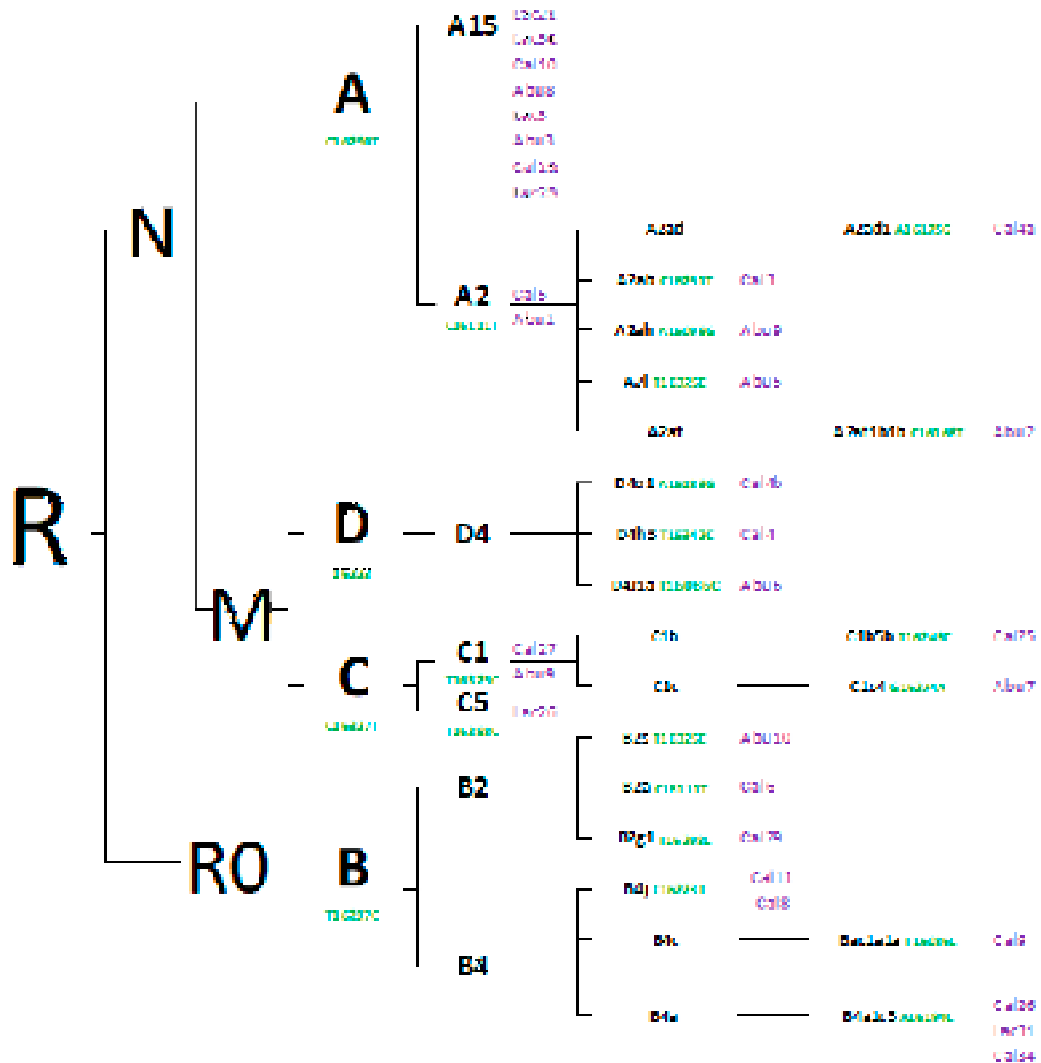


Figura 20 Reconstrucción filogenica a partir de los polimorfismos encontrados.

5.1.1. Distribución de haplogrupos encontrados en el mundo.

El haplogrupo A15 no incluye individuos reportados en ninguna base de datos consultada, que incluye Empop, GenBank y mitomaster. Excepto en phylotree (van Oven & Kayser, 2009). todos comparten la variación C16290T, en algunos casos G16319A y T16362C que lo clasifica como haplogrupo A, pero tiene la particularidad de tener la variación C16223T que es dominante para el superhaplogrupo R. la variante G16129A aunque ha sido reportadas recientemente en el norte de Asia (Derenko *et al.*, 2007) y en el oeste de Asia (Tanaka *et al.*, 2004) y que se denota como una mutación que es producto de unas reversiones a un estado ancestral. La variante 16298C

aunque es un sitio polimórfico en haplogrupo C y B, no se encuentra la transversión a G y puede ser exclusiva de pobladores nativo americanos prehispanicos. Es necesario evaluar las variables 73G 152C 207A 235G G207A G263A A8459G C14067T para ganar certeza del haplogrupo asignado. No se encontró información geográfica (Behar *et al.*, 2007).

El haplogrupo A2 está altamente distribuido por el norte de América, y en múltiples trabajos ha sido asociado como un haplogrupo nativo americano que tiene una alta frecuencia en latitudes altas de América, (Raff, Rzhetskaya, Tackney, & Hayes, 2015) ha sido asociado a tribus siberianas y esquimales, (Torrioni *et al.*, 1992b; (Tamm *et al.*, 2007; Derenko *et al.*, 2007) que migraron de grupos asiáticos por el estrecho de Beringia lo cual fue confirmado por análisis mito genómicos (Achilli *et al.*, 2013) y es de gran interés en poblaciones antiguas ya que en las muestras más antiguas 10000AP(M Thomas P Gilbert *et al.*, 2008) fue tipificado con este haplogrupo, se cree que es un haplogrupo que llegó a América en las primeras oleadas expansivas. En poblaciones prehispanicas aparece en la mayoría de reportes (Raff, Bolnick, Tackney, & O'Rourke, 2011a) y se encuentra altamente distribuido en este continente.

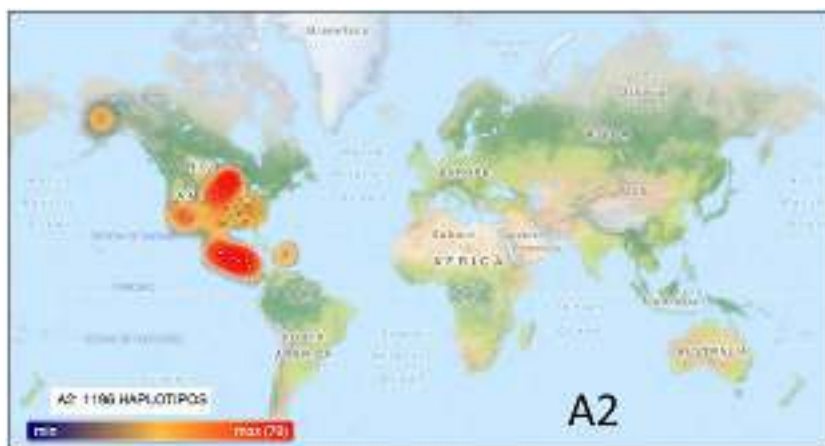


Figura 21 Distribución del haplogrupo A" en el mundo.

Dentro de este haplogrupo se encontraron los subhaplogrupos A2ab (C16291T), A2ad1 (A16175G), A2af1b1b (C16168T), A2ah (A16098G) y A2i (T16325C).

A2ab fue descrito en población nativo americana actual (Achilli *et al.*, 2008) en estados unidos, A2ad1 y A2af1b1b ha sido descrito en pobladores modernos con ascendencia indígena de Panamá en Chiriquí, A2ad1 en Colon y A2af1b1b en Costa Rica (Ugo A Perego *et al.*, 2012). El haplogrupo

A2ah has sido encontrado en poblaciones nativo americanas de Bolivia, de hecho, fue nombrado allí y se cree que se originó hace 5,200 miles de años (Taboada-Echalar *et al.*, 2013), otros tres ADNmts A2ah se observaron en América del Sur, dos en muestras brasileñas (Alves- Silva *et al.*, 2016), y uno en la toba de la Gran Chaco (norte de Argentina) (Cabana, Merriwether, Hunley, & Demarchi, 2006). En trabajos europeos con poblaciones mundiales (Herrnstadt *et al.*, 2002) (Achilli *et al.*, 2008) (Behar *et al.*, 2012) el polimorfismo A2i (T16325C) pueden ser distinguido desde una línea materna ancestral asiática por medio de los polimorfismos 16111T y 16325C (Herrnstadt *et al.*, 2002) que no han cambiado en el proceso de colonización de las Américas y se ven representadas en estas muestras antiguas. Un caso muy interesante que caracterizan el haplogrupo A2i como una rama nativa americana es la transversión T3308A con una inserción posterior de uno C (3308 + C) (Achilli *et al.*, 2008).



Figura 22 Distribución del haplogrupo B2a" en el mundo.

Sustitución en 16217C da un indicio claro de que tenemos un haplogrupo B nativo americano puede descender de un linaje antiguo, posiblemente un prehaplotipo B por lo tanto puede representar otro ejemplo de una secuencia ancestral existente en América y en muestras antiguas, pero no en muestra actuales (Herrnstadt *et al.*, 2002). La filogenia del haplogrupo B2 revela seis subhaplogrupos el cual B2a está definida por la 16111T (Achilli *et al.*, 2008), B2s por 16325C, B2g1 por 16298C, B4j por 16223T, Ba1a1a por 16086C y B4a1c3 por 16194C. (Behar *et al.*, 2007).

Población Mexicana, de Honolulu y del suroeste de Estados Unidos actuales, así mismo poblaciones Nuxáلك, Apache y Navajo americanas (Kemp *et al.*, 2010) como Tsimshian en Canadá (Malhi *et al.*, 2001) portan el haplotipo B2a. Trabajos realizados (Achilli *et al.*, 2013) sugiere que

esta rama apareció hace 12 mil años presuntamente en Asia, una nueva reevaluación sugiere que este haplotipo está ausente en poblaciones esquimales y aleutianas, lo que permite concluir que apareció en Norteamérica como un haplotipo paleoindio fundador (Achilli *et al.*, 2013) ya que hasta ahora B2 carece de cualquier clados ancestral hermano conocido en Siberia distintos de la B4b1 en el sudeste asiático (Kumar *et al.*, 2011). La filogeografía y la diversidad de haplogrupo B2 es muy similar al haplogrupo A2 y es compatible con una gran expansión de Norteamérica a Sudamérica.



Figura 23 Distribución del haplogrupo B2g1 en el mundo.

Aunque hay poca información del haplogrupo B2g1 en población de México y de San Diego de ha tipificado 20 individuos con esta variante según la base de Datos de EMPOP (Parson & Dür, 2016).



Figura 24 Distribución del haplogrupo B4a1c3 en el mundo.

En Asia en Asia, el estado monofilético de B4 ha sido cuestionado en repetidas ocasiones (Tanaka *et al.*, 2004), construyendo la rama ancestral el haplogrupo B4a1c según surgió hace 15 mil años en el Este de Asia (Soares *et al.*, 2011), y de allí la gran mayoría partió hacia Japón, Corea del Sur, aunque hay reportes únicos desde Argentina y Chile, y dos reportes desde Kirguistán (Parson & Dür, 2016), aunque hay indicios de que poblaciones que venían de Asia llegaron a las polinesias por estudios de la variante B4a1a (Soares *et al.*, 2011), es necesario tener más reportes de esta variante para llegar a postular un modelo.



Figura 25 Distribución del haplogrupo B4c1a1 en el mundo.

La presencia del haplogrupo B4c1a1a es más difícil, ya que no existe ningún reporte en América, y dada el poblamiento de Asia y Japón, el polimorfismo 16194 no se encuentra reportado por el grupo de Tanaka (Tanaka *et al.*, 2004) pero sí en Empop en 4 individuos de Japón, uno de Corea del Sur y otro en Hong Kong.



Figura 26 Distribución del haplogrupo C1 en el mundo.

El haplogrupo C1 esta vastamente distribuido en toda América en poblaciones actuales (Parson & Dür, 2016), de hecho esa gran variedad hace pensar que en una sola oleada migratoria donde los haplogrupos A1, B1, C1 y D1 colonizaron a América (Fagundes *et al.*, 2008; Achilli *et al.*, 2008), de hecho C1 es un haplogrupo fundador según (Tamm *et al.*, 2007) en trabajos realizados en poblaciones Maya, exhiben una frecuencia alta de los haplogrupos A y B (González *et al.*, 2001a) estudios realizados en Copan mostro alta frecuencia de haplogrupo C1(Whittington & Reed, 2006), similarmente en grupos antiguos del Caribe (Lalueza-Fox *et al.*, 2003^a; Lalueza-Fox *et al.*, 2001). Mientras que en Sur América hay una frecuencia moderada en poblaciones antiguas pero una alta frecuencia en poblaciones actuales (J. A. Raff *et al.*, 2015).



Figura 27 Distribución del haplogrupo C1c4 y C1b5b en el mundo.

El haplogrupo C1b5b ha sido reportado en 7 individuos en la parte central de Suramérica mientras que C1c4 en el salvador por 29 individuos. (Parson & Dür, 2016)



Figura 28 Distribución del haplogrupo D4h3a en el mundo.

El Clado D4h3a se encuentra sobre todo en América del Sur, y tiene un interés particular ya que trabajos realizados por (U A Perego *et al.*, 2009) demuestran que es una variante rara por su llegada a América en dos escenarios posibles, una siguiendo el pacífico, y otra por vía costera por Beringia, lo que es claro es que es un haplogrupo fundador (Derenko *et al.*, 2010).



Figura 29 Distribución del haplogrupo D4j1a en el mundo.

Según la filogenia propuesta por (Derenko *et al.*, 2010) este haplogrupo es de origen europeo, pero en (Parson & Dür, 2016) se encuentra reportado un individuo, en Norte América, uno en Irán y otro

en Hong Kong, aunque se sugiere un origen desde el norte de Asia (Chandrasekar *et al.*, 2009)

6.1. Estructura genética de las poblaciones

Se realizó la estructura genética de las 3 poblaciones mediante el software arlequín 3.15 con base en las secuencias obtenidas:

Tabla 6 Matriz FTz de las poblaciones en estudio

	Jericó (Lache)	Antioquia (Aburráes)	Valle del Cauca (Calima)
Jericó (Lache)	0	-0,00489	0,07689
Antioquia (Aburráes)	-0,00489	0	0,07535
Valle del Cauca (Calima)	0,07689	0,07535	0

Los valores negativo encontrados nos muestran que no hay diferencias entre las poblaciones Lache y Aburráes, mientras que los Calimas difieren, esto se corrobora mediante una prueba de P con un valor de significancia de las 0,05 y 110 permutaciones.

Tabla 7 Matriz de P valor de las poblaciones en estudio

	Jericó (Lache)	Antioquia (Aburráes)	Valle del Cauca (Calima)
Jerico (Lache)	*	0,37838 ±0.0354	0,04505 ±0.0203
Antioquia (Aburráes)	0,37838	*	≈0
Valle del Cauca (Calima)	0,04505	≈0	*



5.2.1. Test de neutralidad

	Jericó (Lache)	Antioquia (Aburráes)	Valle del Cauca (Calima)
n	10	6	22
S	17	12	23
Pi	5	5	5
Tajima's D	-0,84974	-0,45006	-0,84553
Tajima's D p- value	0,203	0,367	0,212
Fu	-6	-2	-23
Fu p-value	0,002	0,036	0
π	4,911	4,867	4,892

Tabla 8 Estimativos de Diversidad Genética

El test de Tajima (Tajima 1989) se realizó en arlequín 3.15 (Tamura, *et al.*, 2013). Este análisis involucró 48 secuencias de nucleótidos. Se eliminaron todas las posiciones que contenían vacíos y datos perdidos; hubo un total de 41 posiciones en el conjunto de datos final. n = número total de sitios, S = número de sitios segregantes, π = diversidad de nucleótidos, y D es la estadística de prueba de Tajima. D de Tajima no significativa $p > 0,10$. F de Fu no significativo $p > 0,02$.

Respecto a la prueba de neutralidad de Tajima para los restos de Calimas, Laches y Aburráes (Tabla 3), donde $S > \pi$ es indicativo de una expansión poblacional o positiva selección. Estas observaciones están relacionadas con el negativo valor de la D de Tajima; aunque estadísticamente no significativa D valores ($p > 0,10$), Según la estadística F de Fu, aunque estadísticamente no significativa ($p > 0,02$). Ambos estimativos denotan una expansión de la población notable.

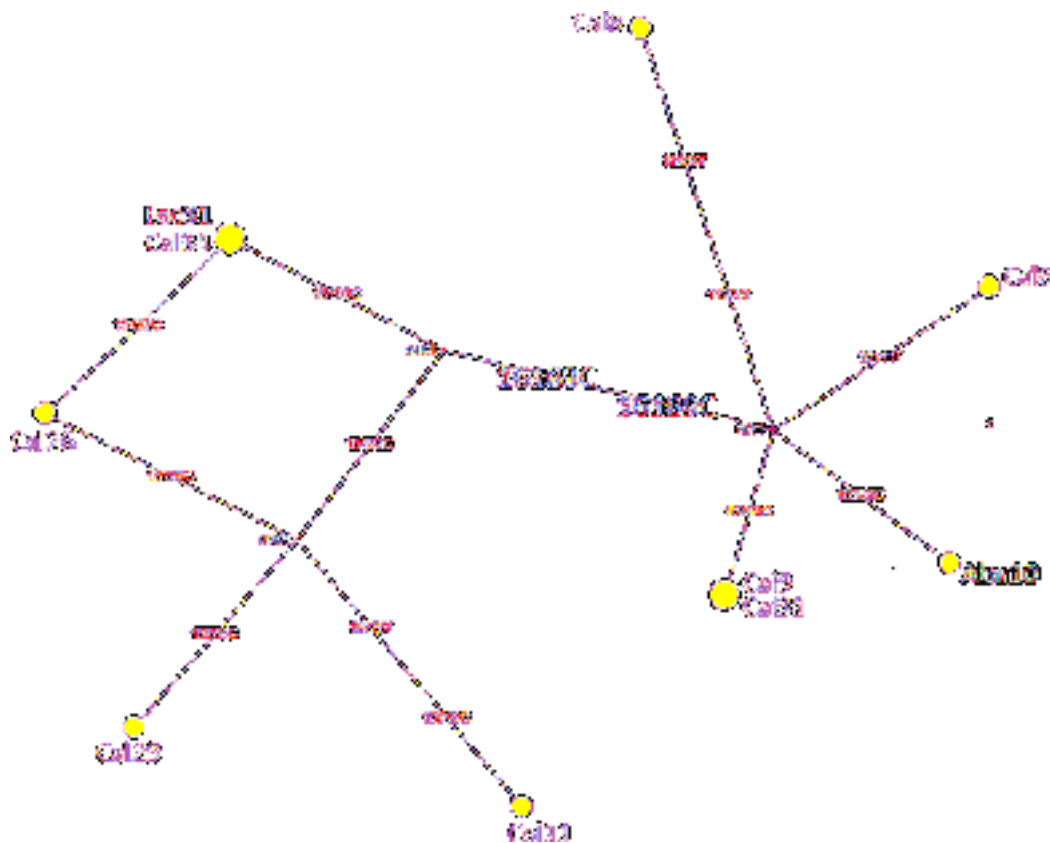


Figura 31 Figura 36 Red de haplotipos con los pasos mutacionales en rojo, con todos los individuos en estudio pertenecientes al haplogrupo B

6.2. Relaciones intra poblacionales

Para definir las relaciones intrapoblacionales de nuestras poblaciones, se tomaron 73 poblaciones prehispánicas separadas en 8 zonas geográficas y 12 etnias de indígenas colombianas ya tipificadas. Con base a las ocurrencias de los haplogrupos se calculó la diversidad excepto en donde el número de muestras por población era menor a 4.

Tabla 9 Ocurrencias de haplogrupos mitocondriales en el continente americano

Zona Geográfica	Sitio Arqueológico / Etnia	Antigüedad	N	Haplogrupos mitocondriales						Diversidad ad h
				A	B	C	D	X	M	
Ártico, sub ártico	Early Aleuts	1550 a.C. – 750 d.C.	11	8	0	0	3	0	0	0,436
Ártico, sub ártico	Late Pre-Contact Aleuts	950 d.C. – 1550 d.C.	52	12	0	0	40	0	0	0,362
Ártico, sub ártico	Brooks River	632 d.C. – 1012 d.C.	8	5	2	0	1	0	0	0,607
Ártico, sub ártico	Hot Springs	120 a.C.	3	1	0	0	2	0	0	N. C.
Ártico, sub ártico	On-Your-Knees Cave	8350 a.C.	1	0	0	0	1	0	0	N. C.
Ártico, sub ártico	Mink Island	735 d.C. – 921 d.C.	6	1	0	0	5	0	0	0,333
Ártico, sub ártico	Tatshenshini-Alsek Glacier	1400 d.C.	1	1	0	0	0	0	0	N. C.
Ártico, sub ártico	Thule	820 d.C. – 1322 d.C.	15	15	0	0	0	0	0	0,000
Ártico, sub ártico	Sadlermiut	682 d.C. – 973 d.C.	18	10	0	0	8	0	0	0,523
Ártico, sub ártico	Dorset	310 a.C. – 734 d.C.	2	0	0	0	2	0	0	N. C.
Noroeste de Estados Unidos	China Lake and Big Bar Lake	3025 a.C.	3	1	0	0	0	0	2	N. C.
Noroeste de Estados Unidos	Plateau Salish	1750 d.C.	11	3	6	1	1	0	0	0,673
Noroeste de Estados Unidos	Plateau Sahaptian	1750 d.C.	8	0	4	2	2	0	0	0,714

Noroeste de Estados Unidos	Wishram	1750 d.C.	33	7	17	0	9	0	0	0,634
Noroeste de Estados Unidos	Vantage	450 d.C. – 1450 d.C.	7	2	0	1	3	1	0	0,810
Noroeste de Estados Unidos	Paisley 5 Mile Point Caves	12050 a.C.	2	1	1	0	0	0	0	N. C.
Gran Cuenca, Suroeste de Estados Unidos	Cecil	1650 a.C. – 910 a.C.	16	0	1	9	6	0	0	0,575
Gran Cuenca, Suroeste de Estados Unidos	Cook	50 a.C.	23	1	2	10	10	0	0	0,640
Gran Cuenca, Suroeste de Estados Unidos	Applegate	105 a.C. – 185 d.C.	6	0	2	4	0	0	0	0,533
Gran Cuenca, Suroeste de Estados Unidos	Pyramid Lake	a.C. – 1090 d.C.	18	2	6	0	10	0	0	0,601
Gran Cuenca, Suroeste de Estados Unidos	Pyramid Lake (Wizards Beach)	7250 a.C.	1	0	0	1	0	0	0	N. C.
Gran Cuenca, Suroeste de Estados Unidos	Stillwater Marsh	1340 a.C. – 1660 d.C.	21	1	8	0	12	0	0	0,552
Gran Cuenca, Suroeste de Estados Unidos	Hourglass Cave	6050 a.C.	1	0	1	0	0	0	0	N. C.
Gran Cuenca, Suroeste de Estados Unidos	Tommy Site	800 d.C. – 1100 d.C.	36	1	25	5	5	0	0	0,492
Gran Cuenca, Suroeste de Estados Unidos	Mine Canyon	1100 d.C. – 1300 d.C.	12	7	4	1	0	0	0	0,591
Gran Cuenca, Suroeste de Estados Unidos	Fremont	450 d.C. – 1450 d.C.	30	0	24	4	2	0	0	0,349
Gran Cuenca, Suroeste de Estados Unidos	Anasazi	60 a.C. – 940 d.C.	38	4	27	7	0	0	0	0,462
Gran Cuenca, Suroeste de Estados Unidos	Western Basketmaker II	550 a.C. – 650 d.C.	23	3	18	1	1	0	0	0,383
Noreste de Estados Unidos	Great Western Park	1150 d.C.	6	2	0	4	0	0	0	0,533
Noreste de Estados Unidos	Glacial Kame	950 a.C.	18	3	11	3	1	0	0	0,601
Noreste de Estados Unidos	Morse	750 a.C.	9	1	3	5	0	0	0	0,639

Noreste de Estados Unidos	Orendorf	1150 d.C.	11	5	0	3	3	0	0	0,709
Noreste de Estados Unidos	Norris Farms	1250 d.C.	10 8	34	13	46	9	6	0	0,701
Noreste de Estados Unidos	Pete Klunk Mound Group	125 d.C.	39	9	5	19	5	1	0	0,694
Noreste de Estados Unidos	Schild Mississippian	1050 d.C.	47	18	6	11	4	8	0	0,762
Noreste de Estados Unidos	Schild Late Woodland	750 d.C.	19	5	1	4	1	8	0	0,743
Noreste de Estados Unidos	Ohio Hopewell Mound Group	250 d.C.	34	14	3	10	7	0	0	0,715
Mesoamérica	Tlatelolco Post-Classic Aztec	1275 d.C. – 1450 d.C.	23	15	3	1	4	0	0	0,549
Mesoamérica	Maya (Xcaret)	550 d.C. – 1470 d.C.	24	20	1	2	0	0	0	0,245
Mesoamérica	Maya (Copan)	650 d.C. – 1200 d.C.	9	0	0	8	1	0	0	0,222
Caribe	La Caleta (Tainos)	620 d.C. – 1630 d.C.	24	0	0	18	6	0	0	0,391
Caribe	Cuba (Ciboneys)	2750 a.C. – 330 d.C.	15	1	0	9	5	0	0	0,562
Colombia	La Purnia (Guane)	860 d.C.	17	6	7	0	4	0	0	0,691
Colombia (presente Estudio)	Jerico (Lache)	1250 d.C.	5	2	3	0	0	0	0	0,600
Colombia	Andes Orientales Colombianos (Muisca, Lache, Guane, Checua, Aguazuque)	750 d.C. – 1250 d.C.	13	1	7	4	1	0	0	0,654
Colombia	Madrid	50 a.C.	6	0	6	0	0	0	0	0,000
Colombia	Candelaria	1050 d.C.	10	10	0	0	0	0	0	0,000
Colombia	Sogamoso (Muisca)	750 d.C. – 1050 d.C.	13	9	3	1	0	0	0	0,500
Colombia (presente Estudio)	Antioquia (Aburráes)	1150 d.C.	10	6	1	2	1	0	0	0,644
Colombia (presente Estudio)	Valle del Cauca (Calima)	750 d.C. – 1150 d.C.	17	5	8	2	2	0	0	0,706
Colombia	Nemocon (Checua)	6050 a.C.	7	3	1	1	0	0	0	0,700

Colombia	Herrera (Muisca)	550 d.C. – 1850 d.C.	7	7	0	0	0	0	0	0,733
Colombia	Tibanica (Muisca)	1150 d.C.	18	12	2	0	4	0	0	0,523
Colombia	Ovando (Quimbaya)	450 d.C. – 1250 d.C.	7	0	6	0	1	0	0	0,286
Suramérica	North Peruvian Coast	950 d.C.	21	6	7	1	7	0	0	0,729
Suramérica	Peruvian Highlanders	1400 d.C. – 1500 d.C.	35	3	23	8	1	0	0	0,523
Suramérica	Conchapata	550 d.C. – 750 d.C.	14	4	7	2	1	0	0	0,692
Suramérica	Cuzco	930 d.C. – 1120 d.C.	1	0	0	0	1	0	0	N,C
Suramérica	Huari	1050 d.C. – 1350 d.C.	18	3	4	10	1	0	0	0,647
Suramérica	Paracas (Peninsula)	850 a.C. – 250 a.C.	10	0	0	3	7	0	0	0,467
Suramérica	Chen Chen	735 d.C. – 950 d.C.	23	9	9	4	1	0	0	0,692
Suramérica	Paracas (Palpa)	850 a.C. – 250 a.C.	28	2	0	4	22	0	0	0,370
Suramérica	Nasca-Rural (Palpa)	250 a.C. – 550 d.C.	37	1	4	8	24	0	0	0,535
Suramérica	Nasca-Urban (Palpa)	250 a.C. – 550 d.C.	28	0	5	12	11	0	0	0,653
Suramérica	Middle Horizon (Palpa)	550 d.C. – 950 d.C.	11	0	3	4	4	0	0	0,727
Suramérica	Pacapaccari (Highlands)	1130 d.C.	16	0	11	5	0	0	0	0,458
Suramérica	Yacotogía	763 d.C.	25	1	14	10	0	0	0	0,547
Suramérica	Ocoro	550 d.C. – 950 d.C.	5	1	3	1	0	0	0	0,700

Suramérica	Botigiriayocc	950 d.C. – 1350 d.C.	12	0	8	4	0	0	0	0,485
Suramérica	Huayuncalla	972 d.C.	5	1	2	2	0	0	0	0,800
Suramérica	Layuni	550 d.C. – 950 d.C.	9	0	5	3	1	0	0	0,639
Suramérica	North Chile Late Archaic	4050 a.C. – 1950 a.C.	14	7	5	1	1	0	0	0,659
Suramérica	North Chile Middle Horizon	300 d.C. – 950 d.C.	19	6	8	5	0	0	0	0,690
Suramérica	North Chile Late Intermediate	950 d.C. – 1450 d.C.	15	3	8	3	1	0	0	0,676
Suramérica	Pampa Grande	350 d.C. – 600 d.C.	19	2	9	0	8	0	0	0,620
Suramérica	Baño nuevo, Tagua Tagua, Camarones	7050 a.C. – 5550 a.C.	30	9	10	9	2	0	0	0,729
Colombia	Pasto	Actuales	15	1	11	8	0	0	0	0,738
Colombia	Butaregua	Actuales	7	4	17	2	1	0	0	0,669
Colombia	Chimila	Actuales	33	8	0	0	0	0	0	0,322
Colombia	Guambiano	Actuales	3	2	21	5	3	0	0	N. C.
Colombia	Paez	Actuales	24	5	7	2	0	0	0	0,562
Colombia	Huitoto	Actuales	4	1	7	4	0	0	0	N. C.
Colombia	Murui muinane	Actuales	5	5	5	3	0	0	0	0,784
Colombia	Zenu	Actuales	5	0	10	0	0	0	0	0,476
Colombia	Yuco	Actuales	35	26	0	0	0	0	0	0,497
Colombia	Tukano	Actuales	3	2	8	4	0	0	0	N. C.
Colombia	Guayabero	Actuales	9	9	1	0	0	0	0	0,579
Colombia	Ingano	Actuales	10	2	9	2	0	0	0	0,672
Colombia	Guane	Actuales	8	5	3	0	0	0	0	0,658
Colombia	Guahibo	Actuales	42	3	3	1	0	0	0	0,263

Colombia	Embera	Actuales	45	17	18	6	4	0	0	0,687
Colombia	Coreguaje	Actuales	45	5	7	29	4	0	0	0,553
Colombia	Kogui	Actuales	50	29	0	21	0	0	0	0,497
Colombia	Arsario	Actuales	50	18	0	32	0	0	0	0,470
Colombia	Wayuu	Actuales	52	16	12	22	2	0	0	0,685
Colombia	Ijka	Actuales	40	37	1	2	0	0	0	0,145

Basados en los estudio de (Anne C. Stone and Stoneking 1998; Bolnick and Smith 2007;C. Lalueza-Fox *et al.* 2001) (Carlyle et al.2000) (Carlyle *et al.* 2000; LeBlanc *et al.* 2007) (Carnese *et al.* 2010) (Casas-Vargas *et al.* 2011b) (Díaz-Matallana *et al.* 2016) (Eshleman, Malhi, and Smith 2003) (Fehren-Schmitz *et al.* 2009) (González-Oliver *et al.* 2001a) (Hayes 2002) (J. Raff 2008) (J. Raff, Tackney, and O'Rourke 2010) (Kaestle and Horsburgh 2002) (Kemp, Reséndez *et al.* 2005)* (Kemp, Tung, and Summar 2009) (Lalueza- Fox *et al.* 2003) (Lewis, *et al.* 2007) (Luciani *et al.* 2006) (M. Thomas P. Gilbert *et al.* 2008) (M. V Monsalve *et al.* 1996) (M. V. Monsalve *et al.* 2002)(Malhi *et al.* 2004) (Malhi *et al.* 2007) (Malhi *et al.* 2007; Manríquez Soto *et al.* 2011) (Melton *et al.*, 2007b) (Merriwether, Ferrell *et al.* 2006) (Mills *et al.* 2003; Moraga *et al.* 2005) (Noguera-Santamaria eta al. 2015) (S. E. Smith *et al.* 2009) (Shimada *et al.* 2004) (Shinoda *et al.* 2006) (Shook and Smith 2008) (Silva *et al.* 2008) (Snow, Durand, and Smith 2010) (Stone and Stoneking 1996)

La diversidad haplotípica encontrada está de acuerdo con las diversidades encontradas en las poblaciones antiguas, varía entre 0,4 y 0,6.

Análisis de las poblaciones antiguas

Las muestras más antiguas corresponden a ≥ 8.000 AP (aproximadamente 6.050 a.C.).

El Equipo de (Thomas P. Gilbert *et al.*, 2008) estableció que los humanos estuvieron presentes en Paisley 5 Mile Point Caves, en el centro-sur de Oregón, 12.300 años AP (aproximadamente **10.350 a.C.**), a través de la recuperación de ADN mitocondrial humano (ADNmt) de coprolitos directamente fechados por espectrometría de masas con acelerador. El ADN mitocondrial corresponde al poblamiento de Norteamérica con la presencia de los haplogrupos A2 y B2.

Las fechas de los coprolitos son mayores de 1000 años 14C antes de las fechas actualmente aceptadas para la cultura Clovis (Thomas P. Gilbert *et al.*, 2008) (ver mapa numero 16). Sin embargo, esta muestra ha generado una discusión fuerte ya que contradice la teoría Clovis y apoya un asentamiento más temprano, teoría pre Clovis. El grupo de Poinar cuestiona la autenticidad de los resultados de ADN, a lo cual argumentan que, en ausencia de la estratigrafía intacta y los artefactos de diagnóstico, y en vista de las anomalías de los isótopos de carbono, las fechas de radiocarbono de los ejemplares más antiguos no son fiables (Poinar *et al.*, 2009).

Similarmente Goldberg argumenta, después de varios análisis micro morfológicos en uno de los coprolitos reportados, que es improbable identificar el coprolito como de origen humano, compatible con los resultados de ADN (Goldberg, Berna, & Macphail, 2009). A lo cual Rasmussen responde argumentando que la capacidad diagnóstica de las técnicas utilizadas por Goldberg *et al* es limitada, y se presentan nuevos datos genéticos que apoyan las pretensiones iniciales, con un ejemplo de un coprolito de la cultura Nubia en Egipto (Rasmussen *et al.*, 2009).

Después el equipo de Kemp tipificó un solo individuo de 10300 AP en una cueva de la isla Príncipe de Gales, un sitio denominado On-Your-Knees Cave, un haplogrupo de suma importancia, el D4h3a (ver mapa número 5). Este sublinaje se reportó en las poblaciones indígenas actuales costeras del sur de Chile, soportando la teoría de dos rutas de ingreso a América (Dennis H. O'Rourke, 2009).

Muy recientemente, el grupo de Manríquez encontró la presencia de los 4 haplogrupos fundadores desde los 9.000 AP (Manríquez Soto *et al.*, 2011). La presencia del haplogrupo B en el sur de

Chile por 8.000 AP también es inesperada, ya que este haplogrupo no se había encontrado en las actuales poblaciones del sur de Chile. Debido a la misma razón, algunos modelos de colonización basada en la evidencia ADNmt B consideran que fue desplegado por una migración diferente, más reciente, lo que hace más polémico el debate (Manríquez Soto *et al.*, 2011) (ver Mapa 71).

Hacia la gran cuenca de Estados Unidos, según (Raff *et al.*, 2011a), se tipificó un individuo de haplogrupo B en Hourglass Cave en Colorado (Stone & Stoneking, 1998), y uno de haplogrupo C (Malhi *et al.*, 2002), datados de 8000 y 9200 respectivamente (ver en mapa 23 y 21).

En Colombia existe un reporte del haplogrupo C y D en un solo individuo cada uno, mayoritariamente haplogrupo A y algunos pocos de haplogrupo 3 en el hallazgo arqueológico Checua de hace 8000 AP (Díaz-Matallana *et al.*, 2016)

La escasez de los primeros estudios de aADN que podrían contribuir directamente a nuestra comprensión de la colonización inicial del hemisferio occidental es el resultado de dos factores. En primer lugar, muy pocos restos han sido excavados en ocupaciones tempranas, y en segundo lugar, las primeras muestras han demostrado ser recalcitrantes al análisis molecular debido a la mala conservación de los ácidos nucleicos o/y a la acción de los inhibidores de PCR en los extractos de aADN.

Frecuencias de muestras antiguas más recientes (4000 a.C. - 1800 d.C.)

Para construir la composición de las frecuencias de haplogrupos mitocondriales en poblaciones indígenas actuales colombianas se tomaron 33 grupos en total tipificados por diferentes trabajos (Keyeux, Rodas, & Bernal Villegas, 2000; Genoveva Keyeux, Rodas, Gelvez, & Carter, 2002; Melton *et al.*, 2007a; Mesa *et al.*, 2000). Esto con el objeto de complementar una gráfica de frecuencias de haplogrupos mitocondriales que va desde el norte del continente americano hacia el sur contrastando muestras antiguas (4000 a.C. - 1800 d.C.) y modernas.

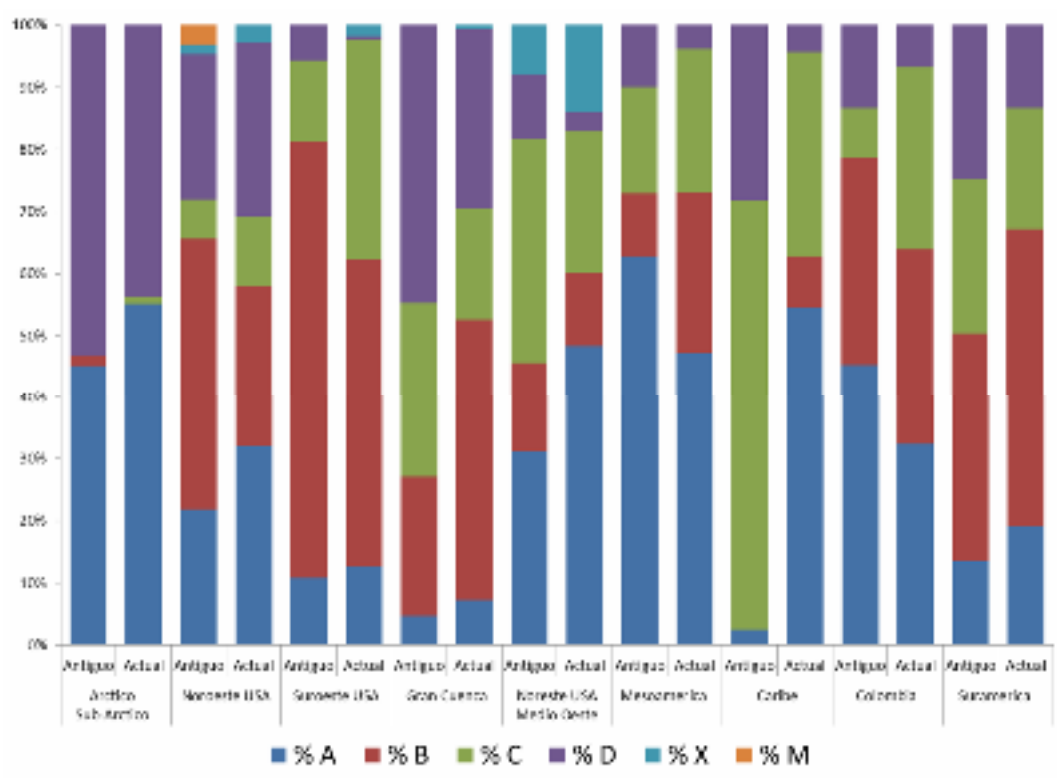


Figura 33 Figura 41 Frecuencias de haplogrupos mitocondriales reportadas en América en poblaciones antiguas y actuales

En toda América se ha reportado la presencia de los haplogrupos fundadores A, B, C, y D en las poblaciones actuales. La misma situación se reporta en las poblaciones antiguas excepto en el Caribe, que tiene ausencia del haplogrupo B. En la parte norte del continente americano se ha reportado el haplogrupo X en bajas proporciones, y existe el reporte del haplogrupo M en población antigua del noroeste de Estado Unidos y del cual, no se tiene reporte alguno en poblaciones actuales (Malhi *et al.*, 2007).

Si analizamos la frecuencia de haplogrupos por zonas y tiempo, esta información será de mayor utilidad y contará una historia en la cual estamos tratando de reconstruir.

Las poblaciones actuales del Ártico se caracterizan por altas frecuencias del haplogrupo A2 y D2a. Si se estudia con más detenimiento hay un cambio ocurrido hace 1000 AP, ya que las muestras analizadas antes de esa época corresponden a una mayor frecuencia de haplogrupo A (72%) y después de este tiempo el que tiene un porcentaje mayor es el haplogrupo D (77%). También cabe anotar que de esta zona proviene el primer borrador de una secuenciación completa de un individuo de hace 4000 AP conservado en el permafrost, el cual se secuenció aproximadamente el 79% del

genoma y corresponde a un individuo de la cultura Saqqad (Rasmussen *et al.*, 2010). Ese trabajo proporciona evidencia de una migración desde Siberia hacia el Nuevo Mundo hace unos 5.500 años, independiente de los americanos nativos y modernos inuit.

Regresando al noroeste de Estados Unidos, en poblaciones modernas existe una clara estructuración geográfica en la distribución de frecuencias de haplogrupos del ADNmt, las poblaciones lejanas a la costa tienen altas frecuencias de haplogrupos B y D, mientras que las poblaciones costeras se caracterizan por una alta frecuencia del haplogrupo A y frecuencias moderadas de haplogrupos B, C y D, aunque no se ven diferencias marcadas con relación a las poblaciones antiguas (Raff *et al.*, 2011a).

En el noreste y medio oeste de Estados Unidos, las distribuciones de la frecuencia de los haplogrupos en las poblaciones antiguas son similares de las poblaciones actuales (alta frecuencia de los haplogrupos A y C, y frecuencias moderadas de haplogrupos B, D y X). Sin embargo, las poblaciones más antiguas (950 a.C. - 750 a.C.) tienen una distribución distinta, tienen frecuencias altas del haplogrupo B y frecuencias bajas de A (Shook & Smith, 2008). El lugar denominado The Late Woodland y el Mississippi difieren de las otras poblaciones antiguas en la exhibición de frecuencias altas de haplogrupo X (Raff and Anthropology 2008). No obstante, estos datos sugieren que los haplogrupos B y C disminuyen en frecuencia, mientras que los haplogrupos A y X aumentan en frecuencia con el transcurrir del tiempo en esta región (Raff *et al.*, 2011a).

Hoy en día, los haplogrupos B, C y D son los haplogrupos más frecuentes en la Gran Cuenca y el suroeste de Estados Unidos. El haplogrupo más frecuente en la Gran Cuenca es el D. Las poblaciones antiguas de esta región en general, muestran los mismos patrones (J. A. Raff *et al.*, 2011a).

Mesoamérica se caracteriza por una mayor frecuencia de los haplogrupos A, B y C y una baja frecuencia de haplogrupo D. Tres antiguas poblaciones de esta región se han estudiado: una muestra de 1325-1475 d.C. del Postclásico azteca de Tlatelolco, México (Kemp *et al.*, n.d.), una muestra Maya de Xcaret de 620-1520 d.C. México (González-Oliver, Márquez-Morfin, Jiménez, & Torre-Blanco, 2001c), y muestras de Honduras referente a la cultura Maya-Copan 650-1250 d.C (González-Oliver *et al.*, 2001c). Las dos poblaciones del México antiguo presentan una alta frecuencia del haplogrupo A, al igual que muchas poblaciones actuales mesoamericanas, pero la antigua población maya de Copan, la mayoría de muestras analizadas pertenece principalmente al haplogrupo C.

Si comparamos las proporciones de las frecuencias de los haplogrupos de ADNmt entre poblaciones de Colombia y Mesoamérica son similares, soportando la hipótesis realizada por Melton y colaboradores (Melton *et al.*, 2007b) la cual sustenta que la población indígena, generalmente los chibchas parlantes, están relacionados con la población Maya.

En los Andes Orientales Colombianos, el primer registro de secuenciación en ADNmt fue desarrollado por Monsalve *et al* 1996 (M. V Monsalve *et al.*, 1996) el cual analizó 6 momias Muiscas. Estos investigadores encontraron que tres de los especímenes pertenecían al haplogrupo A, dos de ellos al haplogrupo C y, finalmente, un ejemplar presentó sustituciones características del haplogrupo B, aunque su ubicación en este grupo es incierta.

El Caribe muestra diferencias claras y dramáticas entre las poblaciones antiguas y modernas a diferencia de muchas otras regiones del continente americano, dos poblaciones precolombinas se han analizado, los taínos desde el sitio denominado La Caleta, en la República Dominicana (Lalueza-Fox, Calderón, Calafell, Morera, & Bertranpetit, 2001) y siboneyes de tres sitios en Cuba (Lalueza-Fox, Gilbert, Martínez- Fuentes, Calafell, & Bertranpetit, 2003b), los cuales se caracterizan por altas frecuencias de haplogrupos C y D. Por el contrario, las poblaciones modernas del Caribe presentan una mayor frecuencia de los haplogrupos A y C, y haplogrupos que no son “indígenas o fundadores” o sea no A-D.

Estos resultados sugieren que los cambios en las frecuencias de haplogrupos podrían haber producido de manera bastante abrupta y, recientemente, en esta región, posiblemente en asociación con la destrucción de las poblaciones indígenas del Caribe después de contacto con los europeos y un grado alto de mezcla con otras poblaciones no americanas (Lalueza-Fox *et al.*, 2003b).

Muchas poblaciones indígenas actuales de América del Sur han sido bien caracterizadas molecularmente, y han contribuido de manera desproporcionada a nuestra comprensión de los patrones genéticos y de diversidad en poblaciones de nativos americanos.

Cuando las poblaciones de Suramérica se dividen en cinco grupos temporales (4000-200 a.C., 200 a.C.-600 d.C., 600-1000 d.C., 1000-1500 d.C., y moderno) para representar la variación temporal de las poblaciones muestreadas, hay evidencia de importantes cambios genéticos a través del tiempo. Las poblaciones más antiguas en general, presentan una mayor frecuencia de haplogrupo D y menor frecuencia de haplogrupo B en comparación con las poblaciones más recientes. Lo que

sugiere que las frecuencias haplotípicas han cambiado poco a poco en América del Sur en los últimos 3.000-4.000 años. Como se señaló anteriormente, la diversidad de haplogrupos mitocondriales generalmente parece haber disminuido en Suramérica desde la antigüedad hasta los tiempos modernos (J. A. Raff, Bolnick, Tackney, & O'Rourke, 2011b).

Los cambios temporales en la composición genética de las poblaciones de América del Sur también se han documentado en los estudios puntuales del continente. Demarchi *et al.* (2001), por ejemplo, no encontró ninguna evidencia de la supresión 9BP (un marcador de discreta definición de haplogrupo B) en las muestras de la prehistoria Argentina (Demarchi, Panzetta-Dutari, Colantonio, & Marcellino, 2001).

Este resultado contrasta con la alta frecuencia de haplogrupo B que se encuentra en los argentinos modernos, sugiriendo que los eventos evolutivos (por ejemplo, el flujo de genes, la despoblación de la expansión del Imperio Inca, y el contacto con los españoles) tuvo un efecto sustancial en la composición de la población de esta región.

Estudios filogenéticos y de mezcla recientes indican que sólo la mitad del componente indígena en los argentinos actuales se puede atribuir a la herencia de poblaciones ancestrales y que la contribución genética española es ligeramente superior a la italiana. El componente europeo es significativamente más frecuente en la provincia de Buenos Aires, la principal puerta de inmigrantes de Argentina, mientras que el componente del nativo americano es más grande en el Norte y el Sur de Argentina (Catelli, Alvarez- Iglesias *et al.* 2011).

En la costa sur del Perú, (Fehren-Schmitz *et al.*, 2009) pusieron a prueba las hipótesis de la continuidad genética de 2 grupos ancestrales mediante el análisis de ADNmt de 217 individuos de grupo Paracas (800-200 a.C.) y del grupo Nasca (200 a.C.-600 d.C.) en la región de la Palpa.

Esta aproximación es válida para resolver si existe continuidad entre estos grupos poblacionales se torna importante en el ámbito de la arqueología desarrollada en el valle Calima del valle geográfico del río Cauca, ya que tiene la misma incógnita entre los periodos Yocoto y Sonso casualmente en los mismos periodos.

Los autores combinaron secuenciación directa de una región 388bp de HVSI (N= 173) en la cuales detectaron 130 SNP diagnósticos para los cuatro haplogrupos americanos (A-D). Las poblaciones de Paracas en las regiones de Palpa y la Península no mostraron diferencias estadísticas en su composición de haplogrupos entre el uno del otro, frecuencias altas (70-79%) del haplogrupo D,

frecuencias moderadas del haplogrupo C (14 - 30%), y cero haplogrupo A y B.

Entre las poblaciones rurales y urbanas de Nasca (tanto de la región de Palpa), los haplogrupos A y B aparecen con bajas frecuencias, D disminuye, y C se incrementa proporcionalmente. Estos cambios de frecuencia de los haplogrupos, sin embargo, no son lo significativamente diferentes entre el grupo poblacional de Nasca con la comunidad de Paracas, o incluso de la población Horizonte Medio. Por consiguiente, los autores interpretan esto como evidencia de la continuidad genética entre las sucesivas culturas (aunque advirtiendo que los tamaños de muestra son demasiado pequeños para sacar conclusiones definitivas).

Estas interpretaciones han sido confirmadas por los cálculos de distancia genética, que son bastante bajos entre todos los del período Paracas y Nasca. Sin embargo, las antiguas poblaciones costeras tienen diferencias significativas en la composición de haplogrupos con respecto a las antiguas poblaciones andinas del altiplano, lo que sugiere un cierto grado de aislamiento (aunque los autores argumentan en contra de la deriva genética, sobre la base de que ambas poblaciones eran relativamente grandes).

Curiosamente, a pesar de diferencias significativas en la composición de haplogrupos en la frecuencia de poblaciones peruanas actuales, las antiguas poblaciones de Palpa son genéticamente similares a las poblaciones modernas.

El continente americano fue el último en ser colonizado por humanos modernos durante el Pleistoceno tardío a través de lo que hoy es el estrecho de Bering. Sin embargo, el momento y la naturaleza de los eventos de colonización iniciales siguen siendo polémicos. El origen asiático de los primeros americanos ha sido ampliamente establecido por numerosos estudios con marcadores clásicos de mediados del siglo XX.

Más recientemente, las secuencias de ADN mitocondrial y cromosoma-Y sumadas a los estudios de marcadores autosómicos han proporcionado un mayor nivel de resolución en la que confirma el origen asiático de los indígenas americanos. Sin embargo, estos datos plantean muchas preguntas sobre las poblaciones de origen, número y tamaño de los grupos de colonizadores y los puntos de entrada para América.

La rápida acumulación de datos moleculares de las poblaciones de las Américas, el mayor uso de los modelos demográficos para probar los escenarios alternativos de colonización, y la evaluación

de la concordancia del patrimonio arqueológico, los datos paleo ambientales y genéticos, proporcionan cierto optimismo para una mejor comprensión de la colonización inicial de las Américas (O'Rourke and Raff 2010). Aunque investigaciones recientes sugieren que la migración pudo haber ocurrido también a lo largo de la costa del Océano Pacífico, la llegada de poblaciones a través de este océano podría haber influido en el perfil genético HLA en América. No se puede descartar la posibilidad de migraciones en sentido inverso, es decir, desde América hacia Asia, que podrían haber ocurrido en distintas épocas. (Rey *et al.*, 2012).

Comparación de frecuencias mitocondriales de muestras antiguas más recientes (4000 a.C. - 1800 d.C.) con nuestras poblaciones.

Esta comparación se tomó como grupo externo una población actual en Somalia, y fue necesario agrupar estas ocurrencias en zonas geográficas,

La población Calima esta más relacionada con el noroeste de estados unidos, mientras que las poblaciones Aburráes y Laches están más cercanas a Mesoamérica, todas están relacionadas con la costa pacífica sumando evidencia de una migración temprana por este sector.

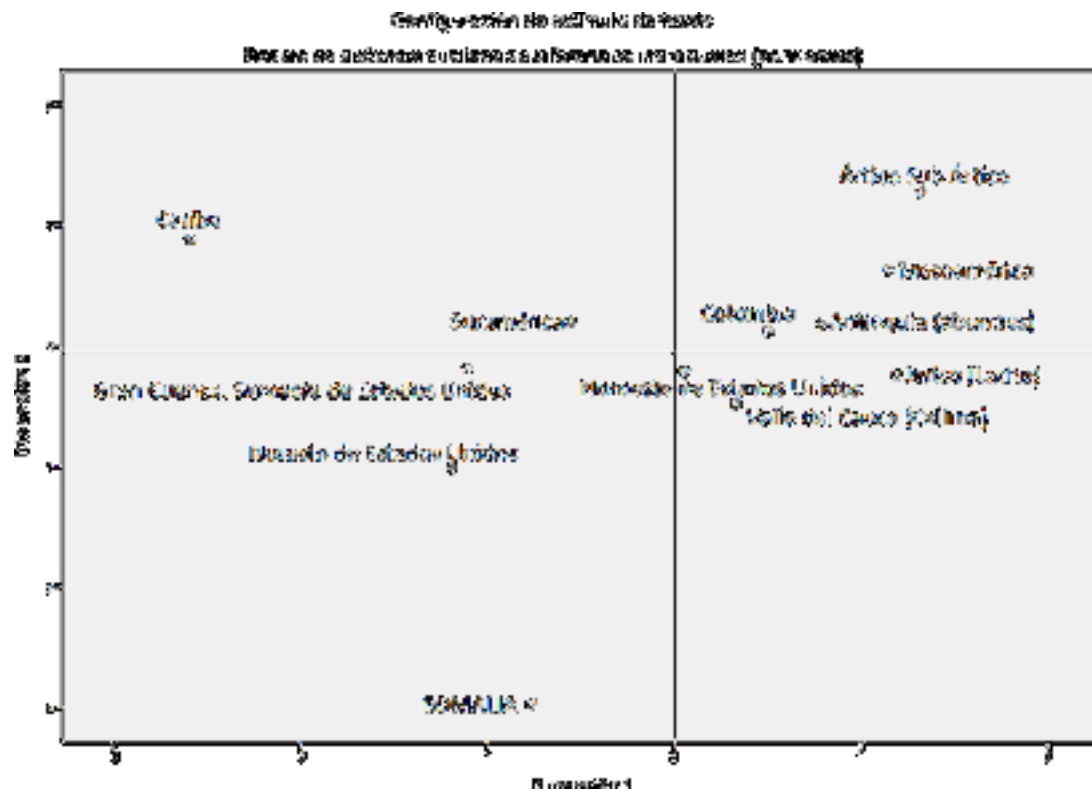


Figura 34 Análisis de componentes principales entre zona geográficas de América y las poblaciones de estudio.

No obstante, es necesario considerar que las investigaciones sobre ADN antiguo son limitadas, las muestras analizadas son de tamaño reducido y la mayoría de los estudios, salvo algunas excepciones, se ha centrado en el análisis del ADN mitocondrial. Por lo tanto, comprendemos que este debate sigue sin resolverse completamente y es probable que se enriquezca con nuevas contribuciones provenientes de investigaciones arqueológicas, morfológicas y genéticas. Estamos ante un enigma que aún carece de muchas piezas para su completa comprensión.

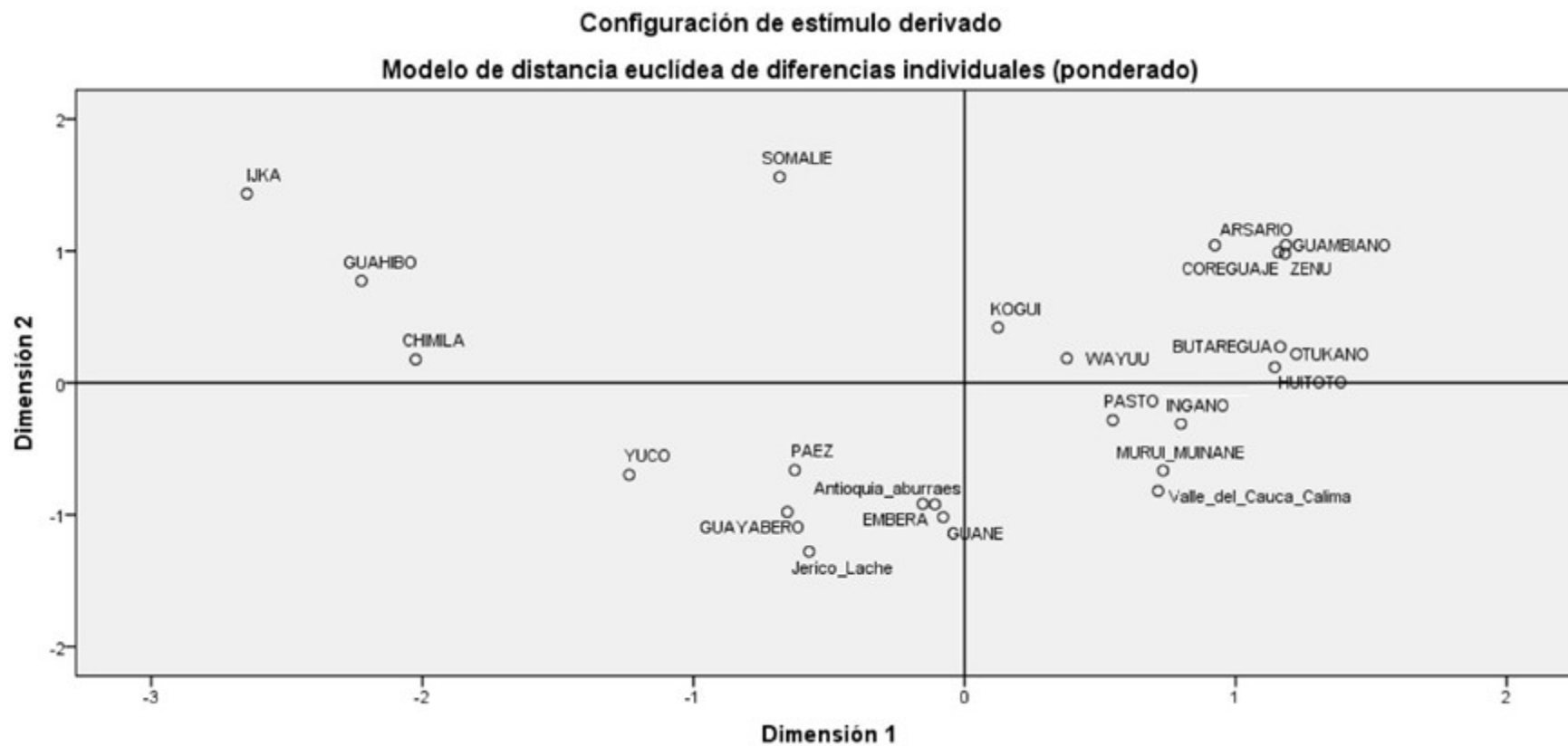


Figura 35 Análisis de componentes principales entre poblaciones de indígenas Actuales y las poblaciones de estudio.

Las poblaciones antiguas de los Aburraes y Laches están genéticamente relacionadas con Guane y Embera, a pesar de la falta de una conexión geográfica evidente y de no pertenecer al mismo tronco lingüístico. En el caso de la población Páez, a pesar de hablar la lengua Páez, muestra un patrón genético Chibcha, similar a la población Guane, que también pertenece lingüísticamente al grupo Chibcha. Esto podría explicar la afinidad genética cercana con los Aburraes y los Laches. Además, hay una notable cercanía genética y geográfica entre las poblaciones Calima, Ingano, Pasto y Murui Muinane, a pesar de pertenecer a troncos lingüísticos diferentes según la taxonomía de Greenberg, Ruhlen y Landaburu.

En el caso de las poblaciones Guayabero y Aburraes/Laches, aunque no comparten una proximidad geográfica significativa, comparten una estrecha afinidad genética debido a las altas frecuencias de los haplogrupos A y B. Aunque lingüísticamente pertenecen a grupos diferentes, la similitud genética sugiere una conexión genética más fuerte que no se refleja en la afiliación lingüística. Es importante destacar que, a pesar de la consideración de la población indígena Guayabero como el Guahibo riveroño, sus frecuencias de haplogrupo A no son tan elevadas y presentan un componente significativo de haplogrupo B.

4 Discusión

El impacto genético y demográfico de contacto entre los europeos con los nativos americanos ha quedado claro. Algunos historiadores dicen que la colonización europea del Nuevo Mundo acabó con las poblaciones nativas a través de la guerra, la esclavitud, y las epidemias de nuevas enfermedades como la viruela, la influenza y el sarampión hasta en un 90%. Mientras que los registros arqueológicos e históricos indican que el contacto europeo resultó en una mortalidad generalizada en varias fuentes, los estudios genéticos han encontrado evidencia de una reciente contracción en el tamaño de población nativa americana. La reconstrucción realizada por O'Fallon (O'Fallon & Fehren-Schmitz, 2011) sugiere que los americanos nativos han sufrido una contracción en tamaño de la población hace 500 AP, durante el cual el tamaño efectivo femenino se redujo en un $\sim 50\%$.

La construcción de historia queda subjetivo al análisis interdisciplinario de diferentes áreas que exploran el mismo fin (Jobling, Hollox, Hurles, Kivisild, & Tyler-Smith, 2013). Para tener respuestas más concretas es necesario, por un lado, hacer un análisis de haplotipos privados en este tipo de estudios para enriquecer enormemente este tipo de estudios, y, por otro lado, estadísticamente se pueden desarrollar correlaciones para comparar las diferentes hipótesis o modelos planteados, pero así mismo es necesario reevaluar las variantes reportadas para así tener certeza en las comparaciones realizadas.

Si comparamos las proporciones de las frecuencias de los haplogrupos de ADNmt entre poblaciones

de Colombia y Mesoamérica son similares, soportando la hipótesis realizada por Melton y colaboradores la cual sustenta que la población indígena, generalmente los chibchas parlantes, están relacionados con la población Maya (Melton *et al.*, 2007b).

El continente americano fue el último en ser colonizado por humanos modernos durante el Pleistoceno tardío a través de lo que hoy es el estrecho de Bering. Sin embargo, el momento y la naturaleza de los eventos de colonización iniciales siguen siendo polémicos. El origen asiático de los primeros americanos ha sido ampliamente establecido por numerosos estudios con marcadores clásicos de mediados del siglo XX.

Más recientemente, las secuencias de ADN mitocondrial y cromosoma-Y sumadas a los estudios de marcadores autosómicos han proporcionado un mayor nivel de resolución en la que confirma el origen asiático de los indígenas americanos. Sin embargo, estos datos plantean muchas preguntas sobre las poblaciones de origen, número y tamaño de los grupos de colonizadores y los puntos de entrada para América.

La rápida acumulación de datos moleculares de las poblaciones de las Américas, el mayor uso de los modelos demográficos para probar los escenarios alternativos de colonización, y la evaluación de la concordancia del patrimonio arqueológico, los datos paleo ambientales y genéticos, proporcionan cierto optimismo para una mejor comprensión de la colonización inicial de las Américas (D H O'Rourke & Raff, 2010).

Aunque investigaciones recientes sugieren la posibilidad de una entrada a través de la costa Pacífica, la migración de personas por el Océano Pacífico podría haber contribuido al perfil genético HLA en América. No se puede descartar la migración inversa de personas desde América hacia Asia en diferentes períodos, según Rey y colaboradores (2012). Sin embargo, es crucial tener en cuenta la limitada cantidad de investigaciones de ADN antiguo en relación con la extensión del área de estudio. Además, las muestras analizadas son pequeñas en tamaño y la mayoría de los estudios, con pocas excepciones, se han centrado en el análisis de ADN mitocondrial. Por lo tanto, el debate continúa abierto y probablemente se enriquecerá con nuevas contribuciones de investigaciones arqueológicas, morfológicas y genéticas. Este escenario se asemeja a un rompecabezas que aún carece de muchas piezas para su completa comprensión.

El impacto genético y demográfico de contacto entre los europeos con los nativos americanos ha quedado claro. Algunos historiadores dicen que la colonización europea del Nuevo Mundo acabó

con las poblaciones nativas a través de la guerra, la esclavitud, y las epidemias de nuevas enfermedades como la viruela, la influenza y el sarampión hasta en un 90%. Mientras que los registros arqueológicos e históricos indican que el contacto europeo resultó en una mortalidad generalizada en varias fuentes, los estudios genéticos han encontrado evidencia de una reciente contracción en el tamaño de población nativa americana. La reconstrucción realizada por O'Fallon sugiere que los americanos nativos han sufrido una contracción en tamaño de la población hace 500 AP, durante el cual el tamaño efectivo femenino se redujo en un $\sim 50\%$ (O'Fallon & Fehren-Schmitz, 2011).

Posiblemente el acercamiento más preciso este dado en la última revisión de genomas completos hechas por Stoneking 2011 (Stoneking & Krause, 2011). la cual hace referencia a 2 tipos de análisis: análisis sin supervisión, en donde solo se trabaja con herramientas de genética de poblaciones, no requieren que las etiquetas de la población se aplican a los individuos; y análisis basados en un modelo, donde a partir de este primer examen se hacen correlaciones con otros modelos contrastando así las teorías desarrolladas sobre la historia del poblamiento. El problema es que cada caso es particular y se puede adaptar la estadística hacia un análisis subjetivo.

Quiero resaltar el trabajo desarrollado por Tofanelli (Tofanelli, Taglioli, Merlitti, & Paoli, 2011) dada la necesidad de diseñar herramientas eficientes que puedan manejar el tamaño de datos arrojados por secuenciación de última generación, el cual proporcionan una guía básica que introduce los usuarios no programadores interesados en la historia genética humana a las herramientas de simulación por ordenador con los datos arrojados por el análisis de NRUP con el objeto de simular las fuerzas que dieron forma a la variación genética humana en América.

Para finalizar, deseo destacar la frase final de Stoneking en su revisión "La buena noticia (sobre todo para los estudiantes que temen que todas las cuestiones interesantes han sido contestadas) es que cuando se trata de la historia de la población humana, existen todavía muchas historias que esperan ser contadas" (Stoneking & Krause, 2011).

7. Conclusiones

Con base en el análisis de las secuencias de la región hipervariable I (HVSI) del ADNmt se encontraron la presencia de los haplogrupos A2, A2ab, A2ac, A2ad1, A2af1b1b, A2ah, A2i, B2a, B2g1, B2s, B4a1c3, B4c1a1a, B4j, C1, C1b5b, C1c4, C5, D4h3, D4j1a, D4o1 en entierros colombianos, la mayoría de los haplogrupos no ha sido reportados en estudios de

genética antigua, pero si en pobladores actuales de la costa pacífica desde Asia hasta América. Este hallazgo da evidencia genética para resaltar una dispersión de Paleo-americanos hacia el sur por la costa del Pacífico.

La población Calima se difiere de los Aburráes y Laches, y está más relacionada con los pobladores antiguos de noroeste estadounidense mientras que los Aburráes y Laches están más relacionados con Mesoamérica.

Nuestros datos Paleo-genéticos de Colombia, junto con otros datos genéticos, arqueológicos y paleo ambientales publicados, nos permiten proponer un Modelo Integrado de Migración para el poblamiento temprano del Noroeste de Suramérica a lo largo de la costa; poblando a Colombia a través de las Cordilleras Andinas desde el pacífico acompañado de un descubrimiento de nuevas cuencas que permitió la colonización y expansión de diversas culturas prehispánicas.

Los estimativos poblacionales utilizados en las 3 poblaciones señalan una expansión demográfica de estas.

El resumen de este trabajo lo puede encontrar en los siguientes manuscritos

El primero, titulado "Unraveling the Genetic Threads of History: mtDNA HVS-I Analysis Reveals the Ancient Past of the Aburra Valley", se encuentra en el siguiente enlace:

<https://www.mdpi.com/2073-4425/14/11/2036>.

El segundo manuscrito se titula "High Mitochondrial Haplotype Diversity Found in Three Pre-Hispanic Groups from Colombia" y puede encontrarse en el siguiente enlace:

<https://www.mdpi.com/2073-4425/14/10/1853>.

8. Bibliografía

Achilli, A., Perego, U. A., Bravi, C. M., Coble, M. D., Kong, Q.-P., Woodward, S. R., & Bandelt, H.-J. (2008). The phylogeny of the four Pan-American mtDNA haplogroups: Implications for evolutionary and disease studies. *PLoS ONE*, 3(3), e1764. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001764>

Achilli, A., Perego, U. A., Lancioni, H., Olivieri, A., Gandini, F., Hooshier Kashani, B., & Torroni, A. (2013). Reconciling migration models to the Americas with the variation of North American native mitogenomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(35), 14308–14313. <https://doi.org/10.1073/pnas.1306290110>

- Alves-Silva, J., da Silva Santos, M., Guimarães, P. E. M., Ferreira, A. C. S., Bandelt, H.-J., Pena, S. D. J., & Prado, V. F. (2016). The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. *The American Journal of Human Genetics*, 67(2), 444–461. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2000.05.004>
- Anderson, S., Bankier, A. T., Barrell, B. G., de Bruijn, M. H. L., Coulson, A. R., Drouin, J., & Young, I. G. (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 290(5806), 457–465. <https://doi.org/10.1038/290457a0>
- Andrews, R. M., Turnbull, D. M., Kubacka, I., Chinnery, P. F., Lightowers, R. N., & Howell, N. (1999). Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nature Genetics*, 23(2), 147–147. <https://doi.org/10.1038/13779>
- Arango Ochoa, R. (2004). Los pueblos indígenas de Colombia en el umbral del nuevo milenio. Población, cultura y territorio: Bases para el fortalecimiento social y económico de los pueblos indígenas (DANE, Ed.). Bogota.
- Aristizábal Espinosa, P. (2015). Los Aburráes. Tras los rastros de nuestros ancestros (1st ed.). Medellín.
- Bailliet, G., Rothhammer, F., Carnese, F. R., Bravi, C. M., & Bianchi, N. O. (1994). Founder mitochondrial haplotypes in Amerindian populations. *American Journal of Human Genetics*, 55(1), 27–33.
- Ballinger, S. W., Schurr, T. G., Torroni, A., Gan, Y. Y., Hodge, J. A., Hassan, K., & Wallace, D. C. (1992). Southeast Asian mitochondrial DNA analysis reveals genetic continuity of ancient Mongoloid migrations. *Genetics*, 130(1), 139–152.
- Ballinger, S. W., Shoffner, J. M., Gebhart, S., Koontz, D. A., & Wallace, D. C. (1994). Mitochondrial diabetes revisited. *Nature Genetics*, 7(4), 458–459. <https://doi.org/10.1038/ng0894-458>
- Ballinger, S. W., Shoffner, J. M., Hedaya, E. V., Trounce, I., Polak, M. A., Koontz, D. A., & Wallace, D. C. (1992). Maternally transmitted diabetes and deafness associated with a 10.4 kb mitochondrial DNA deletion. *Nature Genetics*, 1(1), 11–15. <https://doi.org/10.1038/ng0492-11>
- Bandelt, H. J., Forster, P., & Rohl, A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16(1), 37–48. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>

- Bandelt, H. J., Forster, P., Sykes, B. C., & Richards, M. B. (1995). Mitochondrial portraits of human populations using median networks. *Genetics*, *141*(2), 743–753. <https://doi.org/10.1093/genetics/141.2.743>
- Bandelt, H.-J., Herrnstadt, C., Yao, Y.-G., Kong, Q.-P., Kivisild, T., Rengo, C., & Zhang, Y.-P. (2003). Identification of Native American founder mtDNAs through the analysis of complete mtDNA sequences: Some caveats. *Annals of Human Genetics*, *67*(6), 512–524. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2003.00064.x>
- Bandelt, H.-J., Macaulay, V., & Richards, M. (2000). Median networks: Speedy construction and greedy reduction, one simulation, and two case studies from human mtDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *16*(1), 8–28. <https://doi.org/10.1006/mpev.2000.0793>
- Barreto, G., Rodríguez, C. A., Braga, Y. A., Quintero, M., Jurado, L., Arias, L., & Rodríguez Flórez, E. L. (2010). Extracción y amplificación de ADN arqueológico de dos poblaciones prehispánicas del suroccidente colombiano. *International Journal of South American Archaeology*, *6*, 46–57.
- Behar, D. M., Rosset, S., Blue-Smith, J., Balanovsky, O., Tzur, S., Comas, D., & The Genographic Consortium. (2007). The Genographic Project public participation mitochondrial DNA database. *PLoS Genetics*, *3*(6), e104. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0030104>
- Behar, D. M., van Oven, M., Rosset, S., Metspalu, M., Loogväli, E.-L., Silva, N. M., & Villems, R. (2012). A “Copernican” reassessment of the human mitochondrial DNA tree from its root. *American Journal of Human Genetics*, *90*(4), 675–684. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.03.002>
- Bernal, J. E., *et al.* (1995). HLA antigens in five Amerindian groups (Yuko, Bari, Tunebo, Guane and Paez) of Colombia: Results of ‘Expedicion Humana’. *Human Heredity*, *45*(4), 186–191. <https://doi.org/10.1159/000154325>
- Bernes, S. M., Bacino, C., Prezant, T. R., Pearson, M. A., Wood, T. S., Fournier, P., & Fischel-Ghodsian, N. (1993). Identical mitochondrial DNA deletion in mother with progressive external ophthalmoplegia and son with Pearson marrow-pancreas syndrome. *The Journal of Pediatrics*, *123*(4), 598–602. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(05\)80889-0](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(05)80889-0)
- Bolnick, D. A., & Smith, D. G. (2007). Migration and social structure among the Hopewell: Evidence from ancient DNA. *American Antiquity*, *72*(4), 627–644. <https://doi.org/10.2307/25470441>
- Briggs, A. W., Stenzel, U., Johnson, P. L. F., Green, R. E., Kelso, J., Prufer, K., & Paabo, S. (2007). Patterns of damage in genomic DNA sequences from a Neandertal. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104*(37), 14616–14621. <https://doi.org/10.1073/pnas.0704665104>
- Brotherton, P., Endicott, P., Sanchez, J. J., Beaumont, M., Barnett, R., Austin, J., & Cooper, A. (2007). Novel high-resolution characterization of ancient DNA reveals C > U-type base modification events as the sole cause of post mortem miscoding lesions. *Nucleic Acids Research*, *35*(17), 5717–5728. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm588>
- Brown, M. D., Hosseini, S. H., Torroni, A., Bandelt, H. J., Allen, J. C., Schurr, T. G., & Wallace, D. C. (1998a). MtDNA haplogroup X: An ancient link between Europe/Western Asia

and North America? *American Journal of Human Genetics*, 63(6), 1852–1861.
<https://doi.org/10.1086/302124>

Budowle, B., Wilson, M. R., DiZinno, J. A., Stauffer, C., Fasano, M. A., Holland, M. M., & Monson, K. L. (1999). Mitochondrial DNA regions HVI and HVII population data. *Forensic Science International*, 103(1), 23–35. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(99\)00055-9](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(99)00055-9)

Lalueza-Fox, C., Luna Calderón, F., Calafell, F., Morera, B., & Bertranpetit, J. (2001). MtDNA from extinct Tainos and the peopling of the Caribbean. *Annals of Human Genetics*, 65(2), 137–151. <https://doi.org/10.1046/j.1469-1809.2001.6520137.x>

Cabana, G. S., Merriwether, D. A., Hunley, K., & Demarchi, D. A. (2006). Is the genetic structure of Gran Chaco populations unique? Interregional perspectives on native South American mitochondrial DNA variation. *American Journal of Physical Anthropology*, 131(1), 108–119. <https://doi.org/10.1002/ajpa.20420>

Calloway, C. D., Reynolds, R. L., Herrin, G. L., Anderson, W. W., & Anderson, W. W. (2000). The frequency of heteroplasmy in the HVII region of mtDNA differs across tissue types and increases with age. *American Journal of Human Genetics*, 66(4), 1384–1397.
<https://doi.org/10.1086/302879>

Cann, R. L., & Wilson, A. C. (1983). Length mutations in human mitochondrial DNA. *Genetics*, 104(4), 699–711. <https://doi.org/10.1093/genetics/104.4.699>

Cann, R. L., Stoneking, M., & Wilson, A. C. (1987). Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature*, 325(6099), 31–36. <https://doi.org/10.1038/325031a0>

Cardale de Schimpff, M. (1996). *Caminos prehispánicos en Calima: El estudio de caminos precolombinos de la Cuenca del alto río Calima, Cordillera Occidental, Valle del Cauca*. Fundación de Investigaciones Arqueológicas Nacionales.

Carlyle, S. W., Parr, R. L., Hayes, M. G., & O'Rourke, D. H. (2000). Context of maternal lineages in the greater Southwest. *American Journal of Physical Anthropology*, 113(1), 85–101. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(200005\)113:1<85::AID-AJPA8>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(200005)113:1<85::AID-AJPA8>3.0.CO;2-7)

Carnese, F. R., Mendisco, F., Keyser, C., Dejean, C. B., Dugoujon, J.-M., Bravi, C. M., & Crubézy, E. (2010). Paleogenetical study of pre-Columbian samples from Pampa Grande (Salta, Argentina). *American Journal of Physical Anthropology*, 141(3), 452–462.
<https://doi.org/10.1002/ajpa.21160>

Casas-Vargas, A., Casas-Vargas, A., Romero, L. M., Usaquén, W., Zea, S., Silva, M., & Rodríguez, J. V. (2017). Diversidad del ADN mitocondrial en restos óseos prehispánicos asociados al templo del sol en los andes orientales colombianos. *Biomedica*, 37(4).
<https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i4.3682>

Casas-Vargas, A., Gómez, A., Briceño, I., Díaz-Matallana, M., Bernal, J. E., & Rodríguez, J. V. (2011). High genetic diversity on a sample of pre-Columbian bone remains from Guane territories in northwestern Colombia. *American Journal of Physical Anthropology*, 146(4), 637–649. <https://doi.org/10.1002/ajpa.21605>

Case, J. T., & Wallace, D. C. (1981). Maternal inheritance of mitochondrial DNA polymorphisms in cultured human fibroblasts. *Somatic Cell Genetics*, 7(1), 103–108.
<https://doi.org/10.1007/BF01538710>

- Chandrasekar, A., Kumar, S., Sreenath, J., Sarkar, B. N., Urade, B. P., Mallick, S., & Rao, V. R. (2009). Updating phylogeny of mitochondrial DNA macrohaplogroup M in India: Dispersal of modern human in South Asian corridor. *PLoS ONE*, 4(10), e7447. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007447>
- Clarac De Briceño, J. (1981). *Dioses en exilio. Representaciones y prácticas simbólicas en la Cordillera de Mérida*. Fundación para la Cultura y las Artes del Distrito Federal.
- Clarac De Briceño, J. (1996). Características de la tecnología antigua en Mérida. En J. Clarac (Comp.), *Mérida a través del tiempo* (pp. 113-130). Universidad de los Andes Consejo de Publicaciones, Museo Arqueológico Gonzalo Rincón Gutiérrez, CONAC.
- Comas, D., Pääbo, S., & Bertranpetit, J. (1995). Heteroplasmy in the control region of human mitochondrial DNA. *Genome Research*, 5(1), 89–90. <https://doi.org/10.1101/gr.5.1.89>
- Cooper, A., & Poinar, H. N. (2000). Ancient DNA: Do it right or not at all. *Science*, 289(5482), 1139. <https://doi.org/10.1126/science.289.5482.1139>
- Cormier, V., Rotig, A., Tardieu, M., Colonna, M., Saudubray, J. M., & Munnich, A. (1991). Autosomal dominant deletions of the mitochondrial genome in a case of progressive encephalomyopathy. *American Journal of Human Genetics*, 48(4), 643–648.
- Corrêa, A. M. (1928). Nouvelles hypothèses sur le peuplement primitif de l’Amérique du Sud. *Anais, Faculdade de Ciencias do Porto*, 15, 86-112.
- Correal, G., & Pinto, M. (1983). *Investigaciones arqueológicas en el municipio de Zipacón, Cundinamarca*. Fundación de Investigaciones Arqueológicas Nacionales, Banco de la República.
- Correal, G., & Van Der Hammen, T. (1977). *Investigaciones arqueológicas de los abrigos rocosos del Tequendama*. Biblioteca del Banco Popular.
- Correal, G. (1990). *Aguazuque. Evidencias de cazadores, recolectores y plantadores en la altiplanicie de la Cordillera Oriental*. Fundación de Investigaciones Arqueológicas Nacionales, Banco de la República.
- Corredor, M. (2011). Reflexiones sobre evolución, ciencia y el mundo que me rodea en general. En *Evolucionarios*.
- Cree, L. M., Samuels, D. C., de Sousa Lopes, S. C., Rajasimha, H. K., Wonnapijit, P., Mann, J. R., & Chinnery, P. F. (2008). A reduction of mitochondrial DNA molecules during embryogenesis explains the rapid segregation of genotypes. *Nature Genetics*, 40(2), 249–254. <https://doi.org/10.1038/ng.2007.63>
- Cuenca, J. V. R., Blanco, S., & Clavijo, A. (2005). *Pueblos, rituales y condiciones de vida prehispanicas en el Valle del Cauca*. Universidad Nacional de Colombia.
- Demarchi, D. A., Panzetta-Dutari, G. M., Colantonio, S. E., & Marcellino, A. J. (2001). Absence of the 9-bp deletion of mitochondrial DNA in pre-Hispanic inhabitants of Argentina. *Human Biology*, 73(4), 575–582. <https://doi.org/10.1353/hub.2001.0058>
- Derenko, M., Malyarchuk, B., Grzybowski, T., Denisova, G., Dambueva, I., Perkova, M., & Zakharov, I. (2007). Phylogeographic analysis of mitochondrial DNA in northern Asian

populations. *The American Journal of Human Genetics*, 81(5), 1025–1041.
<https://doi.org/10.1086/522933>

Derenko, M., Malyarchuk, B., Grzybowski, T., Denisova, G., Rogalla, U., Perkova, M., & Zakharov, I. (2010). Origin and post-glacial dispersal of mitochondrial DNA haplogroups C and D in northern Asia. *PLoS ONE*, 5(12), e15214. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015214>

Díaz, I. A. (1986). *El pueblo de los guanes: Raíz gloriosa de Santander*. Instituto Colombiano de Cultura, Subdirección de Comunicaciones Culturales, División de Publicaciones.

Díaz-Matallana, M., Gómez Gutiérrez, A., Briceño, I., & Rodríguez Cuenca, J. V. (2016). Genetic analysis of paleo-colombians from Nemocón, Cundinamarca provides insights on the early peopling of northwestern South America. *Revista de La Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas Y Naturales*, 40(156), 461. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.156>

Dizdaroglu, M., Jaruga, P., Birincioglu, M., & Rodriguez, H. (2002). Free radical-induced damage to DNA: Mechanisms and measurement. *Free Radical Biology & Medicine*, 32(11), 1102–1115. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)00826-2](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)00826-2)

Eshleman, J. A., Malhi, R. S., & Smith, D. G. (2003). Mitochondrial DNA studies of Native Americans: Conceptions and misconceptions of the population prehistory of the Americas. *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews*, 12(1), 7–18.
<https://doi.org/10.1002/evan.10103>

Fagundes, N. J., Kanitz, R., Eckert, R., Valls, A. C., Bogo, M. R., Salzano, F. M., & Bonatto, S. L. (2008). Mitochondrial population genomics supports a single pre-Clovis origin with a coastal route for the peopling of the Americas. *American Journal of Human Genetics*, 82(3), 583–592.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2007.11.013>

Fan, L., & Yao, Y.-G. (2013). An update to MitoTool: Using a new scoring system for faster mtDNA haplogroup determination. *Mitochondrion*, 13(4), 360–363.
<https://doi.org/10.1016/j.mito.2013.06.005>

Fehren-Schmitz, L., Reindel, M., Cagigao, E. T., Hummel, S., & Herrmann, B. (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(2), 208–221. <https://doi.org/10.1002/ajpa.21140>

Felsenstein, J. (1981). Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, 17(6), 368–376. <https://doi.org/10.1007/BF01734359>

Felsenstein, J. (2005). *PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6*. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle.

Fernández, N. J. (1999). *La arqueología molecular aplicada a la solución de problemas prehistóricos: Análisis de ADN mitocondrial en momias y restos óseos prehispanicos*. Universidad Nacional de Colombia.

Foran, D. R., Hixson, J. E., & Brown, W. M. (1988). Comparisons of ape and human sequences that regulate mitochondrial DNA transcription and D-loop DNA synthesis. *Nucleic Acids Research*, 16(13), 5841–5861. <https://doi.org/10.1093/nar/16.13.5841>

- Forster, P., Harding, R., Torroni, A., & Bandelt, H. J. (1996). Origin and evolution of Native American mtDNA variation: A reappraisal. *American Journal of Human Genetics*, 59(4), 935–945. <https://doi.org/10.1086/ajhg.59.4.935>
- Gilbert, M. T. P., Bandelt, H.-J., Hofreiter, M., Barnes, I., & Higuchi, R. (2005). Assessing ancient DNA studies. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(10), 541–544. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.07.005>
- Gilbert, M. T. P., Jenkins, D. L., Götherstrom, A., Naveran, N., Sanchez, J. J., Hofreiter, M., & Willerslev, E. (2008). DNA from Pre-Clovis human coprolites in Oregon, North America. *Science*, 320(5877), 786–789. <https://doi.org/10.1126/science.1154116>
- Gilbert, M. T. P., Kivisild, T., Grønnow, B., Andersen, P. K., Metspalu, E., Reidla, M., & Willerslev, E. (2008). Paleo-Eskimo mtDNA genome reveals matrilineal discontinuity in Greenland. *Science*, 320(5877), 1787–1789. <https://doi.org/10.1126/science.1154116>
- Giles, R. E., Blanc, H., Cann, H. M., & Wallace, D. C. (1980). Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 77(11), 6715–6719. <https://doi.org/10.1073/pnas.77.11.6715>
- Goldberg, P., Berna, F., & Macphail, R. I. (2009). Comment on “DNA from Pre-Clovis human coprolites in Oregon, North America”. *Science*, 325(5937), 148. <https://doi.org/10.1126/science.1161879>
- González-Oliver, A., Márquez-Morfin, L., Jiménez, J. C., & Torre-Blanco, A. (2001). Founding Amerindian mitochondrial DNA lineages in ancient Maya from Xcaret, Quintana Roo. *American Journal of Physical Anthropology*, 116(3), 230–235. <https://doi.org/10.1002/ajpa.1103>
- Goodman, S. R. (2008). *Medical cell biology*. Elsevier/Academic Press.
- Green, R. E., Krause, J., Briggs, A. W., Maricic, T., Stenzel, U., Kircher, M., & Pääbo, S. (2008). A complete Neandertal mitochondrial genome sequence determined by high-throughput sequencing. *Cell*, 134(3), 416–426. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.06.021>
- Greenberg, J. H., Turner, C. G., Zegura, S. L., Campbell, L., Fox, J. A., Laughlin, W. S., & Woolford, E. (1986). The settlement of the Americas: A comparison of the linguistic, dental, and genetic evidence [and comments and reply]. *Current Anthropology*, 27(5), 477–497. <https://doi.org/10.1086/203472>
- Hagelberg, E. (2003). Recombination or mutation rate heterogeneity? Implications for Mitochondrial Eve. *Trends in Genetics*, 19(2), 84–90. [https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(02\)00030-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(02)00030-1)
- Handt, O., Höss, M., Krings, M., & Pääbo, S. (1994). Ancient DNA: Methodological challenges. *Experientia*, 50(6), 524–529. <https://doi.org/10.1007/BF01921720>
- Harvati, K., Frost, S. R., & McNulty, K. P. (2004). Neanderthal taxonomy reconsidered: Implications of 3D primate models of intra- and interspecific differences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(5), 1147–1152. <https://doi.org/10.1073/pnas.0308085100>
- Hayes, M. G. (2002). *Paleogenetic assessments of human migration and population replacement in North American Arctic prehistory* [Doctoral dissertation, University of Utah].

- Herrera, L., Cardale de Schrimppff, M., Archila, S., & Fundación de Investigaciones Arqueológicas Nacionales (Colombia). (2007). *Coronado, un cementerio de la cultura Malagana: Excavaciones iniciales*. Fundación de Investigaciones Arqueológicas Nacionales, Banco de la República.
- Herrnstadt, C., Elson, J. L., Fahy, E., Preston, G., Turnbull, D. M., Anderson, C., & Worobey, M. (2002). Reduced-median-network analysis of complete mitochondrial DNA coding-region sequences for the major African, Asian, and European haplogroups. *The American Journal of Human Genetics*, *70*(5), 1152–1171. <https://doi.org/10.1086/ajhg.70.5.1152>
- Higuchi, R., Bowman, B., Freiberger, M., Ryder, O. A., & Wilson, A. C. (1984). DNA sequences from the quagga, an extinct member of the horse family. *Nature*, *312*(5991), 282–284. <https://doi.org/10.1038/312282a0>
- Hofreiter, M., Serre, D., Poinar, H. N., Kuch, M., & Pääbo, S. (2001). Ancient DNA. *Nature Reviews Genetics*, *2*(5), 353–359. <https://doi.org/10.1038/35072071>
- Holt, I. J., Harding, A. E., & Morgan-Hughes, J. A. (1988). Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. *Nature*, *331*(6158), 717–719. <https://doi.org/10.1038/331717a0>
- Holt, I. J., Miller, D. H., & Harding, A. E. (1989). Genetic heterogeneity and mitochondrial DNA heteroplasmy in Leber's hereditary optic neuropathy. *Journal of Medical Genetics*, *26*(12), 739–743. <https://doi.org/10.1136/jmg.26.12.739>
- Horai, S., Kondo, R., Nakagawa-Hattori, Y., Hayashi, S., Sonoda, S., & Tajima, K. (1993). Peopling of the Americas, founded by four major lineages of mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution*, *10*(1), 23–47. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040007>
- Höss, M., Jaruga, P., Zastawny, T. H., Dizdaroğlu, M., & Pääbo, S. (1996). DNA damage and DNA sequence retrieval from ancient tissues. *Nucleic Acids Research*, *24*(7), 1304–1307. <https://doi.org/10.1093/nar/24.7.1304>
- Howell, N., & Smejkal, C. B. (2000). Persistent heteroplasmy of a mutation in the human mtDNA control region: Hypermutation as an apparent consequence of simple-repeat expansion/contraction. *American Journal of Human Genetics*, *66*(5), 1589–1598. <https://doi.org/10.1086/302879>
- Hrdlička, A. (1928). *The origin and antiquity of man in America*. N.Y. Acad. of Medicine.
- Hummel, S. (2003). *Ancient DNA typing: Methods, strategies and applications*. Springer Berlin Heidelberg.
- Hutchison, C. A., Newbold, J. E., Potter, S. S., & Edgell, M. H. (1974). Maternal inheritance of mammalian mitochondrial DNA. *Nature*, *251*(5475), 536–538. <https://doi.org/10.1038/251536a0>
- Jara Gutierrez, N. P. (2007). *Determinación de la estructura genética en un grupo poblacional Muisca mediante el análisis de polimorfismos en el ADN mitocondrial*. Universidad Pontificia La Javeriana.
- Jobling, M., Hollox, E., Hurles, M., Kivisild, T., & Tyler-Smith, C. (2013). *Human evolutionary genetics* (2nd ed.). Taylor & Francis Group.

- Kaestle, F. A., & Horsburgh, K. A. (2002). Ancient DNA in anthropology: Methods, applications, and ethics. *American Journal of Physical Anthropology*, *119*(S35), 92–130. <https://doi.org/10.1002/ajpa.10179>
- Kemp, B. M., González-Oliver, A., Malhi, R. S., Monroe, C., Schroeder, K. B., McDonough, J., & Smith, D. G. (2010). Evaluating the farming/language dispersal hypothesis with genetic variation exhibited by populations in the Southwest and Mesoamerica. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *107*(15), 6759–6764. <https://doi.org/10.1073/pnas.1001159107>
- Kemp, B. M., Malhi, R. S., McDonough, J., Bolnick, D. A., Eshleman, J. A., Rickards, O., & Smith, D. G. (n.d.). Genetic analysis of early Holocene skeletal remains from Alaska and its implications for the settlement of the Americas.
- Kemp, B. M., Tung, T. A., & Summar, M. L. (2009). Genetic continuity after the collapse of the Wari empire: Mitochondrial DNA profiles from Wari and post-Wari populations in the ancient Andes. *American Journal of Physical Anthropology*, *140*(1), 80–91. <https://doi.org/10.1002/ajpa.21040>
- Keyeux, G., Rodas, C., Gelvez, N., & Carter, D. (2002). Possible migration routes into South America deduced from mitochondrial DNA studies in Colombian Amerindian populations. *Human Biology*, *74*(2), 211–233. <https://doi.org/10.1353/hub.2002.0018>
- Keyeux, G., Rodas, M. C., & Bernal Villegas, J. (2000). Haplogrupos fundadores del DNA mitocondrial en poblaciones colombianas: Aporte a los estudios en América. En *Geografía humana de Colombia: Variación biológica y cultural en Colombia*. Instituto Colombiano de Cultura Hispánica.
- Kimura, M. (1991). The neutral theory of molecular evolution: A review of recent evidence. *Idengaku Zasshi*, *66*(4), 367–386. <https://doi.org/10.1266/jjg.66.367>
- Kloss-Brandstätter, A., Pacher, D., Schönherr, S., Weissensteiner, H., Binna, R., Specht, G., & Kronenberg, F. (2011). HaploGrep: A fast and reliable algorithm for automatic classification of mitochondrial DNA haplogroups. *Human Mutation*, *32*(1), 25–32. <https://doi.org/10.1002/humu.21382>
- Kohne, D. E. (1970). Evolution of higher-organism DNA. *Quarterly Reviews of Biophysics*, *3*(3), 327–375. <https://doi.org/10.1017/S0033583500000518>
- Krings, M., Stone, A., Schmitz, R. W., Krainitzki, H., Stoneking, M., & Pääbo, S. (1997). Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans. *Cell*, *90*(1), 19–30. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80310-4](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80310-4)
- Kumar, S., Bellis, C., Zlojutro, M., Melton, P. E., Blangero, J., & Curran, J. E. (2011). Large scale mitochondrial sequencing in Mexican Americans suggests a reappraisal of Native American origins. *BMC Evolutionary Biology*, *11*(1), 293. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-293>
- Lalueza-Fox, C., Calderón, F. L., Calafell, F., Morera, B., & Bertranpetit, J. (2001). MtDNA from extinct Tainos and the peopling of the Caribbean. *Annals of Human Genetics*, *65*(2), 137–151. <https://doi.org/10.1046/j.1469-1809.2001.6520137.x>
- Lalueza-Fox, C., Gilbert, M. T. P., Martínez-Fuentes, A. J., Calafell, F., & Bertranpetit, J. (2003). Mitochondrial DNA from pre-Columbian Ciboneys from Cuba and the prehistoric

colonization of the Caribbean. *American Journal of Physical Anthropology*, 121(2), 97–108.
<https://doi.org/10.1002/ajpa.10219>

Landaburu, J. (1996). *Documentos sobre lenguas aborígenes de Colombia del archivo de Paul Rivet, Lenguas de la Amazonía Colombiana* (Vol. 1). Ediciones Uniandes.

Langebaek, C. (1986a). Notas sobre el acceso a plantíos de coca en territorio Muisca. *Texto y Contexto*, 9. Universidad de Los Andes, Bogotá.

Langebaek, C. (1986b). Los períodos agroalfarero del Altiplano Cundiboyacense vistos desde “El Muelle”, Sopó, Cundinamarca. *Revista de Antropología, Universidad de los Andes*, 2(1-2). Bogotá.

Langebaek, C. (1987). *Mercados, poblamiento e integración étnica entre los Muiscas S. XVI*. Colección Bibliográfica Banco de la República, Bogotá.

Langebaek, C. (1988). Tres formas de acceso a productos en territorio de los cacicazgos sujetos al Cocuy, S. XVI. *Boletín del Museo del Oro*, 18. Banco de la República, Bogotá.

Langebaek, C. (1992). *Noticias de caciques muy mayores. Origen y desarrollo de sociedades complejas en el nororiente de Colombia y norte de Venezuela*. Universidad de los Andes. Santafé de Bogotá, Colombia.

Langebaek, C. (1995). *Arqueología regional en el territorio Muisca. Estudio de los valles de Fúquene y Susa*. University of Pittsburgh Memoirs in Latin American Archaeology, 9. University of Pittsburgh, Department of Anthropology - Universidad de los Andes, Departamento de Antropología. Pittsburgh - Santafé de Bogotá.

LeBlanc, S. A., Kreisman, L. S. C., Kemp, B. M., Smiley, F. E., Carlyle, S. W., Dhody, A. N., & Benjamin, T. (2007). Quids and aprons: Ancient DNA from artifacts from the American Southwest. *Journal of Field Archaeology*, 32(2), 161-175.
<https://doi.org/10.1179/009346907791071507>

Lestienne, P., & Ponsot, G. (1988). Kearns-Sayre syndrome with muscle mitochondrial DNA deletion. *The Lancet*, 331(8590), 885. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(88\)91655-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(88)91655-9)

Lewin, R., & Foley, R. (2004). *Principles of human evolution* (2nd ed.). Blackwell Publishing.

Lewis, C. M., Buikstra, J. E., & Stone, A. C. (2007). Ancient DNA and genetic continuity in the South Central Andes. *Latin American Antiquity*, 18(2), 145-160.
<https://doi.org/10.2307/25063068>

Lindahl, T. (1993). Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature*, 362(6422), 709–715. <https://doi.org/10.1038/362709a0>

Lorenzo, J. (1980). Poblamiento del continente americano. In *Historia del Ecuador*. Salvat Editores Ecuatoriana.

Lott, M. T., Leipzig, J. N., Derbeneva, O., Xie, H. M., Chalkia, D., Sarmady, M., & Wallace, D. C. (2013). mtDNA variation and analysis using Mitomap and Mitomaster. In *Current Protocols in Bioinformatics* (pp. 1.23.1-1.23.26). John Wiley & Sons, Inc.
<https://doi.org/10.1002/0471250953.bi0123s44>

- Luciani, S., Fornaciari, G., Rickards, O., Labarga, C. M., & Rollo, F. (2006). Molecular characterization of a pre-Columbian mummy and in situ coprolite. *American Journal of Physical Anthropology*, *129*(4), 620–629. <https://doi.org/10.1002/ajpa.20394>
- Maca-Meyer, N., González, A. M., Larruga, J. M., Flores, C., & Cabrera, V. M. (2001). Major genomic mitochondrial lineages delineate early human expansions. *BMC Genetics*, *2*(1), 13. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-2-13>
- Malhi, R. S., Breece, K. E., Shook, B. A. S., Kaestle, F. A., Chatters, J. C., Hackenberger, S., & Smith, D. G. (2004). Patterns of mtDNA diversity in northwestern North America. *Human Biology*, *76*(1), 33–54. <https://doi.org/10.1353/hub.2004.0010>
- Malhi, R. S., Eshleman, J. A., Greenberg, J. A., Weiss, D. A., Schultz Shook, B. A., Kaestle, F. A., & Smith, D. G. (2002). The structure of diversity within New World mitochondrial DNA haplogroups: Implications for the prehistory of North America. *American Journal of Human Genetics*, *70*(4), 905–919. <https://doi.org/10.1086/339932>
- Malhi, R. S., Kemp, B. M., Eshleman, J. A., Cybulski, J., Smith, D. G., Cousins, S., & Harry, H. (2007). Mitochondrial haplogroup M discovered in prehistoric North Americans. *Journal of Archaeological Science*, *34*(4), 642–648. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2006.08.009>
- Malhi, R. S., Schultz, B. A., & Smith, D. G. (2001). Distribution of mitochondrial DNA lineages among Native American tribes of northeastern North America. *Human Biology*, *73*(1), 17–55. <https://doi.org/10.1353/hub.2001.0005>
- Manríquez Soto, G. R., Moraga Vergara, M., Santoro, C., Aspillaga Fontaine, E., Arriaza, B. T., & Rothhammer Engel, F. J. (2011). Morphometric and mtDNA analyses of archaic skeletal remains from southwestern South America. *Journal of Archaeological Science*, *38*(4), 1001–1010. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2010.11.014>
- Marsac, C., Degoul, F., Bonne, G., Romero, N., Nelson, I., Fardeau, M., & Eymard, B. (1991). [Mitochondrial function and mitochondrial DNA in a series of 64 patients suspected of having mitochondrial myopathy]. *Revue Neurologique*, *147*(6–7), 462–466.
- Melton, P. E., Briceño, I., Gómez, A., Devor, E. J., Bernal, J. E., & Crawford, M. H. (2007). Biological relationship between central and South American Chibchan speaking populations: Evidence from mtDNA. *American Journal of Physical Anthropology*, *133*(1), 753–770. <https://doi.org/10.1002/ajpa.20574>
- Merriwether, D. A., Rothhammer, F., & Ferrell, R. E. (1995). Distribution of the four founding lineage haplotypes in Native Americans suggests a single wave of migration for the New World. *American Journal of Physical Anthropology*, *98*(4), 411–430. <https://doi.org/10.1002/ajpa.1330980402>
- Mesa, N. R., Mondragón, M. C., Soto, I. D., Parra, M. V., Duque, C., Ortiz-Barrientos, D., & Ruiz-Linares, A. (2000). Autosomal, mtDNA, and Y-chromosome diversity in Amerinds: Pre- and post-Columbian patterns of gene flow in South America. *American Journal of Human Genetics*, *67*(5), 1277–1286. [https://doi.org/10.1016/S0002-9297\(07\)62954-1](https://doi.org/10.1016/S0002-9297(07)62954-1)
- Middleton, D., Menchaca, L., Rood, H., & Komerofsky, R. (2000). Analysis of the distribution of HLA-A alleles in populations from five continents. *Human Immunology*, *61*(10), 1048–1052. [https://doi.org/10.1016/S0198-8859\(00\)00157-1](https://doi.org/10.1016/S0198-8859(00)00157-1)

- Mills, L. A., Sciulli, P., Dancey, W., Merriwether, D. A., & Greber, N. (2003). Mitochondrial DNA analysis of the Ohio Hopewell of the Hopewell Mound Group. *American Journal of Physical Anthropology*, *121*(2), 111–124. <https://doi.org/10.1002/ajpa.10219>
- Mishmar, D., Ruiz-Pesini, E., Golik, P., Macaulay, V., Clark, A. G., Hosseini, S., & Wallace, D. C. (2003). Natural selection shaped regional mtDNA variation in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *100*(1), 171–176. <https://doi.org/10.1073/pnas.0136972100>
- Mitchell, R. J., & Hammer, M. F. (1996). Human evolution and the Y chromosome. *Current Opinion in Genetics & Development*, *6*(6), 737–742. [https://doi.org/10.1016/S0959-437X\(96\)80027-5](https://doi.org/10.1016/S0959-437X(96)80027-5)
- Mitchell, R. J., Hammer, M. F., & Stephens, J. C. (2000). Further data on the microsatellite locus D12S67 in worldwide populations: An unusual distribution of D12S67 alleles in Native Americans. *Human Biology*, *72*(4), 697–705. <https://doi.org/10.1353/hub.2000.0052>
- Monsalve, M. V., Cardenas, F., Guhl, F., Delaney, A. D., & Devine, D. V. (1996). Phylogenetic analysis of mtDNA lineages in South American mummies. *Annals of Human Genetics*, *60*(4), 293–303. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.1996.tb01199.x>
- Moraga, M., Santoro, C. M., Standen, V. G., Carvallo, P., & Rothhammer, F. (2005). Microevolution in prehistoric Andean populations: Chronologic mtDNA variation in the desert valleys of northern Chile. *American Journal of Physical Anthropology*, *127*(2), 170–181. <https://doi.org/10.1002/ajpa.2005.127.issue-2>
- Nei, M., & Kumar, S. (2000). *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press.
- Noguera-Santamaría, M. C., Anderson, C. E., Uricoechea, D., Durán, C., Briceño-Balcázar, I., & Bernal Villegas, J. (2015). Mitochondrial DNA analysis suggests a Chibchan migration into Colombia. *Universitas Scientiarum*, *20*(3), 283–298. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.SC20-3.mdas>
- O’Fallon, B. D., & Fehren-Schmitz, L. (2011). Native Americans experienced a strong population bottleneck coincident with European contact. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *108*(51), 20444–20448. <https://doi.org/10.1073/pnas.1112563108>
- O’Rourke, D. H. (2009). Human migrations: The two roads taken. *Current Biology*, *19*(5), R203–R205. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.02.047>
- O’Rourke, D. H., & Raff, J. A. (2010). The human genetic history of Americas: Review the final frontier. *Current Biology*, *20*(4), R202–R207. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.11.051>
- Pääbo, S. (1985). Molecular cloning of Ancient Egyptian mummy DNA. *Nature*, *314*(6012), 644–645. <https://doi.org/10.1038/314644a0>
- Pääbo, S. (1989). Ancient DNA: Extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *86*(6), 1939–1943. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.6.1939>
- Pääbo, S., Poinar, H., Serre, D., Jaenicke-Despres, V., Hebler, J., Rohland, N., & Hofreiter, M. (2004). Genetic analyses from ancient DNA. *Annual Review of Genetics*, *38*, 645–679. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.37.110801.143214>

- Pakendorf, B., & Stoneking, M. (2005). Mitochondrial DNA and human evolution. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 6(1), 165–183. <https://doi.org/10.1146/annurev.genom.6.080604.162249>
- Parson, W., & Dür, A. (2016). EMPOP 2014; A forensic mtDNA database. *Forensic Science International: Genetics*, 1(2), 88–92. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2006.10.010>
- Parsons, T. J., Muniec, D. S., Sullivan, K., Woodyatt, N., Alliston-Greiner, R., Wilson, M. R., & Holland, M. M. (1997). A high observed substitution rate in the human mitochondrial DNA control region. *Nature Genetics*, 15(4), 363–368. <https://doi.org/10.1038/ng0497-363>
- Perego, U. A., Achilli, A., Angerhofer, N., Accetturo, M., Pala, M., Olivieri, A., & Torroni, A. (2009). Distinctive Paleo-Indian migration routes from Beringia marked by two rare mtDNA haplogroups. *Current Biology*, 19(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.11.058>
- Perego, U. A., Lancioni, H., Tribaldos, M., Angerhofer, N., Ekins, J. E., Olivieri, A., & Achilli, A. (2012). Decrypting the mitochondrial gene pool of modern Panamanians. *PLoS ONE*, 7(6), e38337. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038337>
- Pérez Riaño, P. F. (1999). *Arqueología en el suroccidente de la Sierra Nevada del Cocuy o Chita (Departamento de Boyacá)*. Fundación de Investigaciones Arqueológicas Nacionales, Banco de la República.
- Plopper, G. (2014). *Principles of cell biology*. Jones & Bartlett Learning, LLC.
- Poinar, H., Fiedel, S., King, C. E., Devault, A. M., Bos, K., Kuch, M., & Debruyne, R. (2009). Comment on “DNA from Pre-Clovis human coprolites in Oregon, North America”. *Science*, 325(5937), 148. <https://doi.org/10.1126/science.1161879>
- Pon, L. A., Schon, E. A., & American Society for Cell Biology. (2001). *Mitochondria*. Academic Press.
- Poulton, J., & Holt, I. J. (1994). Mitochondrial DNA: Does more lead to less? *Nature Genetics*, 8(4), 313–315. <https://doi.org/10.1038/ng1294-313>
- Poulton, J., & Marchington, D. R. (2002). Segregation of mitochondrial DNA (mtDNA) in human oocytes and in animal models of mtDNA disease: Clinical implications. *Reproduction*, 123(6), 751–755. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1230751>
- Poulton, J., Deadman, M. E., Ramacharan, S., & Gardiner, R. M. (1991). Germ-line deletions of mtDNA in mitochondrial myopathy. *American Journal of Human Genetics*, 48(4), 649–653.
- Poulton, J., Morten, K. J., Marchington, D., Weber, K., Brown, G. K., Rötig, A., & Bindoff, L. (1995). Duplications of mitochondrial DNA in Kearns-Sayre syndrome. *Muscle & Nerve*, 3(S154-158). <https://doi.org/10.1002/mus.880180312>
- Pucciarelli, H. M. (2004). Migrations and craniofacial human variation in America. *Complutum*, 15, 225–247.
- Raff, J. (2008). *An ancient DNA perspective on the prehistory of the Lower Illinois Valley* [Doctoral dissertation, Indiana University].

- Raff, J. A., Bolnick, D. A., Tackney, J., & O'Rourke, D. H. (2011a). Ancient DNA perspectives on American colonization and population history. *American Journal of Physical Anthropology*, 146(4), 503–514. <https://doi.org/10.1002/ajpa.21548>
- Raff, J. A., Rzhetskaya, M., Tackney, J., & Hayes, M. G. (2015). Mitochondrial diversity of Iñupiat people from the Alaskan North Slope provides evidence for the origins of the Paleo- and Neo-Eskimo peoples. *American Journal of Physical Anthropology*, 157(4), 603–614. <https://doi.org/10.1002/ajpa.22749>
- Raff, J., Tackney, J., & O'Rourke, D. H. (2010). South from Alaska: A pilot aDNA study of genetic history on the Alaska Peninsula and the eastern Aleutians. *Human Biology*, 82(5–6), 677–693. <https://doi.org/10.3378/027.082.0511>
- Rasmussen, M., Cummings, L. S., Gilbert, M. T. P., Bryant, V., Smith, C., Jenkins, D. L., & Willerslev, E. (2009). Response to comment by Goldberg *et al.* on “DNA from Pre-Clovis human coprolites in Oregon, North America.” *Science*, 325(5937), 148. <https://doi.org/10.1126/science.1161879>
- Rasmussen, M., Li, Y., Lindgreen, S., Pedersen, J. S., Albrechtsen, A., Moltke, I., & Willerslev, E. (2010). Ancient human genome sequence of an extinct Palaeo-Eskimo. *Nature*, 463(7282), 757–762. <https://doi.org/10.1038/nature08835>
- Reichel-Dolmatoff, G., & Dussan, A. (1956). Momíl, excavaciones en el Sinú. *Revista Colombiana de Antropología*, 5, 109–333.
- Reichel-Dolmatoff, G. (1954). Investigaciones arqueológicas en la Sierra Nevada de Santa Marta. Parte 3. *Revista Colombiana de Antropología*, 3, 139–188.
- Reichel-Dolmatoff, G. (1955). Investigaciones arqueológicas en la Sierra Nevada de Santa Marta. Parte 4. *Revista Colombiana de Antropología*, 4, 189–245.
- Reichel-Dolmatoff, G. (1986). *Arqueología de Colombia: Un texto introductorio*. Fundación Segunda Expedición Botánica.
- Rey, D., Areces, C., Enríquez-de-Salamanca, M., Parga-Lozano, C., Abd-El-Fatah, S., Fernández, M., & Arnaiz-Villena, A. (2012). Los primeros pobladores de América y sus relaciones con poblaciones del Océano Pacífico según los genes HLA. *Inmunología*, 31(3), 83–91.
- Rivet, P. (1964). *Los orígenes del hombre americano*. Fondo de Cultura Económica.
- Röck, A. W., Dür, A., van Oven, M., & Parson, W. (2013). Concept for estimating mitochondrial DNA haplogroups using a maximum likelihood approach (EMMA). *Forensic Science International: Genetics*, 7(6), 601–609. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.06.007>
- Rodríguez Cuenca, J. V. (1999). *Los chibchas, pobladores antiguos de los Andes orientales: Adaptaciones bioculturales*. Fundación de Investigaciones Arqueológicas Nacionales.
- Rodríguez Cuenca, J. V. (2007). *Territorio ancestral, rituales funerarios y chamanismo en Palmira prehispánica, Valle del Cauca*. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Humanas, Departamento de Antropología.
- Rodríguez Cuenca, J. V., Blanco, S., & Clavijo, A. (2005). *Pueblos, rituales y condiciones de vida prehispánicas en el Valle del Cauca*. Universidad Nacional de Colombia.

- Rothhammer, F., & Bianchi, N. O. (1995). Origin and distribution of B mtDNA lineage in South America. *American Journal of Human Genetics*, *56*(5), 1247–1248.
- Rötig, A., Bessis, J. L., Romero, N., Cormier, V., Saudubray, J. M., Narcy, P., & Munnich, A. (1992). Maternally inherited duplication of the mitochondrial genome in a syndrome of proximal tubulopathy, diabetes mellitus, and cerebellar ataxia. *American Journal of Human Genetics*, *50*(2), 364–370.
- Rubicz, R., Schurr, T. G., Babb, P. L., & Crawford, M. H. (2003). Mitochondrial DNA variation and the origins of the Aleuts. *Human Biology*, *75*(6), 809–835. <https://doi.org/10.1353/hub.2003.0060>
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, *4*(4), 406–425. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
- Sanchez Collazos, M. C. (2007). *Secuenciación de la región control del ADN mitocondrial a partir de fragmentos óseos prehispánicos hallados en el sector de Candelaria La Nueva en Bogotá* [Tesis de pregrado, Universidad Pontificia La Javeriana].
- Shimada, I., Shinoda, K., Farnum, J., Corruccini, R., & Watanabe, H. (2004). An integrated analysis of pre-Hispanic mortuary practices: A Middle Sicán case study. *Current Anthropology*, *45*(3), 369–402. <https://doi.org/10.1086/420908>
- Shinoda, K., Adachi, N., Guillen, S., & Shimada, I. (2006). Mitochondrial DNA analysis of ancient Peruvian highlanders. *American Journal of Physical Anthropology*, *131*(1), 98–107. <https://doi.org/10.1002/ajpa.20415>
- Shook, B. A. S., & Smith, D. G. (2008). Using ancient mtDNA to reconstruct the population history of northeastern North America. *American Journal of Physical Anthropology*, *137*(1), 14–29. <https://doi.org/10.1002/ajpa.20844>
- Silva, A., Briceño, I., Burgos, J., Torres, D., Villegas, V., Gómez, A., & Rodríguez, J. V. (2008). Mitochondrial DNA analysis on pre-Columbian bone remains of the Herrera period. *Biomédica*, *28*(4), 569–577. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v28i4.66>
- Smith, D. G., Malhi, R. S., Eshleman, J., Lorenz, J. G., & Kaestle, F. A. (1999). Distribution of mtDNA haplogroup X among Native North Americans. *American Journal of Physical Anthropology*, *110*(3), 271–284. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(199911\)110:3<271::AID-AJPA2>3.0.CO;2-2](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(199911)110:3<271::AID-AJPA2>3.0.CO;2-2)
- Smith, S. E., Hayes, M. G., Cabana, G. S., Huff, C., Coltrain, J. B., & O'Rourke, D. H. (2009). Inferring population continuity versus replacement with aDNA: A cautionary tale from the Aleutian Islands. *Human Biology*, *81*(4), 407–426. <https://doi.org/10.3378/027.081.0403>
- Snow, M. H., Durand, K. R., & Smith, D. G. (2010). Ancestral Puebloan mtDNA in context of the Greater Southwest. *Journal of Archaeological Science*, *37*(7), 1635–1645. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2010.01.020>
- Soares, P., Rito, T., Trejaut, J., Mormina, M., Hill, C., Tinkler-Hundal, E., & Richards, M. B. (2011). Ancient voyaging and Polynesian origins. *American Journal of Human Genetics*, *88*(2), 239–247. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2011.01.009>

- Stone, A. C., & Stoneking, M. (1998). mtDNA analysis of a prehistoric Oneota population: Implications for the peopling of the New World. *The American Journal of Human Genetics*, 62(5), 1153–1170. <https://doi.org/10.1086/301831>
- Stoneking, M., & Krause, J. (2011). Learning about human population history from ancient and modern genomes. *Nature Reviews Genetics*, 12(9), 603–614. <https://doi.org/10.1038/nrg3029>
- Taboada-Echalar, P., Alvarez-Iglesias, V., Heinz, T., Vidal-Bralo, L., Gomez-Carballea, A., Catelli, L., & Salas, A. (2013). The genetic legacy of the pre-colonial period in contemporary Bolivians. *PLoS ONE*, 8(3), e58980. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058980>
- Takane, Y., Young, F. W., & de Leeuw, J. (1977). Nonmetric individual differences multidimensional scaling: An alternating least squares method with optimal scaling features. *Psychometrika*, 42(1), 7–67. <https://doi.org/10.1007/BF02293745>
- Tamm, E., Kivisild, T., Reidla, M., Metspalu, M., Smith, D. G., Mulligan, C. J., & Malhi, R. S. (2007). Beringian standstill and spread of Native American founders. *PLoS ONE*, 2(9), e829. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000829>
- Tamura, K., & Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10(3), 512–526. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023>
- Tanaka, M., Cabrera, V. M., González, A. M., Larruga, J. M., Takeyasu, T., Fuku, N., & Shimodaira, H. (2004). Mitochondrial genome variation in Eastern Asia and the peopling of Japan. *Genome Research*, 14(10a), 1832–1850. <https://doi.org/10.1101/gr.2286304>
- Tofanelli, S., Taglioli, L., Merlitti, D., & Paoli, G. (2011). Tools which simulate the evolution of uni-parentally transmitted elements of the human genome. *Journal of Anthropological Sciences*, 89, 1–20. <https://doi.org/10.4436/jass.89017>
- Torroni, A., Huoponen, K., Francalacci, P., Petrozzi, M., Morelli, L., Scozzari, R., & Wallace, D. C. (1996). Classification of European mtDNAs from an analysis of three European populations. *Genetics*, 144(4), 1835–1850. <https://doi.org/10.1093/genetics/144.4.1835>
- Torroni, A., Schurr, T. G., Yang, C. C., Szathmary, E. J., Williams, R. C., Schanfield, M. S., & Weiss, K. M. (1992). Native American mitochondrial DNA analysis indicates that the Amerind and the Nadene populations were founded by two independent migrations. *Genetics*, 130(1), 153–162. <https://doi.org/10.1093/genetics/130.1.153>
- Ubelaker, D. H., & Sperber, N. D. (1989). The estimation of age at death from immature human bone. In *Age markers in the human skeleton* (pp. 55–70). Charles Thomas, Publisher.
- Upholt, W. B., & Dawid, I. B. (1977). Mapping of mitochondrial DNA of individual sheep and goats: Rapid evolution in the D loop region. *Cell*, 11(3), 571–583. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(77\)90074-7](https://doi.org/10.1016/0092-8674(77)90074-7)
- van Oven, M., & Kayser, M. (2009). Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. *Human Mutation*, 30(2), E386–E394. <https://doi.org/10.1002/humu.20921>
- Vigilant, L., Stoneking, M., Harpending, H., Hawkes, K., & Wilson, A. C. (1991). African populations and the evolution of human mitochondrial DNA. *Science*, 253(5027), 1503–1507. <https://doi.org/10.1126/science.1840702>

- Vilkki, J., Savontaus, M. L., Kalimo, H., & Nikoskelainen, E. K. (1989). Mitochondrial DNA polymorphism in Finnish families with Leber's hereditary optic neuroretinopathy. *Human Genetics*, 82(3), 208–212. <https://doi.org/10.1007/BF00287100>
- Wallace, D. C. (1989). Report of the committee on human mitochondrial DNA. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 51(1–4), 612–621. <https://doi.org/10.1159/000132896>
- Weissensteiner, H., Forer, L., Fuchsberger, C., Schöpf, B., Kloss-Brandstätter, A., Specht, G., & Schönherr, S. (2016). mtDNA-Server: Next-generation sequencing data analysis of human mitochondrial DNA in the cloud. *Nucleic Acids Research*, 44(W1), W64–W69. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw247>
- Weissensteiner, H., Pacher, D., Kloss-Brandstätter, A., Forer, L., Specht, G., Bandelt, H.-J., & Schönherr, S. (2016). HaploGrep 2: Mitochondrial haplogroup classification in the era of high-throughput sequencing. *Nucleic Acids Research*, 44(W1), W58–W63. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw233>
- Whittington, S. L., & Reed, D. M. (2006). *Bones of the Maya: Studies of ancient skeletons*. University of Alabama Press.
- Wiesner, R. J., Rüegg, J. C., & Morano, I. (1992). Counting target molecules by exponential polymerase chain reaction: Copy number of mitochondrial DNA in rat tissues. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 183(2), 553–559. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(92\)90568-8](https://doi.org/10.1016/0006-291X(92)90568-8)
- Willerslev, E., & Cooper, A. (2005). Ancient DNA. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1558), 3–16. <https://doi.org/10.1098/rspb.2004.2813>
- Wright, S. (1943). Isolation by distance. *Genetics*, 28(2), 114–138. <https://doi.org/10.1093/genetics/28.2.114>
- Young, F. W., Takane, Y., & Lewycky, R. (1978). ALSCAL: A nonmetric multidimensional scaling program with several individual-differences options. *Behavior Research Methods & Instrumentation*, 10(3), 451–453. <https://doi.org/10.3758/BF03205220>
- Zeviani, M., Bresolin, N., Gellera, C., Bordoni, A., Pannacci, M., Amati, P., & DiDonato, S. (1990). Nucleus-driven multiple large-scale deletions of the human mitochondrial genome: A new autosomal dominant disease. *American Journal of Human Genetics*, 47(6), 904–914. [https://doi.org/10.1016/0002-9297\(90\)90001-2](https://doi.org/10.1016/0002-9297(90)90001-2)
- Zeviani, M., Moraes, C. T., DiMauro, S., Nakase, H., Bonilla, E., Schon, E. A., & Rowland, L. P. (1988). Deletions of mitochondrial DNA in Kearns-Sayre syndrome. *Neurology*, 38(9), 1339–1346. <https://doi.org/10.1212/WNL.38.9.1339>
- Zeviani, M., Servidei, S., Gellera, C., Bertini, E., DiMauro, S., & DiDonato, S. (1989). An autosomal dominant disorder with multiple deletions of mitochondrial DNA starting at the D-loop region. *Nature*, 339(6222), 309–311. <https://doi.org/10.1038/339309a0>