



**ANÁLISIS MICROEVOLUTIVO DE LA POBLACIÓN
PREHISPÁNICA DEL NORTE DEL ALTIPLANO
CUNDIBOYACENSE A PARTIR DE ADN MITOCONDRIAL EN
RESTOS ÓSEOS ANTIGUOS**

LILIAN ANDREA CASAS VARGAS

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Biología,
Bogotá, Colombia
2017

**ANÁLISIS MICROEVOLUTIVO DE LA POBLACIÓN PREHISPÁNICA
DEL NORTE DEL ALTIPLANO CUNDIBOYACENSE A PARTIR DE ADN
MITOCONDRIAL EN RESTOS ÓSEOS ANTIGUOS**

LILIAN ANDREA CASAS VARGAS, MSc

Tesis de Doctorado presentado para optar al título de
Doctorado en Ciencias – Biología

Director

JOSE VICENTE RODRIGUEZ, PhD

Profesor Titular, Departamento de Antropología
Universidad Nacional de Colombia

Codirector:

ALBERTO GOMEZ GUTIERREZ, PhD

Profesor Titular, Instituto de Genética Humana
Pontificia Universidad Javeriana

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Biología,
Bogotá, Colombia
2017

Dedicado a:

Mi esposo, eres la persona que complementa mi existencia, mi gran compañero de vida.

*Ana y Daniel, son mi mayor tesoro, la vida y el amor tienen un significado diferente después de
que llegaron a mi vida....*

AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento especial a mi Director José Vicente Rodríguez, disfruté mucho cada discusión acerca del tema, su apoyo incondicional hizo de este trabajo un verdadero disfrute en todo aspecto, el aprender de un gran mentor en un área que no conozco completamente, hace de esta experiencia muy enriquecedora.

A mi Codirector Alberto Gómez, lo considero un padre académico, un ejemplo a seguir, una persona íntegra y objetiva que me permite cada vez tener una visión de la ciencias más amplia y sin ataduras, gracias por todo lo aprendido y sobre todo por apoyarme desde mis primeros comienzos como joven investigadora hasta lograr esta tesis de doctorado, me abrió las puertas en la investigación: mil gracias.

A Walter Parson, y su gran equipo de trabajo, especialmente, a Johanes Pallua, Christina Strobl, Catarina Xavier, Mayra Eduardoff y Martin Bodner, por su calidez humana, esto permite que el trabajo científico sea agradable. Gracias por el apoyo en el proyecto y por interesarse en nuestras comunidades precolombinas.

Al grupo de genética de poblaciones e identificación, por hacer posible tener nuestro propio laboratorio de ADN antiguo en la Universidad Nacional.

Al Museo Arqueológico de Sogamoso, especialmente a su Directora, Margarita Silva, quien con su gran interés en este proyecto permitió acceder al material arqueológico del Museo.

A Colciencias por financiar este proyecto y al ICAHN por autorizar el uso de las muestras.

A mis padres y hermanos que siempre han sido mi apoyo incondicional.

Finalmente, y no menos importante a William, por ser mi amigo, compañero de vida, las palabras no me alcanzan para agradecerte por el apoyo infinito que me diste en este proceso arduo y largo, y mostrarme que si hay luz después del túnel; sin tu paciencia, orientación y apoyo esto no hubiera sido posible, es un logro de los dos y de nuestra familia.

RESUMEN

Los Andes Orientales Colombianos son una de las zonas mejor estudiadas a nivel arqueológico por su gran riqueza en donde se han evidenciado varias temporalidades de asentamientos humanos, permitiendo establecer diferentes periodos culturales precolombinos: Precerámico (X - II milenio a. C.); Formativo ó Herrera (Ier milenio a. C. a siglo IX d. C.); Muisca (siglos X - XVI d. C.). En este estudio analizamos individuos clasificados en los tres periodos precolombinos provenientes de los alrededores del Templo del Sol en Sogamoso (Boyacá) con distancias relativamente cercanas entre cada hallazgo (en promedio 15km) con dataciones desde 8.000 años hasta antes de la conquista. El objetivo de este proyecto fue evaluar la variabilidad genética de estos periodos culturales sucesivos por medio del ADN mitocondrial (ADNmt). Se analizaron tres tipos de niveles de resolución: el primero, resolución macro, con los análisis del polimorfismo de fragmentos de restricción (RFLP); en segundo lugar, análisis de la región control ó D-Loop; tercero, un nivel de mayor resolución, que corresponde al secuenciamiento del genoma mitocondrial completo. En el periodo Muisca, se asignó cada uno de los haplogrupos mitocondriales, encontrando los macrohaplogrupos característicos de los amerindios en Suramérica, es decir: A, B, C y D. Por medio de los análisis de mayor resolución, y siendo este uno de los primeros reportes en comunidades precolombinas en la región, se logró establecer cada uno de los subhaplogrupos en los individuos estudiados, entre ellos dos nuevos linajes no reportados previamente en comunidades precolombinas (A2ad3 y A2ac1a); a su vez un subhaplogrupo reportado en una población aislada amazónica ecuatoriana que en su momento fue considerado específico de esta población (A2y). Adicionalmente se observaron otros subahaplogrupos como B2d, C1b, y D4h3a. En el periodo Formativo, todos los individuos provenientes del hallazgo arqueológico de Duitama pertenecen al haplogrupo B2d y un individuo proveniente del Templo del Sol fue clasificado como A2ac. En el periodo Precerámico, dos individuos fueron clasificados como C1b y C1b8. Con base en estos resultados, se demuestra la importancia de los territorios

precolombinos que hoy limitan las fronteras de Colombia como lugar de paso inicial al subcontinente suramericano, y se sientan bases moleculares para sustentar hipótesis acerca del origen del hombre americano.

Palabras Clave: Poblamiento, ADNmt, haplogrupo, subhaplogrupo Colombia, paleoamericanos, amerindio.

ABSTRACT

The Colombian Eastern Andes are one of the areas best studied at the archaeological level for its great wealth where several temporalities of human settlements have been evidenced, allowing to establish different pre-Columbian cultural periods: Preceramic (X - II millennium BC); Formative or Herrera (1st millennium BC to 9th century AD); Muisca (centuries X - XVI d.). In this study we analyzed individuals classified in the three pre-Columbian periods coming from the surroundings of the Temple of the Sun in Sogamoso (Boyacá) with relatively close distances between each finding (on average 15km) with dates from 8,000 years before the conquest. The objective of this project was to evaluate the genetic variability of these successive cultural periods through mitochondrial DNA (mtDNA). Three types of resolution levels were analyzed: the first, macro resolution, with restriction fragment polymorphism (RFLP) analyzes; second, analysis of the control region or D-Loop; third, a higher resolution level, corresponding to the sequencing of the complete mitochondrial genome. In the Muisca period, each one of the mitochondrial haplogroups was assigned, finding the characteristic macrohaplogroups of the Amerindians in South America, that is to say: A, B, C and D. By means of the analysis of higher resolution, and being this one of the First reports in pre-Columbian communities in the region, it was possible to establish each of the subhaplogroups in the individuals studied, including two new lineages not previously reported in pre-Columbian communities (A2ad3 and A2ac1a); in turn a subhaplogroup reported in an isolated Ecuadorian Amazonian population that was considered specific for this population (A2y). Additionally, other subahaplogroups were observed, such as B2d, C1b, and D4h3a. In the Formative period, all individuals from the archaeological discovery of Duitama belong to haplogroup B2d and an individual from the Temple of the Sun was classified as A2ac. In the Preceramic period, two individuals were classified as C1b and C1b8. Based on these results, the importance of the territories is demonstrated pre-Columbian borders that today limit the borders of Colombia as a place of initial

passage to the South American subcontinent, and feel the molecular bases to support hypotheses about the peopling of Americas.

Key words: Peopling, mtDNA, haplogroup, subhaplogroup, Colombia, paleoamericans, ameridians.

CONTENIDO

Introducción.....	9
Capítulo 1	13
CONTEXTUALIZACIÓN: POBLAMIENTO SURAMERICANO	14
INTRODUCCIÓN.....	14
EVIDENCIA ARQUEOLÓGICA.....	15
EVIDENCIA GENÉTICA.....	18
COMBINANDO LA EVIDENCIA GENÉTICA Y ARQUEOLÓGICA.....	20
CONCLUSIONES.....	26
BIBLIOGRAFIA.....	27
Capítulo 2	43
DIVERSIDAD DEL ADN MITOCONDRIAL EN RESTOS ÓSEOS PREHISPÁNICOS ASOCIADOS AL TEMPLO DEL SOL EN LOS ANDES ORIENTALES COLOMBIANOS	45
RESUMEN	46
ABSTRACT.....	47
INTRODUCCION.....	48
MATERIALES Y MÉTODOS.....	51
RESULTADOS.....	58
DISCUSIÓN	66
AGRADECIMIENTOS	71
CONFLICTOS DE INTERESES	71
FINANCIACIÓN.....	71
REFERENCIAS.....	72
Capítulo 3	81
ANÁLISIS DE SECUENCIAS DEL ASA MITOCONDRIAL (REGION <i>D-LOOP</i> ADNmt) EXTRAIDA DE RESTOS OSEOS ANTIGUOS PROVENIENTES DE LOS ALREDEDORES DEL TEMPLO DEL SOL (SOGAMOSO, BOYACÁ.)	82
RESUMEN	82
INTRODUCCION.....	84
MÉTODOS.....	87
RESULTADOS.....	101
DISCUSIÓN	114
CONCLUSIÓN.....	120
BIBLIOGRAFIA.....	120
ANEXOS.....	137
Capítulo 4	141
ANÁLISIS DE MITOGENOMAS COMPLETOS EN RESTOS ÓSEOS ANTIGUOS DEL NORESTE DE LOS ANDES EN SURAMÉRICA.....	142
RESUMEN	142
INTRODUCCION.....	144
MÉTODOS.....	146
RESULTADOS.....	153

DISCUSIÓN	162
CONCLUSIONES	166
BIBLIOGRAFIA.....	167
INFORMACION DE SOPORTE.....	173
Conclusiones	178

Introducción

Después del descubrimiento del Nuevo Mundo, el origen de estas poblaciones americanas ha sido de gran interés, desde las primeras teorías en 1590, -en las que José de Acosta, S.J., argumentó que los habitantes de las Américas se habían derivado de las poblaciones Asiáticas-, hasta las teorías contemporáneas que han postulado migraciones desde Siberia ó varias migraciones desde otras regiones, como Australia, Melanesia, Polinesia y Europa. El esclarecimiento de estas hipótesis ha sido un tema importante en varias áreas del conocimiento incluyendo la Lingüística, la Antropología, Arqueología, Genética, Geología, entre otras. Estos estudios interdisciplinarios han permitido arrojar luces acerca de los mecanismos evolutivos y culturales que influenciaron el surgimiento de varias comunidades indígenas, como por ejemplo los aleutiano-esquimales de Norteamérica y los fueguinos de Sur de Chile en Suramérica, cuyo aspecto físico y modo de vida se parecen por su adaptación al frío circunártico (Rodríguez C, 2011).

Con respecto a los orígenes de los primeros americanos, se han formulado varias hipótesis desde el migracionismo y el microevolucionismo. Esta teorías se han formulado principalmente a partir de datos de morfológicos de restos precolombinos encontrados a lo largo de América, donde se ha observado que los primeros grupos humanos poseen características craneales y dentales diferentes de los periodos temporales subsiguientes. De esta manera se han clasificado según su morfología como paleoamericanos, caracterizados por poseer un cráneo más alargado (Dolicocéfalo) y dientes más grandes (Macrodonite); y los amerindios con cráneo más redondeado (Braquicéfalo) con dientes más pequeños (Microdonite). En Colombia, se han encontrado estos dos tipos de morfología, formulando a partir de estos teorías sobre la entrada al territorio colombiano. Varios investigadores han sugerido que los orígenes de los primeros pobladores en Colombia fueron producto de varias oleadas migratorias, desplazando o absorbiendo a los grupos antecesores (LLeras, 1995; Langebaek, 1987). Por el contrario, estudios bioantropológicos han sugerido que las diferencias morfológicas entre los primeros periodos culturales (Precerámico) y los periodos sucesivos (Formativo y Muisca), fueron producto de procesos microevolutivos y no de procesos migratorios masivos tardíos de pueblos foráneos (Rodríguez C, 2011).

Los análisis genéticos han complementado las hipótesis acerca del poblamiento americano derivado principalmente con el recurso de los marcadores uniparentales. Se han encontrado diferentes macro haplogrupos mitocondriales fundadores como son el A, B, C, D y X, y según su distribución geográfica se postularon las primeras teorías del origen de los pueblos de los nativos americanos. Gracias a los avances tecnológicos como es el secuenciamiento del genoma completo de la mitocondria, en las últimas décadas se ha obtenido un gran número de reportes relacionado con la diversidad mitocondrial en numerosas comunidades amerindias contemporáneas, permitiendo de esta manera precisar nuevos sublinajes fundadores del nuevo mundo: A2, A2a, A2b, B2, C1b, C1c, C1d, C1d1, C4c, D1, D2a, D3, D4h3a, X2a y X2g (Achilli, et al. 2008; Perego, et al. 2009). Estos datos moleculares han sido usados para clarificar las rutas de dispersión y los periodos de entrada a las Américas por medio de diferentes aproximaciones computacionales.

Adicionalmente, estos nuevos avances han logrado obtener genomas completos de restos arqueológicos americanos de más de 12.500 años de antigüedad (Rasmusen, et al. 2014), permitiendo conocer la ancestría real de estos primeros pobladores. Este tipo de análisis a partir de ADN antiguo (ADNa) se ha incrementado en los últimos años, aportando enormemente a las teorías del poblamiento, convirtiéndose en una herramienta valiosa en este tipo de estudios.

En Colombia se han realizando varios estudios principalmente en la región hipervariable I (HVRI) del ADNmt en restos precolombinos de varios grupos étnicos de periodos arqueológicos diferentes (Precerámico; Formativo ó Herrera; Agroalfarero), y principalmente los correspondientes al periodo Agroalfarero (Guanes, Muiscas, Laches). Al comparar estos datos genéticos entre los tres periodos arqueológicos se ha observado una continuidad genética (Fernández, 1999; Monsalve et al., 1996; Silva et al., 2008; Monsalve et al., 1996; Sánchez, 2007; Fernández, 1999).

Cuando se realizan estudios genético-poblacionales lo que se busca es evidenciar el origen, la cantidad, y la distribución de la variación genética en una población a través del espacio y el tiempo. La mayoría de los estudios en ADNmt antiguo han sido a partir de muestras con distribuciones espaciales y temporales diferentes. Una fuente de información más precisa sería la posibilidad de estudiar muestras que ocupen el mismo

espacio, con temporalidades diferentes.

Es por ello, que el propósito de este proyecto era analizar genéticamente por medio de ADNmt, muestras que pertenecieran a un mismo espacio geográfico, con diferentes periodos de tiempo. Una de las poblaciones que permitió este tipo de estudios fue la región Norte del altiplano cundiboyacense, (Departamento de Boyacá especialmente en los municipios de Sogamoso, Duitama y Floresta), que correspondían en los tiempos precolombinos a una misma confederación y hacían parte de las comunidades que giraban en torno al Templo de Sol como principal centro religioso muisca (Langebaek, 1987; Rodríguez C, 2011).

En el presente documento mostramos los diferentes tipos de análisis de ADNmt, de individuos recuperados en tres hallazgos arqueológicos diferentes pertenecientes a tres periodos culturales sucesivos con una distancia geográfica aproximada de 15 Km entre ellos. En los diferentes capítulos se hace referencia a los resultados obtenidos desde tres diferentes perspectivas de análisis mitocondrial, iniciando desde una resolución macro como son los datos a partir de RFLP's, una siguiente resolución con los datos a partir de la región control ó D-Loop y, finalmente, una mayor resolución con los datos a partir de la secuenciación del genoma completo del ADNmt.

Capítulo 1

CONTEXTUALIZACIÓN: POBLAMIENTO SURAMERICANO

Casas-Vargas Andrea¹, Usaquén William¹, Gómez Alberto², Rodríguez José Vicente³

¹ Grupo de Genética de Poblaciones e Identificación, Instituto de Genética, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

² Instituto de Genética Humana, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

³ Laboratorio de Antropología Física, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

INTRODUCCIÓN

Según los modelos actuales de poblamiento mundial, el último subcontinente en ser colonizado por el humana fue Suramérica, este es un tema que ha sido ampliamente estudiado desde diferentes perspectivas interdisciplinarias como son: la lingüística, la antropológica, la arqueológica y la genética, entre otras. En este capítulo se presenta una revisión de los diferentes modelos que han sido propuestos para el poblamiento del Nuevo Mundo, teniendo en cuenta principalmente las evidencias arqueológicas y genéticas.

En la primera sección, se muestran los modelos propuestos a nivel arqueológico como los formulados a partir de elementos líticos (puntas de proyectil) encontradas en diferentes yacimientos arqueológicos principalmente en Norteamérica, y a partir de allí se postuló el modelo “Clovis Primero” indicando la posible cronología de entrada de los primeros pobladores (Waters and Stafford, 2007), posteriormente, con los hallazgos en Monte Verde (Chile) (Dillehay et al., 2015), se refuta este modelo indicando que la entrada fue anterior a los Clovis “Pre-Clovis”. Con respecto a los datos bioantropológicos las hipótesis del poblamiento oscilan entre el difusionismo (migracionismo) y el evolucionismo.

En la segunda sección se muestran los diferentes reportes con base en marcadores moleculares uniparentales, con los cuales, a partir de los datos de diversidad genética, estructura poblacional y tiempos de divergencia principalmente en comunidades indígenas contemporáneas, se han postulado varios modelos del posible origen de los paleoamericanos (Fagundes et al., 2008; Kitchen et al., 2008; Llamas et al., 2016).

Finalmente, en la tercera sección, se destacan los estudios de ADN antiguo (ADNa) que, al contrastarse con datos arqueológicos, han permitido complementar dichos modelos de poblamiento, permitiendo dar un mejor contexto interdisciplinario de las diferentes dinámicas de los primeros colonizadores.

En esta contextualización mostramos las diferentes contribuciones de los datos arqueológicos y genéticos con el fin de comprender la prehistoria americana, y subsecuentemente la prehistoria suramericana.

EVIDENCIA ARQUEOLÓGICA

A nivel arqueológico, las primeras hipótesis planteadas acerca del poblamiento tanto americano como específicamente suramericano, fueron los hallazgos de las puntas de proyectil Clovis después del descubrimiento del “Hombre de Folsom” en los años 1920s (Hrdlicka, 1937). Estos hallazgos originaron la teoría generalizada en toda América de “Clovis Primero” (del inglés: *Clovis First*). Este tipo de lítico estaba presente en numerosos sitios en Norteamérica, y estaba asociado principalmente a restos de huesos extintos de megafauna. Los datos de radiocarbono de estos sitios sugerían una edad aproximada de 13,6 a 15,5 Ka (kiloaños ó miles de años) (Waters and Stafford, 2007; Waters et al., 2011). Este modelo fue más tarde modificado por las nuevas evidencias de ocupaciones humanas más recientes datadas antes de los tiempos de los Clovis. El hallazgo principal fue el encontrado en Monte Verde (Chile), que en su momento fue datado en 14,2 a 13,9 Ka (Dillehay et al., 2008); en una última publicación se encuentran nuevas evidencias en este sitio con dataciones entre 18,5 y 14,5 Ka (Dillehay et al., 2015), de esta manera se ha refutado el modelo “Clovis Primero”, estableciendo que los primeros pobladores llegaron al Norte y Suramérica en los

tiempos Pre-Clovis (Goebel et al., 2008; Rothhammer and Dillehay, 2009; Dillehay et al., 2015). Según estos primeros hallazgos, se plantearon los primeros modelos de poblamiento en el Nuevo Mundo, en donde se propuso que en la última glaciación existió un corredor libre de hielo que los primeros humanos habrían logrado atravesar desde el norte e ingresar al continente y su posterior expansión hacia el sur (Pedersen et al., 2016). Otro modelo de migración propuesto fue la migración a lo largo de la costa noreste de Norteamérica y la costa Pacífica de Suramérica (Dillehay, 2009; Rothhammer and Dillehay, 2009).

Se dispone de otras evidencias arqueológicas, como los restos óseos encontrados a lo largo de América, que han exhibido rasgos heterogéneos según su morfología craneal y dental. Los esqueletos más antiguos (paleoamericanos) difieren morfológicamente de los de los nativos Americanos tardíos. Los primeros, denominados Paleoamericanos, se caracterizan por tener cráneos largos, más estrechos y pequeños (Dolicocéfalo) y con dientes más grandes (Macrodonite), y los más tardíos, denominados Amerindios, tienen un cráneo más redondeado y bóveda craneal más ancha (Braquicéfalo) con dientes más pequeños (Microdonite). Estas características han conllevado a plantear diferentes tipos de hipótesis acerca del posible origen de estos pobladores:

1) Teoría migracionista: En esta se plantean dos oleadas migratorias, primero arribaron los Paleoamericanos desde el sureste de Asia (con afinidad craneal con los australo-melanesios) y posteriormente una segunda ola con la morfología característica de los Amerindios (similar a los mongoloides) remplazando a los primeros.

2) Teoría microevolucionista: La cual postula que, a causa de diferentes efectos ambientales, evolutivos (sistemáticos y estocásticos) y culturales, se dio origen a cambios morfológicos *in situ* (Chatters et al., 2014).

La primera teoría está basada en las comparaciones craneales de los Paleoamericanos, principalmente a partir de los restos encontrados en Lagoa Santa (Brasil), datados en 8,2 y 9,5 Ka, al realizar análisis inter-poblacionales por medio de análisis multivariados, muestran una fuerte afinidad con poblaciones actuales de Australia, Melanesia y África sub-sahariana que se caracterizan por poseer un neurocráneo estrecho y largo, caras y órbitas bajas, narices relativamente bajas y anchas (Neves et al., 2003; Neves and Hubbe, 2005; Hubbe et al., 2010, 2011). Una

reciente publicación (Cramon-Taubadel et al., 2017), empleando nuevos tipos de análisis aplicando datos morfométricos geométricos tridimensionales, mostró que los Paleoamericanos comparten una ancestría con poblaciones de Siberia y los Inuit, sugiriendo que algunos de los linajes americanos divergieron de siberianos y entraron al Nuevo Mundo antes de la diversificación de las poblaciones del este de Asia. Observaron que las poblaciones tempranas (Paleo) siberianas, comparten afinidades genéticas con los Australianos producto de su historia compartida en la dispersión fuera de África. Las diferentes dinámicas espacio-temporales permitieron que la población se subestructurara y emergieran dentro de Siberia y Beringia diferentes fuentes de ancestría, transmitiendo esta información genética a los nativos americanos en esta misma localización geográfica a través del tiempo.

Por otro lado, la segunda teoría ha sido defendida por varios investigadores que han realizado análisis tomando individuos de diferentes sitios geográficos con características paleoamericanas incluidas poblaciones de Mexico, Brasil y Colombia comparándola con poblaciones mundiales, y han observado que entre los Paleoamericanos y los nativos Americanos modernos tienen una gran afinidad biológica, y los cambios morfológicos de los primeros pobladores fueron originados por agentes microevolutivos como la deriva, flujo de genes y quizás una selección direccional (Sardi et al., 2005; González-José et al., 2008; De Azevedo et al., 2011, 2015). A partir de estas evidencias y propuestas teóricas, se considera que el modelo del poblamiento americano tuvo un origen único para todos los nativos americanos con niveles altos de heterogeneidad morfológica interna, además de una evolución *in situ* (local), con una persistencia de flujo génico entre poblaciones asiático-americanas que habitan en las regiones árticas extremas explicando la posible forma craneofacial observada (De Azevedo et al., 2011)

En nuestro caso local (Colombia), el poblamiento ha tenido la misma dualidad con respecto a los primeros pobladores. Según la evidencia bioarqueológica, se ha observado en los restos más antiguos la morfología de los paleoamericanos, y así mismo se han planteado las dos teorías mencionadas para el resto de América. Neves y cols., (Neves et al., 2007) analizaron restos de la sabana de Bogotá con características paleoamericanas encontrando similitudes notables con Lagoa Santa

(Brasil) y con los Australo-Melanesios modernos, sugiriendo dos oleadas migratorias. Por el contrario, Rodríguez y Vargas, (Rodríguez and Vargas, 2015), en un análisis morfométrico de muestras de los Andes orientales colombianos evidencian como hacia el II milenio a. C., hay una reducción del aparato masticatorio que se relacionan con posibles cambios drásticos del clima (reducción de la pluviosidad e incremento de la temperatura) y patrón de subsistencia (desarrollo de la horticultura de tubérculos de altura). Con la introducción de la cerámica y la domesticación de plantas, se observa una braquicefalización y gracilización del aparato masticatorio, tendencia que se extiende hasta la llegada de los españoles (área de muiscas, guanes, laches y chitareros). En el periodo Herrera (I milenio a.C. a siglo IX d.C.) ocurre una mayor variación poblacional, ya que el índice cefálico oscila entre la dolicocefalia (Madrid, C/marca, siglo II a.C., Chita, Boyacá, siglo IV d. C.) y la braquicefalia (generalizada en los grupos tardíos), y no hay evidencias en el registro arqueológico de migraciones masivas tardías a los Andes orientales.

EVIDENCIA GENÉTICA

Los marcadores genéticos que se han empleado principalmente en los estudios del poblamiento han sido los uniparentales (ADN mitocondrial –ADNmt– y Cromosoma-Y), estos han permitido establecer diferentes hipótesis acerca del origen del hombre americano. Según los datos del ADNmt, la diversidad genética de los nativos americanos modernos fue dada por 5 haplogrupos mitocondriales (A, B, C, D y X), y por dos haplogrupos para el cromosoma-Y (C y Q). Todos estos haplogrupos han sido encontrados en muy diversas poblaciones desde el sur de Siberia, de regiones Altai-Amur (Lell et al., 2002; Zegura et al., 2004; Volodko et al., 2008). Particularmente, el haplogrupo X se encuentra distribuido principalmente en Norteamérica y hasta el momento no ha sido reportado en el resto del continente (Perego et al., 2009).

Según las nuevas actualizaciones de los diferentes linajes presentes en los nativos americanos, se han logrado nuevas clasificaciones de linajes llamados Pan-Americanos entre ellos tenemos A2, B2, C1b, C1c, C1d y D1, y algunos como A2a, A2b, C4c, D2a, D3, D4e1, X2a y X2g (Tamm et al., 2007; Perego et al., 2009, 2010; Achilli et al., 2013)

han sido restringidos a Norteamérica, y otros que han sido encontrados exclusivamente en poblaciones ubicadas en la parte más meridional de América del Sur entre los que están B2I, D1g, C1b13 y D4h3a5 (Bodner et al., 2012; De Saint Pierre et al., 2012a; b). Numerosos modelos de migración se han establecido a partir de la coexistencia de linajes y sus diferentes patrones de dispersión. La mayoría de los datos genéticos coinciden en una sola migración desde Beringia hace aproximadamente 20 a 12 Ka a lo largo de la costa Pacífica ó a lo largo de una ruta interior (Schurr, 2004; Fagundes et al., 2008; Perego et al., 2009). Este modelo ha sido basado a partir de análisis de la distribución de haplogrupos “raros” como es el caso del D4h3a que se encuentra distribuido principalmente en las regiones a lo largo de la costa pacífica desde Norteamérica hasta Suramérica (Díaz-Matallana et al., 2016), mientras que el X2a esta descrito solamente en población del Noreste de Norte América (Perego et al., 2009). Fagundes y cols. (Fagundes et al., 2008), concluyen que los ancestros de los nativos americanos colonizaron el noreste de Asia, incluyendo Beringia, antes del Último Máximo Glacial (LGM, por sus siglas en inglés). Durante este tiempo, la población experimentó una reducción significativa, quizás hasta unas pocas 1000 mujeres remanentes, que se habrían expandido de nuevo hace aproximadamente 19 a 15Ka, colonizando América por una ruta costera.

Otros estudios describen múltiples migraciones a lo largo de la costa y al interior del continente (Kitchen et al., 2008; Mulligan et al., 2008), planteando que el poblamiento de América fue dado en tres etapas en donde los ancestros de los Amerindios divergieron de un grupo asiático antes de los 40.000 años y experimentaron una expansión gradual de la población a medida que se trasladaban a Beringia. Después de un largo período de poco cambio en el tamaño de la población en la Gran Beringia, los Amerindios se expandieron rápidamente hacia las Américas hace 15.000 años, ya sea a través de un corredor interior libre de hielo a lo largo de la costa. Esta rápida colonización del Nuevo Mundo fue lograda por un grupo fundador con un tamaño de población eficaz de <1.000 – 5.400 individuos.

Ambos escenarios migratorios han sido comprobados según los datos de cromosoma-Y en América y Siberia (Schurr, 2004; Roewer et al., 2013).

En Suramérica, varios estudios han sugerido que los patrones de diversidad del subcontinente reflejan un asentamiento inicial rápido y una diferenciación temprana en pequeños grupos (Wang et al., 2007; De Saint Pierre et al., 2012a; b). Se ha planteado una única vía de migración desde Centroamérica, atravesando el istmo de Panamá hace alrededor de 15 a 13,5 Ka (Rothhammer and Dillehay, 2009). Esta ruta de poblamiento ha sido corroborada por la presencia de linajes mitocondriales provenientes de Centroamérica y de Suramérica como es el caso de los haplogrupos A2ad presentes en altas frecuencias en Panamá y detectado en el centro de Colombia; también el A2af1 ha sido descrito en muy bajas frecuencias hasta Valparaíso en Chile (Perego et al., 2012). Recientes trabajos han mostrado que posterior a su entrada se han documentado múltiples episodios de flujo génico entre los Andes y la Amazonia, con impacto en ambas regiones (Barbieri et al., 2014).

COMBINANDO LA EVIDENCIA GENÉTICA Y ARQUEOLÓGICA

La mayoría de los modelos del poblamiento americano se han formulado a partir de las amplias bases de datos genéticos de las poblaciones amerindias contemporáneas. Hoy en día, los avances metodológicos han producido un fuerte crecimiento en los datos de ADN antiguo (ADNa) hallados a lo largo del continente con diferentes temporalidades, permitiendo complementar las hipótesis iniciales y mostrando los linajes mitocondriales a través del tiempo (Tabla 1).

Excavación	Localización	Edad (a. P.)	ADNa	Región amplificada	Referencia
Anzick-1	Montana, USA	12.707-12.556	ADNmt: D4h3a; Y: Q-L54 (xM3)	Genoma completo	Rasmussen et al., 2014
Upward Sun River Site	Alaska, USA	11.500	ADNmt: B2, C1b	Mitogenoma completo	Tackney et al., 2015
On Your Knees Cave	Alaska, USA	10.500-10.250	ADNmt: D4h3a; Y: Q1a3a1a	ADNmt: D-Loop	Kemp et al., 2007a
Wizard's Beach	Nevada, USA	10.560-10.250	ADNmt: C1	ADNmt: RFLP's	Kaestle and Smith, 2001
Kennewick man	Washington state, USA	8.340-9.200	ADNmt: X2a	Genoma completo	Rasmussen et al., 2015
Costa Noreste de USA	Costa Norte de Columbia Británica, Canadá	5.500-1.800	ADNmt: A2ag, A2ah, D4h3a7	Mitogenoma completo	Cui et al., 2013
Hoyo Negro	Península Yucatán, México	12.910-11.750	ADNmt: D1	ADNmt: HVRI	Chatters et al., 2014
Azteca	México	500-700	ADNmt: A2, B2, C1, D1	ADNmt: HVRI	Mata-Míguez et al., 2012
Checua	Nemocón, Colombia	9500-8700	ADNmt: A2, B2, C1, D4h3a	ADNmt: HVRI	Díaz-Matallana et al., 2016
Lauricocha	Lauricocha, Perú	7.871-3.337	ADNmt: A2, B2 ; Y: Q1a3a	Mitogenoma completo	Fehren-Schmitz et al., 2015
Huaca Pucllana	Lima, Perú	Lima (1300-1500); Wari (1000-1217); Ychsma (500-1000)	ADNmt: A2, B2, B2b, C1b, C1c, D1	Mitogenoma completo	Valverde et al., 2016

Uruguay	Uruguay	220-2.000	ADNmt: C1d	Mitogenoma completo	Sans et al., 2015
Momia Inca	Cerro Aconcagua, Argentina	500	ADNmt: C1b	Mitogenoma completo	Gómez-Carballa et al., 2015
Kawéskar, Yámana	Tierra de Fuego, Chile	>2.000	ADNmt: C1, D1, D1g, D4h3a5	ADNmt: HVRI	De La Fuente et al., 2015

Tabla 1. Algunos de los hallazgos arqueológicos más representativos de América de diferentes temporalidades en cual se ha logrado extraer ADN.

Desde el punto de vista molecular, uno de los mayores hallazgos es la secuenciación del genoma completo de los restos de un infante (Anzick-1), encontrado en el occidente de Montana-USA, enterrado con artefactos tipo Clovis y datado directamente en 12.600 años a. P. (Rasmussen et al., 2014): el haplogrupo mitocondrial encontrado fue el D4h3a. Este hallazgo sorprendente indica que este individuo está más relacionado con Centro y Suramérica que con respecto a los del Norte de Norteamérica; este haplogrupo se halla hoy presente sólo en un 1,4% de los nativos americanos contemporáneos, pero parece ser más común entre los antiguos habitantes de las Américas, lo que implicaría un fenómeno de cuello de botella (Kemp et al., 2007b; Cui et al., 2013; Díaz-Matallana et al., 2016). Otro reporte similar es el dado por Tackney y cols (Tackney et al., 2015), en donde analizaron mitogenomas completos de dos individuos infantes provenientes del Oriente de Beringia datados aproximadamente en 11.500 años a. P. determinando en ellos los haplogrupos B2 y C1b, siendo estos muy raros o ausentes en las poblaciones contemporáneas de esta región.

En Centroamérica, también se han encontrado restos de Paleoamericanos, específicamente en la península de Yucatán en México, en donde se ha datado el hallazgo de un individuo en aproximadamente 12.910-11.750 años a. P. , se logró extraer ADN y secuenciar las región HVRI de su ADNmt, en donde se encontró el haplogrupo D1, siendo este uno de los linajes fundadores de América, y tiene hoy una presencia del 10,5% en los nativos americanos contemporáneos, presentándose con mayor frecuencia (29%) en los indígenas de Chile y Argentina (De Saint Pierre et al., 2012b). Estos hallazgos sugirieron que estos individuos del cono sur descienden de la población que llevó el linaje D1 a Suramérica (Chatters et al., 2014).

En Suramérica, existen reportes con individuos de diferentes temporalidades incluyendo desde los más antiguos Paleoamericanos hasta el contacto con los conquistadores europeos. Se han logrado secuenciar individuos provenientes de Colombia datados en 9.500-8.700 años a. P., obteniendo los haplogrupos característicos de los nativos americanos (A2, B2 y C1), más el haplogrupo raro

D4h3a, apoyando la entrada al subcontinente por la costa Pacífica (Díaz-Matallana et al., 2016). Estos hallazgos demuestran que las dinámicas poblacionales que originaron la estructura genética fueron complejas y variadas de región a región.

Al integrar toda la información generada a partir de los datos moleculares, se ha logrado establecer nuevos modelos de poblamiento americano como es el caso de la publicación de Llamas y cols. (Llamas et al., 2016), en donde se incluyen secuencias de 92 mitogenomas completos de restos antiguos provenientes de diferentes hallazgos arqueológicos de Perú, Bolivia, Argentina y México, y, al realizar análisis bayesianos incluyendo otras secuencias amerindias contemporáneas del resto del continente, encontraron que la divergencia de las poblaciones americanas y las de Siberia habría ocurrido hace cerca de 24,9 Ka, y el flujo de genes hacia y desde el Este de Siberia parece haber cesado cerca al LGM (18,4 Ka); posteriormente habría habido una explosión repentina de diversificación de los linajes hace ~16-13 Ka, seguida por un aumento del tamaño de la población. Si se acepta una entrada única inicial a América por el estrecho de Bering, y se postulan condiciones ambientales favorables, la expansión hacia el sur pudo ocurrir a lo largo de la costa Pacífica, indicando que el tránsito hasta el sur de Suramérica tomó alrededor de 1,4 Ka (Figura 1).

Con respecto a las diferencias craneométricas y dentales entre los Paleoamericanos y los Amerindios, las evidencias genéticas indican que los linajes presentes en los paleoamericanos tuvieron una continuidad en los amerindios como se ha observado en el caso de los haplogrupos B2, C1b, D1 y D4h3a, sugiriendo que los cambios morfológicos que diferencian esta temporalidades fue dado más como un resultado de una evolución *in situ* y no derivado de múltiples migraciones. Y los genes responsables de la modificación de la morfología craneal no afectaron otras estructuras corporales.

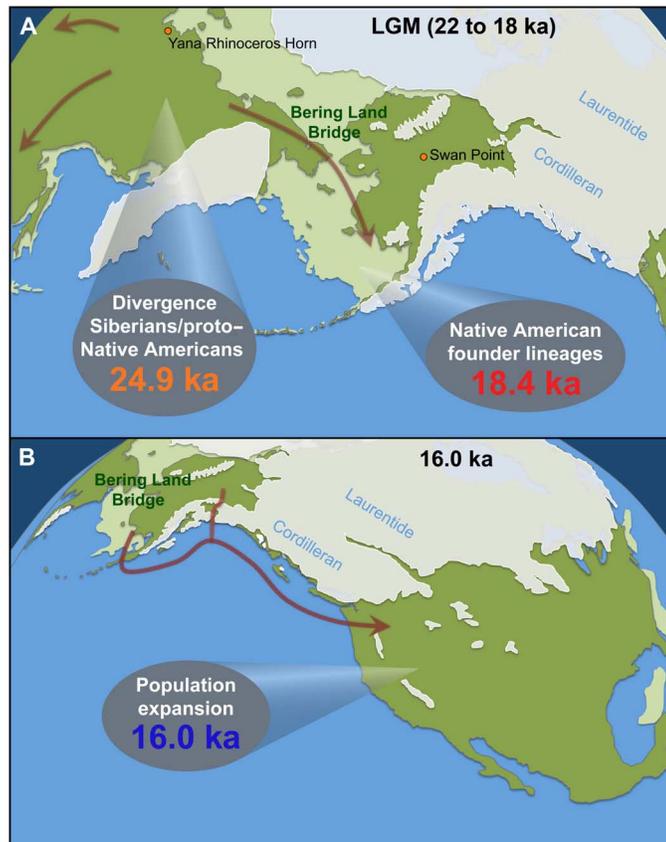


Figura 1. Migración hacia América. A) Divergencia entre Siberia y los proto Nativos Americanos hace 24,9 Ka. Producto del aislamiento geográfico se originaron linajes fundadores de los Nativos Americanos (18,4 Ka). B) La capa de hielo empezó a desaparecer hace ~17 Ka, abriendo una posible ruta costera del Pacífico. Posteriormente, se presentó una rápida expansión de la población (16 Ka) hacia el sur del territorio. Tomado de (Llamas et al., 2016).

CONCLUSIONES

Desde el punto de vista interdisciplinario como es el arqueológico y genético, se podría decir que Suramérica fue colonizada por una sola ruta de migración proveniente desde Centroamérica descendiendo por la costa Pacífica, hace aproximadamente 15.000 a 13.500 años a. P., los patrones de diversidad indican una historia temprana en el continente. Los cambios climáticos, los nuevos estilos de vida, y el uso de nuevas tecnologías como la domesticación de plantas, las nuevas integraciones sociales mediante el intercambio de productos fueron factores importante que influyeron en la diversificación poblacional promoviendo el flujo genético alrededor de los Andes y adicionalmente un flujo recurrente con la Amazonia, con impactos en la diversidad genética de ambas regiones.

Suramérica posee una gran riqueza arqueológica, con diferentes cronologías e historias humanas diferentes, permitiendo observar patrones morfológicos y genéticos, particulares, tanto como variaciones culturales. Los aportes del ADN, son de gran utilidad para revelar y fundamentar las dinámicas poblacionales y complementar las teorías planteadas a partir de datos bioantropológicos, así como para precisar los diferentes procesos involucrados en el poblamiento del continente.

BIBLIOGRAFIA

- Achilli A, Perego U a., Bravi CM, Coble MD, Kong Q-P, Woodward SR, Salas A, Torroni A, Bandelt H-J. 2008. The Phylogeny of the Four Pan-American MtDNA Haplogroups: Implications for Evolutionary and Disease Studies. *PLoS One* 3:e1764.
- Achilli A, Perego U a, Lancioni H, Olivieri A, Gandini F, Hooshiar Kashani B, Battaglia V, Grugni V, Angerhofer N, Rogers MP, Herrera RJ, Woodward SR, Labuda D, Smith DG, Cybulski JS, Semino O, Malhi RS, Torroni A. 2013. Reconciling migration models to the Americas with the variation of North American native mitogenomes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110:14308–13.
- Álvarez-Sandoval BA, Manzanilla LR, González-Ruiz M, Malgosa A, Montiel R. 2015. Genetic evidence supports the multiethnic character of teopancazco, a neighborhood center of teotihuacan, Mexico (ad 200-600). *PLoS One* 10:1–19.
- Andrews RM, Kubacka I, Chinnery PF, Lightowlers RN, Turnbull DM, Howell N. 1999. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nat Genet* 23:147.
- De Azevedo S, Bortolini MC, Bonatto SL, Hünemeier T, Santos FR, González-José R. 2015. Ancient remains and the first peopling of the Americas: Reassessing the Hoyo Negro skull. *Am J Phys Anthropol* 158:514–521.
- De Azevedo S, Nocera A, Paschetta C, Castillo L, González M, González-José R. 2011. Evaluating microevolutionary models for the early settlement of the New World: the importance of recurrent gene flow with Asia. *Am J Phys Anthropol* 146:539–52.
- Bandelt H-J, Forster P, Röhl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol* 16:37–48.
- Barbieri C, Heggarty P, Yao DY, Ferri G, De Fanti S, Sarno S, Ciani G, Boattini A, Luiselli D, Pettener D. 2014. Between Andes and Amazon: The genetic profile of the Arawak-speaking Yaneshá. *Am J Phys Anthropol* 155:600–609.
- Batista O, Kolman C, Bermingham E. 1995. Mitochondrial DNA diversity in the

- Kuna Amerinds of Panama. *Hum Mol Genet*:921–929.
- Behar DM, Van Oven M, Rosset S, Metspalu M, Loogväli EL, Silva NM, Kivisild T, Torroni A, Villems R. 2012. A “copernican” reassessment of the human mitochondrial DNA tree from its root. *Am J Hum Genet* 90:675–684.
- Bodner M, Perego U a, Huber G, Fendt L, Röck AW, Zimmermann B, Olivieri A, Gómez-Carballa A, Lancioni H, Angerhofer N, Bobillo MC, Corach D, Woodward SR, Salas A, Achilli A, Torroni A, Bandelt H-J, Parson W. 2012. Rapid coastal spread of First Americans: novel insights from South America’s Southern Cone mitochondrial genomes. *Genome Res* 22:811–20.
- Bolnick D a., Bonine HM, Mata-Míguez J, Kemp BM, Snow MH, Leblanc S a. 2012. Nondestructive sampling of human skeletal remains yields ancient nuclear and mitochondrial DNA. *Am J Phys Anthropol* 147:293–300.
- Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, Vaughan T, Wu CH, Xie D, Suchard MA, Rambaut A, Drummond AJ. 2014. BEAST 2: A Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis. *PLoS Comput Biol* 10:1–6.
- Buitrago LM, Rodríguez O. 1999. ESTUDIO BIOANTROPOLÓGICO DE LA COLECCIÓN ELIÉCER SILVA CELIS, MUSEO ARQUEOLÓGICO DE SOGAMOSO. In: Rodríguez C JV, editor. *Los Chibchas: adaptación y diversidad en los Andes Orientales de Colombia*. Bogotá D.C.: Editora Guadalupe Ltda. p 217–236.
- Cardoso S, Alfonso-Sánchez M a, Valverde L, Sánchez D, Zarrabeitia MT, Odriozola a, Martínez-Jarreta B, de Pancorbo MM. 2012. Genetic uniqueness of the Waorani tribe from the Ecuadorian Amazon. *Heredity (Edinb)* 108:609–615.
- Casas-Vargas A, Gómez A, Briceño I, Díaz-Matallana M, Bernal JE, Rodríguez JV. 2011. High genetic diversity on a sample of pre-Columbian bone remains from Guane territories in northwestern Colombia. *Am J Phys Anthropol* 649:637–649.
- Casas-Vargas A, Romero L, Usaquen W, Zea S, Silva M, Briceño I, Gómez A, Rodríguez JV. 2017. Diversidad del ADN mitocondrial en restos óseos prehispánicos asociados al templo del sol en los andes orientales

- colombianos. *Biomédica* 37:1–9.
- Castro-de-Guerra D, Figuera Pérez C, Bravi CM, Saunier J, Scheible M, Irwin J, Coble MD, Rodríguez-Larralde a. 2012. Sequence variation of mitochondrial DNA control region in North Central Venezuela. *Forensic Sci Int Genet* 6:e131-3133.
- Chatters JC, Kennett DJ, Asmerom Y, Kemp BM, Polyak V, Blank AN, Beddows P a, Reinhardt E, Arroyo-Cabrales J, Bolnick D a, Malhi RS, Culleton BJ, Erreguerena PL, Rissolo D, Morell-Hart S, Stafford TW. 2014. Late Pleistocene human skeleton and mtDNA link Paleoamericans and modern Native Americans. *Science* 344:750–4.
- Chen XJ, Butow R a. 2005. The organization and inheritance of the mitochondrial genome. *Nat Rev Genet* 6:815–25.
- Cooke R, Ranere A, Pearson G, Dickau R. 2013. Radiocarbon chronology of early human settlement on the Isthmus of Panama (13,000-7000BP) with comments on cultural affinities, environments, subsistence, and technological change. *Quat Int* 301:3–22.
- Cooper A, Poinar HN. 2000. Ancient DNA: Do It Right or Not at All. *Science* (80-) 289:1139.
- Cramon-Taubadel N Von, Strauss A, Hubbe M. 2017. Evolutionary population history of early Paleoamerican cranial morphology.
- Cui Y, Lindo J, Hughes CE, Johnson JW, Hernandez AG, Kemp BM, Ma J, Cunningham R, Petzelt B, Mitchell J, Archer D, Cybulski JS, Malhi RS. 2013. Ancient DNA Analysis of Mid-Holocene Individuals from the Northwest Coast of North America Reveals Different Evolutionary Paths for Mitogenomes. *PLoS One* 8.
- Díaz-Matallana M, Gómez A, Briceño I, Rodríguez JV. 2016. Genetic analysis of Paleo-Colombians from Nemocón , Cundinamarca provides insights on the early peopling of Northwestern South America. *Rev Acad Colomb Cienc* 40:461–483.
- Díaz-Matallana M, Martínez_Cruzado JC. 2010. Estudios sobre ADN mitocondrial sugieren un linaje predominante en la cordillera Oriental de Colombia y un

- vínculo suramericano para los arcaicos de Puerto Rico. *Univ Médica* 51:241–272.
- Dickau R, Aceituno FJ, Loaiza N, López C, Cano M, Herrera L, Restrepo C, Ranere AJ. 2015. Radiocarbon chronology of terminal Pleistocene to middle Holocene human occupation in the Middle Cauca Valley, Colombia. *Quat Int* 363:43–54.
- Dillehay TD. 2009. Probing deeper into first American studies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:971–8.
- Dillehay TD, Ocampo C, Saavedra J, Sawakuchi AO, Vega RM, Pino M, Collins MB, Cummings LS, Arregui I, Td D, Saavedra OC, Ao S, Rm V, Pino M. 2015. New Archaeological Evidence for an Early Human Presence at Monte Verde, Chile. *PLoS One* 10:1–28.
- Dillehay TD, Ramírez C, Pino M, Collins MB, Rossen J, Pino-Navarro JD. 2008. Monte Verde: seaweed, food, medicine, and the peopling of South America. *Science* 320:784–6.
- Egeland T, Mostad P, Mevag B, Stenersen M. 2000. Beyond traditional paternity and identification cases. Selecting the most probable pedigree. *Forensic Sci Int* 110.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S. 2005a. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform Online* 1:47–50.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S. 2005b. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform Online* 1:47–50.
- Fagundes NJR, Kanitz R, Eckert R, Valls ACS, Bogo MR, Salzano FM, Smith DG, Jr WAS, Zago MA, Ribeiro-dos-Santos AK, Santos SEB, Petzl-Erler ML, Bonatto SL, Silva W a. 2008. Mitochondrial Population Genomics Supports a Single Pre-Clovis Origin with a Coastal Route for the Peopling of the Americas. *Am J Hum Genet* 82:583–592.
- Fehren-Schmitz L, Llamas B, Lindauer S, Tomasto-Cagigao E, Kuzminsky S, Rohland N, Santos FR, Kaulicke P, Valverde G, Richards SM, Nordenfelt S, Seidenberg V, Mallick S, Cooper A, Reich D, Haak W. 2015. A Re-Appraisal of

- the Early Andean Human Remains from Lauricocha in Peru. *PLoS One* 10:e0127141.
- Fehren-Schmitz L, Warnberg O, Reindel M, Seidenberg V, Tomasto-Cagigao E, Isla-Cuadrado J, Hummel S, Herrmann B. 2011. Diachronic investigations of mitochondrial and Y-chromosomal genetic markers in pre-Columbian Andean highlanders from South Peru. *Ann Hum Genet* 75:266–83.
- Fernández C. 1999. La arqueología molecular aplicada ala solución de problemas prehistoricos: análisis de ADN mitocondrial en momias y restos óseos prehispánicos (Tesis).
- García F, Moraga M, Vera S, Henríquez H, Llop E, Aspillaga E, Rothhammer F. 2006. mtDNA microevolution in Southern Chile’s archipelagos. *Am J Phys Anthropol* 129:473–81.
- Gilbert MTP, Hofreiter M, Barnes I. 2005. Assessing ancient DNA studies. October 20.
- Ginther C, Corach D, Penacino G, Rey J, Carnese F, Hutz M, Anderson A, Just J, Salzano F, King M-C. 1993. Genetic variation among the Mapuche Indians from the Patagonian region of Argentina: mitochondrial DNA sequence variation and allele frequencies of several nuclear genes. In: : Pena S, Chakraborty R, Epplen J, Jeffreys A, editors. *DNA finger- printing: state of the science*. 1st ed. Birkhäuser Basel. p 211–219.
- Goebel T, Waters MR, O’Rourke DH. 2008. The late Pleistocene dispersal of modern humans in the Americas. *Science* 319:1497–502.
- Gomes SM, Bodner M, Souto L, Zimmermann B, Huber G, Strobl C, Röck AW, Achilli A, Olivieri A, Torroni A, Côrte-Real F, Parson W. 2015. Human settlement history between Sunda and Sahul: a focus on East Timor (Timor-Leste) and the Pleistocenic mtDNA diversity. *BMC Genomics* 16:70.
- Gómez-Carballa A, Catelli L, Pardo-Seco J, Martínón-Torres F, Roewer L, Vullo C, Salas A. 2015a. The complete mitogenome of a 500-year-old Inca child mummy. *Sci Rep* 5:16462.
- Gómez-Carballa A, Catelli L, Pardo-Seco J, Martínón-Torres F, Roewer L, Vullo C, Salas A. 2015b. The complete mitogenome of a 500-year-old Inca child

- mummy. *Sci Rep* 5:16462.
- González-José R, Bortolini MC, Santos FR, Bonatto SL. 2008. The peopling of America: craniofacial shape variation on a continental scale and its interpretation from an interdisciplinary view. *Am J Phys Anthropol* 137:175–87.
- González-Martín A, Gorostiza A, Regalado-Liu L, Arroyo-Peña S, Tirado S, Nuño-Arana I, Rubi-Castellanos R, Sandoval K, Coble MD, Rangel-Villalobos H. 2015. Demographic history of indigenous populations in Mesoamerica based on mtDNA sequence data. *PLoS One* 10.
- Hartmann A, Thieme M, Nanduri LK, Stempf T, Moehle C, Kivisild T, Oefner PJ. 2009. Validation of microarray-based resequencing of 93 worldwide mitochondrial genomes. *Hum Mutat* 30:115–122.
- Hrdlicka A. 1937. The origin and antiquity of the American Indian. *Annu Rep Smithson Inst Washington*.
- Hubbe M, Harvati K, Neves W. 2011. Paleoamerican morphology in the context of European and East Asian late Pleistocene variation: implications for human dispersion into the New World. *Am J Phys Anthropol* 144:442–53.
- Hubbe M, Neves W a, Harvati K. 2010. Testing evolutionary and dispersion scenarios for the settlement of the new world. *PLoS One* 5:e11105.
- Huel R, Amory S, Bilic A, Vidovic S, Jasaragic E, Parsons T. 2012. DNA extraction from aged skeletal samples for STR typing by capillary electrophoresis. *Methods Mol Biol* 830:185–98.
- Huffine E, Crews J, Kennedy B, Bomberger K, Zinbo A. 2001. Mass identification of persons missing from the break-up of the former Yugoslavia: structure, function, and role of the International Commission on Missing Persons. *Croat Med J* 42:271–5.
- Just RS, Diegoli TM, Saunier JL, Irwin JA, Parsons TJ. 2008. Complete mitochondrial genome sequences for 265 African American and U.S. “Hispanic” individuals. *Forensic Sci Int Genet* 2:45–48.
- Kaestle F a, Smith DG. 2001. Ancient mitochondrial DNA evidence for prehistoric population movement: the Numic expansion. *Am J Phys Anthropol* 115:1–12.
- Kemp BM, Malhi RS, Mcdonough J, Bolnick DA, Eshleman JA, Rickards O,

- Martinez-labarga C, Johnson JR, Lorenz JG, Dixon EJ, Fifield TE, Heaton TH, Worl R, Smith DG. 2007a. Genetic Analysis of Early Holocene Skeletal Remains From Alaska and its Implications for the Settlement of the Americas. *System* 621:605–621.
- Kemp BM, Malhi RS, McDonough J, Bolnick DA, Eshleman JA, Rickards O, Martinez-Labarga C, Johnson JR, Lorenz JG, Dixon EJ, Fifield TE, Heaton TH, Worl R, Smith DG. 2007b. Genetic analysis of early holocene skeletal remains from Alaska and its implications for the settlement of the Americas. *Am J Phys Anthropol* 132:605–621.
- Keyeux G, Rodas C, Gelvez N, Carter D. 2002. Possible migration routes into South America deduced from mitochondrial DNA studies in Colombian Amerindian Populations. *Hum Biol* 74:211–33.
- Kitchen A, Miyamoto MM, Mulligan CJ. 2008. A Three-Stage Colonization Model for the Peopling of the Americas. *PLoS One* 3:e1596.
- Kolman CJ, Bermingham E, Cooke R, Ward RH, Arias TD, Guionneau-Sinclair F. 1995. Reduced mtDNA diversity in the Ngöbé Amerinds of Panamá. *Genetics* 140:275–83.
- Kovach W. 2007. MVSP - A MultiVariate Statistical Package for Windows, ver. 3.1.
- De La Fuente C, Galimany J, Kemp BM, Judd K, Reyes O, Moraga M. 2015. Ancient marine hunter-gatherers from Patagonia and Tierra Del Fuego: Diversity and differentiation using uniparentally inherited genetic markers. *Am J Phys Anthropol* 158:719–729.
- Lalueza-Fox C, Calderón FL, Calafell F, Morera B, Bertranpetit J. 2001. MtDNA from extinct Tainos and the peopling of the Caribbean. *Ann Hum Genet* 65:137–51.
- Lalueza-Fox C, Sampietro ML, Gilbert MTP, Castri L, Facchini F, Pettener D, Bertranpetit J. 2004. Unravelling migrations in the steppe: mitochondrial DNA sequences from ancient central Asians. *Proc Biol Sci* 271:941–7.
- Lander N, Rojas MG, Chiurillo MA, Ramírez JL. 2008. Haplotype diversity in human mitochondrial DNA hypervariable regions I-III in the city of Caracas (Venezuela). *Forensic Sci Int Genet* 2:0–3.

- Langebaek C. 1987. Mercados, Poblamiento e Integración Étnica entre los Muisca del siglo XVI. Bogotá D.C.: Banco de la República.
- Lell JT, Sukernik RI, Starikovskaya YB, Su B, Jin L, Schurr TG, Underhill PA, Wallace DC. 2002. The Dual Origin and Siberian Affinities of Native American Y Chromosomes. *Am J Hum Genet* 70:192–206.
- Lewis CM, Lizárraga B, Tito RY, López PW, Iannacone GC, Medina A, Martínez R, Polo SI, De La Cruz AF, Cáceres AM, Stone AC. 2007. Mitochondrial DNA and the peopling of South America. *Hum Biol* 79:159–78.
- Llamas B, Fehren-Schmitz L, Valverde G, Soubrier J, Mallick S, Rohland N, Nordenfelt S, Valdiosera C, Richards SM, Rohlach A, Barreto-Romero MI, Flores-Espinoza I, Tomasto-Cagigao E, Watson-Jimenez L, Makowski K, Santiago-Leboreiro-Reyna I, Mansilla-Lory J, Ballivian-Torrez JA, Rivera MA, Burger RL, Constanza-Ceruti M, Reinhard J, Wells RS, Politis G, Santoro CM, Standen VG, Smith C, Reich D, Ho SYW, Cooper A, Haak W. 2016. Ancient mitochondrial DNA provides high-resolution timescale of the peopling of the Americas. *Sci Adv*.
- Lleras R. 1995. Diferentes oleadas de poblamiento en la prehistoria tardía de los Andes Orientales. *Bol del Mus del Oro* 38–39:3–11.
- Martínez-Cortés G, Salazar-Flores J, Haro-Guerrero J, Rubi-Castellanos R, Velarde-Félix JS, Muñoz-Valle JF, López-Casamichana M, Carrillo-Tapia E, Canseco-Avila LM, Bravi CM, López-Armenta M, Rangel-Villalobos H. 2013. Maternal admixture and population structure in Mexican-Mestizos based on mtDNA haplogroups. *Am J Phys Anthropol* 151:526–537.
- Mata-Míguez J, Overholtzer L, Rodríguez-Alegría E, Kemp BM, Bolnick DA. 2012. The genetic impact of Aztec imperialism: Ancient mitochondrial DNA evidence from Xaltocan, Mexico. *Am J Phys Anthropol* 149:504–516.
- Melton PE, Briceño I, Gómez A, Devor E, Bernal JE, Crawford MH. 2007. Biological Relationship Between Central and South American Chibchan Speaking Populations : Evidence From mtDNA. *Am J Phys Anthropol* 770:753–770.
- Mendisco F, Keyser C, Seldes V, Rivolta C, Mercolli P, Cruz P, Nielsen AE,

- Crubezy E, Ludes B. 2014. Genetic diversity of a late prehispanic group of the Quebrada de Humahuaca, Northwestern Argentina. *Ann Hum Genet* 78:367–380.
- Mizuno F, Gojobori J, Wang L, Onishi K, Sugiyama S, Granados J, Gomez-Trejo C, Acuña-Alonzo V, Ueda S. 2014. Complete mitogenome analysis of indigenous populations in Mexico: its relevance for the origin of Mesoamericans. *J Hum Genet*:1–9.
- Monroe C, Kemp BM, Smith DG. 2013. Exploring prehistory in the North American southwest with mitochondrial DNA diversity exhibited by Yumans and Athapaskans. *Am J Phys Anthropol* 150:618–631.
- Monsalve M V, Cardenas F, Guhl F, Delaney a D, Devine D V. 1996. Phylogenetic analysis of mtDNA lineages in South American mummies. *Ann Hum Genet* 60:293–303.
- Moraga M, Santoro CM, Standen VG, Carvallo P, Rothhammer F. 2005. Microevolution in prehistoric Andean populations: chronologic mtDNA variation in the desert valleys of northern Chile. *Am J Phys Anthropol* 127:170–81.
- Mulligan CJ, Kitchen A, Miyamoto MM. 2008. Updated three-stage model for the peopling of the Americas. *PLoS One* 3:e3199.
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583–590.
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York, NY, USA: Columbia University Press.
- Neves WA, Hubbe M. 2005. Cranial morphology of early Americans from Lagoa Santa, Brazil: Implications for the settlement of the New World. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:18309–18314.
- Neves WA, Hubbe M, Correal G. 2007. Human Skeletal Remains From Sabana de Bogota Colombia : A Case of Paleoamerican Morphology Late Survival in South America ? *Am J Phys Anthropol* 1098:1080–1098.
- Neves WA, Prous A, González-José R, Kipnis R, Powell J. 2003. Early Holocene human skeletal remains from Santana do Riacho, Brazil: implications for the settlement of the New World. *J Hum Evol* 45:19–42.

- O'Rourke DH, Raff J a. 2010. The human genetic history of the Americas: the final frontier. *Curr Biol* 20:R202-7.
- van Oven M, Kayser M. 2009. Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. *Hum Mutat* 30:386–394.
- Pakendorf B, Stoneking M. 2005. Mitochondrial DNA and human evolution. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 6:165–83.
- Paredes M, Galindo A, Bernal M, Avila S, Andrade D, Vergara C, Rincon M, Romero R, Navarrete M, Cárdenas M, Ortega J, Suarez D, Cifuentes A, Salas A, Carracedo A. 2003. Analysis of the CODIS autosomal STR loci in four main Colombian regions. *Forensic Sci Int* 14:67–73.
- Parr R, Carlyle SW, O'Rourke DH. 1996. Ancient DNA analysis of Fremont Amerindians of the Great Salt Lake Wetlands. *Am J Phys Anthr* 99:507–518.
- Parson W, Strobl C, Huber G, Zimmermann B, Gomes SM, Souto L, Fendt L, Delport R, Langit R, Wootton S, Lagacé R, Irwin J. 2013. Reprint of: Evaluation of next generation mtGenome sequencing using the Ion Torrent Personal Genome Machine (PGM). *Forensic Sci Int Genet* 7:632–639.
- Parsons TJ, Huel R, Davoren J, Katzmarzyk C, Milo?? A, Selmanovi?? A, Smajlovi?? L, Coble MD, Rizvi?? A. 2007. Application of novel “mini-amplicon” STR multiplexes to high volume casework on degraded skeletal remains. *Forensic Sci Int Genet* 1:175–179.
- Pedersen MW, Ruter A, Schweger C, Friebe H, Staff RA, Kjeldsen KK, Mendoza MLZ, Beaudoin AB, Zutter C, Larsen NK, Potter BA, Nielsen R, Rainville RA, Orlando L, Meltzer DJ, Kjær KH, Willerslev E. 2016. Postglacial viability and colonization in North America's ice-free corridor. *Nature*:1–15.
- Perego UA, Achilli A, Angerhofer N, Accetturo M, Pala M, Olivieri A, Kashani BH, Ritchie KH, Scozzari R, Kong Q, Myres NM, Salas A, Semino O, Woodward SR. 2009. Distinctive Paleo-Indian Migration Routes from Beringia Marked by Two Rare mtDNA Haplogroups. *Curr Biol*:1–8.
- Perego U a, Lancioni H, Tribaldos M, Angerhofer N, Ekins JE, Olivieri A, Woodward SR, Pascale JM, Cooke R, Motta J, Achilli A. 2012. Decrypting the mitochondrial gene pool of modern Panamanians. *PLoS One* 7:e38337.

- Perego UA, Angerhofer N, Pala M, Olivieri A, Lancioni H, Kashani BH, Carossa V, Ekins JE, Go A, Huber G, Zimmermann B, Corach D, Babudri N, Panara F, Myres NM, Parson W, Semino O, Salas A, Woodward SR, Achilli A, Torroni A, De U. 2010. The initial peopling of the Americas : A growing number of founding mitochondrial genomes from Beringia. *Genome Res* 20:1174–1179.
- Perez SI, Bernal V, Gonzalez PN, Sardi M, Politis GG. 2009. Discrepancy between cranial and DNA data of early Americans: implications for American peopling. *PLoS One* 4:e5746.
- Powell JF, Neves W a. 1999. Craniofacial morphology of the first Americans: Pattern and process in the peopling of the New World. *Am J Phys Anthropol Suppl* 29:153–88.
- Rasmussen M, Anzick SL, Waters MR, Skoglund P, DeGiorgio M, Stafford TW, Rasmussen S, Moltke I, Albrechtsen A, Doyle SM, Poznik GD, Gudmundsdottir V, Yadav R, Malaspinas A-S, White SS, Allentoft ME, Cornejo OE, Tambets K, Eriksson A, Heintzman PD, Karmin M, Korneliussen TS, Meltzer DJ, Pierre TL, Stenderup J, Saag L, Warmuth VM, Lopes MC, Malhi RS, Brunak S, Sicheritz-Ponten T, Barnes I, Collins M, Orlando L, Balloux F, Manica A, Gupta R, Metspalu M, Bustamante CD, Jakobsson M, Nielsen R, Willerslev E, V SSW, Allentoft ME, Cornejo OE, Tambets K, Eriksson A, Heintzman PD, Karmin M, Korneliussen TS, Meltzer DJ, Pierre TL, Stenderup J, Saag L, Warmuth VM, Lopes MC, Malhi RS, Brunak S, Sicheritz-Ponten T, Barnes I, Collins M, Orlando L, Balloux F, Manica A, Gupta R, Metspalu M, Bustamante CD, Jakobsson M, Nielsen R, Willerslev E. 2014. The genome of a Late Pleistocene human from a Clovis burial site in western Montana. *Nature* 506:225–229.
- Rasmussen M, Sikora M, Albrechtsen A, Korneliussen TS, Moreno-Mayar J, Poznik GD, Zollikofer C, Ponce de León M, Allentoft ME, Moltke I, Jónsson H, Valdiosera C, Malhi RS, Orlando L, Bustamante CD, Stafford TW, Meltzer DJ, Nielsen R, Willerslev E. 2015. The Ancestry and Affiliations of Kennewick Man. *Nature* 23:455–458.
- Rodríguez C. 1999. Programa de monitoreo y rescate arqueológico sitio San

- Lorenzo Bajo, Duitama: Gasoducto ramales a Boyacá y Santander. Bogotá D.C.
- Rodríguez JV. 1987. Algunos aspectos metodológicos- bioantropológicos relacionados con el poblamiento de América. *Maguaré* 5:9–40.
- Rodríguez JV. 2001a. Craneometría de la población prehispánica de los Andes Orientales de Colombia: Diversidad, adaptación y etnogénesis. In: *Los Chibchas: adaptación y diversidad en los Andes Orientales de Colombia*. Bogotá D.C.: Universidad Nacional de Colombia/Colciencias. p 250–310.
- Rodríguez JV. 2001b. *Los chibchas*. 1st ed. (Rodríguez C JV, editor.). Bogotá D.C.: Editora Guadalupe Ltda.
- Rodríguez JV. 2007. LA DIVERSIDAD POBLACIONAL DE COLOMBIA EN EL TIEMPO Y EL ESPACIO : *Rev Acad Colomb Cienc* 31:321–346.
- Rodríguez JV. 2011. *Los chibchas : hijos del sol , la luna y los Andes . Orígenes de su diversidad*. Bogotá D.C.: Instituto de Desarrollo Urbano: Universidad Nacional de Colombia.
- Rodríguez JV. 2015. El parque Arqueológico de Facatativá: proceso de recuperación y conservación de la memoria de sus antiguos habitantes. Bogotá D.C.: Universidad Nacional de Colombia, CAR.
- Rodríguez JV, Vargas C. 2015. Variación métrica y morfológica de la población prehispánica de Colombia. Implicaciones para la problemática del poblamiento temprano de América. *Rev Colomb Antropol* 51:65–87.
- Roewer L, Nothnagel M, Gusmão L, Gomes V, González M, Corach D, Sala A, Alechine E, Palha T, Santos N, Ribeiro-Dos-Santos A, Geppert M, Willuweit S, Nagy M, Zweynert S, Baeta M, Núñez C, Martínez-Jarreta B, González-Andrade F, Fagundes de Carvalho E, da Silva DA, Builes JJ, Turbón D, Lopez Parra AM, Arroyo-Pardo E, Toscanini U, Borjas L, Barletta C, Ewart E, Santos S, Krawczak M. 2013. Continent-wide decoupling of Y-chromosomal genetic variation from language and geography in native South Americans. *PLoS Genet* 9:e1003460.
- Rothhammer F, Dillehay TD. 2009. The late Pleistocene colonization of South America: an interdisciplinary perspective. *Ann Hum Genet* 73:540–9.

- De Saint Pierre M, Bravi CM, Motti JMB, Fuku N, Tanaka M, Llop E, Bonatto SL, Moraga M. 2012a. An alternative model for the early peopling of southern South America revealed by analyses of three mitochondrial DNA haplogroups. *PLoS One* 7:e43486.
- De Saint Pierre M, Gandini F, Perego U a, Bodner M, Gómez-Carballa A, Corach D, Angerhofer N, Woodward SR, Semino O, Salas A, Parson W, Moraga M, Achilli A, Torroni A, Olivieri A. 2012b. Arrival of Paleo-Indians to the southern cone of South America: new clues from mitogenomes. *PLoS One* 7:e51311.
- Salas A, Lovo-Gómez J, Álvarez-Iglesias V, Cerezo M, Lareu MV, Macaulay V, Richards MB, Carracedo Á. 2009. Mitochondrial echoes of first settlement and genetic continuity in El Salvador. *PLoS One* 4:1–10.
- Sánchez C. 2007. Secuenciación de ADN mitocondrial a partir de fragmentos óseos prehispánicos hallados en el sector de Candelaria La Nueva en Bogotá.
- Sandoval JR, Lacerda DR, Jota MS a, Salazar-Granara A, Vieira PPR, Acosta O, Cuellar C, Revollo S, Fujita R, Santos FR. 2013. The genetic history of indigenous populations of the Peruvian and Bolivian Altiplano: the legacy of the Uros. *PLoS One* 8:e73006.
- Sans M, Figueiro G, Hughes CE, Lindo J, Hidalgo PC, Malhi RS. 2015. A south American prehistoric mitogenome: Context, continuity, and the origin of haplogroup C1d. *PLoS One* 10:1–14.
- Santos M, Ward R, Barrantes R. 1994. mtDNA variation in the Chibcha Amerindian Huetar from Costa Rica. *Hum Biol* 66:963–977.
- Sardi ML, Ramírez Rozzi F, González-José R, Pucciarelli HM. 2005. South Amerindian craniofacial morphology: diversity and implications for Amerindian evolution. *Am J Phys Anthropol* 128:747–56.
- Saunier JL, Irwin JA, Just RS, O’Callaghan J, Parsons TJ. 2008. Mitochondrial control region sequences from a U.S. “Hispanic” population sample. *Forensic Sci Int Genet* 2.
- Schurr TG. 2004. THE PEOPLING OF THE NEW WORLD : Perspectives from Molecular Anthropology. *Annu Rev Anthropol* 33:0–13.
- Schurr TG, Ballinger SW, Gan YY, Hodge J a, Merriwether D a, Lawrence DN,

- Knowler WC, Weiss KM, Wallace DC. 1990. Amerindian mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies, suggesting they derived from four primary maternal lineages. *Am J Hum Genet* 46:613–23.
- Schurr TG, Sherry ST. 2004. Mitochondrial DNA and Y chromosome diversity and the peopling of the Americas: evolutionary and demographic evidence. *Am J Hum Biol* 16:420–39.
- Shields GF, Schmiechen a M, Frazier BL, Redd A, Voevoda MI, Reed JK, Ward RH. 1993. mtDNA sequences suggest a recent evolutionary divergence for Beringian and northern North American populations. *Am J Hum Genet* 53:549–62.
- Silva A, Briceño I, Burgos J, Torres D, Villegas V, Gómez A, Bernal JE, Rodríguez JV. 2008. Análisis de ADN mitocondrial en una muestra de restos óseos arcaicos del periodo Herrera en la sabana de Bogotá. *Victoria*:569–577.
- Silva C E. 1968. *Arqueología y prehistoria de Colombia*. Tunja, Boyacá: Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.
- Silva C E. 1981. *Investigaciones arqueológicas en Villa de Leiva*. Bogotá D.C.: Boletín del Museo del Oro.
- Silva C E. 2005. *Estudios sobre la cultura Chibcha*. Tunja, Boyacá: Buhos Editores.
- Slatkin M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139:457–462.
- Swofford D. 2002. *PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods)*. Version 4. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
- Tackney JC, Potter BA, Raff J, Powers M, Watkins WS, Warner D, Reuther JD, Irish JD, O'Rourke DH. 2015. Two contemporaneous mitogenomes from terminal Pleistocene burials in eastern Beringia. *Proc Natl Acad Sci*:201511903.
- Tamm E, Kivisild T, Reidla M, Metspalu M, Smith DG, Mulligan CJ, Bravi CM, Rickards O, Martinez-Labarga C, Khusnutdinova EK, Fedorova SA, Golubenko M V., Stepanov VA, Gubina MA, Zhadanov SI, Ossipova LP, Damba L, Voevoda MI, Dipierri JE, Villems R, Malhi RS. 2007. Beringian

- standstill and spread of native American founders. *PLoS One* 2:1–6.
- Thorvaldsson H, Robinson JT, Mesirov JP. 2013. Integrative Genomics Viewer (IGV): High-performance genomics data visualization and exploration. *Brief Bioinform* 14:178–192.
- Torres MM, Bravi CM, Bortolini M-C, Duque C, Callegari-Jacques S, Ortiz D, Bedoya G, Groot de Restrepo H, Ruiz-Linares A. 2006. A revertant of the major founder Native American haplogroup C common in populations from northern South America. *Am J Hum Biol* 18:59–65.
- Torroni A, Schurr TG, Cabell MF, Brown MD, Neel J V, Larsen M, Smith DG, Vullo CM, Wallace DC. 1993a. Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNAs. *Am J Hum Genet* 53:563–90.
- Torroni A, Schurr G, Yang C, Williams RC, Schanfield MS, Troup GA, Knowler WC, Weiss M, Wallace DC, Lawrence DN. 1992. Native American Mitochondrial DNA Analysis Indicates That the Amerind and the Nadene Populations Were Founded by. *Public Health*.
- Torroni A, Sukernik RI, Schurr TG, Starikorskaya YB, Cabell MF, Crawford MH, Comuzzie G, Wallace DC. 1993b. mtDNA variation of aboriginal Siberians reveals distinct genetic affinities with Native Americans. *Am J Hum Genet* 53:591–608.
- Usme-Romero S, Alonso M, Hernandez-Cuervo H, Yunis EJ, Yunis JJ. 2013. Genetic differences between Chibcha and Non-Chibcha speaking tribes based on mitochondrial DNA (mtDNA) haplogroups from 21 Amerindian tribes from Colombia. *Genet Mol Biol* 36:149–57.
- Valverde G, Romero MIB, Espinoza IF, Cooper A, Fehren-Schmitz L, Llamas B, Haak W. 2016. Ancient DNA Analysis Suggests Negligible Impact of the Wari Empire Expansion in Peru's Central Coast during the Middle Horizon. *PLoS One* 11:1–18.
- Volodko N V, Starikovskaya EB, Mazunin IO, Eltsov NP, Naidenko P V, Wallace DC, Sukernik RI. 2008. Mitochondrial Genome Diversity in Arctic Siberians , with Particular Reference to the Evolutionary History of Beringia and Pleistocenic Peopling of the Americas. *Am J Hum Genet* 82:1084–1100.

- Vona G, Falchi A, Moral P, Calò CM, Varesi L. 2005. Mitochondrial sequence variation in the Guahibo Amerindian population from Venezuela. *Am J Phys Anthropol* 127:361–9.
- Wang S, Lewis CM, Jakobsson M, Ramachandran S, Ray N, Bedoya G, Rojas W, Parra M V, Molina J a, Gallo C, Mazzotti G, Poletti G, Hill K, Hurtado AM, Labuda D, Klitz W, Barrantes R, Bortolini MC, Salzano FM, Petzl-Erler ML, Tsuneto LT, Llop E, Rothhammer F, Excoffier L, Feldman MW, Rosenberg N a, Ruiz-Linares A. 2007. Genetic variation and population structure in native Americans. *PLoS Genet* 3:e185.
- Ward R, Salzano F, Bonatto S, Hutz M, Coimbra JC, Santos R. 1996. Mitochondrial DNA polymorphism in three Brazilian tribes. *Am J Hum Biol* 8:317–323.
- Ward RH, Frazier BL, Dew-Jager K, Pääbo S. 1991. Extensive mitochondrial diversity within a single Amerindian tribe. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88:8720–4.
- Ward RH, Redd A, Valencia D, Frazier B, Pääbo S. 1993. Genetic and linguistic differentiation in the Americas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:10663–7.
- Waters M, Forman S, Jennings T, Nordt L, Driese S, Feinberg JM, Keene J, Halligan JJ, Lindquist A, Pierson J, Hallmarck C, Collins M, Wiederhold J. 2011. The Buttermilk Creek complex and the origins of Clovis at the Debra L. Friedkin site, Texas. *Science* (80-) 25:1599–603.
- Waters MR, Stafford TW. 2007. Redefining the age of Clovis: implications for the peopling of the Americas. *Science* 315:1122–6.
- Xavier C, Builes JJ, Gomes V, Ospino JM, Aquino J, Parson W, Amorim A, Gusmão L, Goios A. 2015. Admixture and Genetic Diversity Distribution Patterns of Non-Recombining Lineages of Native American Ancestry in Colombian Populations. *PLoS One* 10:e0120155.
- Zegura SL, Karafet TM, Zhivotovsky L a, Hammer MF. 2004. High-resolution SNPs and microsatellite haplotypes point to a single, recent entry of Native American Y chromosomes into the Americas. *Mol Biol Evol* 21:164–75.
- Zheng H-X, Yan S, Qin Z-D, Jin L. 2012. MtDNA analysis of global populations

support that major population expansions began before Neolithic Time. Sci Rep 2:1–8.

Capítulo 2

ISSN 0120-4157

Biomédica

Revista del Instituto Nacional de Salud

PUBLICACIÓN ANTICIPADA EN LINEA

Citación provisional:

Casas-Vargas A, Romero LM, Usaquén W, Zea S, Silva M, Briceño I, et al.

Diversidad del ADN mitocondrial en restos óseos prehispanicos asociados al templo del sol en los Andes orientales colombianos. *Biomédica*. 2017;37(4).

Recibido: 29-07-16

Aceptado: 01-03-17

Publicación en línea: 06-03-17

DIVERSIDAD DEL ADN MITOCONDRIAL EN RESTOS ÓSEOS PREHISPÁNICOS ASOCIADOS AL TEMPLO DEL SOL EN LOS ANDES ORIENTALES COLOMBIANOS

Diversidad mitocondrial prehispánica - Andes Orientales

Mitochondrial DNA diversity in Prehispanic bone remains on the Eastern Colombian Andes.

Casas-Vargas Andrea¹, Romero Liza M¹, Usaquén William¹, Zea Sara¹, Silva Margarita², Briceño Ignacio^{3,4}, Gómez Alberto³, Rodríguez José Vicente⁵.

¹ *Grupo de Genética de Poblaciones e Identificación, Instituto de Genética, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá-Colombia*

² *Museo Parque Arqueológico de Sogamoso, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Sogamoso, Colombia.*

³ *Instituto de Genética Humana, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá-Colombia.*

⁴ *Facultad de Medicina, Universidad de La Sabana, Chía-Colombia.*

⁵ *Laboratorio de Antropología Física, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá-Colombia.*

Correspondencia a: ANDREA CASAS VARGAS

Instituto de Genética.
Universidad Nacional de Colombia
Cra 30 No 45-03, edificio 426, oficina 101,
Bogotá- Colombia
Tel: (+571) 3165000 ext 11635
E-mail: lacasasv@unal.edu.co

Contribución de los autores: Andrea Casas-Vargas: Obtención de las muestras, redacción, análisis estadístico, análisis de resultados. Liza Romero: Extracción de ADN, análisis molecular, elaboración del manuscrito. William Usaquén: obtención de las muestras, análisis de datos, discusión, preparación del manuscrito. Sara Zea: cálculos estadísticos de paternidad. Margarita Silva: obtención de las muestras, preparación del manuscrito. Ignacio Briceño: análisis de resultados, discusión, preparación del manuscrito. Alberto Gómez y José Vicente Rodríguez (contextualización bioantropológica y arqueológica): diseño y supervisión del estudio, análisis de datos, discusión, elaboración del manuscrito. Todos los autores leyeron y aprobaron el manuscrito.

RESUMEN

Introducción. El ADN antiguo que se extrae de los restos óseos humanos permite analizar la composición genética de las poblaciones precolombinas y determinar las dinámicas que dieron origen a la diversidad de las poblaciones contemporáneas.

Objetivo. Determinar la diversidad genética y relación con otras comunidades contemporáneas y antiguas de América de los restos óseos asociados al Templo del Sol.

Materiales y métodos. Se analizaron 13 individuos precolombinos pertenecientes al periodo precolombino Muisca (siglos IX-XVI d. C.), provenientes de los alrededores del Templo del Sol (Sogamoso-Boyacá), en los Andes Orientales colombianos. Se amplificó el ADNmt y se realizaron RFLPs para los 4 haplogrupos amerindios tradicionales (A, B, C y D). Además, se amplificaron y analizaron marcadores autosómicos (incluyendo la amelogenina) y STRs del cromosoma-Y.

Resultados. El haplogrupo A fue el linaje mitocondrial más frecuente en esta población, seguido de los haplogrupos B y C; no se detectó el haplogrupo D. Los análisis de variación genética indican una diversidad semejante a poblaciones pertenecientes a la familia lingüística Chibcha contemporánea de Colombia y de

Centroamérica. Se logró realizar la determinación molecular del sexo en los individuos estudiados, y compararlo con el de los datos osteológicos. Con una sola excepción, los datos bioantropológicos y moleculares fueron consistentes.

Conclusiones. Nuestros resultados aportan nuevos elementos a las hipótesis del origen centroamericano de los grupos de lengua Chibcha del altiplano Cundiboyacense con base en marcadores genéticos, y permiten establecer el sexo y relaciones de parentesco.

Palabras clave: ADN antiguo (ADNa), Colombia, Andes, ADN mitocondrial (ADNmt), amerindios, STR, amelogenina, Cromosoma-Y.

ABSTRACT

Introduction: DNA extracted from ancient human bones allows to analyze the genetic makeup of Pre-Columbian populations and to determine dynamics that gave rise to the diversity of contemporary populations.

Objective: To determine the genetic diversity of skeletal remains associated with the Sun Temple and their relationship with other contemporary and ancient communities of America.

Materials and methods: We analyzed 13 individuals belonging to the pre-Columbian Muisca Period (IX-XVI centuries b. C.) from the vicinities of the Sun Temple (Sogamoso -Boyacá) in the eastern Colombian Andes. Mitochondrial DNA was amplified and RFLPs were performed in order to type the 4 traditional Amerindian haplogroups (A, B, C and D). In addition, autosomal markers including amelogenin and Y-Chromosome STRs were amplified.

Results: Among the observed mitochondrial lineages, haplogroup A was the most frequent, followed by haplogroups B and C; no evidence of haplogroup D was found. Genetic variation analysis indicates a similar diversity in pre-Columbian Muisca as that of contemporary populations belonging to the Chibcha linguistic family from Colombia and Central America. Molecular sexing was accomplished

and it was compared to osteological data. With only one exception, anthropological and molecular data were consistent.

Conclusions: Our results contributes new genetic elements supporting the hypothesis of Central American origin of the Chibcha groups of the Cundiboyacense plateau, allow sex typing and kinship evaluations.

Keywords: ancient DNA (aDNA), Colombia, Andes, mitochondrial DNA (mtDNA), Amerindians, STR, amelogenin, Y-Chromosome.

INTRODUCCION

La dinámica del poblamiento americano ha sido de gran interés para los investigadores, con el fin de definir las rutas de entrada al continente. La mayoría de los estudios genéticos se han basado principalmente en marcadores uniparentales como el ADN mitocondrial (ADNmt) (1–3). Los genes mitocondriales tienen una herencia exclusivamente materna, y se asume una recombinación nula además de ser altamente polimórficos, presentando una tasa de mutación más alta en comparación con el ADN nuclear, lo cual permite una mayor resolución en **escalas amplias de tiempo** (4,5). Estas características permiten evaluar la relación genética entre individuos y poblaciones diferentes.

En las poblaciones nativas americanas se ha descrito la presencia de cinco haplogrupos mitocondriales principales: A, B, C, D y X, este último circunscrito únicamente a Norteamérica. Estos linajes se definen por una o más sustituciones exclusivas que los distinguen de otros haplogrupos en el mundo (6). Asimismo, los marcadores mitocondriales han permitido hacer inferencias sobre el origen y tiempo de divergencia de la población ancestral, pudiendo definirse adicionalmente la presentación de eventos particulares tales como cuellos de botella, efectos fundadores o deriva génica (7,8).

En estudios previos, los haplogrupos de ADNmt se caracterizaron con el recurso de las enzimas de restricción, así: el haplogrupo A presenta la particularidad de un sitio de restricción de la enzima *HaeIII* en la posición 663, el haplogrupo B la delección de 9 pb en COII/tARN^Iys, el haplogrupo C la pérdida del sitio de *HincII* en

la posición 13259 pb, y el haplogrupo D es caracterizado por la pérdida del sitio de restricción *AluI* en la posición 5176 (9–12).

En su mayoría, los estudios poblacionales en América han sido realizados en comunidades contemporáneas. Sin embargo, los estudios en poblaciones precolombinas se han incrementado a lo largo del continente permitiendo conocer los diferentes procesos microevolutivos locales y regionales con base en métodos paleogenéticos (2,13,14).

A pesar de que Colombia presenta una gran diversidad de evidencias arqueológicas, los estudios acerca de la diversidad genética de las comunidades prehispánicas son muy escasos. Una de las zonas que ha permitido evidenciar los primeros asentamientos humanos en Colombia corresponde a los Andes Orientales, y específicamente el altiplano Cundiboyacense, donde se han planteado diferentes hipótesis de poblamiento. Varios investigadores concuerdan en que los diferentes periodos en que las poblaciones humanas ocuparon esta cordillera en tiempos precolombinos son tres: Precerámico (hasta el II milenio a. C.); Formativo o Herrera (I milenio a. C. a siglo VIII d. C.); Muisca o pertenecientes a la familia lingüística Chibcha (siglos IX-XVI d. C.). Estos períodos de poblamiento, según algunos autores, tuvieron diferentes orígenes producto de varias oleadas migratorias y de procesos estocásticos y adaptativos, desplazando o absorbiendo a los grupos antecesores (15,16). Por el contrario, estudios bioantropológicos han sugerido que la población de esta región se remonta al periodo Precerámico y que posiblemente hubo continuidad de linajes a partir de esta hasta el periodo Muisca, mostrando que no se presentaron procesos migratorios masivos tardíos de pueblos foráneos, sino procesos de tipo microevolutivo (17).

En el Museo Arqueológico de Sogamoso se encuentra una de las más grandes colecciones de restos óseos precolombinos proveniente de varios sitios de Boyacá excavados en el transcurso de 50 años de investigaciones en la región por el profesor Eliécer Silva Celis. En esta colección se encontraron individuos provenientes del municipio de Floresta con características morfológicas de paleoamericanos (dolicocefalos), y con procesos de mineralización, evidenciando

una gran antigüedad, datados en 7950 ± 40 a. P., calibrada de 7040 a 6680 a. C. (Beta-299693) (17).

En los restos provenientes del Templo del Sol de Sogamoso se han obtenido dos dataciones: la primera de 310 años d. C., proveniente de maíz carbonizado asociado a los enterramientos, y la segunda de hueso humano datado en 190 ± 40 (calibrada 155 a 390) años d. C. (Beta-129230), es decir 1826 ± 40 a. P., lo cual sugiere que el poblamiento de la zona en la que se halló esta estructura ritual presenta actividad humana por lo menos desde el periodo Formativo (18).

En la última década, se han empleado herramientas genéticas que permiten inferir los procesos evolutivos en el tiempo real en el que sucedieron, tales como los estudios en ADN antiguo (ADNa). En Colombia, se han realizado varios estudios en ADN mitocondrial (mtDNA) en restos precolombinos de varios grupos étnicos de periodos arqueológicos diferentes (Precerámico; Formativo o Herrera; Muisca o Chibcha), y principalmente los correspondientes al periodo Chibcha (Guane, Muisca, Lache, Chitarero). Al comparar los datos genéticos entre los tres periodos arqueológicos se ha puesto en evidencia una continuidad genética en estas poblaciones de la cordillera Oriental (19–22).

El propósito del presente estudio es el de analizar genéticamente muestras provenientes de los alrededores del Templo del Sol, el cual hacía parte de uno de los principales centro religiosos muiscas pertenecientes a la confederación del Sugamuxi. (Figura 1) (16,17).

En este estudio, se analizaron 13 muestras de restos óseos antiguos encontrados en los alrededores del Templo del Sol, en Sogamoso (Boyacá, Colombia), con el fin de determinar su diversidad genética y relación con otras comunidades colombianas, así como su posible origen poblacional.



Figura 1. Mapa de Colombia mostrando la localización del territorio ocupado por la comunidad muisca en el tiempo de la conquista española.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras

La colección del profesor Eliécer Silva del Museo Arqueológico de Sogamoso (MAS) incluye una amplia muestra ósea proveniente de varias regiones de Boyacá. A pesar de no contar con un contexto funerario sistemático de estos restos, estudios previos han reportado análisis bioantropológicos de esta colección con el fin de definir su variabilidad biológica y prácticas funerarias asociadas (18). En estos se pudo determinar el sexo y la edad de cada individuo, empleando los estándares internacionales (18).

De esta colección se seleccionaron 13 individuos adultos, de los cuales se obtuvieron muestras de dientes y huesos largos. Los individuos fueron clasificados según el periodo arqueológico al que pertenecían (Cuadro 1); estos individuos fueron excavados en la vereda de Monquirá en los alrededores del Templo del Sol y corresponden al periodo arqueológico Muisca, con base en el material cerámico asociado característico de este periodo.

Individuo	Cementerio Arqueológico	Edad Antropológica	Sexo antropológico	Biotipo	Cronología
SM27	MAS*	Adulto (40-50 años)	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d. C
SM30	MAS*	Adulto (40-50 años)	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d. C
SM31	MAS*	Adulto (40-50 años)	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d. C
SM39	MAS*	Adulto (30-40 años)	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d. C
SM43	MAS*	Desconocido	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d. C
SM44	MAS*	Adulto (40-50 años)	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d. C
SM47	MAS*	Adulto (40-50 años)	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d. C
SM50	MAS*	Adulto (40-50 años)	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d. C
SM61	MAS*	Desconocido	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d. C
SM67	MAS*	Adulto (30-40 años)	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d. C
SM68	MAS*	Adulto (50-60 años)	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d. C
SM104	MAS*	Desconocido	Masculino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d. C
SM109	MAS*	Adulto (40-50 años)	Masculino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d. C

Cuadro 1. Descripción de los individuos analizados

* MAS: Museo Arqueológico de Sogamoso - Templo del Sol .

Precauciones para evitar contaminación

Para asegurar la fidelidad de los resultados, se optaron criterios recomendados para los análisis en ADN antiguo (ADNa) por Cooper y Poinar (2000) y Gilbert et al. (2005) (23,24), para evitar la contaminación. La extracción y amplificación de los huesos fueron realizadas en un laboratorio exclusivo para el análisis de ADNa

en el Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, donde se dispone de áreas separadas para la extracción y amplificación del ADN. Antes de usar cada área se hacía una limpieza con hipoclorito de sodio al 5%, y se irradiaba con luz UV el cuarto de trabajo durante toda la noche y las cabinas de flujo se irradiaban por una hora antes de su uso. El material (pipetas, material de plástico, racks, guantes, batas, tapabocas gorros) se irradiaban con luz UV por 1 hora. El personal que realizaba el procedimiento de extracción empleaba traje especial tipo Tivek® desechable, con el fin de cubrir todas las partes del cuerpo y evitar la contaminación. Para identificar alguna contaminación con ADN moderno se realizaban controles negativos en cada proceso (extracción, amplificación). Adicionalmente, se realizaban múltiples extracciones y amplificaciones con el fin de confirmar cada resultado. Los investigadores involucrados en los procesos fueron tipificados.

Aislamiento y cuantificación de ADN

La descontaminación de las muestras esqueléticas se realizó removiendo completamente la capa externa del hueso usando un mototool DREMEL® sobre una superficie estéril (para las piezas dentales no es necesario realizar este primer proceso), posteriormente las muestras fueron lavadas con hipoclorito al 5% por 10 minutos, seguido de etanol al 70% por 5 minutos, y finalmente se expusieron a luz ultravioleta por cada uno de los lados durante 15 minutos. Posteriormente se procedió a obtener en promedio dos gramos de pulverizado de hueso o diente dependiendo el caso usando el molino MN400 de Restsh®.

Aproximadamente 1 gramo de pulverizado fue incubado a 56 °C durante 18 horas en una solución de 15 mL que contenga EDTA 0.5M, N-Lauryl-Sarcosyl al 1%, y proteinasa- K (20 mg/mL). Posteriormente se procedió a realizar la extracción del ADN empleando el estuche comercial Qiaquick PCR Purification® (Qiagen®) siguiendo las recomendaciones del fabricante y las modificaciones realizadas por la Comisión Internacional de Personas Desaparecidas (*International Commission on Missing Persons –ICMP–*) (25,26).

Este proceso se repitió dos veces para algunas de las muestras escogidas al azar en momentos separados para confirmar los resultados obtenidos. Los aislados de ADN obtenidos fueron cuantificados empleando el fluorómetro Qubit® 2.0 de Invitrogen®, siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Análisis de haplogrupos de ADNmt mediante PCR-RFLP.

Las muestras fueron amplificadas para cuatro fragmentos (Cuadro 2) de PCR de tamaños entre los 102 y 182 pares de bases (pb). El ADN fue amplificado mediante PCR utilizando master mix GoTaq Hot Start® ADN polimerasa (Qiagen®) 2X, 1X de *enhancer* (Epicentre®) y 100 µg de BSA (Roche®), 0,8 µM de cada cebador o *primer*. El programa de PCR utilizado considera: denaturación inicial, 94°C por 15 minutos, 50 ciclos de: denaturación, 94°C por 45 segundos; anillamiento, 45 segundos a una temperatura entre 55° y 58°C dependiendo de los *primers* utilizados (Cuadro 2) (11,12,27); elongación, 72° por 45 segundos ; y elongación final a 72°C por 3 minutos .

Los amplificados fueron analizados mediante la digestión por enzimas de restricción. Para definir el haplogrupo A se empleó las enzima de restricción *HaeIII*

que en la posición 663 tiene el sitio de restricción; el haplogrupo B presenta la delección de 9 pb en *COII/tARN*lys; el haplogrupo C la pérdida del sitio de *HincII* en la posición 13259 pb; el haplogrupo D es caracterizado por la pérdida del sitio de restricción *AluI* en la posición 5176 (9–12).

Los productos de las digestiones se analizaron en geles de agarosa al 2%. La delección de 9pb característica del haplogrupo B fue evidenciada en gel de poliacrilamida.

Marcador ó Región Blanco	SECUENCIA	T° DE ANILLAMIENTO	Ref.
mtDNA haplogrupo A (+ <i>HaeIII</i> 663)	606–626/ACACTGAAAATGTTTAGACGG 689–708/GGGGATGCTTGTCATGTGTAA	55°C	(11)
mtDNA haplogrupo B (Delección 9 pares de bases)	8.196-8.214/ACAGTTTCATGCCCATCGTC 8.316-8.297/ ATGCTAAGTTAGCTTTACAG	54°C	(27)
mtDNA haplogrupo C (+ <i>AluI</i> 13262)	13.237–13.256/ATCGTAGCCTTCTCCACTTC 13.397-13.419/TCCTCCTATTTTTCGAATATCTT	55°C	(12)
mtDNA haplogrupo D (– <i>AluI</i> 5176)	5.101-5.120/TAACTACTACCGCATTCTTA 5.149-5.129/ AAAGCCGGTTAGCGGGGGCA	55°C	(27)

Cuadro 2. Cebadores ó primers ADN mitocondrial

Amplificación del ADN para marcadores autosómicos y amelogenina

La amplificación se realizó empleando el kit comercial multiplex AmpFiSTR® SEfiler™ (Applied-Biosystems®) el cual cuenta con 11 marcadores STRs autosómicos (D2S1338, D3S1358, D8S1179, D16S539, D18S51, D19S433, D21S11, FGA, SE33, TH01, vWA) y el marcador sexual amelogenina. En un volumen final de 25 µL se mezclaron los siguientes componentes: mezcla de reacción para PCR (AmpFiSTR® SEfiler™ MIX: MgCl₂, dNTPs, albúmina de suero bovino en buffer con azida de sodio 0.05%) 10 µL; Set de primers (forward y

reverse) 5 µL; enzima ADN polimerasa (AmplitaqGold™ DNA Polimerase 5 U/ µL) 0.5 µL; ADN (1.0-2.5 ng/µL) 5 µL y 4.5 µL de agua destilada desionizada. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se llevó a cabo en un termociclador Thermal cycler® PCRSystem 2720 de Applied-Biosystems®, siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Análisis de filiación

Para establecer las relaciones de parentesco entre todos los individuos, se usaron los análisis estadísticos empleados por el software Familias v3.0 (28). Todos los cálculos fueron basados sobre las frecuencias alélicas de la población de los Andes colombianos (29).

Amplificación de ADN para marcadores del cromosoma-Y

El AmpFISTR® Yfiler® PCR Amplification kit (Applied Biosystems®) fue usado para amplificar 17 loci STR (DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS385ab, DYS437, DYS438, DYS439, DYS448, DYS456, DYS458, DYS635 y GATA H4). Las condiciones de amplificación fueron acordes con las instrucciones del fabricante.

Tipificación de los polimorfismos del ADN.

Se utilizó un Analizador Genético ABI PRISM® 310 (Applied-Biosystems®) para la tipificación molecular siguiendo las recomendaciones del fabricante. Empleando el software Genemapper® ID v3.2, el cual analiza el estándar de tamaño de control interno GeneScan-500 LIZ® en cada muestra y la escalera alélica para asegurar la

precisión en cada inyección del capilar. La asignación alélica se realizó por comparación de los fragmentos obtenidos en pares de bases para cada pico del alelo de las muestras analizadas con los picos de la escalera alélica provista por la casa comercial Applied Biosystems® para el kit AmpFiSTR® Sefiler y AmpFiSTR1 Y-filer™ kit (Applied Biosystems®, Foster City, CA).

Análisis de datos

Con el fin de elucidar la relación biológica entre los individuos precolombinos muiscas y 43 comunidades nativas americanas contemporáneas, y también comparar 4 poblaciones antiguas pre-Colombinas (Cuadro 3) (3,19–22,27,30–47) y se calculó la frecuencia de los haplogrupos por conteo directo. La diversidad genética fue calculada como $(n/(n-1))(1-\sum p_i^2)$, donde n es el tamaño de la muestra y p_i la frecuencia de haplogrupo estimada para cada haplogrupo i (48). Las distancias genéticas fueron estimadas con base en las frecuencias de cada haplogrupo del ADNmt calculando los F_{ST} empleando el software Arlequin® (49). Los datos de las frecuencias de los haplogrupos de ADNmt de otras poblaciones Americanas tanto contemporáneas y actuales fueron obtenidas de la literatura (3,19, 20, 22,27,30–47) (Cuadro 3). Se compararon las poblaciones por medio de análisis de correspondencias múltiples y escalamiento multidimensional basado en los datos de F_{ST} empleando el software MVSP® v3.1 (50).

RESULTADOS

ADN mitocondrial

Las 13 muestras pertenecientes al periodo Muisca, presentaron los siguientes haplogrupos: nueve (9) individuos presentaron el sitio de restricción +*Hae*III 643 y fueron clasificados en el haplogrupo A, tres (3) presentaron la delección de 9pb en COII/tARN^{lys} característica del haplogrupo B y en una (1) muestra se evidenció el sitio de restricción +*A*/ul 13262 correspondiente al haplogrupo C (34). Se encontró una alta frecuencia del haplogrupo A (69%), seguida por la del haplogrupo B (23%), una baja frecuencia del haplogrupo C (8%) y ausencia del haplogrupo D.

Los índices de diversidad genética (Cuadro 3), revelan que la diversidad del grupo de individuos muiscas es mayor a la encontrada en 12 poblaciones de un total de 41 grupos analizados que poseían un *n* de más de 10 individuos. De éstas, solo tres comunidades corresponden a reportes de grupos precolombinos con diversidades entre 0,5 y 0,69 (muisca 0,5, agroalfarero 0,64 y guane 0,69).

Al construir un dendrograma UPGMA basado en las frecuencias de los haplogrupos de las diferentes poblaciones amerindias de Centro, Suramérica y Colombia (Figura 2), y proceder al análisis con el total de poblaciones incluyendo Centro y Suramérica, poblaciones colombianas contemporáneas y antiguas, se observó que los individuos muiscas estudiados (Muis) se encuentran en un mismo agrupamiento con las poblaciones Ngöbe y Kuna de Centroamérica (Figura 2). Al realizar este mismo análisis solo con las poblaciones colombianas se observa un agrupamiento con las poblaciones Ingano (región Amazónica), Agroalfarero

(población precolombina de los Andes orientales) y Tule-Cuna (istmo de Panamá) (Figura 3).

Adicionalmente, se construyó una matriz de distancias a partir de datos de F_{ST} y se realizó un análisis de componentes principales (PCA), en el cual se observaron grupos conformados por los individuos del estudio (Muis), con poblaciones Arhuaco (Arh), Agroalfarero (Agro), Embera-Antioquia (Ant) (Figura 4). Otros grupos que se hallaron fuertemente relacionados, tanto genéticamente como geográficamente, son los de la Sierra Nevada de Santa Marta (Ijka, Kogui, Arsario).

Población ^a	n	A	B	C	D	Otro	<i>h</i>	Ranking <i>h</i>	Referencia
Chibcha ^{COL}	15	0,40	0,13	0,27	0,13	0,07	0.78095	1	(41)
Cubeo ^{COL}	24	0,33	0,08	0,29	0,25	0,04	0.76449	2	(41)
Paez2 ^{COL}	36	0,28	0,08	0,28	0,33	0,03	0.74762	3	(41)
Mapuche ^{SA}	39	0,15	0,38	0,21	0,26	0,00	0.73954	4	(43)
Desano ^{COL}	20	0,15	0,15	0,45	0,25	0,00	0.72632	5	(41)
Curripaco ^{COL}	22	0,05	0,41	0,36	0,14	0,05	0.70996	6	(41)
Wayuu ^{COL}	30	0,27	0,27	0,43	0,00	0,03	0.69195	7	(31,38,40)
Guane ^{COL-ANT}	17	0,35	0,41	0,00	0,24	0,00	0.69118	8	(40)
Waunana ^{COL}	40	0,05	0,47	0,28	0,18	0,03	0.68205	9	(27)
Ingano ^{COL}	48	0,40	0,35	0,23	0,02	0,00	0.67908	10	(41)
Yungay ^{SA}	20	0,05	0,50	0,25	0,20	0,00	0.67895	11	(39)
Tule-Cuna ^{COL}	30	0,50	0,27	0,20	0,00	0,03	0.65977	12	(27,33)
Tucano ^{COL}	14	0,07	0,21	0,07	0,57	0,07	0.65934	13	(41)
Embera ^{COL}	21	0,10	0,52	0,29	0,10	0,00	0.65714	14	(41)
Antioquia ^{COL}	38	0,47	0,26	0,00	0,26	0,00	0.65434	15	(3)
Maya ^{CA}	27	0,53	0,23	0,16	0,08	0,00	0.65231	16	(33)
Embera ^{COL}	21	0,34	0,49	0,07	0,10	0,00	0.64737	17	(27)
Tatuyo ^{COL}	10	0,40	0,00	0,50	0,10	0,00	0.64444	18	(41)
Zenu ^{COL}	34	0,15	0,32	0,50	0,03	0,00	0.64171	19	(27)
Agroalfarero ^{COL-ANT}	24	0,54	0,25	0,17	0,04	0,00	0.64130	20	(19,20,22)

Puinave ^{COL}	61	0,08	0,51	0,33	0,07	0,02	0.63333	21	(41)
Quechua ^{SA}	23	0,09	0,57	0,30	0,04	0,00	0.60474	22	(44)
Yanomami ^{SA}	53	0,00	0,09	0,58	0,28	0,05	0.59259	23	(34)
Zoro ^{SA}	29	0,21	0,00	0,14	0,62	0,03	0.57143	24	(45)
Ciboney ^{CA}	15	0,07	0,00	0,60	0,33	0,00	0.56190	25	(36)
Cauca ^{COL}	60	0,19	0,08	0,63	0,08	0,02	0.56045	26	(3)
Paez1 ^{COL}	31	0,58	0,06	0,36	0,00	0,00	0.55054	27	(27)
Guane-Butar ^{COL}	33	0,12	0,64	0,00	0,24	0,00	0.53788	28	(27,30)
Muisca^{COL-ANT}	13	0,69	0,23	0,08	0,00	0,00	0.50000	29	PS
Boruca ^{CA}	14	0,21	0,72	0,00	0,07	0,00	0.47253	30	(34)
Huetar ^{CA}	27	0,70	0,04	0,00	0,26	0,00	0.45299	31	(46)
Ngöbe ^{CA}	46	0,67	0,33	0,00	0,00	0,00	0.44928	32	(35)
Guambiano ^{COL}	80	0,06	0,07	0,74	0,13	0,00	0.43639	33	(3,27,41)
Arsario ^{COL}	28	0,71	0,00	0,29	0,00	0,00	0.42328	34	(38)
Kuna ^{COL}	63	0,71	0,29	0,00	0,00	0,00	0.41475	35	(47)
Tainos ^{CA}	19	0,00	0,00	0,79	0,21	0,00	0.35088	36	(36)
Kogui ^{COL}	21	0,81	0,00	0,19	0,00	0,00	0.32381	37	(32,38)
Xavante ^{SA}	24	0,17	0,83	0,00	0,00	0,00	0.28986	38	(45)
Arhuaco ^{COL}	21	0,90	0,05	0,05	0,00	0,00	0.18571	39	(41)
Ijka ^{COL}	31	0,90	0,04	0,06	0,00	0,00	0.18495	40	(38)
Chimila ^{COL}	56	0,90	0,02	0,02	0,04	0,02	0.17441	41	(27,41)

Cuadro 3. Distribución de frecuencias de los haplogrupos de ADN mitocondrial en América ordenadas de mayor a menor diversidad poblacional

^{a1} Ubicación geográfica: (COL) Colombia, (COL-ANT) Colombia- Antiguas, (CA) Centro América, (SA) Sur América).

PS: Presente estudio.

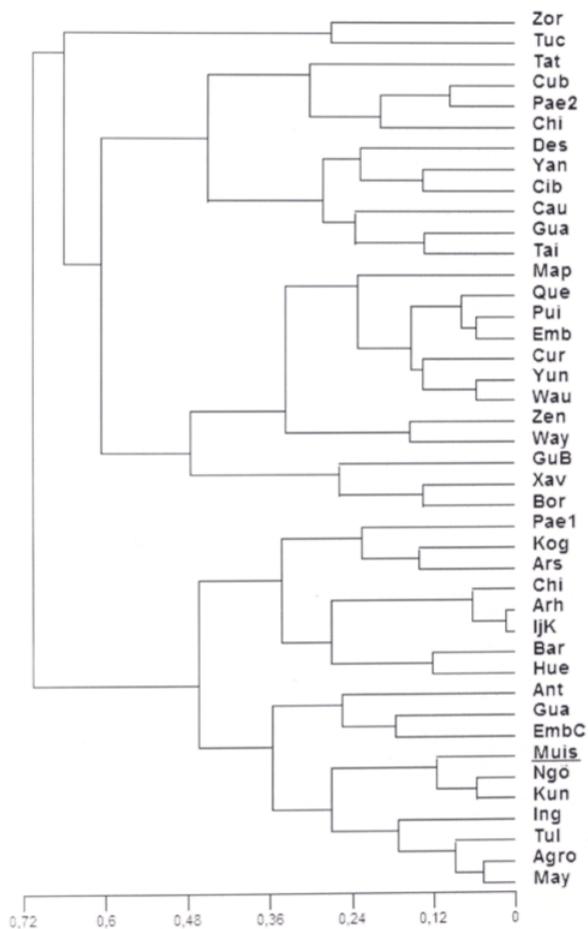


FIGURA 2. Dendrograma UPGMA basado en las frecuencias de haplogrupo de las diferentes poblaciones amerindias de Centro, Suramérica y Colombia. Los nombres claves de las abreviaciones están indicados en paréntesis: Chib (Chibcha), Cub (Cubeo), Pae2 (Paez2), Map (Mapuche), Des (Desano), Cur (Curripaco), Way (Wayuu), Gua (Guane), Wau (Waunana), Ing (Ingano), Yun (Yungay), Tul (Tule-Cuna), Tuc (Tucano), Emb (Embera), Ant (Antioquia), May (Maya), Emb (Embera), Tat (Tatuyo), Zen (Zenu), Agro (Agroalfarero), Pui (Puinave), Que (Quecua), Yan (Yanomami), Zor (Zoro), Cib (Ciboney), Cau (Cauca), Pae1 (Paez 1), GuB (Guane-Butar), Muis (Muisca), Bor (Boruca), Hue (Huetar), Ngö (Ngöbe), Gua (Guambiano), Ars (Arsario), Kun (Kuna), Tai (Tainos), Kog (Kogui), Xav (Xavante), Arh (Arhuaco), Ijk (Ijka), Chi (Chimila).

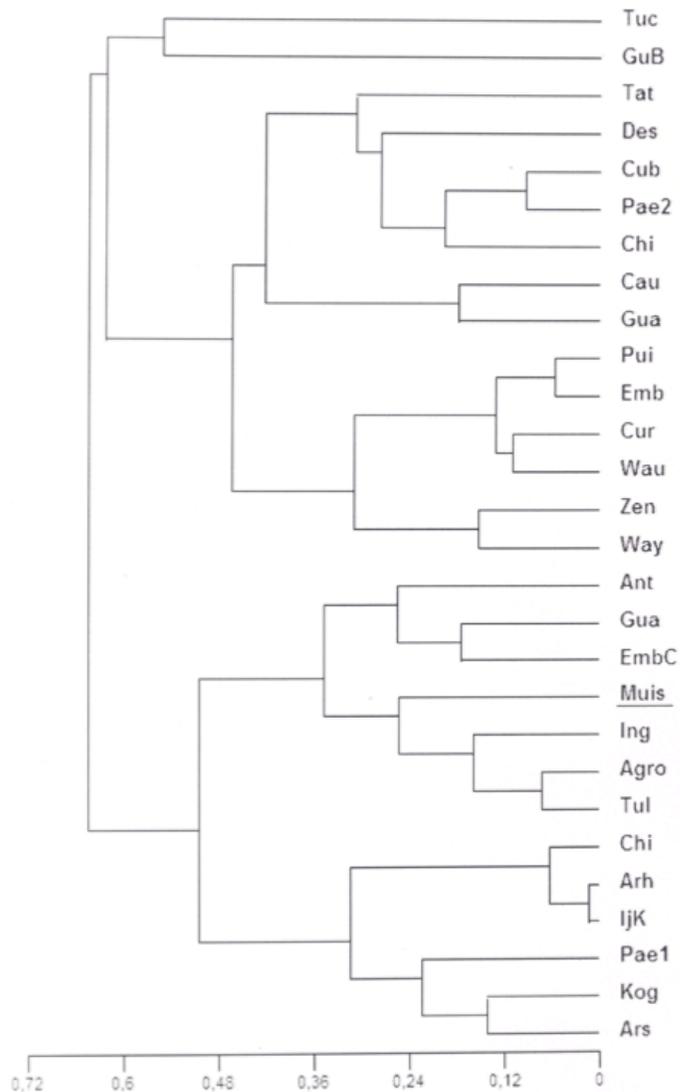


FIGURA 3. Dendrograma UPGMA basado en las frecuencias de haplogrupo de las diferentes poblaciones amerindias de Colombia. Los nombres claves de las abreviaciones están indicados en paréntesis: Chib (Chibcha), Cub (Cubeo), Pae2 (Paez2), Des (Desano), Cur (Curripaco), Way (Wayuu), Gua (Guane), Wau (Waunana), Ing (Ingano), Yun (Yungay), Tul (Tule-Cuna), Tuc (Tucano), Emb (Embera), Ant (Antioquia), Tat (Tatuyo), Zen (Zenu), Agro (Agroalfarero), Pui (Puinave), Cau (Cauca), Pae1 (Paez 1), GuB (Guane-Butar), Muis (Muisca), Gua (Guambiano), Ars (Arsario), Kog (Kogui), Xav (Xavante), Arh (Arhuaco), Ijk (Ijka), Chi (Chimila).

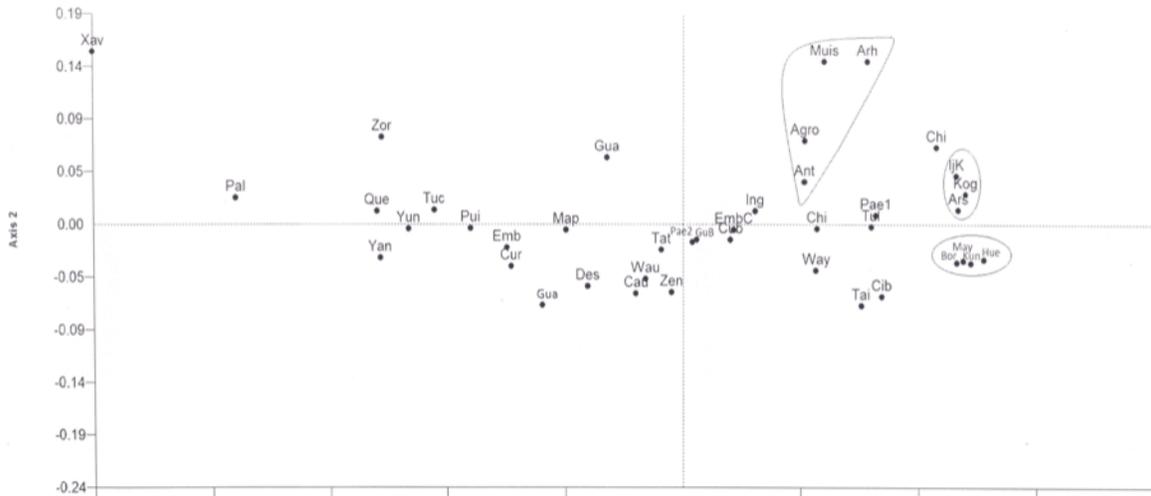


Figura 4. Análisis de componentes principales PCA basado en datos de F_{ST} de poblaciones de Colombia, Centro y Sur América para haplogrupos de ADNmt. Los nombres claves de las abreviaciones están indicados en paréntesis: Chib (Chibcha), Cub (Cubeo), Pae2 (Paez2), Map (Mapuche), Des (Desano), Cur (Curripaco), Way (Wayuu), Gua (Guane), Wau (Waunana), Ing (Ingano), Yun (Yungay), Tul (Tule-Cuna), Tuc (Tucano), Emb (Embera), Ant (Antioquia), May (Maya), Emb (Embera), Tat (Tatuyo), Zen (Zenu), Agro (Agroalfarero), Pui (Puinave), Que (Quecua), Yan (Yanomami), Zor (Zoro), Cib (Ciboney), Cau (Cauca), Pae1 (Paez 1), GuB (Guane-Butar), Muis (Muisca), Bor (Boruca), Hue (Huetar), Ngö (Ngöbe), Gua (Guambiano), Ars (Arsario), Kun (Kuna), Tai (Tainos), Kog (Kogui), Xav (Xavante), Arh (Arhuaco), Ijk (Ijka), Chi (Chimila).

Marcadores autosómicos y amelogenina

Para las 13 muestras de huesos analizadas, se realizó la tipificación de los marcadores autosómicos con el kit comercial multiplex AmpFiSTR® SEfiler™ (Applied-Biosystems®). Se pudo obtener perfil completo de dos muestras y 7 perfiles parciales; en las 6 restantes no se obtuvo amplificación debido al estado de degradación del ADN, lo cual es característico de las muestras antiguas (Cuadro 4). El análisis estadístico para establecer relación de parentesco entre los individuos analizados reveló que no están estrechamente

emparentados. En efecto, al hacer la comparación entre las muestras, no se observaron perfiles genéticos relacionados, es decir con algún grado de parentesco, ya que se observaban exclusiones en algunos sistemas y al realizar los análisis de *likelihood ratio* (LR) asumiendo las hipótesis de la probabilidad de filiación padre-hijo, madre hijo y hermanos no se obtuvieron datos significativos.

La determinación del sexo con el marcador de la amelogenina fue utilizada para comparar la evidencia genética molecular con los datos arqueológicos según sus características morfológicas (Cuadro 5). Los datos genéticos y antropológicos fueron concordantes, excepto en la muestra SM 68, que había sido identificada antropológicamente como “adulto femenino”, aunque fue tipificada genéticamente en el presente trabajo como perteneciente al género masculino, es decir XY (Cuadro 5).

Individuo	SM27	SM31	SM39	SM43	SM44	SM47	SM68	SM104	SM109
D3S1358	16/18	14/15	15/18	15/16	16	16	15	15	15/16
VWA	14/16	16/17	- ^a	- ^a	16/19	15	16	- ^a	16
D16S539	10/12	12	- ^a	5	11/12	- ^a	- ^a	- ^a	11/12
D2S1338	17	22/23	- ^a	- ^a	22	- ^a	- ^a	- ^a	18
Amelogenina	X	X	X	X	X	X	X/Y	X/Y	X/Y
D8S1179	14	12/13	13	- ^a	11/14	13	13/14	12/13	13
SE33	19/28.2	19/29.2	- ^a	14/17					
D19S433	13/15	13.2/14	- ^a	- ^a	13/15	14/14.2	13.2/14	14/15	13/15
TH01	7/9	7	- ^a	- ^a	6/7	7/9	7	- ^a	6/7
FGA	22/27	19/25	- ^a	- ^a	24/26	- ^a	- ^a	- ^a	23/24
D21S11	31/31.2	30.2/32.2	- ^a	- ^a	28/33.2	30	30	- ^a	28/32.2
D18S51	- ^a	13/14	- ^a	14/16					

Cuadro 4. Resultados y perfiles de amplificación STRs autosómicos empleando el kit AmpFiSTR® SEfiler™

^a Indica la ausencia de resultado.

Individuo	Edad Antropológica	Sexo molecular	Sexo Antropológico
SM27	Adulto (40-50 años)	Femenino	Femenino
SM30	Adulto (40-50 años)	Femenino	Femenino
SM31	Adulto (40-50 años)	Femenino	Femenino
SM39	Adulto (30-40 años)	Femenino	Femenino
SM43	Desconocido	Femenino	Femenino
SM44	Adulto (40-50 años)	Femenino	Femenino
SM47	Adulto (40-50 años)	Femenino	Femenino
SM68	Adulto (50-60 años)	Masculino	Femenino

Cuadro 5. Comparación de los resultados del sexo molecular con respecto al sexo antropológico.

Cromosoma-Y

En las 4 muestras que por amelogenina fueron asignadas al sexo masculino, se procedió a realizar amplificación de marcadores del cromosoma-Y, obteniendo amplificaron solo en 2 muestras, con perfiles parciales. Al realizar las comparaciones entre los perfiles se observaron seis no concordancias. En consecuencia, se trata de individuos no relacionados directamente en sus linajes paternos (Cuadro 6).

Individuo	SM68	SM109
DYS456	14	16
DYS3891	13	14
DYS390	24	24
DYS389II	_a	_a
DYS458	15	16
DYS19	_a	_a
DYS385	_a	_a
DYS393	15	13
DYS391	10	6
DYS439	_a	_a
DYS635	22	22
DYS392	_a	_a
GATA H4	11	12

DYS437	14	14
DYS438	- ^a	- ^a
DYS448	- ^a	19

Cuadro 6. Resultados y perfiles de amplificación STRs Cromosoma-Y empleando el kit AmpFISTR® Yfiler®

^a Indica la ausencia de resultado.

DISCUSIÓN

ADN Mitocondrial

Este estudio está enfocado en los análisis genéticos del ADNmt de restos óseos antiguos provenientes de los Andes orientales colombianos, específicamente en el departamento de Boyacá, municipio de Sogamoso, donde se encuentra uno de los grandes cementerios muisca en alrededores del Templo del Sol, considerado hasta la fecha como su principal centro religioso. Según dos dataciones obtenidas por radiocarbono, la ocupación de este territorio se habría iniciado durante el periodo Herrera o Formativo. Desafortunadamente, no existe una información más detallada de las excavaciones de la década de 1940 que permita diferenciar las ocupaciones de los periodos Formativo y Muisca (17,51, 52).

Los resultados de este estudio representan información adicional de los haplogrupos de ADNmt de estos individuos precolombinos que complementan estudios previos (19–22,40). El haplogrupo A presenta mayores frecuencias, entre el 40-90%, en Norte y Centroamérica; así mismo, en Colombia se observa un gradiente en las frecuencias de este haplogrupo en el cual se observan altas frecuencias en poblaciones del Norte como en la Sierra Nevada de Santa Marta (70-90%), y en sur del país se presentan bajas frecuencias (7-10%). De las 13

muestras analizadas y clasificadas en el periodo Muisca, encontramos una alta frecuencia del haplogrupo A (69%), seguida por el haplogrupo B (23%), con una baja frecuencia del haplogrupo C (8%) y ausencia del haplogrupo D. El patrón de distribución de frecuencias de la población precolombina Muisca de Sogamoso es muy similar al patrón encontrado en otros estudios en comunidades precolombinas pertenecientes al periodo Muisca, donde se reporta una alta frecuencia de haplogrupo A, seguido de B y baja frecuencia de C y D (54%, 25%, 17% y 4%, respectivamente). Otra población contemporánea similar es la Tule-Cuna del occidente del país, con ausencia del haplogrupo D (Cuadro 3).

Por otro lado, otros investigadores han sugerido que las poblaciones de lengua Chibcha presentan altas frecuencias de haplogrupo A, lo cual puede ser resultado de un flujo génico reciente; de acuerdo con varios trabajos preliminares, la presencia de los haplogrupos B y C podría representar una oleada migratoria anterior (21,40,53).

En estudios previos se ha observado que en poblaciones contemporáneas colombianas muestran alta frecuencia de los haplogrupos A y C con baja frecuencias del haplogrupo D, sobre todo en poblaciones del norte de Colombia (27,38,41,42).

Cuando realizamos los análisis de componentes principales a partir de datos de F_{ST} , observamos que en un mismo conjunto aparecen agrupadas las poblaciones Arhuaco, Agroalfarero, Antioquia (Embera); estas comunidades pertenecen al grupo lingüístico Chibcha, apoyando hipótesis sobre del posible origen ancestral común de la población Muisca, ya que se considera que esta comunidad prehispánica también habría pertenecido a este grupo lingüístico (17). Esta coincidencia es interesante por

cuanto también se ha reportado en otros estudios en comunidades contemporáneas de la familia lingüística Chibcha (38,41). Por otro lado, la población denominada Agroalfarero corresponde a un grupo de muestras precolombinas provenientes de diferentes zonas de los Andes Orientales colombianos y que fueron clasificadas en el último periodo precolombino correspondiente a los siglos IX-XVI d. C., y se caracterizaron por cacicazgos y una cultura agrícola (17). Las similitudes encontradas son en todo caso importantes, ya que se observa un patrón similar entre individuos pertenecientes al mismo periodo demostrando que el haplogrupo A es el más frecuente seguido por el haplogrupo B en las poblaciones precolombinas.

En los dendrogramas correspondientes se pudo poner en evidencia que el patrón de distribución de haplogrupos también presenta similitud con poblaciones de Centroamérica (Ngöbe y Kuna), corroborando el posible tronco común ancestral de las comunidades contemporáneas centroamericanas y las comunidades precolombinas de Colombia, tal y como ha sido observado en otros estudios de poblaciones indígenas de Panamá (53) y la costa Norte de Colombia (46). Estos datos concordarían con los datos arqueológicos con base en los cuales se han planteado las sucesivas rutas del poblamiento colombiano:

1. Los primeros pobladores, que consistían en bandas trashumantes de cazadores recolectores, habrían atravesado el istmo de Panamá por la serranía del Darién a finales del Pleistoceno cuando no existía el bosque tropical, sino llanuras.
2. Desde allí se habrían desplazado al interior del país por el Occidente (costa Pacífica, cordilleras Occidental, Central y valle del río Cauca), centro (valle del río Magdalena, cordillera Oriental) y Oriente (Llanos Orientales).

3. La región central de los Andes Orientales pudo haber sido ocupada por dos rutas: a- por el Norte (valle de los ríos Magdalena-Sogamoso y Opón), extendiéndose por los Santanderes y Boyacá, y b- por el valle del río Bogotá, al sur, dispersándose por la región del altiplano Cundiboyacense (54).

Marcadores autosómicos, amelogenina y cromosoma-Y

Nuestro objetivo inicial al emplear el kit comercial multiplex AmpFiSTR® SEfiler™ (Applied-Biosystems), era principalmente amplificar la amelogenina para determinar el sexo de los individuos. Al obtener los resultados de las muestras logramos perfiles completos y perfiles parciales para los otros marcadores autosómicos. Adicionalmente, al realizar análisis de parentesco entre las muestras obtenidas calculando el LR, y no se obtuvo ninguna relación familiar. Lo mismo ocurrió cuando analizamos los marcadores del cromosoma-Y, donde se obtuvieron dos perfiles parciales sin ninguna relación entre ellos. Estos hallazgos son importantes a nivel arqueológico, ya que estas metodologías pueden ser usadas y mejoradas como son los métodos de extracción y emplear estuches comerciales para marcadores autosómicos con fragmentos más cortos de amplificación con el fin de lograr perfiles completos en estas muestras antiguas y de esta manera se podrían dilucidar relaciones familiares, complementando las hipótesis arqueológicas basadas en contextos funerarios con posibles hipótesis de parentesco, tal y como ha ocurrido en otros estudios previos (55-57).

Con respecto a la amelogenina, los datos antropológicos y moleculares fueron consistentes con una sola excepción. El individuo SM68 fue clasificado

antropológicamente como femenino, pero mostró amplificación para el cromosoma-Y, lo cual permite reclasificarlo como del género masculino. Así, estos resultados permiten contrastar y corregir la asignación del sexo basada exclusivamente en datos antropológicos. Al comparar los datos moleculares y antropológicos se han observado ya inconsistencias en otros estudios con poblaciones antiguas (55, 58).

Nuestros datos resaltan la importancia de la contribución del ADN antiguo en los estudios arqueológicos, mostrando una primera aproximación de la distribución de los haplogrupos mitocondriales encontrados en la población muisca del Templo del Sol. De acuerdo a estos resultados, encontramos que posiblemente estos pobladores precolombinos de los Andes Orientales provenían de Centroamérica después de atravesar el Istmo de Panamá y se establecen en el altiplano Cundiboyacense, compartiendo ancestros comunes con las poblaciones pertenecientes a la familia lingüística Chibcha.

Los resultados también indican la utilidad de la determinación del sexo molecular para aquellos casos donde las evidencias antropológicas no sean posibles, como es el caso de restos óseos infantiles. Adicionalmente, los perfiles de marcadores autosómicos pueden dar luz a las hipótesis de los arqueólogos, principalmente, en el caso de hipótesis de parentesco.

Por último, estas hipótesis deben ser confirmadas por medio de marcadores moleculares que abarquen regiones más informativas en el ADNmt y se puedan establecer los subhaplogrupos de esta población. Adicionalmente, es necesario ampliar el tamaño de la muestra e incorporar otros marcadores nucleares.

Con esta nueva información se podrán corroborar las hipótesis formuladas en el presente artículo y profundizar acerca de las rutas migratorias y las relaciones entre los grupos precolombinos que habitaron esta región.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan un agradecimiento especial al Museo Arqueológico de Sogamoso de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC) por facilitar el acceso a las muestras que hicieron posible este trabajo. También al ICANH, por autorizar el acceso a los restos óseos (No ICAHN-132) en el marco del proyecto financiado por Colciencias (ref 110156934771). Finalmente, la primera autora agradece a Colciencias la beca doctoral (Conv. 528) otorgada con este mismo propósito.

CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaramos que durante la realización de este estudio no incurrimos en conflicto de interés que pudiera afectar los resultados.

FINANCIACIÓN

Este trabajo fue financiado por Colciencias (ref 110156934771), la beca doctoral del primer autor (No Conv. 528), y recursos propios del Instituto de Genética Humana de la Facultad de Medicina en la Pontificia Universidad Javeriana, de la Facultad de Medicina en la Universidad de la Sabana, así como del Grupo de Genética de Poblaciones e Identificación del Instituto de Genética y del Laboratorio de Antropología Física de la Universidad Nacional de Colombia.

REFERENCIAS

1. **De Saint Pierre M, Gandini F, Perego U a, Bodner M, Gómez-Carballa A, Corach D, et al.** Arrival of Paleo-Indians to the southern cone of South America: new clues from mitogenomes. *PLoS One*. 2012;7: e51311. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0051311>
2. **Chatters JC, Kennett DJ, Asmerom Y, Kemp BM, Polyak V, Blank AN, et al.** Late Pleistocene human skeleton and mtDNA link Paleoamericans and modern Native Americans. *Science*. 2014;344: 750–4. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1252619>
3. **Xavier C, Builes JJ, Gomes V, Ospino JM, Aquino J, Parson W, et al.** Admixture and Genetic Diversity Distribution Patterns of Non-Recombining Lineages of Native American Ancestry in Colombian Populations. *PLoS One*. 2015;10: e0120155. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0120155>
4. **Pakendorf B, Stoneking M.** Mitochondrial DNA and human evolution. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2005;6: 165–83. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.genom.6.080604.162249>
5. **Chen XJ, Butow R a.** The organization and inheritance of the mitochondrial genome. *Nat Rev Genet*. 2005;6: 815–25. <http://dx.doi.org/10.1038/nrg1708>
6. **O'Rourke DH, Raff J a.** The human genetic history of the Americas: the final frontier. *Curr Biol*. Elsevier Ltd; 2010;20: R202–7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2009.11.051>
7. **Schurr TG, Sherry ST.** Mitochondrial DNA and Y chromosome diversity and the peopling of the Americas: evolutionary and demographic evidence. *Am J*

Hum Biol. 2004;16: 420–39. <http://dx.doi.org/10.1002/ajhb.20041>

8. **Achilli A, Perego U a, Lancioni H, Olivieri A, Gandini F, Hooshiar Kashani B, et al.** Reconciling migration models to the Americas with the variation of North American native mitogenomes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110: 14308–13. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1306290110>
9. **Torrioni A, Schurr G, Yang C, Williams RC, Schanfield MS, Troup GA, et al.** Native American Mitochondrial DNA Analysis Indicates That the Amerind and the Nadene Populations Were Founded by. *Public Health.* 1992;
10. **Torrioni A, Sukernik RI, Schurr TG, Starikorskaya YB, Cabell MF, Crawford MH, et al.** mtDNA variation of aboriginal Siberians reveals distinct genetic affinities with Native Americans. *Am J Hum Genet.* 1993;53: 591–608.
11. **Bolnick D a., Bonine HM, Mata-Míguez J, Kemp BM, Snow MH, Leblanc S a.** Nondestructive sampling of human skeletal remains yields ancient nuclear and mitochondrial DNA. *Am J Phys Anthropol.* 2012;147: 293–300. <http://dx.doi.org/10.1002/ajpa.21647>
12. **Parr R, Carlyle SW, O'Rourke DH.** Ancient DNA analysis of Fremont Amerindians of the Great Salt Lake Wetlands. *Am J Phys Anthr.* 1996;99: 507–518.
13. **García F, Moraga M, Vera S, Henríquez H, Llop E, Aspillaga E, et al.** mtDNA microevolution in Southern Chile's archipelagos. *Am J Phys Anthropol.* 2006;129: 473–81. <http://dx.doi.org/10.1002/ajpa.20297>

14. **Fehren-Schmitz L, Warnberg O, Reindel M, Seidenberg V, Tomasto-Cagigao E, Isla-Cuadrado J, et al.** Diachronic investigations of mitochondrial and Y-chromosomal genetic markers in pre-Columbian Andean highlanders from South Peru. *Ann Hum Genet.* 2011;75: 266–83.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-1809.2010.00620.x>
15. **LLeras R.** Diferentes oleadas de poblamiento en la prehistoria tardía de los Andes Orientales. *Bol del Mus del Oro.* 1995;38-39: 3–11.
16. **Langebaek C.** Mercados, Poblamiento e Integración Étnica entre los Muisca del siglo XVI. Bogotá D.C. Banco de la República; 1987.
17. **Rodríguez C JV.** Los chibchas : hijos del sol , la luna y los Andes . Orígenes de su diversidad. Bogotá D.C. Instituto de Desarrollo Urbano: Universidad Nacional de Colombia; 2011.
18. **Buitrago LM, Rodríguez O.** Estudio bioantropológico de la colección Eliécer Silva Celis, Museo Arqueológico de Sogamoso. In: Rodríguez C JV, editor. *Los Chibchas: adaptación y diversidad en los Andes Orientales de Colombia.* Bogotá D.C. Editora Guadalupe Ltda; 1999. pp. 217–236.
19. **Fernandez C.** La arqueología molecular aplicada ala solución de problemas prehistoricos: análisis de ADN mitocondrial en momias y restos óseos prehispanicos (Tesis). Universidad Nacional de Colombia. 1999.
20. **Monsalve M V, Cardenas F, Guhl F, Delaney a D, Devine D V.** Phylogenetic analysis of mtDNA lineages in South American mummies. *Ann Hum Genet.* 1996;60: 293–303.

21. **Silva A, Briceño I, Burgos J, Torres D, Villegas V, Gómez A, et al.**
Análisis de ADN mitocondrial en una muestra de restos óseos arcaicos del periodo Herrera en la sabana de Bogotá. Victoria. 2008; 569–577.
22. **Sanchez C.** Secuenciación de ADN mitocondrial a partir de fragmentos óseos prehispánicos hallados en el sector de Candelaria La Nueva en Bogotá. Pontificia Universidad Javeriana. 2007.
23. **Cooper A, Poinar HN.** Ancient DNA: Do It Right or Not at All. Science (80-). American Association for the Advancement of Science; 2000;289: 1139.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.289.5482.1139b>
24. **Gilbert MTP, Hofreiter M, Barnes I.** Assessing ancient DNA studies. October. 2005;20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2005.07.005>
25. **Huel R, Amory S, Bilic A, Vidovic S, Jasaragic E, Parsons T.** DNA extraction from aged skeletal samples for STR typing by capillary electrophoresis. Methods Mol Biol. 2012;830: 185–98.
26. **Huffine E, Crews J, Kennedy B, Bomberger K, Zinbo A.** Mass identification of persons missing from the break-up of the former Yugoslavia: structure, function, and role of the International Commission on Missing Persons. Croat Med J. 2001;42: 271–5.
27. **Keyeux G, Rodas C, Gelvez N, Carter D.** Possible migration routes into South America deduced from mitochondrial DNA studies in Colombian Amerindian Populations. Hum Biol. 2002;74: 211–33.
28. **Egeland T, Mostad P, Mevag B, Stenersen M.** Beyond traditional paternity

and identification cases. Selecting the most probable pedigree. *Forensic Sci Int.* 2000;110.

29. **Paredes M, Galindo A, Bernal M, Avila S, Andrade D, Vergara C, et al.** Analysis of the CODIS autosomal STR loci in four main Colombian regions. *Forensic Sci Int.* 2003;14: 67–73.
30. **Shields GF, Schmiechen a M, Frazier BL, Redd A, Voevoda MI, Reed JK, et al.** mtDNA sequences suggest a recent evolutionary divergence for Beringian and northern North American populations. *Am J Hum Genet.* 1993;53: 549–62.
31. **Ward RH, Redd A, Valencia D, Frazier B, Pääbo S.** Genetic and linguistic differentiation in the Americas. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90: 10663–7.
32. **Ward RH, Frazier BL, Dew-Jager K, Pääbo S.** Extensive mitochondrial diversity within a single Amerindian tribe. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88: 8720–4.
33. **Schurr TG, Ballinger SW, Gan YY, Hodge J a, Merriwether D a, Lawrence DN, et al.** Amerindian mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies, suggesting they derived from four primary maternal lineages. *Am J Hum Genet.* 1990;46: 613–23.
34. **Torrioni a, Schurr TG, Cabell MF, Brown MD, Neel J V, Larsen M, et al.** Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNAs. *Am J Hum Genet.* 1993;53: 563–90.
35. **Kolman CJ, Bermingham E, Cooke R, Ward RH, Arias TD, Guionneau-**

- Sinclair F.** Reduced mtDNA diversity in the Ngöbé Amerinds of Panamá. *Genetics*. 1995;140: 275–83.
36. **Lalueza-Fox C, Calderón FL, Calafell F, Morera B, Bertranpetit J.** MtDNA from extinct Tainos and the peopling of the Caribbean. *Ann Hum Genet*. 2001;65: 137–51. <http://dx.doi.org/10.1017/S0003480001008533>
37. **Lalueza-Fox C, Sampietro ML, Gilbert MTP, Castri L, Facchini F, Pettener D, et al.** Unravelling migrations in the steppe: mitochondrial DNA sequences from ancient central Asians. *Proc Biol Sci*. 2004;271: 941–7. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2004.2698>
38. **Melton PE, Briceño I, Gómez A, Devor E, Bernal JE, Crawford MH.** Biological Relationship Between Central and South American Chibchan Speaking Populations : Evidence From mtDNA. *Am J Phys Anthropol*. 2007;770: 753–770. <http://dx.doi.org/10.1002/ajpa>
39. **Lewis CM, Lizárraga B, Tito RY, López PW, Lannacone GC, Medina A, et al.** Mitochondrial DNA and the peopling of South America. *Hum Biol*. 2007;79: 159–78.
40. **Casas-Vargas A, Gómez A, Briceño I, Díaz-Matallana M, Bernal JE, Rodríguez JV.** High genetic diversity on a sample of pre-Columbian bone remains from Guane territories in northwestern Colombia. *Am J Phys Anthropol*. 2011;649: 637–649. <http://dx.doi.org/10.1002/ajpa.21626>
41. **Usme-Romero S, Alonso M, Hernandez-Cuervo H, Yunis EJ, Yunis JJ.** Genetic differences between Chibcha and Non-Chibcha speaking tribes

based on mitochondrial DNA (mtDNA) haplogroups from 21 Amerindian tribes from Colombia. *Genet Mol Biol.* 2013;36: 149–57.

<http://dx.doi.org/10.1590/S1415-47572013005000011>

42. **Torres MM, Bravi CM, Bortolini M-C, Duque C, Callegari-Jacques S, Ortiz D, et al.** A revertant of the major founder Native American haplogroup C common in populations from northern South America. *Am J Hum Biol.* 2006;18: 59–65. <http://dx.doi.org/10.1002/ajhb.20461>
43. **Ginther C, Corach D, Penacino G, Rey J, Carnese F, Hutz M, et al.** Genetic variation among the Mapuche Indians from the Patagonian region of Argentina: mitochondrial DNA sequence variation and allele frequencies of several nuclear genes. In: : Pena S, Chakraborty R, Epplen J, Jeffreys A, editors. *DNA finger- printing: state of the science.* 1st ed. Birkhäuser Basel; 1993. pp. 211–219.
44. **Wang S, Lewis CM, Jakobsson M, Ramachandran S, Ray N, Bedoya G, et al.** Genetic variation and population structure in native Americans. *PLoS Genet.* 2007;3: e185. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.0030185>
45. **Ward R, Salzano F, Bonatto S, Hutz M, Coimbra JC, Santos R.** Mitochondrial DNA polymorphism in three Brazilian tribes. *Am J Hum Biol.* 1996;8: 317–323.
46. **Santos M, Ward R, Barrantes R.** mtDNA variation in the Chibcha Amerindian Huetar from Costa Rica. *Hum Biol.* 1994;66: 963–977.
47. **Batista O, Kolman C, Bermingham E.** Mitochondrial DNA diversity in the

- Kuna Amerinds of Panama. *Hum Mol Genet.* 1995; 921–929.
48. **Nei M.** Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics.* 1978;89: 583–590.
 49. **Excoffier L, Laval G, Schneider S.** Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform Online.* 2005;1: 47–50.
 50. **Kovach W.** MVSP - A MultiVariate Statistical Package for Windows, ver. 3.1. Pentraeth, Wales, U.K. Kovack Computing Services; 2007.
 51. **Rodríguez JV.** Craneometría de la población prehispánica de los Andes Orientales de Colombia: Diversidad, adaptación y etnogénesis. Los Chibchas: adaptación y diversidad en los Andes Orientales de Colombia. Bogotá D.C.: Universidad Nacional de Colombia/Colciencias; 2001. pp. 250–310.
 52. **Silva C E.** Investigaciones arqueológicas en Villa de Leiva. Bogotá D.C. Boletín del Museo del Oro; 1981.
 53. **Perego U, Lancioni H, Tribaldos M, Angerhofer N, Ekins JE, Olivieri A, et al.** Decrypting the mitochondrial gene pool of modern Panamanians. *PLoS One.* 2012;7: e38337. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0038337>
 54. **Rodríguez JV.** LA DIVERSIDAD POBLACIONAL DE COLOMBIA EN EL TIEMPO Y EL ESPACIO : *Rev Acad Colomb Cienc.* 2007;31: 321–346.
 55. **Gamba C, Fernández E, Tirado M, Pastor F, Arroyo-Pardo E.** Brief communication: Ancient nuclear DNA and kinship analysis: the case of a

medieval burial in San Esteban Church in Cuellar (Segovia, Central Spain).

Am J Phys Anthropol. 2011;144: 485–91.

<http://dx.doi.org/10.1002/ajpa.21451>

56. **Bentley R, Layton R, Tehrani J.** Kinship , Marriage , and the Genetics of Past Human Dispersals Wave of Advance Model. Hum Biol. 2009;81: 159–180.
57. **Vanek D, Saskova L, Koch H.** Kinship and Y-Chromosome Analysis of 7th Century Human Remains: Novel DNA Extraction and Typing Procedure for Ancient Material. Croat Med J. 2009;50: 286–295.
<http://dx.doi.org/10.3325/cmj.2009.50.286>
58. **Bauer CM, Niederstätter H, McGlynn G, Stadler H, Parson W.** Comparison of morphological and molecular genetic sex-typing on mediaeval human skeletal remains. Forensic Sci Int Genet. 2013;7: 581–586.

Capítulo 3

ANALISIS DE SECUENCIAS DEL ASA MITOCONDRIAL (REGION D-LOOP ADNmt) EXTRAIDA DE RESTOS OSEOS ANTIGUOS PROVENIENTES DE LOS ALREDEDORES DEL TEMPLO DEL SOL (SOGAMOSO, BOYACÁ.)

Casas-Vargas A^{1*}, Pallua J², Strobl C², Niederstätter H², Xavier C², Eduardoff M², Bodner M², Kralj P², Usaquén W¹, Silva M³, Gómez A⁴, Briceño I⁴, Ariza A⁵, Rodríguez JV⁵, Parson W^{2,6}

¹ Grupo de Genética de Poblaciones e Identificación, Instituto de Genética, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

² Institute of Legal Medicine, Medical University of Innsbruck, Innsbruck, Austria

³ Museo Parque Arqueológico de Sogamoso, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Sogamoso, Colombia.

⁴ Instituto de Genética Humana, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

⁵ Laboratorio de Antropología Física, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

⁶ Forensic Science Program, The Pennsylvania State University, PA, USA

RESUMEN

Los análisis de ADN antiguo humano han permitido la exploración de la historia poblacional de comunidades precolombinas a través del tiempo y probar las hipótesis directamente acerca de la evolución cultural y demográfica. Restos óseos antiguos asociados al templo del Sol en el municipio de Sogamoso-Boyacá se han clasificado en los tres periodos culturales precolombinos: Precerámico (hasta el II milenio a. C), Formativo (I milenio a. C. a siglo IX-d. C), y Muisca (siglos X-XVI d. C). Nosotros analizamos las secuencias de la región D-Loop del ADN mitocondrial de 32 individuos, y se clasificaron en los haplogrupos mitocondriales amerindios (A, B, C, y D). Se compararon con otras poblaciones actuales y antiguas de América. Los subhaplogrupos presentes en el periodo muisca fueron: A2ac, A2ad, A2y, B2d, C1b, y D4h3a; en el periodo Formativo A2ac y B2d; precerámico C1b y C1b8. Según los resultados obtenidos y al compararlo con otras

poblaciones sugerimos un nuevo sublinaje A2 denominado posiblemente como A2ad3. Adicionalmente, encontramos el subhaplogrupo A2y el cual ha sido reportado en una población aislada amazónica (Waorani), mostrando una posible ruta entre Norte-Sur, que conectó los Andes Colombianos y las poblaciones amazónicas antes de la conquista. A su vez, se observa una alta frecuencia del subhaplogrupo A2ac concentrado en diferentes comunidades contemporáneas colombianas, sugiriendo un posible origen precolombino para las poblaciones de los Andes orientales y su dispersión al subcontinente americano.

PALABRAS CLAVE: ADN antiguo (ADNa), Colombia, Andes, ADN mitocondrial (ADNmt), amerindios, HVRI, haplogrupo.

INTRODUCCION

Los muisca fueron una de las comunidades precolombinas más importantes del Nororiente de los Andes colombianos. Estaban ubicados en el altiplano Cundiboyacense del centro del país, y tenían una organización social y religiosa bien establecida en tiempos de la conquista (Rodríguez, 2001b, 2011) . Uno de sus centros religiosos más importantes era el Templo del Sol, el cual se encuentra ubicado hoy en día en la ciudad de Sogamoso, departamento de Boyacá. Este templo era un centro ritual de varias comunidades en torno al Sol, que era considerado deidad muisca. En este mismo lugar se ha encontrado uno de los cementerios muisca más importantes (Silva C, 2005) .

Según los datos arqueológicos, una de las zonas que han permitido evidenciar los primeros asentamientos humanos en Colombia son los Andes Orientales, específicamente en esta región boyacense, permitiendo así plantear varias hipótesis de poblamiento. Los investigadores concuerdan en los diferentes periodos en que las poblaciones humanas ocuparon esta cordillera, denominándoles así: Precerámico (X - II milenio a. C); Formativo o Herrera (I milenio a. C. a siglo IX d. C); Muisca¹ (siglos X-XVI d. C) (Rodríguez, 2011, 2015). Estas poblaciones, sucesivas en el tiempo, tuvieron diferentes orígenes y fueron producto de varias oleadas migratorias, desplazando o asimilando a los grupos antecesores (Langebaek, 1987; Lleras, 1995). Estudios bioantropológicos han sugerido que este espacio se remonta, en efecto, al periodo Formativo y que posiblemente tuvo continuidad durante el periodo Agroalfarero o Muisca, mostrando que no sufrió procesos migratorios masivos tardíos de pueblos foráneos, sino procesos de tipo microevolutivo (Rodríguez, 2011). En la colección del Museo Arqueológico de Sogamoso se han encontrado individuos provenientes del municipio de Floresta a 12 km de distancia del templo del sol (Figura 1) que poseen características morfológicas paleo-americanas (p. ej. Cráneos

¹ Se utiliza el término “muisca”, en minúsculas, para referirse a la comunidad, y “Muisca”, con letra inicial mayúscula, para referirse al periodo.

dolicocéfalos) (Figura 2), evidenciando una gran antigüedad y datados en 7950 ± 40 a. P., fecha calibrada de 7040 a 6680 a. C. (Beta-299693) (Rodríguez, 2011). Adicionalmente, en los restos provenientes de los alrededores del Templo del Sol de Sogamoso se han obtenido dos dataciones: la primera de 310 años d. C. (1707 a. P.), proveniente de maíz carbonizado asociado a los enterramientos, y la segunda de hueso humano datado en 190 ± 40 (calibrada 155 a 390) años d. C. (Beta-129230), es decir 1826 ± 40 a. P., lo cual sugiere que el poblamiento de la zona en la que se halló esta estructura ritual presenta actividad humana por lo menos desde el periodo Formativo (Buitrago and Rodríguez, 1999). Cerca de Sogamoso se encuentra la ciudad de Duitama en donde se han encontrado otros restos cuya datación fue de 1950 ± 30 a. P. (calibrada 1970 a 1960 a. P (Beta-424514), el hallazgo se encuentra a 16 km de distancia del Templo del Sol (Figura 1).

Los estudios en ADN antiguo en diferentes poblaciones de Suramérica han demostrado procesos microevolutivos involucrados en la composición genética de las poblaciones y su interacción con los ambientes particulares (Fehren-Schmitz et al., 2015; Mendisco et al., 2014; Moraga et al, 2005; Valverde et al., 2016). En Colombia se han realizado varias investigaciones en ADN antiguo con el fin de conocer el componente genético de las poblaciones prehispánicas. Sin embargo, la comunidad muisca ha sido registrada en otras zonas del altiplano, pero no se había realizado un estudio que incluyera individuos de la misma región en periodos culturales sucesivos con el fin de observar sus dinámicas genéticas a través del tiempo y espacio.

El propósito del presente estudio fue analizar restos óseos antiguos de tres periodos culturales sucesivos en el entorno del Templo del Sol por medio de la región control del ADNmt y establecer sus posibles dinámicas y orígenes poblacionales.

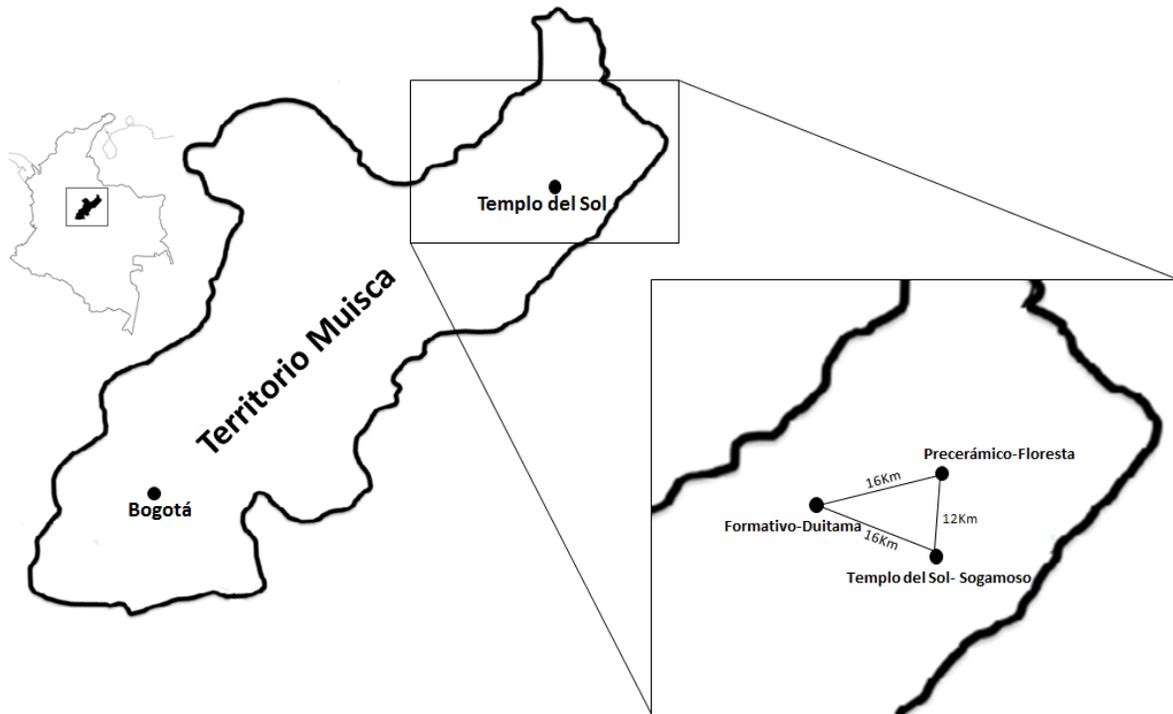


Figura 1. Mapa de Colombia mostrando la localización del territorio ocupado por la comunidad muisca en el tiempo de la conquista española. Localización de las muestras usadas en este estudio pertenecientes a los tres periodos culturales sucesivos y su distancia geográfica entre ellas. Basado en Langebaek, 1987 .



Figura 2. Cráneos doliocéfalos provenientes de Floresta, Boyacá. Datos en 7950 ± 40 a. P, periodo precerámico (Museo Arqueológico de Sogamoso MAS). Tomado de Rodríguez, 2011 .

MÉTODOS

Descripción de las muestras y contexto arqueológico.

La colección del Museo Arqueológico de Sogamoso posee una de las colecciones de restos óseos más grandes proveniente de varias regiones del departamento de Boyacá al Noreste de Colombia. Uno de los hallazgos más importantes en esta región fue el cementerio precolombino en los alrededores del Templo del Sol en Sogamoso, Boyacá, con un área aproximada de 32.000 m^2 (Figura 3). Este sitio fue excavado entre 1950 y 1990 por el antropólogo Eliecer Silva Celis (1914-2007). En estudios paleopatológicos y paleodemográficos previos se seleccionaron 126 individuos que tenían datos confiables de contexto (Buitrago and Rodríguez, 1999); en el cual se obtuvieron dos fechas de radiocarbono, la primera de 310 años d. C., proveniente de maíz carbonizado asociado a una de las tumbas (Silva C, 1968, 1981) y la segunda proveniente de hueso humano arrojando una fecha de 190 ± 40 (cal 155-390) años d. C. (Beta-129230). Otro hallazgo arqueológico importante fue el encontrado en municipio de Floresta, Boyacá en los años 1940 cuya fecha de radiocarbono fue de 7950 ± 40 a. P. (calibrada de 7040 a 6680 a. P. (Beta-299693). En Duitama, Boyacá, se encontraron restos óseos adicionales en el año 1999 (Rodríguez, 1999) cuya datación fue de 1950 ± 30 a. P. (calibrada 1970 a 1960 a. P (Beta-424514) (Figura 4). Se observaron, tumbas de pozo oval con cuerpos en posición sedente, con una laja elaborada de armagasa de ceniza como tapa, y cuencos decorados con incisiones en calidad de ajuar. Todos los cráneos presentaban deformación fronto-occipital (Rodríguez, 1999)



Figura 3. Área aproximada del cementerio muisca en los alrededores del Templo del Sol. Google. (s.f.). [Mapa Templo del sol, Sogamoso Colombia en Google maps]. Recuperado el 11 de Abril de Octubre, 2015, de: <https://www.google.com/maps/place/Templo+del+Sol/@5.7083105,-72.9207121,18.58z/data=!4m5!3m4!1s0x0:0x8ace01afcf1140f4!8m2!3d5.7088478!4d-72.9199146>.



Figura 4. Cráneo deformado braquicéfalo de Duitama. Datado 1950 ± 30 a. P., periodo formativo (Laboratorio de Antropología Física UNAL). Tomado de Rodríguez, 2011 .

Con el fin de dar un mejor contexto cronológico y cultural, se realizó una excavación en el año 2015 de un entierro colectivo del bohío No. 7 cercano a la estructura ritual del Templo del Sol en Sogamoso.

La tumba es de pozo, de forma oval, con las paredes reforzadas mediante recubrimiento de arcilla, con recubrimiento de laja de arenisca. La laja tiene un diámetro de 75 cm, un grosor de 17 cm, y cubre completamente la tumba que tiene una profundidad de 65 cm (Figura 5). El entierro es múltiple, con cinco cuerpos dispersos en su interior, cuatro de ellos desarticulados. Se trata de cuatro individuos femeninos y uno masculino, cuatro de ellos adultos medios, uno joven. Los huesos fueron dispuestos cuando se encontraban secos, sin partes blandas, por lo que se puede inferir que se trata de un entierro secundario. Los cráneos se localizaban juntos, alineados, mientras que los huesos largos se encontraban dispersos por toda la tumba (Figura 6).



Figura 5. Tumba de pozo oval, con tapa de laja en arenisca.



Figura 6. Conjunto de cinco cráneos dispuestos de forma secundaria.

Como ajuar se registraron dos *tumas* perforadas (cuentas de collar tubulares) de coralina, de color naranja, posiblemente procedentes de la Sierra Nevada de Santa Marta; un dije de roca metamórfica, posiblemente cataclasita de Suataga; un volante de huso de lutita (Figura 7). La laja es de arenisca aplanada por fricción y golpeada con hachas de piedra, de contenido síliceo con óxidos de hierro.



Figura 7. Objetos del ajuar funerario (tumas, dije y volante de huso).

La cerámica es del tipo “Guatavita Desgrasante Tiestos” (GDT), típica del periodo Muisca Tardío (Figura 8). Se logró recuperar una muestra de carbón del contenido de la tumba que fue remitida para datación radiocarbónica, obteniendo una fecha calibrada de 890 d. C. (es decir, 1127 a. P.), con un intervalo entre 775-975 d. C. para un 95% de margen de confianza (Beta No. 425959). Esto implica que la tumba fue excavada a inicios del período Muisca Temprano. De los cinco cráneos se tomaron muestras de dientes M3 para análisis genético (Figura 9).



Figura 8. Fragmentos cerámicos hallados dentro de la tumba.

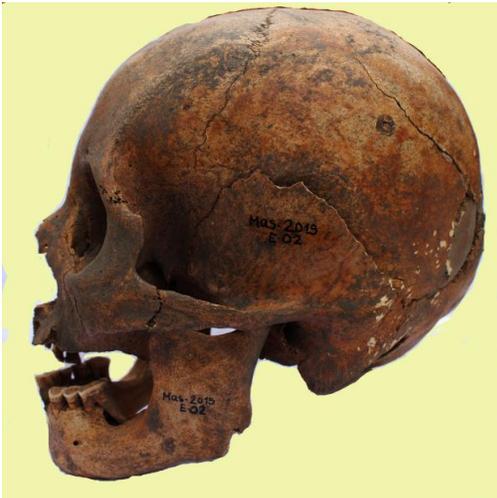


Figura 9. Cráneo Braquicéfalo de individuo E-02.

Adicionalmente, de la colección del museo se colectaron muestras que habían sido recolectadas en los alrededores del Templo del Sol (n= 29), Duitama (n= 6), Floresta (n=5). Se obtuvieron muestras de diente, hueso largo y fragmentos de cráneo (Tabla1) (Figura 10). Los individuos fueron clasificados según el periodo arqueológico al que pertenecían (Tabla 1); 33 individuos corresponden al periodo arqueológico Muisca, con base en el material cerámico asociado característico de este periodo. Un individuo seleccionado, también excavado en esa zona, fue

previamente datado por ^{14}C dando fecha de 1826 ± 40 a. P. (calibrada 155 a 390 años d. C.) (Beta-129230) (Buitrago and Rodríguez, 1999) y, en consecuencia, perteneciente al periodo Formativo; de 6 individuos provenientes de Duitama se obtuvo un fecha de 1950 ± 30 a. P. (calibrada 1970 a 1960 a. P. (Beta-424514), perteneciente a este mismo periodo; 5 individuos provenientes del municipio de Floresta (Boyacá) recuperados en 1945 por el profesor Eliécer Silva fueron recientemente datados con base en uno de ellos, obteniendo una fecha de 7950 ± 40 a. P. (calibrada de 7040 a 6680 a. C.) (Beta-299693). Este último individuo, en razón a su morfología craneal dolicocefala característica de los paleoamericanos, y por la datación fue clasificado en el periodo Precerámico temprano (Rodríguez, 2011).

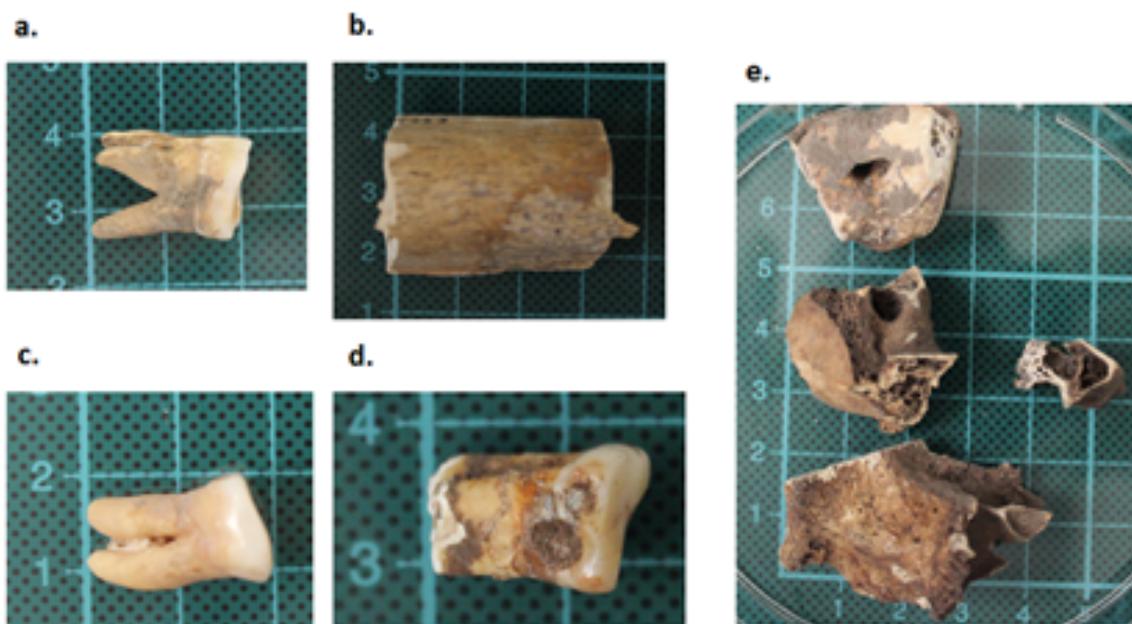


Figura 10. Algunas muestras analizadas de diferentes periodos. a. SM44 Molar (Periodo Muisca) b. SM47 Fémur (Periodo Muisca). c. DT-05 Molar (Periodo Formativo). d. F98F Molar (Periodo Precerámico). e. F98A Fragmento de Cráneo (Periodo Precerámico).

No de Inventario	Muestra	ID	Material biológico	Excavación (localidad, año)	Tumba / Entierro	Periodo estimado	Género morfológico
SOG.MON-690025	SOG-MON025	SM25	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1969	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-860027	SOG-MON027	SM27	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1986	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-760028	SOG-MON028	SM28	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá, 1976	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	M
SOG.MON-750030	SOG-MON030	SM30	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1975	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-750031	SOG-MON031	SM31	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá, 1975	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-810032	SOG-MON032	SM32	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá, 1981	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	M
SOG.MON-540037	SOG-MON037	SM37	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1954	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-540038	SOG-MON038	SM38	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1954	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	M
SOG.MON-560039	SOG-MON039	SM39	Femur	Sogamoso-Monquirá, 1956	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-560040	SOG-MON040	SM40	Femur	Sogamoso-Monquirá, 1956	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-720043	SOG-MON043	SM43	Femur	Sogamoso-Monquirá, 1973	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-720044	SOG-MON044	SM44	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1972	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-720045	SOG-MON045	SM45	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1972	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-720046	SOG-MON046	SM46	Femur	Sogamoso-Monquirá, 1972	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-720047	SOG-MON047	SM47	Femur	Sogamoso-Monquirá, 1972	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-720048	SOG-MON048	SM48	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá, 1972	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-690056	SOG-MON056	SM56	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá, 1969	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	IND
SOG.MON-670061	SOG-MON061	SM61	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1967	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-680064	SOG-MON064	SM64	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá, 1968	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-690067	SOG-MON067	SM67	Femur	Sogamoso-Monquirá, 1969	ND	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-580068	SOG-MON068	SM68	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá, 1958	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-690069	SOG-MON069	SM69	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1969	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-700070	SOG-MON070	SM70	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá, 1970	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	M
SOG.MON-820072	SOG-MON072	SM72	Femur	Sogamoso-Monquirá, 1982	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	M
SOG.MON-600073	SOG-MON073	SM73	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1960	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-560079	SOG-MON079	SM79	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1956	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-6000104	SOG-MON104	SM104	Femur	Sogamoso-Monquirá, 1986	Colectivo	Muisca (siglos X-XVI)	M
SOG.MON-8400109	SOG-MON109	SM109	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1984	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	M
SOG-MON E-01	SOG-MONE-01	SM01	Molar	Sogamoso-Monquirá, 2015	Colectivo	Muisca 1127 ±30 a. P *	M
SOG-MON E-02	SOG-MONE-02	SM02	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá, 2015	Colectivo	Muisca 1127 ±30 a. P *	F
SOG-MON E-03	SOG-MONE-03	SM03	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá, 2015	Colectivo	Muisca 1127 ±30 a. P *	F
SOG-MON E-04	SOG-MONE-04	SM04	Molar	Sogamoso-Monquirá, 2015	Colectivo	Muisca 1127 ±30 a. P *	F
SOG-MON E-05	SOG-MONE-05	SM05	Molar	Sogamoso-Monquirá, 2015	Colectivo	Muisca 1127 ±30 a. P *	F
SOG.MON-560080	SOG-MON080	SM80	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá. 1956	Individual	Formativo 1826±40 a. P. **	M

B-DT-D-08	B-DT-D-08	DT08	Diente Anterior	Duitama-Chucua, 1999	Individual	Formativo 1950±30 a. P. ***	IND
SIN NOMBRE	SIN NOMBRE	DT01	Femur	Duitama-Chucua, 1999	Individual	Formativo 1950±30 a. P. ***	IND
B-DT-D-07-D10	B-DT-D-07-D10	DT07	Femur	Duitama-Chucua, 1999	Individual	Formativo 1950±30 a. P. ***	IND
BDT-D-10	BDT-D-10	DT10	Femur	Duitama-Chucua, 1999	Individual	Formativo 1950±30 a. P. ***	IND
B-DT-D-11	B-DT-D-11	DT11	Femur	Duitama-Chucua, 1999	Individual	Formativo 1950±30 a. P. ***	IND
FLORESTA 430098-A	430098A	F98A	Fragmento De Cráneo	Floresta-La Puerta, 1943	Individual	Precerámico 7950±40 a. P. ****	M
FLORESTA 430098-B	430098B	F98B	Fragmento De Cráneo	Floresta-La Puerta, 1943	Individual	Precerámico 7950±40 a. P. ****	F
FLORESTA 430098-C	430098C	F98C	Fragmento De Cráneo	Floresta-La Puerta, 1943	Individual	Precerámico 7950±40 a. P. ****	F
FLORESTA 430098-E	430098E	F98E	Fragmento Diente	Floresta-La Puerta, 1943	Individual	Precerámico 7950±40 a. P. ****	F
FLORESTA 430098-F	430098F	F98F	Diente Anterior	Floresta-La Puerta, 1943	Colectivo	Precerámico 7950±40 a. P. ****	IND

Tabla 1. Descripción de las muestras analizadas. *(calibrada 775-975 d. C. - Beta No. 425959), **(calibrada 155 a 390 años d. C. / 1826±40 a. P. - Beta-129230), ***(calibrada 1970 a 1960 a. P. - Beta-424514), ****(calibrada de 7040 a 6680 a. C. - Beta-299693)

Aspectos éticos

Para realizar la excavación y los análisis de radiocarbono y genéticos se solicitó autorización formal al Instituto Colombiano de Antropología e Historia (ICANH), quien es el encargado de dar los permisos para intervenir material arqueológico. El código de autorización para la intervención y movilización de las muestras para análisis genético y datación es el No. 4795 del año 2015 (ver anexo 1).

Extracción de ADN y análisis de la región hipervariable mitocondrial (HVRI) por secuenciamiento de Sanger.

La capa externa del hueso se limpió sumergiéndola en hipoclorito al 5% por 10 minutos, seguido de etanol al 70% por 5 minutos, y por exposición final a luz ultravioleta por cada uno de los lados durante 15 minutos. Posteriormente se pulverizaron las muestras empleando el molino MM400 de Restsh®. Aproximadamente 1 gramo de pulverizado fue incubado a 56 °C durante 18 horas en una solución de 15 mL que contenía EDTA 0.5 M, N-Lauryl-Sarcosyl al 1%, y proteinasa-K (20 mg/mL). Posteriormente se realizó la extracción del ADN empleando el kit Qiaquick PCR Purification® (Qiagen®) siguiendo las recomendaciones del fabricante y las modificaciones realizadas por la Comisión Internacional de Personas Desaparecidas (*International Commission on Missing Persons* [ICMP]) (Huffine et al., 2001; Parsons et al., 2007; Huel et al., 2012). Brevemente, el lisado obtenido se centrifugó a 4000 rpm durante 5 min, el sobrenadante se transfirió a filtros Amicon® y se centrifugó a 4000 rpm para concentrar la muestra hasta que quede un volumen final de 250 µL. El volumen recuperado se transfirió a tubos de 1,5 mL que contienen 1.250 µL de buffer PB y alícuotas de 720 µL se centrifugaron en filtros QIAquick® a 14.000 rpm por 1 min. A continuación, se añadieron 720µLde buffer PE al filtro y se centrifugaron a 14.000 rpm por 1 min. El ADN se eluyó mediante la adición de buffer EB, se incubó durante 2 min, y se centrifugó a 14.000 rpm durante 1 minuto. Los aislados

de ADN obtenidos fueron cuantificados empleando el equipo Qubit[®] 2.0 Fluorometer de Invitrogen[®], siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Los aislados de ADN antiguo (aADN) fueron amplificados para cuatro fragmentos de PCR de tamaños entre los 160 y 180 pb que amplifican para la región hipervariable I del ADN mitocondrial (Tabla 2). El ADN fue amplificado mediante PCR utilizando master mix GoTaq Hot Start[®] ADN polimerasa (Qiagen[®]) 2X, 1X de *enhancer* (Epicentre[®]) y 100 µg de BSA (Roche[®]), 0,8 µM de cada cebador o *primer*. El programa de PCR utilizado fue el siguiente: denaturación inicial, 95°C por 15 min, 50 ciclos de denaturación, 95°C por 30 seg; anillamiento, 30 seg a una temperatura de 57- 58°C dependiendo de los *primers* empleados; elongación, 72° por 30 seg.; y elongación final a 72°C por 10 min. Los productos de PCR fueron enviados para la secuenciación de ADN a Magrogen[®].

Para la asignación de los haplotipos, las secuencias fueron comparadas con la secuencias de referencias de Cambridge (CRS) (Andrews et al., 1999), en el software Sequencher 5.2.4 (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI, USA). La asignación del haplogrupo fue acorde a Phylotree build 17 (van Oven and Kayser, 2009).

Región Blanco	PRIMER	SECUENCIA	Temperatura Anillamiento	Referencia
Región control 1 <i>(np 16,011–16,131)</i>	L 15,986 H 16,153	5'- GCACCCAAAGCTAAGATTCTAATTT-3' 5'- CAGGTGGTCAAGTATTTATGGT-3'	58°C	Kemp et al., 2007
Región control 2 <i>(np 16,127–16,229)</i>	L 16,106 H 16,251	5'GCCAGCCACCATGAATATTGT 3' 5'GGAGTTGCAGTTGATGTGTGAT 3'	58°C	Propios
Región control 3 <i>(np 16,210–16,330)</i>	L 16,190 H 16,355	5'CCCCATGCTTACAAGCAAGT 3' 5'GGGATTTGACTGTAATGTGCTATGT 3'	57°C	
Región control 4 <i>(np 16,250–16,382)</i>	L 16,232 H 16,404	5'CACACATCAACTGCAACT 3' 5'GGTGGTCAAGGGACCCCTATCT3'	57°C	Kemp et al., 2007
Haplogrupo B <i>(Deelección de 9pb)</i>	L 8,196 H 8,316	5'ACAGTTTCATGCCCATCGTC3' 5'ATGCTAAGTTAGCTTTACAG3' 5'CACCATTAGCACCCAAAGCT3'	55°C	Torrioni et al ,1993
Región Hipervariable I	L 15,997 H 16,391	5'TGGGGACGAGAAGGGATTTGACT3'	58°C	Sánchez, 2007

Tabla 2. Cebadores utilizados para la amplificación de la región HVRI.

Extracción de ADN y análisis de mitogenoma

La superficie de los huesos y de los dientes se limpió por inmersión en hipoclorito de sodio por 20 minutos; luego se agregó etanol por 10 minutos, se dejó secar y luego se irradió en UV por 5 min cada lado. Cada material óseo fue pulverizado usando el molino RETCH MM400[®]. Se tomaron entre 0,4 y 0,7 g de pulverizado que fue transferido a tubos estériles de 15 mL y el ADN fue extraído acorde a los protocolos publicados por Amory et al., 2012 . Brevemente, el pulverizado fue incubado a 56°C en 7 mL de Buffer de Lisis que contiene 0,5 M EDTA, 1% de N-laurilsarcosil, y 130 µL de proteinasa K (20 mg/mL) por 24 horas. Después de la centrifugación, el sobrenadante fue transferido a Filtros de Amicon[®], y se centrifugó a 4500 g por 40 min. El sobrenadante se transfirió a un tubo de 1,5 mL y se agregaron 5 veces más de Binding Buffer del kit de purificación MinElute PCR Purification Kit[®] (Qiagen[®], Hilden, Alemania). Luego se transfirió el contenido a los tubos de MinElute[®]. Se centrifugó a 13.000 rpm por 1 min, se agregaron 700 uL de wash buffer, se centrifugó a 13.000 rpm por 1 min y se repite este paso 2 veces más. Luego se dejó secar la columna centrifugándola vacía a 13.000 rpm por 1 min, el ADN fue eluído con 50 µL de EB Buffer por 5 min y centrifugado a 13.000 rpm por 1 min. El ADN extraído fue guardado a -20°C. Un blanco de extracción con agua fue procesado al mismo tiempo con las muestras. Posteriormente se realizó cuantificación absoluta del ADN mitocondrial siguiendo el protocolo publicado por Niederstätter y cols (2007).

Secuenciamiento de Nueva Generación

El mitogenoma completo fue amplificado por PCR usando *primers* que generan amplicones en reacciones separadas, se generan 162 amplicones de un tamaño alrededor de 175pb de largo. Las librerías fueron preparadas usando el kit the HID-Ion AmpliSeq[™] Mitochondrial Library Preparation Conservative Method con el Ion Library Quantitation Kit[®] (Life Technologies[®]), siguiendo las recomendaciones del fabricante. El secuenciamiento se realizó con un estricto

control de calidad para los estudios de secuenciación de PGM de mtADN en forense, que sugiere MPS (por sus siglas del inglés: Massively Parallel Sequencing) realizado en anteriores publicaciones (Parson et al., 2013; Gomes et al., 2015). Las secuencias fueron comparadas con la secuencias de referencia de Cambridge (rCRS) (Andrews et al., 1999) usando el software IGV_2.3.60 (Thorvaldsdóttir et al., 2013).

Control de contaminación.

En ambos laboratorios, todos los pasos de extracción de ADN y PCR fueron realizados en laboratorios físicamente separados. Los cuartos se irradiaron con luz UV (254 nm) durante 1 hora antes de todos los experimentos y se limpiaron con solución de hipoclorito de sodio. Guantes, mascarillas, gorros, abrigos de laboratorio y equipo de laboratorio (incluyendo pipetas, tubos, puntas de filtro, y centrifugas) fueron esterilizados por exposición a lámparas UV (254 nm). Todo el material metálico, material de plástico y de vidrio se esterilizó en un *crosslinker* por 1 hora. Para detectar la posible contaminación por ADN exógeno moderno, blancos de extracción y amplificación se utilizaron como controles negativos. Por último, todas las personas involucradas en el trabajo antiguo ADN se tipificaron genéticamente (secuenciación HVSI) y fueron comparados con los resultados obtenidos.

Análisis de datos

La composición del ADNmt de los periodos Muisca, Formativo y Precerámico fue comparada con otras poblaciones de Panamá, Ecuador, Venezuela y Colombia, calculando los parámetros genéticos intra e interpoblacionales. Se realizó análisis de redes medias tipo Network de los haplotipos en la región control comparados con 144 ADNmt de los haplogrupos A2ac, A2ad y A2y, empleando el software Network[®] 4.6 (<http://www.fluxus-engineering.com>) (Bandelt et al., 1999).

Los cálculos de diversidad genética y diversidad nucleotídica se basaron en el método de Nei (1987) (Nei, 1987) y fueron realizados empleando solo la región HVRI posición 16024-16370. El análisis intrapoblacional con 22 poblacionales fue realizado usando el método de distancias genéticas de Slatkin's F_{ST} (Slatkin, 1995), usando el software Arlequin (Excoffier et al., 2005). Los resultados fueron visualizados en un gráfico de escalamiento multidimensional (MDS) usando el software MVSP[®] para análisis multivariados (Kovach, 2007).

RESULTADOS

Análisis de las secuencias

La amplificación del genoma completo del ADNmt de las muestras antiguas fue difícil de lograr y, por lo tanto, los genomas completos harán parte de análisis complementarios en el próximo capítulo. En el presente capítulo nos concentraremos en el análisis de la región control ya que la mayoría de las muestras se logró hacer secuenciación por PGM y en Sanger, de esta manera pudieron ser incluidas en estos análisis. Del total de las 45 muestras seleccionadas, no se obtuvo ningún resultado en 6 de ellas, es decir en el 13% de la muestra analizada, 3 del periodo Muisca y 3 del periodo Precerámico.

En 4 de las 30 muestras amplificadas del periodo Muisca (SM05, SM30, SM32, SM39), no se lograron perfiles completos de la región control, aunque se logró detectar algunos de los polimorfismos diagnósticos y se logró así establecer los haplogrupos básicos para estas muestras (Tabla 3). En consecuencia, los cuatro haplogrupos característicos de los nativos americanos se encontraron en frecuencias de: A2= 77% (n= 23), B2= 13% (n=4), C1= 7% (n=2) y D4h3a= 3% (n=1). Dentro del haplogrupo A2, fueron distinguidos cinco linajes mitocondriales diferentes: A2ac con una frecuencia predominante (52%), el cual ha sido descrito en otros grupos colombianos (Behar et al., 2012; Díaz-Matallana &

Martínez_Cruzado, 2010; Torres et al., 2006; Xavier et al., 2015; Zheng et al., 2012), A2ad (30%) el cual ha sido encontrado en grupos de Panamá, República Dominicana y El salvador (Achilli et al., 2008; Salas et al., 2009; Perego et al., 2012) ; A2 (con polimorfismo 64T) (9%); A2 (con polimorfismo 64 y pérdida de 16111) (4%) y, finalmente, A2y (4%). Por otro lado, el linaje encontrado B2 pertenece al subhaplogrupo B2d (13%), que ha sido observado en otros grupos colombianos, en Panamá, en Venezuela y en México (Lander et al., 2008; Perego et al., 2012; Tamm et al., 2007). El haplogrupo C1b (6%), ha sido considerado como un haplogrupo fundador en América (Gómez-Carballa et al., 2015b). Finalmente, encontramos en un individuo del período Muisca, el linaje del haplogrupo D4h3a (3%), el cual ha sido descrito como un haplogrupo que se encuentra a lo largo de la Costa Pacífica del Norte al Sur de América (De Saint Pierre et al., 2012; Díaz-Matallana et al., 2016; U. A. Perego et al., 2009).

ID	EMMA	Phylo tree	Perfil	HAPLOTIPOS RANGO (16024-16562; 1-576)
SM61	A2+(64)+@16111	A2+(64) @16111	COMPLETA	16223T, 16290T, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 235G, 263G, 315.1C, 523del, 524del
SM43	A2+(64)	A2+(64)	COMPLETA	16111T, 16223T, 16290T, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 235G, 263G, 315.1C, 417A, 523del, 524del,
SM47	A2ad	A2ad	COMPLETA	16111T, 16175G, 16223T, 16259T, 16290T, 16300G, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 194T, 235G, 263G, 315.1C, 523del, 524del,
SM38	A2ad	A2ad	COMPLETA	16111T, 16175G, 16223T, 16259T, 16290T, 16300G, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 194T, 235G, 263G, 309.1C, 315.1C, 523del, 524del
SM25	A2ad	A2ad	COMPLETA	16111T, 16175G, 16223T, 16259T, 16290T, 16300G, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 194T, 235G, 263G, 315.1C, 523del, 524del,
SM69	A2ad	A2ad	COMPLETA	16111T, 16175G, 16223T, 16259T, 16290T, 16300G, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 194T, 235G, 263G, 315.1C, 523del, 524del,
SM31	A2ad	A2ad	COMPLETA	16111T, 16175G, 16223T, 16259T, 16290T, 16300G, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 194T, 235G, 263G, 315.1C, 523del, 524del,
SM73	A2ad	A2ad	COMPLETA	16111T, 16175G, 16223T, 16259T, 16290T, 16300G, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 194T, 235G, 263G, 315.1C, 523del, 524del,
SM109	A2ad	A2ad	COMPLETA	16111T, 16175G, 16223T, 16259T, 16290T, 16300G, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 194T, 235G, 263G, 315.1C, 523del, 524del,
SM45	A2ac	A2ac	COMPLETA	16111T, 16213A, 16223T, 16290T, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 235G, 263G, 309.1C, 315.1C, 523del, 524del,
SM01	A2ac	A2ac	COMPLETA	16111T, 16213A, 16223T, 16290T, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 235G, 263G, 315.1C, 523del, 524del,
SM02	A2ac	A2ac	COMPLETA	16111T, 16213A, 16223T, 16290T, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 235G, 263G, 315.1C, 523del, 524del,
SM03	A2ac	A2ac	COMPLETA	16111T, 16213A, 16223T, 16290T, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 235G, 263G, 315.1C, 523del, 524del,
SM04	A2ac	A2ac	COMPLETA	16111T, 16213A, 16223T, 16290T, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 235G, 263G, 309.1C, 315.1C, 523del, 524del
SM05	A2ac	A2ac	INCOMPLETA	16111T, 16213A, 16223T, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 235G, 263G, 315.1C, 523del, 524del,
SM28	A2ac	A2ac	COMPLETA	16111T, 16213A, 16223T, 16290T, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 182T, 235G, 263G, 315.1C, 523del, 524del
SM39	A2ac	A2ac	INCOMPLETA	16111T, 16213A, 16223T, 16290T, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 182T, 235G, 523del, 524del,
				16111T. 16213A. 16223T. 16290T. 16319A. 16362C. 64T. 73G. 146C. 153G. 182T.

SM64	A2ac	A2ac	COMPLETA	16111T, 16213A, 16223T, 16290T, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 235G, 263G, 315.1C, 523del, 524del,
SM70	A2ac	A2ac	COMPLETA	16111T, 16213A, 16223T, 16290T, 16319A, 16362C, 15326G, 64T, 73G, 146C, 153G, 182T, 235G, 263G, 315.1C, 523del, 524del
SM79	A2ac	A2ac	COMPLETA	16111T, 16213A, 16223T, 16290T, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 235G, 263G,
SM30	A2	A2	INCOMPLETA	16111T, 16223T, 16290T, 64T, 73G, 263G, 315.1C
SM48	A2+(64)	A2y	COMPLETA	16111T, 16290T, 16293G, 16304C, 16319A, 16362C, 64T, 73G, 146C, 152C, 153G, 189G, 207A, 235G, 263G, 315.1C, 523del, 524del
SM72	B2d	B2d	COMPLETA	16189C, 16193.1C, 16217C, 16519C, 73G, 263G, 315.1C, 498del, 499A
SM27	B2d	B2d	COMPLETA	16189C, 16217C, 16519C, 73G, 263G, 315.1C, 498del, 499A
SM104	B2d	B2d	COMPLETA	16189C, 16193.1C, 16217C, 16519C, 73G, 263G, 315.1C, 498del, 499A
SM56	B2d	B2d	COMPLETA	16183C, 16189C, 16193.1C, 16217C, 16324C, 16519C, 73G, 263G, 498del, 499A
SM32	C1b	C1b	INCOMPLETA	16093Y, 16223T, 16298C, 16325C, 16327T, 73G, 249del, 489C, 493G, 523del, 524del
SM68	C1b	C1b	COMPLETA	16189C, 16193.1C, 16223T, 16298C, 16325C, 16327T, 16519C, 73G, 249del, 263G, 290del, 291del, 315.1C, 489C, 493G, 523del, 524del
SM37	D4h3a	D4h3a	COMPLETA	16187T, 16203G, 16223T, 16241G, 16245T, 16301T, 16319A, 16342C, 16362C, 16468C, 16533C, 73G, 152C, 263G, 309.1C, 315.1C, 489C
SM80	A2	A2ac	INCOMPLETA	16111T, 16213A, 16223T, 16362C, 64T, 73G, 146C, 153G, 235G, 523del, 524del
DT11	B2d	B2d	COMPLETA	16183C, 16189C, 16193.1C, 16217C, 16519C, 73G, 263G, 309.1C, 315.1C, 498del, 499A
DT07	B2d	B2d	INCOMPLETA	16189C, 16193.1C, 16217C, 73G, 498del, 499A
DT10	B2d	B2d	INCOMPLETA	16189C, 16217C, 16519C, 73G, 498del, 499A
DT01	B2d	B2d	COMPLETA	16189C, 16193.1C, 16217C, 73G, 263G, 315.1C, 498del, 499A
DT05	B2d	B2d	COMPLETA	16183C, 16189C, 16217C, 73G, 263G, 309.1C, 315.1C, 498del, 499A
DT08	B2d	B2d	COMPLETA	16183C, 16189C, 16193.1C, 16217C, 16519C, 73G, 263G, 315.1C, 498del, 499A
F98F	C1b	C1b	COMPLETA	16223T, 16298C, 16325C, 16327T, 16344T, 73G, 249del, 263G, 290del, 291del, 315.1C, 489C, 493G, 523del, 524del
F98E	C1b	C1b	COMPLETA	16093C, 16189C, 16193.1C, 16223T, 16298C, 16325C, 16327T, 16362C, 73G, 249del, 263G, 290del, 291del, 315.1C, 489C, 493G,

TABLA 3. Haplotipos mitocondrial región HVRI y HVRII de las muestras analizadas.

De 7 individuos que fueron clasificados en el periodo Formativo (I milenio a. C. A siglo IX d. C), 3 lograron ser secuenciados para un perfil completo de la región control. Los individuos restantes tienen fragmentos no amplificados, pero a pesar de ello se logró hacer la clasificación de sus haplogrupos: encontramos que 6 de ellos correspondían al haplogrupo B2d (83%), con la característica de la delección en la posición 498 que estuvo presente en las 6 secuencias analizadas; este grupo de individuos pertenece a un mismo hallazgo arqueológico en el municipio de Duitama (Boyacá, Colombia). La séptima muestra del periodo Formativo fue clasificada en el subhaplogrupo A2ac, y esta fue hallada en los alrededores del Templo del Sol (en el mismo lugar de las muestras del periodo Muisca). Esta última muestra también generó una secuencia parcial con el polimorfismo diagnóstico para el haplogrupo A en la posición 16290 que no se logró amplificar, y a pesar de esto se logra definir el subhaplogrupo gracias a la presencia del polimorfismo 16213A.

En los individuos con características morfológicas paleoamericanas y que por datación fueron clasificados como pertenecientes al periodo Precerámico (hasta el I milenio a. C), se logró obtener perfiles completos para la región control y estos fueron clasificados en los subhaplogrupos C1b y C1b8. El subhaplogrupo C1b8 se ha reportado en poblaciones de California (USA), México, Venezuela, Ecuador, Chile, Argentina y Brasil (González-Martín et al., 2015; Lander et al., 2008; Monroe et al., 2013; Tamm et al., 2007; Vona et al., 2005)

Análisis Filogenético

Inicialmente se construyeron redes medias (tipo *network*) a partir de datos de la región HVRI e HVRII de las muestras del estudio, sin incluir en este análisis las muestras que revelaron secuencias parciales para estas regiones (SM30, SM05, SM32, SM39, DT07, DT10, SM80). Así se evitó generar datos que puedan causar errores en la interpretación de la filiación de estos individuos. En la Figura 11 se observa claramente la presencia de los 4 haplogrupos mitocondriales característicos de los nativos americanos encontrados en la población estudiada,

en los que se destacan los subhaplogrupos encontrados en cada periodo analizado. En esta figura se distinguen claramente los haplotipos compartidos entre los periodos Muisca y Formativo para el subhaplogrupo B2d, la presencia del haplogrupo C1b en los periodos Precerámico y Muisca, y no se observa el haplogrupo A2 en periodos anteriores al Muisca.

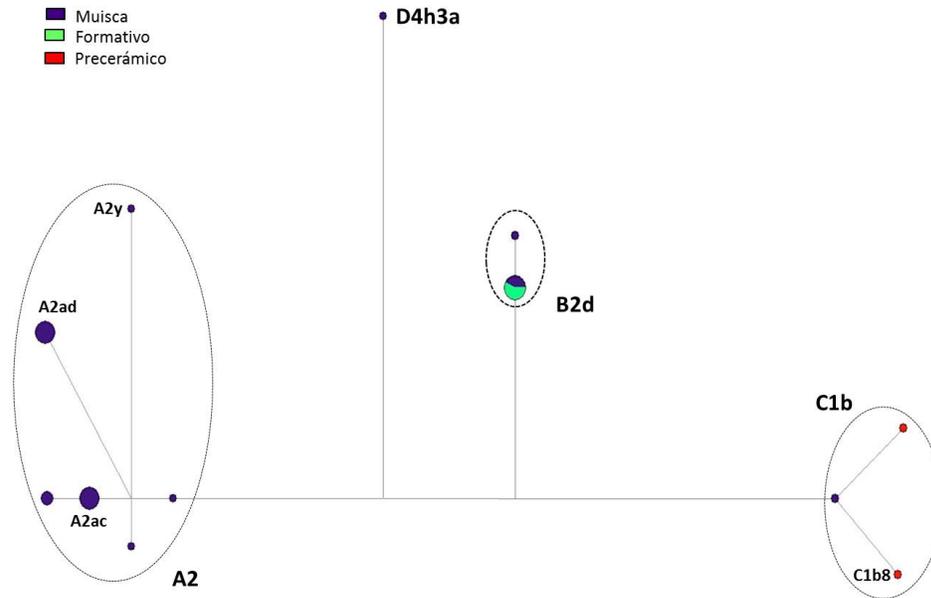


Figura 11. Análisis de redes medias (*Network*) de la región HVRI e HVRII de los haplogrupos encontrados en los individuos analizados en los diferentes periodos culturales. El color morado representa los individuos del periodo Muisca, verde representa el periodo Formativo y Rojo representa el periodo Precerámico.

En función de los subhaplogrupos del A2 encontrados en los muiscas, y en razón a su alta frecuencia en la población analizada, se decidió proceder a una búsqueda específica de la presencia de estos linajes en otras poblaciones americanas, incluyendo más de 5.600 secuencias de la región control reportadas en diferentes comunidades (Tabla 4). En esta búsqueda se encontraron 59 linajes A2ac, 51 linajes A2ad y 36 linajes A2y. Se realizó el análisis de redes para estos subhaplogrupos (Figura 12) en el que se observa que el haplogrupo más frecuente en nuestra muestra, A2ac, se halla también altamente representado en la

población colombiana moderna (siglos XX y XXI), incluyendo poblaciones Embera-Chamí, Vaupés y Bogotá-Mestizo (Tamm et al., 2007; Díaz-Matallana and Martínez_Cruzado, 2010; Xavier et al., 2015). Adicionalmente, los representantes de este haplogrupo comparten haplotipos con poblaciones de Panamá, Venezuela (Vona et al., 2005; Lander et al., 2008; Perego et al., 2012) y, en menor proporción, Ecuador y Perú (Tamm et al., 2007; Sandoval et al., 2013). Dentro del haplogrupo A2ad, se encuentran los subhaplogrupos A2ad1 y A2ad2, representados principalmente por la población de Panamá (Perego et al., 2012). El haplogrupo A2ad se caracteriza por los polimorfismos específicos 16175 y 16300 en la región HVRI, el A2ad1 presenta pérdida del polimorfismo 16111 y el A2ad2 se puede definir por la presencia de polimorfismos ubicados en la región codificante. En el *network* se observan tres claras agrupaciones: una de ellas incluye las muestras que pertenecen al haplogrupo A2ad1, seguido del A2ad2 que ha sido reportado y confirmado por otros autores (U. a Perego et al., 2012; Saunier et al., 2008); la última agrupación se caracteriza por poseer el polimorfismo 16259, el cual se encontró en las muestras analizadas clasificadas como A2ad y a su vez en otras poblaciones de Panamá, República Dominicana y población de origen hispano en los Estados Unidos (Achilli et al., 2008; Saunier et al., 2008; Perego et al., 2012).

En el presente estudio encontramos el haplogrupo A2y y se observa en el análisis de redes el nodo principal conformado por los linajes de la tribu Waorani (Cardoso et al., 2012) y un nodo menor conformado por el individuo muisca y comparte el haplotipo con otra muestra reportada anteriormente como de origen mestizo de Bogotá (Díaz-Matallana and Martínez_Cruzado, 2010).

Referencia	País	Comunidad	n	A2ac	A2ad	A2y
Tamm, 2007	Colombia	Vaupés	22	2	0	0
	Colombia	Secoyas-Sionas	12	1	0	0
	Colombia	Wayuu	42	0	0	0
	Colombia	Embera	39	0	0	0
	Colombia	Ijka	29	0	0	0
	Panamá	Ngobe	77	0	0	0
	Panamá	Waunana	57	0	0	0
	Ecuador	Cayapa	32	2	0	0
	Argentina	Tucumán	9	0	0	0
	Argentina	Salta	18	0	0	0
Perego, 2012	Panamá	Mestizo	1350	2	26	0
	Colombia	Mestizo	61	1	1	0
Xavier, 2015	Colombia	Embera Chami	38	16	0	0
	Colombia	Guambiano, Cauca	33	3	0	0
	Colombia	Chibcha	14	2	0	0
Torres, 2006	Colombia	Ocaina	2	0	0	0
Torres, 2006	Colombia	Ticuna	74	3	0	0
Zheng, 2012	Colombia	Medellín [Mestizo]	62	3	0	0
Díaz-Matallana, 2010	Colombia	Villa de Leyva	12	2	0	1
	Colombia	Bogotá	25	2	0	0
	Venezuela	Mérida	10	1	0	0
	Colombia	Santa Marta	12	0	0	0
Vona, 2005	Venezuela	Guahibo	59	11	0	0
Castro, 2012	Venezuela	Caracas	101	0	0	0
Lander, 2008	Venezuela	Mestizo	100	1	0	0
Carnese, 2010	Argentina	Salta	21	0	0	0
Saint-Pierre, 2012	Chile	Aymara	38	0	0	0
	Chile	Atacameño	29	0	0	0
	Chile	Mapuche	19	0	0	0
	Chile	Huilliche	59	0	0	0
	Chile	Pehuenche	42	0	0	0
	Chile	Kawasqar	13	0	0	0
	Chile	Yamana	21	0	0	0
	Argentina	Mapuche	51	0	0	0
	Argentina	Tchuelche	29	0	0	0
Costa, 2010	Bolivia	La Paz	110	0	0	0
Gayá-Vidal, 2011	Bolivia	Aymaras	96	0	0	0
		Quechas	93	0	0	0
Díaz-M, 2016	Colombia	Nemocón	22	0	0	0

Casas-V, 2011	Colombia	Guanes	17	0	0	0
Sandoval, 2013	Perú	Arawak- Yanesha	11	1	0	0
	Perú	Quechua-Cusco	30	2	0	0
Baca, 2012	Perú	Tompullo 2	41	0	0	0
Lewis, 2007	Perú	Aymara	14	0	0	0
		Puno	30	0	0	0
		Tupe	16	0	0	0
		Yungay	36	0	0	0
Fehren-S, 2015	Perú	Lauricocha	5	0	0	0
Valverde, 2016	Perú	Wari	34	0	0	0
Melton, 2013	Nicaragua y Costa Rica		131	0	0	0
González-M, 2015	México	Mestizo	520	0	0	0
Moraga, 2005	Chile	Valle Desierto	30	1	0	0
Salas, 2009	El salvador	Mestizo	90	0	2	0
Morera, 2002	Costa Rica	Mestizo	90	0	1	0
Mendizábal, 2008	Cuba	Mestizo	245	0	5	0
Alvarez, 2015	México	Mestizo	29	0	0	0
Mizuno F, 2014	México	Mestizo	113	0	0	0
Martínez, 2013	México	Mestizo	17	0	0	0
Monroe, 2013	California	sur	345	0	0	0
Mata-Miguez, 2012	México	Mestizo	25	0	0	0
Alves-Silva, 2000	Brasil	247	0	0	0
Corella, 2007	Bolivia	46	0	0	0
Saunier, 2008	US	<i>Hispanic</i>	128	1	3	0
Rasmussen, 2012	USA	Anzick	1	0	0	0
Behar, 2012		2	0	0
Cardoso, 2012	Ecuador	Waorani	35	0	0	35
TOTAL			5613	57	38	36

Tabla 4. Presencia de los subhaplogrupos A2ac, A2ad y A2y en el continente americano.

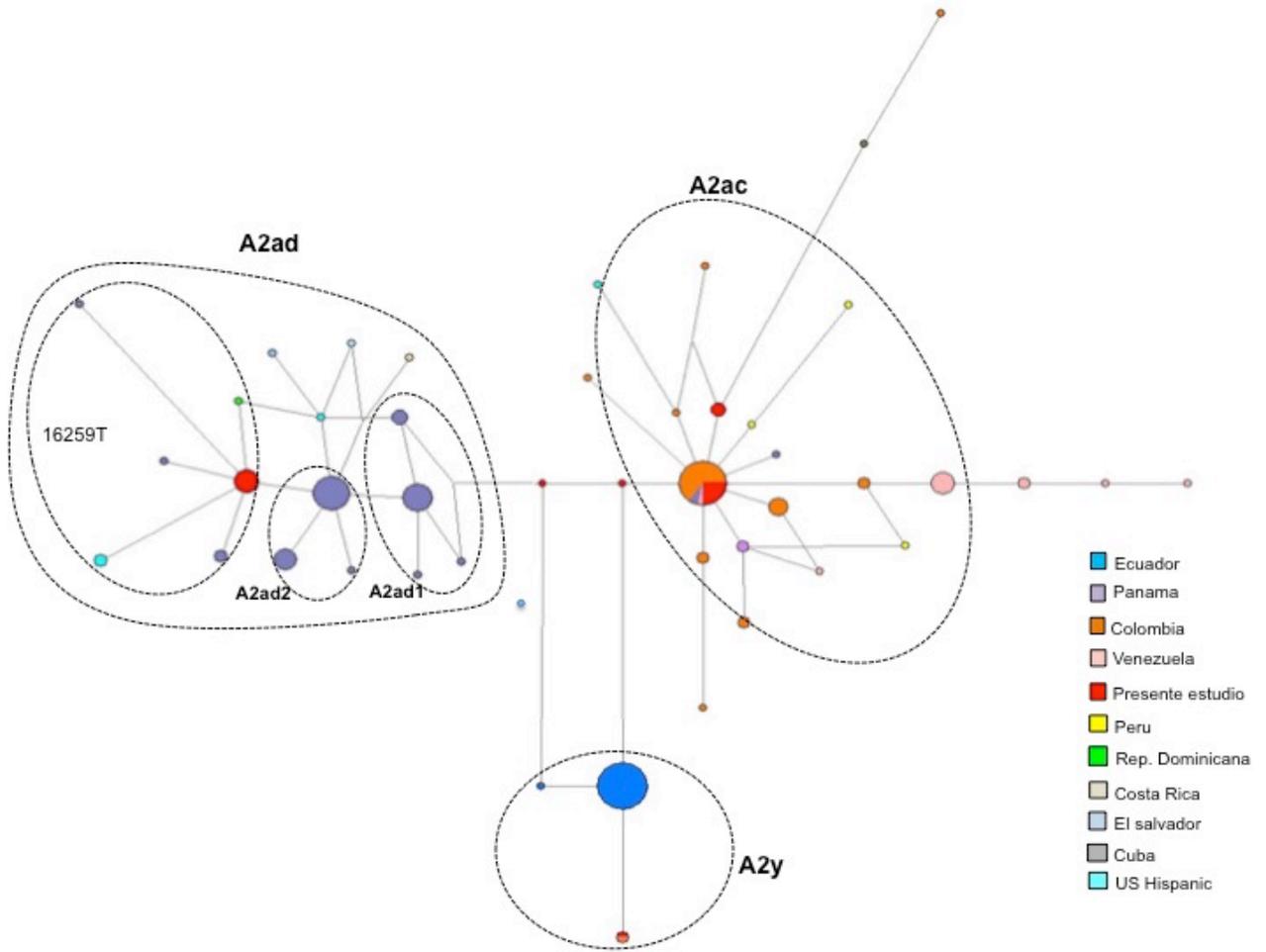


Figura 12. Network de subhaplogrupos A2ac, A2ad y A2y. Incluyendo 56 haplotipos A2ac, 49 A2ad y 36 A2y de diferentes poblaciones.

Diversidad genética

La tabla 5 muestra los valores de diversidad genética y nucleotídica en diferentes poblaciones modernas y antiguas de Colombia, Panamá, Venezuela y Ecuador (Vona et al., 2005; Tamm et al., 2007; Díaz-Matallana and Martínez_Cruzado, 2010; Cardoso et al., 2012; Perego et al., 2012; Xavier et al., 2015; Díaz-Matallana et al., 2016); esta fue estructurada a partir de datos de la región HVRI (16024-16400). Observando que la población con mayor diversidad nucleotídica es la población Waunana (Tamm et al., 2007) con un valor de 0,0180 y la población con menor diversidad fue la Waorani (Cardoso et al., 2012) 0,0003. Los individuos del periodo Muisca presentaron una diversidad de 0,0136 similar a la encontrada en poblaciones Guahibo de Venezuela (0,0135) (Vona et al., 2005), Secoya (0,0135) (Tamm et al., 2007) y Ngöbe de Panamá (0,0139) (Tamm et al., 2007). El índice para el periodo Formativo fue de 0,005 (teniendo en cuenta el número de 6 individuos), semejante a lo hallado en la población Ijka de Colombia (0,005) (Tamm et al., 2007).

ID (MDS)	Población	n	No de haplotipos	h	div nucleotídica	Referencia
1	ARSARIO	47	6	0,741	0,012	(Tamm et al., 2007)
2	CAYAPA	32	8	0,853	0,017	(Tamm et al., 2007)
3	COREGUAJE	27	9	0,835	0,016	(Tamm et al., 2007)
4	EMBERA	39	18	0,934	0,016	(Tamm et al., 2007)
5	IJKA	29	4	0,414	0,005	(Tamm et al., 2007)
6	KUNA	34	5	0,661	0,011	(Tamm et al., 2007)
7	KOGUI	48	7	0,619	0,012	(Tamm et al., 2007)
8	NGOBE	77	8	0,781	0,012	(Tamm et al., 2007)
9	SECOYA	10	5	0,822	0,013	(Tamm et al., 2007)
10	VAUPES	22	14	0,952	0,017	(Tamm et al., 2007)
11	WAUNANA	57	21	0,928	0,018	(Tamm et al., 2007)
12	WAYUU	42	8	0,799	0,015	(Tamm et al., 2007)
13	EMB_WAUNANA	53	13	0,899	0,017	(Perego et al., 2012)
14	KUNA_YALA	52	6	0,589	0,009	(Perego et al., 2012)
15	NGABE_BUGLE	28	7	0,862	0,014	(Perego et al., 2012)
16	EMBERA_CHAMI	38	7	0,750	0,013	(Xavier et al., 2015)
17	GUAMBIANO	33	13	0,847	0,012	(Xavier et al., 2015)
18	Nasa	14	13	0,989	0,021	(Xavier et al., 2015)
19	CHECUA	12	7	0,833	0,013	(Díaz-Matallana et al., 2016)
20	BOGOTA_MESTIZO	33	16	0,894	0,015	(Díaz-Matallana and Martínez_Cruzado, 2010)
21	GUAHIBO	59	11	0,840	0,014	(Vona et al., 2005)
22	WAORANI	35	2	0,057	0,000	(Cardoso et al., 2012)
23	MUISCA	30	12	0,851	0,014	Presente estudio
	FORMATIVO	6	2	0,333	0,005	Presente estudio
	PRECERAMICO	2	2	1,000	0,011	Presente estudio

Tabla 5. Diversidad Genética de las poblaciones Amerindias

Escalamiento multidimensional (MDS)

Nosotros evaluamos la relación de las diversidades genéticas del ADNmt del grupo cultural Muisca con las de algunas poblaciones modernas como Panamá, Ecuador, Venezuela y Colombia, así como con una población antigua de Colombia con base en una matriz de distancias genéticas y en su visualización como un escalamiento multidimensional (MDS). Los individuos de la cultura Muisca presentan diferencias con respecto a los otros grupos estudiados, y se observa una cercanía con un agrupamiento conformado por la población Checua (Precerámico) (Díaz-Matallana et al., 2016), Bogotá-Mestizo (moderna) (Díaz-Matallana and Martínez_Cruzado, 2010) y Guahibo (moderna) (Vona et al., 2005) (Figura 13).

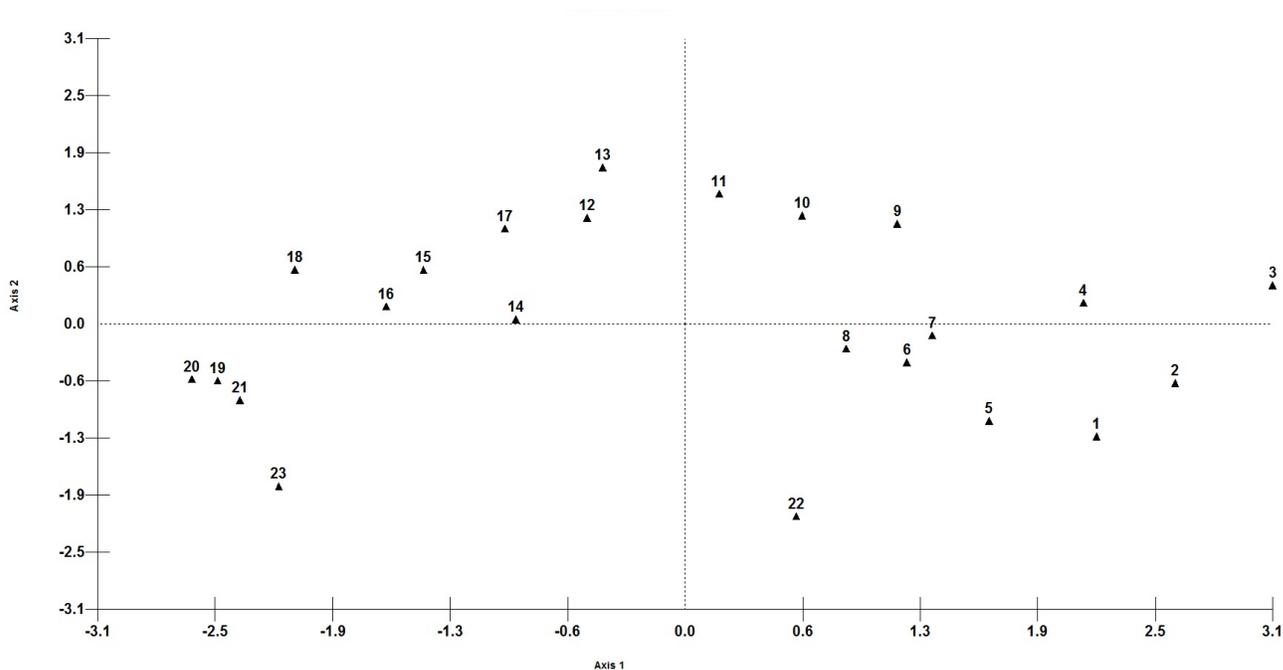


Figura 13. Gráfica de escalamiento multidimensional (MDS) de distancias genéticas de Slatkin's F_{ST} de 23 poblaciones incluidas en la Tabla 4. Los números asignados para cada población están dados en la Tabla 4.

Criterios de autenticidad

Se realizó análisis de reproducibilidad de 7 muestras pertenecientes al periodo Muisca secuenciando la región HVRI en el laboratorio del Instituto de Medicina legal de la Universidad de Medicina en Innsbruck, Austria, y en el laboratorio del Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia, en donde se confirmaron los resultados de estas muestras obtenidos en ambas instituciones coincidiendo tanto en el haplogrupo como en el haplotipo de cada una de ellas. Además de esta confirmación, y teniendo en cuenta que uno de los investigadores posee el haplogrupo más frecuente encontrado en el estudio, se llevó a amplificar su genoma mitocondrial completo y se logró confirmar que no hubo contaminación cruzada con las muestras precolombinas, ya que el haplotipo del investigador incluye un polimorfismo en la posición 150 que no se halló en las muestras analizadas.

DISCUSIÓN

Nosotros secuenciamos 38 genomas mitocondriales de tres periodos culturales sucesivos Muisca, Formativo y Precerámico. A pesar de no lograr en algunos casos las secuencias completas en razón a la característica fragilidad de las muestras antiguas, se decidió concentrarse en esta fase en la región *D-Loop* para consolidar análisis bien fundamentados.

En resumen, se encontraron cuatro de los cinco macrohaplogrupos mitocondriales característicos de los nativos americanos: A, B, C y D. Entre estos, el subhaplogrupo A2ac fue el más frecuente en el periodo cultural Muisca, y también fue encontrado en un individuo que proviene en el periodo Formativo y que fue hallado también en los alrededores del Templo del Sol. Este subhaplogrupo ha sido reportado en otras poblaciones, pero al realizar una búsqueda de este linaje en América, incluyendo individuos modernos del siglo XX y XXI, se observa una alta concentración de este en Colombia, en diferentes tipos de comunidades, tanto en nativos americanos como en población mestiza (Torres et al., 2006; Tamm et al., 2007; Díaz-Matallana and Martínez_Cruzado, 2010; Xavier et al., 2015). Este

mismo se ha encontrado en menor proporción en Venezuela, Panamá, Ecuador y Perú (Vona et al., 2005; Tamm et al., 2007; Lander et al., 2008; Perego et al., 2012; Sandoval et al., 2013) (Figura 14). Tan solo un (1) individuo precolombino, proveniente de una comunidad del valle del desierto del Norte de Chile, posee este linaje (Moraga et al., 2005). Sin embargo, este individuo no fue incluido en el análisis de redes ya que solo se reportó la región HVRI. En el análisis de redes se incluyeron linajes configurados a partir de secuencias de la región HVRI y HVRII de diferentes partes de América. El subhaplogrupo A2ac no ha sido reportado en nativos de Norteamérica y México (Álvarez-Sandoval, Manzanilla, González-Ruiz, Malgosa, & Montiel, 2015; González-Martín et al., 2015; Martínez-Cortés et al., 2013; Mata-Míguez et al., 2012; Mizuno et al., 2014; Monroe et al., 2013); en Centroamérica se encontró solo en Panamá y Cuba (Behar et al., 2012; Perego et al., 2012); en Suramérica en Venezuela, Ecuador, Perú y Chile (Moraga et al., 2005; Tamm et al., 2007; Sandoval et al., 2013); Saunier et al (Saunier et al., 2008), reportaron haplotipos en estadounidenses de origen hispano, sin especificar el origen geográfico de los individuos. Al observar una alta concentración de este subhaplogrupo en poblaciones colombianas modernas y siendo el nuestro uno de los primeros reportes de este linaje en población antigua, es importante resaltar que su nodo principal está conformado por individuos muisca asociados al Templo del Sol y por individuos modernos de la misma región. Más específicamente, se encontró que los individuos precolombinos analizados comparten haplotipos con individuos modernos provenientes de regiones cercanas en el altiplano cundiboyacense (Díaz-Matallana and Martínez_Cruzado, 2010).

En segundo orden, encontramos el subhaplogrupo A2ad que ha sido reportado inicialmente en la población de Panamá, en donde se reportaron los subhaplogrupos A2ad1 y A2ad2 (Perego et al., 2012) (Figura 14). En el análisis de redes observamos claramente tres agrupaciones en las que se destaca el haplogrupo A2ad1 por la pérdida del polimorfismo 16111. Perego y cols. (2012) reportan las secuencias que poseen el polimorfismo 16111 como A2ad2, pero al realizar nuestros análisis se observa una clara separación entre secuencias que

adicionalmente poseen el polimorfismo 16259 con la que no lo tienen. Todos los individuos analizados pertenecientes a este haplogrupo poseen este polimorfismo conformando un nodo principal ancestral del cual se desprenden los otros haplotipos encontrados en República Dominicana (Achilli et al., 2008), y en hispanos de los Estados Unidos (Saunier et al., 2008) incluyendo también individuos de Panamá que habían sido clasificados como A2ad2, que poseen también este polimorfismo. En consecuencia, y con base en estos hallazgos, se podría designar un nuevo sublinaje mitocondrial como A2ad3. Este nuevo sublinaje estaría representado principalmente por los individuos analizados en el presente estudio. Perego y cols, reportan que uno de los linajes con presencia de este polimorfismo tiene, justamente, un origen materno colombiano (Perego et al., 2012).

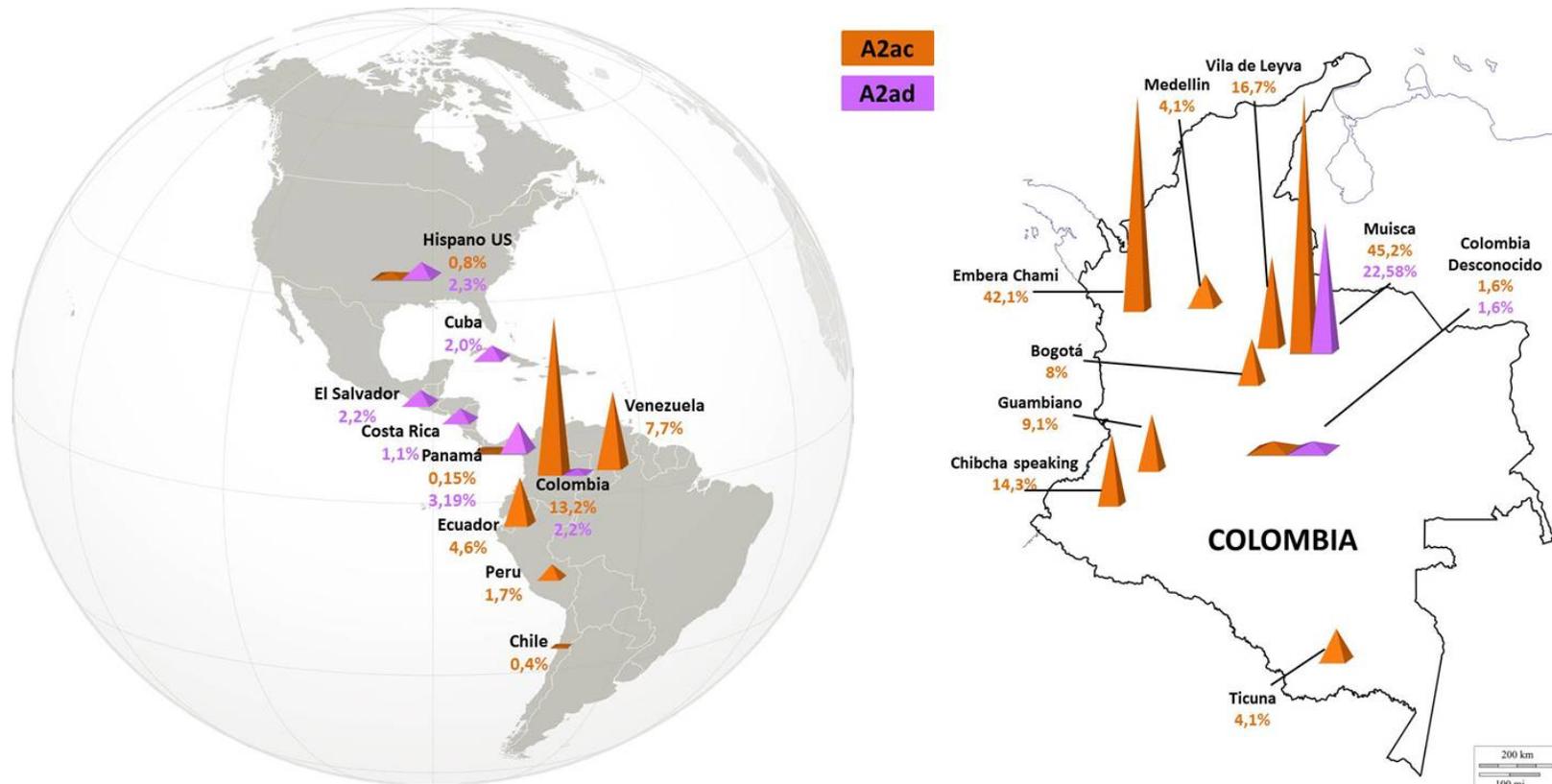


Figura 14. Distribución espacial de los haplogrupos mitocondriales A2ac y A2ad identificados en la población del continente americano. Los valores exactos están listados en la tabla 4

Por otra parte, otro subhaplotipo interesante es el A2y, que ha sido reportado en una población aislada amazónica refiriéndose a este como “específico waorani” (Cardoso et al., 2012). Al hacer la búsqueda en otros reportes colombianos, se encontró que Díaz-Matallana ya había reportado este linaje en 2010 en un individuo de origen colombiano, proveniente de un municipio cercano a Sogamoso donde se han encontrado los restos antiguos del presente trabajo, indicando una posible continuidad de este linaje en las comunidades modernas de la región (Díaz-Matallana and Martínez_Cruzado, 2010). Cardoso y cols (2012), discuten acerca de las poblaciones aisladas genéticamente, en las que se evidencia su baja diversidad mitocondrial, y relacionan este concepto con el hallazgo de este subhaplogrupo que no había sido reportado hasta la fecha de su publicación en otras poblaciones amerindias. A pesar de ello, al encontrar este linaje en los individuos precolombinos analizados por nosotros, se muestra cómo los hallazgos en ADN antiguo pueden recuperar las fuentes de linajes aparentemente extintos después de la Conquista, y que se convierten, posiblemente por un efecto fundador, en aparentes linajes “privados” como los Waorani de quienes se ha reportado que descenderían de cazadores-recolectores (Wallis, 1973). Debe tenerse en cuenta, sin embargo, que a finales del Pleistoceno no existía la cobertura boscosa tropical, sino llanuras, y que de esta manera los ancestros de este linaje habrían logrado remontarse hacia el interior de Colombia y, adicionalmente, dirigirse hacia el Sur, donde más tarde, en la selva tropical que conocemos hoy en día, se habría provocado el aislamiento de las comunidades que se habían asentado en las regiones amazónicas, las cuales, por diferentes efectos de deriva y efectos fundadores conllevaron a la disminución de su diversidad génica.

A lo largo del continente americano se han encontrado diferencias morfológicas entre los restos antiguos de los primeros pobladores, entre las que se ha destacado que los primeros pobladores se caracterizaban por poseer un cráneo más alargado denominado dolicocefalo, característico de los cazadores-recolectores (O'Rourke & Raff, 2010). Esta morfología se ha encontrado en varios hallazgos arqueológicos desde el Norte hasta el Sur de América (Rothhammer and Dillehay, 2009; Chatters et al., 2014; Dillehay et al., 2015) . En

los periodos sucesivos se observa un cambio en la morfología más redondeada denominada braquicefalia. A partir de allí se han planteado hipótesis arqueológicas del poblamiento americano, en el cual se postula la teoría migracionista, donde los primeros pobladores fueron remplazados por una nueva oleada migratoria y de esta manera cambió la morfología craneana (Neves et al., 2003; Powell & Neves, 1999) . Otra de estas hipótesis o teorías es la microevolucionista, en la cual, como producto de cambios ambientales y alimenticios, se habría provocado la transición de dolicocefalos a braquicefalos (Rodríguez, 1987, 2011; De Azevedo et al., 2011) .

En este trabajo se estudiaron a nivel molecular individuos paleoamericanos con su morfología dolicocefala característica y también individuos braquicefalos de los periodos posteriores. Al analizar su composición genética, y como una prueba más de continuidad de linajes en las poblaciones del Norte de Suramérica, encontramos que en el periodo más antiguo, los haplogrupos C1b y C1b8 que han sido reportados en diferentes comunidades modernas de América y que han sido considerados como haplogrupos fundadores de los americanos, fueron a su vez encontrados en el periodo más reciente inmediatamente antes de la Conquista (Gómez-Carballa et al., 2015b). Debido al estado de degradación de las muestras no fue posible obtener resultados para más individuos. Sin embargo, la proporción de 13 / 45 extracciones, amplificaciones y secuenciaciones exitosas en muestras precolombinas es alta en comparación con trabajos reportados previamente por diferentes grupos a nivel mundial. A su vez, el periodo que sigue al Precerámico es el Formativo, y encontramos la evidencia del haplogrupo B2d, presente en individuos del mismo hallazgo arqueológico, mostrando una posible relación biológica entre ellos, teniendo en cuenta que la densidad demográfica era baja por lo tanto se esperaría una baja diversidad genética, estos resultados son compatibles por los encontrados en Madrid (Cundinamarca-Colombia) (Periodo Formativo) en donde todos los individuos analizados para HVR I pertenecían al mismo haplogrupo B (Silva et al., 2008). Este haplogrupo también está presente en el periodo Muisca, indicando una posible continuidad de estos linajes a través del tiempo. Díaz-Matallana y col. (2016) analizaron la región HVRI de restos antiguos provenientes de una región relativamente cercana en el altiplano

Cundiboyacense colombiano en el municipio de Nemocón, Cundinamarca, los cuales fueron datados por ^{14}C en un rango de 8.500-3.000 años A. P., clasificados dentro del periodo Precerámico. En este estudio se encontró una alta frecuencia de A2, seguida de B2, C1 y D4h3a. Este último haplogrupo, hallado también en uno de los individuos del presente trabajo alrededor del Templo del Sol, ha sido descrito a lo largo de la Costa Pacífica del Norte al Sur de América (Perego et al., 2009; Fehren-Schmitz et al., 2011; Rasmussen et al., 2014).

CONCLUSIÓN

Nuestros hallazgos presentan evidencias de cuatro de los cinco haplogrupos fundadores de los nativos americanos en individuos que pertenecen a tres periodos culturales sucesivos en terrenos cercanos en donde se construyó el Templo del Sol en épocas precolombinas. Adicionalmente, concuerdan con la hipótesis del poblamiento americano que postula que los cuatro haplogrupos han estado presentes desde muy temprano en el Nuevo Mundo, y han tenido una continuidad genética en Colombia a través de los periodos Precerámico, Formativo o Herrera, Muisca y contemporáneo. Adicionalmente, se evidencia el hallazgo de un nuevo sublinaje A2 designado posiblemente como A2ad3. Y presencia de otros sublinajes que posiblemente tuvieron origen en el territorio colombiano y se dispersaron en sus alrededores como Panamá, Ecuador, Venezuela y Perú.

BIBLIOGRAFIA

- Achilli A, Perego U a., Bravi CM, Coble MD, Kong Q-P, Woodward SR, Salas A, Torroni A, Bandelt H-J. 2008. The Phylogeny of the Four Pan-American MtDNA Haplogroups: Implications for Evolutionary and Disease Studies. *PLoS One* 3:e1764.
- Achilli A, Perego U a, Lancioni H, Olivieri A, Gandini F, Hooshiar Kashani B, Battaglia V, Grugni V, Angerhofer N, Rogers MP, Herrera RJ, Woodward SR, Labuda D, Smith DG, Cybulski JS, Semino O, Malhi RS, Torroni A. 2013.

- Reconciling migration models to the Americas with the variation of North American native mitogenomes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110:14308–13.
- Álvarez-Sandoval BA, Manzanilla LR, González-Ruiz M, Malgosa A, Montiel R. 2015. Genetic evidence supports the multiethnic character of teopancazco, a neighborhood center of teotihuacan, Mexico (ad 200-600). *PLoS One* 10:1–19.
- Andrews RM, Kubacka I, Chinnery PF, Lightowlers RN, Turnbull DM, Howell N. 1999. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nat Genet* 23:147.
- De Azevedo S, Bortolini MC, Bonatto SL, Hünemeier T, Santos FR, González-José R. 2015. Ancient remains and the first peopling of the Americas: Reassessing the Hoyo Negro skull. *Am J Phys Anthropol* 158:514–521.
- De Azevedo S, Nocera A, Paschetta C, Castillo L, González M, González-José R. 2011. Evaluating microevolutionary models for the early settlement of the New World: the importance of recurrent gene flow with Asia. *Am J Phys Anthropol* 146:539–52.
- Bandelt H-J, Forster P, Röhl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol* 16:37–48.
- Barbieri C, Heggarty P, Yao DY, Ferri G, De Fanti S, Sarno S, Ciani G, Boattini A, Luiselli D, Pettener D. 2014. Between Andes and Amazon: The genetic profile of the Arawak-speaking Yanéscha. *Am J Phys Anthropol* 155:600–609.
- Batista O, Kolman C, Bermingham E. 1995. Mitochondrial DNA diversity in the Kuna Amerinds of Panama. *Hum Mol Genet*:921–929.
- Behar DM, Van Oven M, Rosset S, Metspalu M, Loogväli EL, Silva NM, Kivisild T, Torroni A, Villems R. 2012. A “copernican” reassessment of the human mitochondrial DNA tree from its root. *Am J Hum Genet* 90:675–684.
- Bodner M, Perego U a, Huber G, Fendt L, Röck AW, Zimmermann B, Olivieri A, Gómez-Carballa A, Lancioni H, Angerhofer N, Bobillo MC, Corach D, Woodward SR, Salas A, Achilli A, Torroni A, Bandelt H-J, Parson W. 2012. Rapid coastal spread of First Americans: novel insights from South America’s Southern Cone mitochondrial genomes. *Genome Res* 22:811–20.
- Bolnick D a., Bonine HM, Mata-Míguez J, Kemp BM, Snow MH, Leblanc S a. 2012. Nondestructive sampling of human skeletal remains yields ancient nuclear and

- mitochondrial DNA. *Am J Phys Anthropol* 147:293–300.
- Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, Vaughan T, Wu CH, Xie D, Suchard MA, Rambaut A, Drummond AJ. 2014. BEAST 2: A Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis. *PLoS Comput Biol* 10:1–6.
- Buitrago LM, Rodríguez O. 1999. ESTUDIO BIOANTROPOLÓGICO DE LA COLECCIÓN ELIÉCER SILVA CELIS, MUSEO ARQUEOLÓGICO DE SOGAMOSO. In: Rodríguez C JV, editor. *Los Chibchas: adaptación y diversidad en los Andes Orientales de Colombia*. Bogotá D.C.: Editora Guadalupe Ltda. p 217–236.
- Cardoso S, Alfonso-Sánchez M a, Valverde L, Sánchez D, Zarrabeitia MT, Odriozola a, Martínez-Jarreta B, de Pancorbo MM. 2012. Genetic uniqueness of the Waorani tribe from the Ecuadorian Amazon. *Heredity (Edinb)* 108:609–615.
- Casas-Vargas A, Gómez A, Briceño I, Díaz-Matallana M, Bernal JE, Rodríguez JV. 2011. High genetic diversity on a sample of pre-Columbian bone remains from Guane territories in northwestern Colombia. *Am J Phys Anthropol* 649:637–649.
- Casas-Vargas A, Romero L, Usaquen W, Zea S, Silva M, Briceño I, Gómez A, Rodríguez JV. 2017. Diversidad del ADN mitocondrial en restos óseos prehispánicos asociados al templo del sol en los andes orientales colombianos. *Biomédica* 37:1–9.
- Castro-de-Guerra D, Figuera Pérez C, Bravi CM, Saunier J, Scheible M, Irwin J, Coble MD, Rodríguez-Larralde a. 2012. Sequence variation of mitochondrial DNA control region in North Central Venezuela. *Forensic Sci Int Genet* 6:e131-3133.
- Chatters JC, Kennett DJ, Asmerom Y, Kemp BM, Polyak V, Blank AN, Beddows P a, Reinhardt E, Arroyo-Cabrales J, Bolnick D a, Malhi RS, Culleton BJ, Erreguerena PL, Rissolo D, Morell-Hart S, Stafford TW. 2014. Late Pleistocene human skeleton and mtDNA link Paleoamericans and modern Native Americans. *Science* 344:750–4.
- Chen XJ, Butow R a. 2005. The organization and inheritance of the mitochondrial genome. *Nat Rev Genet* 6:815–25.

- Cooke R, Ranere A, Pearson G, Dickau R. 2013. Radiocarbon chronology of early human settlement on the Isthmus of Panama (13,000-7000BP) with comments on cultural affinities, environments, subsistence, and technological change. *Quat Int* 301:3–22.
- Cooper A, Poinar HN. 2000. Ancient DNA: Do It Right or Not at All. *Science* (80-) 289:1139.
- Cramon-Taubadel N Von, Strauss A, Hubbe M. 2017. Evolutionary population history of early Paleoamerican cranial morphology.
- Cui Y, Lindo J, Hughes CE, Johnson JW, Hernandez AG, Kemp BM, Ma J, Cunningham R, Petzelt B, Mitchell J, Archer D, Cybulski JS, Malhi RS. 2013. Ancient DNA Analysis of Mid-Holocene Individuals from the Northwest Coast of North America Reveals Different Evolutionary Paths for Mitogenomes. *PLoS One* 8.
- Díaz-Matallana M, Gómez A, Briceño I, Rodríguez JV. 2016. Genetic analysis of Paleo-Colombians from Nemocón , Cundinamarca provides insights on the early peopling of Northwestern South America. *Rev Acad Colomb Cienc* 40:461–483.
- Díaz-Matallana M, Martínez_Cruzado JC. 2010. Estudios sobre ADN mitocondrial sugieren un linaje predominante en la cordillera Oriental de Colombia y un vínculo suramericano para los arcaicos de Puerto Rico. *Univ Médica* 51:241–272.
- Dickau R, Aceituno FJ, Loaiza N, López C, Cano M, Herrera L, Restrepo C, Ranere AJ. 2015. Radiocarbon chronology of terminal Pleistocene to middle Holocene human occupation in the Middle Cauca Valley, Colombia. *Quat Int* 363:43–54.
- Dillehay TD. 2009. Probing deeper into first American studies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:971–8.
- Dillehay TD, Ocampo C, Saavedra J, Sawakuchi AO, Vega RM, Pino M, Collins MB, Cummings LS, Arregui I, Td D, Saavedra OC, Ao S, Rm V, Pino M. 2015. New Archaeological Evidence for an Early Human Presence at Monte Verde, Chile. *PLoS One* 10:1–28.
- Dillehay TD, Ramírez C, Pino M, Collins MB, Rossen J, Pino-Navarro JD. 2008.

- Monte Verde: seaweed, food, medicine, and the peopling of South America. *Science* 320:784–6.
- Egeland T, Mostad P, Mevag B, Stenersen M. 2000. Beyond traditional paternity and identification cases. Selecting the most probable pedigree. *Forensic Sci Int* 110.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S. 2005a. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform Online* 1:47–50.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S. 2005b. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform Online* 1:47–50.
- Fagundes NJR, Kanitz R, Eckert R, Valls ACS, Bogó MR, Salzano FM, Smith DG, Jr WAS, Zago MA, Ribeiro-dos-Santos AK, Santos SEB, Petzl-Erler ML, Bonatto SL, Silva W a. 2008. Mitochondrial Population Genomics Supports a Single Pre-Clovis Origin with a Coastal Route for the Peopling of the Americas. *Am J Hum Genet* 82:583–592.
- Fehren-Schmitz L, Llamas B, Lindauer S, Tomasto-Cagigao E, Kuzminsky S, Rohland N, Santos FR, Kaulicke P, Valverde G, Richards SM, Nordenfelt S, Seidenberg V, Mallick S, Cooper A, Reich D, Haak W. 2015. A Re-Appraisal of the Early Andean Human Remains from Lauricocha in Peru. *PLoS One* 10:e0127141.
- Fehren-Schmitz L, Warnberg O, Reindel M, Seidenberg V, Tomasto-Cagigao E, Isla-Cuadrado J, Hummel S, Herrmann B. 2011. Diachronic investigations of mitochondrial and Y-chromosomal genetic markers in pre-Columbian Andean highlanders from South Peru. *Ann Hum Genet* 75:266–83.
- Fernández C. 1999. La arqueología molecular aplicada ala solución de problemas prehistoricos: análisis de ADN mitocondrial en momias y restos óseos prehispanicos (Tesis).
- García F, Moraga M, Vera S, Henríquez H, Llop E, Aspillaga E, Rothhammer F. 2006. mtDNA microevolution in Southern Chile's archipelagos. *Am J Phys Anthropol* 129:473–81.
- Gilbert MTP, Hofreiter M, Barnes I. 2005. Assessing ancient DNA studies. October 20.

- Ginther C, Corach D, Penacino G, Rey J, Carnese F, Hutz M, Anderson A, Just J, Salzano F, King M-C. 1993. Genetic variation among the Mapuche Indians from the Patagonian region of Argentina: mitochondrial DNA sequence variation and allele frequencies of several nuclear genes. In: : Pena S, Chakraborty R, Epplen J, Jeffreys A, editors. DNA finger- printing: state of the science. 1st ed. Birkhäuser Basel. p 211–219.
- Goebel T, Waters MR, O’Rourke DH. 2008. The late Pleistocene dispersal of modern humans in the Americas. *Science* 319:1497–502.
- Gomes SM, Bodner M, Souto L, Zimmermann B, Huber G, Strobl C, Röck AW, Achilli A, Olivieri A, Torroni A, Côrte-Real F, Parson W. 2015. Human settlement history between Sunda and Sahul: a focus on East Timor (Timor-Leste) and the Pleistocenic mtDNA diversity. *BMC Genomics* 16:70.
- Gómez-Carballa A, Catelli L, Pardo-Seco J, Martínón-Torres F, Roewer L, Vullo C, Salas A. 2015a. The complete mitogenome of a 500-year-old Inca child mummy. *Sci Rep* 5:16462.
- Gómez-Carballa A, Catelli L, Pardo-Seco J, Martínón-Torres F, Roewer L, Vullo C, Salas A. 2015b. The complete mitogenome of a 500-year-old Inca child mummy. *Sci Rep* 5:16462.
- González-José R, Bortolini MC, Santos FR, Bonatto SL. 2008. The peopling of America: craniofacial shape variation on a continental scale and its interpretation from an interdisciplinary view. *Am J Phys Anthropol* 137:175–87.
- González-Martín A, Gorostiza A, Regalado-Liu L, Arroyo-Peña S, Tirado S, Nuño-Arana I, Rubi-Castellanos R, Sandoval K, Coble MD, Rangel-Villalobos H. 2015. Demographic history of indigenous populations in Mesoamerica based on mtDNA sequence data. *PLoS One* 10.
- Hartmann A, Thieme M, Nanduri LK, Stempf T, Moehle C, Kivisild T, Oefner PJ. 2009. Validation of microarray-based resequencing of 93 worldwide mitochondrial genomes. *Hum Mutat* 30:115–122.
- Hrdlicka A. 1937. The origin and antiquity of the American Indian. *Annu Rep Smithson Inst Washington*.
- Hubbe M, Harvati K, Neves W. 2011. Paleoamerican morphology in the context of European and East Asian late Pleistocene variation: implications for human

- dispersion into the New World. *Am J Phys Anthropol* 144:442–53.
- Hubbe M, Neves W a, Harvati K. 2010. Testing evolutionary and dispersion scenarios for the settlement of the new world. *PLoS One* 5:e11105.
- Huel R, Amory S, Bilic A, Vidovic S, Jasaragic E, Parsons T. 2012. DNA extraction from aged skeletal samples for STR typing by capillary electrophoresis. *Methods Mol Biol* 830:185–98.
- Huffine E, Crews J, Kennedy B, Bomberger K, Zinbo A. 2001. Mass identification of persons missing from the break-up of the former Yugoslavia: structure, function, and role of the International Commission on Missing Persons. *Croat Med J* 42:271–5.
- Just RS, Diegoli TM, Saunier JL, Irwin JA, Parsons TJ. 2008. Complete mitochondrial genome sequences for 265 African American and U.S. “Hispanic” individuals. *Forensic Sci Int Genet* 2:45–48.
- Kaestle F a, Smith DG. 2001. Ancient mitochondrial DNA evidence for prehistoric population movement: the Numic expansion. *Am J Phys Anthropol* 115:1–12.
- Kemp BM, Malhi RS, Mcdonough J, Bolnick DA, Eshleman JA, Rickards O, Martinez-labarga C, Johnson JR, Lorenz JG, Dixon EJ, Fifield TE, Heaton TH, Worl R, Smith DG. 2007a. Genetic Analysis of Early Holocene Skeletal Remains From Alaska and its Implications for the Settlement of the Americas. *System* 621:605–621.
- Kemp BM, Malhi RS, McDonough J, Bolnick DA, Eshleman JA, Rickards O, Martinez-Labarga C, Johnson JR, Lorenz JG, Dixon EJ, Fifield TE, Heaton TH, Worl R, Smith DG. 2007b. Genetic analysis of early holocene skeletal remains from Alaska and its implications for the settlement of the Americas. *Am J Phys Anthropol* 132:605–621.
- Keyeux G, Rodas C, Gelvez N, Carter D. 2002. Possible migration routes into South America deduced from mitochondrial DNA studies in Colombian Amerindian Populations. *Hum Biol* 74:211–33.
- Kitchen A, Miyamoto MM, Mulligan CJ. 2008. A Three-Stage Colonization Model for the Peopling of the Americas. *PLoS One* 3:e1596.
- Kolman CJ, Bermingham E, Cooke R, Ward RH, Arias TD, Guionneau-Sinclair F. 1995. Reduced mtDNA diversity in the Ngöbé Amerinds of Panamá. *Genetics*

140:275–83.

Kovach W. 2007. MVSP - A MultiVariate Statistical Package for Windows, ver. 3.1.

De La Fuente C, Galimany J, Kemp BM, Judd K, Reyes O, Moraga M. 2015.

Ancient marine hunter-gatherers from Patagonia and Tierra Del Fuego: Diversity and differentiation using uniparentally inherited genetic markers. *Am J Phys Anthropol* 158:719–729.

Lalueza-Fox C, Calderón FL, Calafell F, Morera B, Bertranpetit J. 2001. MtDNA from extinct Tainos and the peopling of the Caribbean. *Ann Hum Genet* 65:137–51.

Lalueza-Fox C, Sampietro ML, Gilbert MTP, Castri L, Facchini F, Pettener D, Bertranpetit J. 2004. Unravelling migrations in the steppe: mitochondrial DNA sequences from ancient central Asians. *Proc Biol Sci* 271:941–7.

Lander N, Rojas MG, Chiurillo MA, Ramírez JL. 2008. Haplotype diversity in human mitochondrial DNA hypervariable regions I-III in the city of Caracas (Venezuela). *Forensic Sci Int Genet* 2:0–3.

Langebaek C. 1987. Mercados, Poblamiento e Integración Étnica entre los Muisca del siglo XVI. Bogotá D.C.: Banco de la República.

Lell JT, Sukernik RI, Starikovskaya YB, Su B, Jin L, Schurr TG, Underhill PA, Wallace DC. 2002. The Dual Origin and Siberian Affinities of Native American Y Chromosomes. *Am J Hum Genet* 70:192–206.

Lewis CM, Lizárraga B, Tito RY, López PW, Iannacone GC, Medina A, Martínez R, Polo SI, De La Cruz AF, Cáceres AM, Stone AC. 2007. Mitochondrial DNA and the peopling of South America. *Hum Biol* 79:159–78.

Llamas B, Fehren-Schmitz L, Valverde G, Soubrier J, Mallick S, Rohland N, Nordenfelt S, Valdiosera C, Richards SM, Rohlach A, Barreto-Romero MI, Flores-Espinoza I, Tomasto-Cagigao E, Watson-Jimenez L, Makowski K, Santiago-Leboreiro-Reyna I, Mansilla-Lory J, Ballivian-Torrez JA, Rivera MA, Burger RL, Constanza-Ceruti M, Reinhard J, Wells RS, Politis G, Santoro CM, Standen VG, Smith C, Reich D, Ho SYW, Cooper A, Haak W. 2016. Ancient mitochondrial DNA provides high-resolution timescale of the peopling of the Americas. *Sci Adv*.

LLeras R. 1995. Diferentes oleadas de poblamiento en la prehistoria tardía de los

- Andes Orientales. *Bol del Mus del Oro* 38–39:3–11.
- Martínez-Cortés G, Salazar-Flores J, Haro-Guerrero J, Rubi-Castellanos R, Velarde-Félix JS, Muñoz-Valle JF, López-Casamichana M, Carrillo-Tapia E, Canseco-Avila LM, Bravi CM, López-Armenta M, Rangel-Villalobos H. 2013. Maternal admixture and population structure in Mexican-Mestizos based on mtDNA haplogroups. *Am J Phys Anthropol* 151:526–537.
- Mata-Míguez J, Overholtzer L, Rodríguez-Alegría E, Kemp BM, Bolnick DA. 2012. The genetic impact of Aztec imperialism: Ancient mitochondrial DNA evidence from Xaltocan, Mexico. *Am J Phys Anthropol* 149:504–516.
- Melton PE, Briceño I, Gómez A, Devor E, Bernal JE, Crawford MH. 2007. Biological Relationship Between Central and South American Chibchan Speaking Populations : Evidence From mtDNA. *Am J Phys Anthropol* 770:753–770.
- Mendisco F, Keyser C, Seldes V, Rivolta C, Mercolli P, Cruz P, Nielsen AE, Crubezy E, Ludes B. 2014. Genetic diversity of a late prehispanic group of the Quebrada de Humahuaca, Northwestern Argentina. *Ann Hum Genet* 78:367–380.
- Mizuno F, Gojobori J, Wang L, Onishi K, Sugiyama S, Granados J, Gomez-Trejo C, Acuña-Alonzo V, Ueda S. 2014. Complete mitogenome analysis of indigenous populations in Mexico: its relevance for the origin of Mesoamericans. *J Hum Genet*:1–9.
- Monroe C, Kemp BM, Smith DG. 2013. Exploring prehistory in the North American southwest with mitochondrial DNA diversity exhibited by Yumans and Athapaskans. *Am J Phys Anthropol* 150:618–631.
- Monsalve M V, Cardenas F, Guhl F, Delaney a D, Devine D V. 1996. Phylogenetic analysis of mtDNA lineages in South American mummies. *Ann Hum Genet* 60:293–303.
- Moraga M, Santoro CM, Standen VG, Carvallo P, Rothhammer F. 2005. Microevolution in prehistoric Andean populations: chronologic mtDNA variation in the desert valleys of northern Chile. *Am J Phys Anthropol* 127:170–81.
- Mulligan CJ, Kitchen A, Miyamoto MM. 2008. Updated three-stage model for the peopling of the Americas. *PLoS One* 3:e3199.

- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583–590.
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York, NY, USA: Columbia University Press.
- Neves WA, Hubbe M. 2005. Cranial morphology of early Americans from Lagoa Santa, Brazil: Implications for the settlement of the New World. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:18309–18314.
- Neves WA, Hubbe M, Correal G. 2007. Human Skeletal Remains From Sabana de Bogota Colombia : A Case of Paleoamerican Morphology Late Survival in South America ? *Am J Phys Anthropol* 1098:1080–1098.
- Neves WA, Prous A, González-José R, Kipnis R, Powell J. 2003. Early Holocene human skeletal remains from Santana do Riacho, Brazil: implications for the settlement of the New World. *J Hum Evol* 45:19–42.
- O’Rourke DH, Raff J a. 2010. The human genetic history of the Americas: the final frontier. *Curr Biol* 20:R202-7.
- van Oven M, Kayser M. 2009. Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. *Hum Mutat* 30:386–394.
- Pakendorf B, Stoneking M. 2005. Mitochondrial DNA and human evolution. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 6:165–83.
- Paredes M, Galindo A, Bernal M, Avila S, Andrade D, Vergara C, Rincon M, Romero R, Navarrete M, Cárdenas M, Ortega J, Suarez D, Cifuentes A, Salas A, Carracedo A. 2003. Analysis of the CODIS autosomal STR loci in four main Colombian regions. *Forensic Sci Int* 14:67–73.
- Parr R, Carlyle SW, O’Rourke DH. 1996. Ancient DNA analysis of Fremont Amerindians of the Great Salt Lake Wetlands. *Am J Phys Anthr* 99:507–518.
- Parson W, Strobl C, Huber G, Zimmermann B, Gomes SM, Souto L, Fendt L, Delport R, Langit R, Wootton S, Lagacé R, Irwin J. 2013. Reprint of: Evaluation of next generation mtGenome sequencing using the Ion Torrent Personal Genome Machine (PGM). *Forensic Sci Int Genet* 7:632–639.
- Parsons TJ, Huel R, Davoren J, Katzmarzyk C, Milo?? A, Selmanovi?? A, Smajlovi?? L, Coble MD, Rizvi?? A. 2007. Application of novel “mini-amplicon” STR multiplexes to high volume casework on degraded skeletal remains.

- Forensic Sci Int Genet 1:175–179.
- Pedersen MW, Ruter A, Schweger C, Friebe H, Staff RA, Kjeldsen KK, Mendoza MLZ, Beaudoin AB, Zutter C, Larsen NK, Potter BA, Nielsen R, Rainville RA, Orlando L, Meltzer DJ, Kjær KH, Willerslev E. 2016. Postglacial viability and colonization in North America's ice-free corridor. *Nature*:1–15.
- Perego UA, Achilli A, Angerhofer N, Accetturo M, Pala M, Olivieri A, Kashani BH, Ritchie KH, Scozzari R, Kong Q, Myres NM, Salas A, Semino O, Woodward SR. 2009. Distinctive Paleo-Indian Migration Routes from Beringia Marked by Two Rare mtDNA Haplogroups. *Curr Biol*:1–8.
- Perego U a, Lancioni H, Tribaldos M, Angerhofer N, Ekins JE, Olivieri A, Woodward SR, Pascale JM, Cooke R, Motta J, Achilli A. 2012. Decrypting the mitochondrial gene pool of modern Panamanians. *PLoS One* 7:e38337.
- Perego UA, Angerhofer N, Pala M, Olivieri A, Lancioni H, Kashani BH, Carossa V, Ekins JE, Go A, Huber G, Zimmermann B, Corach D, Babudri N, Panara F, Myres NM, Parson W, Semino O, Salas A, Woodward SR, Achilli A, Torroni A, De U. 2010. The initial peopling of the Americas : A growing number of founding mitochondrial genomes from Beringia. *Genome Res* 20:1174–1179.
- Perez SI, Bernal V, Gonzalez PN, Sardi M, Politis GG. 2009. Discrepancy between cranial and DNA data of early Americans: implications for American peopling. *PLoS One* 4:e5746.
- Powell JF, Neves W a. 1999. Craniofacial morphology of the first Americans: Pattern and process in the peopling of the New World. *Am J Phys Anthropol Suppl* 29:153–88.
- Rasmussen M, Anzick SL, Waters MR, Skoglund P, DeGiorgio M, Stafford TW, Rasmussen S, Moltke I, Albrechtsen A, Doyle SM, Poznik GD, Gudmundsdottir V, Yadav R, Malaspina A-S, White SS, Allentoft ME, Cornejo OE, Tambets K, Eriksson A, Heintzman PD, Karmin M, Korneliusson TS, Meltzer DJ, Pierre TL, Stenderup J, Saag L, Warmuth VM, Lopes MC, Malhi RS, Brunak S, Sicheritz-Ponten T, Barnes I, Collins M, Orlando L, Balloux F, Manica A, Gupta R, Metspalu M, Bustamante CD, Jakobsson M, Nielsen R, Willerslev E, V SSW, Allentoft ME, Cornejo OE, Tambets K, Eriksson A, Heintzman PD, Karmin M, Korneliusson TS, Meltzer DJ, Pierre TL, Stenderup

- J, Saag L, Warmuth VM, Lopes MC, Malhi RS, Brunak S, Slicheritz-Ponten T, Barnes I, Collins M, Orlando L, Balloux F, Manica A, Gupta R, Metspalu M, Bustamante CD, Jakobsson M, Nielsen R, Willerslev E. 2014. The genome of a Late Pleistocene human from a Clovis burial site in western Montana. *Nature* 506:225–229.
- Rasmussen M, Sikora M, Albrechtsen A, Korneliusen TS, Moreno-Mayar J, Poznik GD, Zollikofer C, Ponce de León M, Allentoft ME, Moltke I, Jónsson H, Valdiosera C, Malhi RS, Orlando L, Bustamante CD, Stafford TW, Meltzer DJ, Nielsen R, Willerslev E. 2015. The Ancestry and Affiliations of Kennewick Man. *Nature* 23:455–458.
- Rodríguez C. 1999. Programa de monitoreo y rescate arqueológico sitio San Lorenzo Bajo, Duitama: Gasoducto ramales a Boyacá y Santander. Bogotá D.C.
- Rodríguez JV. 1987. Algunos aspectos metodológicos- bioantropológicos relacionados con el poblamiento de América. *Maguaré* 5:9–40.
- Rodríguez JV. 2001a. Craneometría de la población prehispánica de los Andes Orientales de Colombia: Diversidad, adaptación y etnogénesis. In: *Los Chibchas: adaptación y diversidad en los Andes Orientales de Colombia*. Bogotá D.C.: Universidad Nacional de Colombia/Colciencias. p 250–310.
- Rodríguez JV. 2001b. *Los chibchas*. 1st ed. (Rodríguez C JV, editor.). Bogotá D.C.: Editora Guadalupe Ltda.
- Rodríguez JV. 2007. LA DIVERSIDAD POBLACIONAL DE COLOMBIA EN EL TIEMPO Y EL ESPACIO : *Rev Acad Colomb Cienc* 31:321–346.
- Rodríguez JV. 2011. *Los chibchas : hijos del sol , la luna y los Andes . Orígenes de su diversidad*. Bogotá D.C.: Instituto de Desarrollo Urbano: Universidad Nacional de Colombia.
- Rodríguez JV. 2015. El parque Arqueológico de Facatativá: proceso de recuperación y conservación de la memoria de sus antiguos habitantes. Bogotá D.C.: Universidad Nacional de Colombia, CAR.
- Rodríguez JV, Vargas C. 2015. Variación métrica y morfológica de la población prehispánica de Colombia. Implicaciones para la problemática del poblamiento temprano de América. *Rev Colomb Antropol* 51:65–87.

- Roewer L, Nothnagel M, Gusmão L, Gomes V, González M, Corach D, Sala A, Alechine E, Palha T, Santos N, Ribeiro-Dos-Santos A, Geppert M, Willuweit S, Nagy M, Zweynert S, Baeta M, Núñez C, Martínez-Jarreta B, González-Andrade F, Fagundes de Carvalho E, da Silva DA, Builes JJ, Turbón D, Lopez Parra AM, Arroyo-Pardo E, Toscanini U, Borjas L, Barletta C, Ewart E, Santos S, Krawczak M. 2013. Continent-wide decoupling of Y-chromosomal genetic variation from language and geography in native South Americans. *PLoS Genet* 9:e1003460.
- Rothhammer F, Dillehay TD. 2009. The late Pleistocene colonization of South America: an interdisciplinary perspective. *Ann Hum Genet* 73:540–9.
- De Saint Pierre M, Bravi CM, Motti JMB, Fuku N, Tanaka M, Llop E, Bonatto SL, Moraga M. 2012a. An alternative model for the early peopling of southern South America revealed by analyses of three mitochondrial DNA haplogroups. *PLoS One* 7:e43486.
- De Saint Pierre M, Gandini F, Perego U a, Bodner M, Gómez-Carballa A, Corach D, Angerhofer N, Woodward SR, Semino O, Salas A, Parson W, Moraga M, Achilli A, Torroni A, Olivieri A. 2012b. Arrival of Paleo-Indians to the southern cone of South America: new clues from mitogenomes. *PLoS One* 7:e51311.
- Salas A, Lovo-Gómez J, Álvarez-Iglesias V, Cerezo M, Lareu MV, Macaulay V, Richards MB, Carracedo Á. 2009. Mitochondrial echoes of first settlement and genetic continuity in El Salvador. *PLoS One* 4:1–10.
- Sánchez C. 2007. Secuenciación de ADN mitocondrial a partir de fragmentos óseos prehistóricos hallados en el sector de Candelaria La Nueva en Bogotá.
- Sandoval JR, Lacerda DR, Jota MS a, Salazar-Granara A, Vieira PPR, Acosta O, Cuellar C, Revollo S, Fujita R, Santos FR. 2013. The genetic history of indigenous populations of the Peruvian and Bolivian Altiplano: the legacy of the Uros. *PLoS One* 8:e73006.
- Sans M, Figueiro G, Hughes CE, Lindo J, Hidalgo PC, Malhi RS. 2015. A south American prehistoric mitogenome: Context, continuity, and the origin of haplogroup C1d. *PLoS One* 10:1–14.
- Santos M, Ward R, Barrantes R. 1994. mtDNA variation in the Chibcha Amerindian Huetar from Costa Rica. *Hum Biol* 66:963–977.

- Sardi ML, Ramírez Rozzi F, González-José R, Pucciarelli HM. 2005. South Amerindian craniofacial morphology: diversity and implications for Amerindian evolution. *Am J Phys Anthropol* 128:747–56.
- Saunier JL, Irwin JA, Just RS, O'Callaghan J, Parsons TJ. 2008. Mitochondrial control region sequences from a U.S. "Hispanic" population sample. *Forensic Sci Int Genet* 2.
- Schurr TG. 2004. THE PEOPLING OF THE NEW WORLD : Perspectives from Molecular Anthropology. *Annu Rev Anthropol* 33:0–13.
- Schurr TG, Ballinger SW, Gan YY, Hodge J a, Merriwether D a, Lawrence DN, Knowler WC, Weiss KM, Wallace DC. 1990. Amerindian mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies, suggesting they derived from four primary maternal lineages. *Am J Hum Genet* 46:613–23.
- Schurr TG, Sherry ST. 2004. Mitochondrial DNA and Y chromosome diversity and the peopling of the Americas: evolutionary and demographic evidence. *Am J Hum Biol* 16:420–39.
- Shields GF, Schmiechen a M, Frazier BL, Redd A, Voevoda MI, Reed JK, Ward RH. 1993. mtDNA sequences suggest a recent evolutionary divergence for Beringian and northern North American populations. *Am J Hum Genet* 53:549–62.
- Silva A, Briceño I, Burgos J, Torres D, Villegas V, Gómez A, Bernal JE, Rodríguez JV. 2008. Análisis de ADN mitocondrial en una muestra de restos óseos arcaicos del periodo Herrera en la sabana de Bogotá. *Victoria*:569–577.
- Silva C E. 1968. *Arqueología y prehistoria de Colombia*. Tunja, Boyacá: Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.
- Silva C E. 1981. *Investigaciones arqueológicas en Villa de Leiva*. Bogotá D.C.: Boletín del Museo del Oro.
- Silva C E. 2005. *Estudios sobre la cultura Chibcha*. Tunja, Boyacá: Buhos Editores.
- Slatkin M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139:457–462.
- Swofford D. 2002. *PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods)*. Version 4. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.

- Tackney JC, Potter BA, Raff J, Powers M, Watkins WS, Warner D, Reuther JD, Irish JD, O'Rourke DH. 2015. Two contemporaneous mitogenomes from terminal Pleistocene burials in eastern Beringia. *Proc Natl Acad Sci*:201511903.
- Tamm E, Kivisild T, Reidla M, Metspalu M, Smith DG, Mulligan CJ, Bravi CM, Rickards O, Martinez-Labarga C, Khusnutdinova EK, Fedorova SA, Golubenko M V., Stepanov VA, Gubina MA, Zhadanov SI, Ossipova LP, Damba L, Voevoda MI, Dipierri JE, Villems R, Malhi RS. 2007. Beringian standstill and spread of native American founders. *PLoS One* 2:1–6.
- Thorvaldsdóttir H, Robinson JT, Mesirov JP. 2013. Integrative Genomics Viewer (IGV): High-performance genomics data visualization and exploration. *Brief Bioinform* 14:178–192.
- Torres MM, Bravi CM, Bortolini M-C, Duque C, Callegari-Jacques S, Ortiz D, Bedoya G, Groot de Restrepo H, Ruiz-Linares A. 2006. A revertant of the major founder Native American haplogroup C common in populations from northern South America. *Am J Hum Biol* 18:59–65.
- Torroni a, Schurr TG, Cabell MF, Brown MD, Neel J V, Larsen M, Smith DG, Vullo CM, Wallace DC. 1993a. Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNAs. *Am J Hum Genet* 53:563–90.
- Torroni A, Schurr G, Yang C, Williams RC, Schanfield MS, Troup GA, Knowler WC, Weiss M, Wallace DC, Lawrence DN. 1992. Native American Mitochondrial DNA Analysis Indicates That the Amerind and the Nadene Populations Were Founded by. *Public Health*.
- Torroni A, Sukernik RI, Schurr TG, Starikorskaya YB, Cabell MF, Crawford MH, Comuzzie a G, Wallace DC. 1993b. mtDNA variation of aboriginal Siberians reveals distinct genetic affinities with Native Americans. *Am J Hum Genet* 53:591–608.
- Usme-Romero S, Alonso M, Hernandez-Cuervo H, Yunis EJ, Yunis JJ. 2013. Genetic differences between Chibcha and Non-Chibcha speaking tribes based on mitochondrial DNA (mtDNA) haplogroups from 21 Amerindian tribes from Colombia. *Genet Mol Biol* 36:149–57.
- Valverde G, Romero MIB, Espinoza IF, Cooper A, Fehren-Schmitz L, Llamas B,

- Haak W. 2016. Ancient DNA Analysis Suggests Negligible Impact of the Wari Empire Expansion in Peru's Central Coast during the Middle Horizon. *PLoS One* 11:1–18.
- Volodko N V, Starikovskaya EB, Mazunin IO, Eltsov NP, Naidenko P V, Wallace DC, Sukernik RI. 2008. Mitochondrial Genome Diversity in Arctic Siberians , with Particular Reference to the Evolutionary History of Beringia and Pleistocenic Peopling of the Americas. *Am J Hum Genet* 82:1084–1100.
- Vona G, Falchi A, Moral P, Calò CM, Varesi L. 2005. Mitochondrial sequence variation in the Guahibo Amerindian population from Venezuela. *Am J Phys Anthropol* 127:361–9.
- Wang S, Lewis CM, Jakobsson M, Ramachandran S, Ray N, Bedoya G, Rojas W, Parra M V, Molina J a, Gallo C, Mazzotti G, Poletti G, Hill K, Hurtado AM, Labuda D, Klitz W, Barrantes R, Bortolini MC, Salzano FM, Petzl-Erler ML, Tsuneto LT, Llop E, Rothhammer F, Excoffier L, Feldman MW, Rosenberg N a, Ruiz-Linares A. 2007. Genetic variation and population structure in native Americans. *PLoS Genet* 3:e185.
- Ward R, Salzano F, Bonatto S, Hutz M, Coimbra JC, Santos R. 1996. Mitochondrial DNA polymorphism in three Brazilian tribes. *Am J Hum Biol* 8:317–323.
- Ward RH, Frazier BL, Dew-Jager K, Pääbo S. 1991. Extensive mitochondrial diversity within a single Amerindian tribe. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88:8720–4.
- Ward RH, Redd A, Valencia D, Frazier B, Pääbo S. 1993. Genetic and linguistic differentiation in the Americas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:10663–7.
- Waters M, Forman S, Jennings T, Nordt L, Driese S, Feinberg JM, Keene J, Halligan JJ, Lindquist A, Pierson J, Hallmarck C, Collins M, Wiederhold J. 2011. The Buttermilk Creek complex and the origins of Clovis at the Debra L. Friedkin site, Texas. *Science* (80-) 25:1599–603.
- Waters MR, Stafford TW. 2007. Redefining the age of Clovis: implications for the peopling of the Americas. *Science* 315:1122–6.
- Xavier C, Builes JJ, Gomes V, Ospino JM, Aquino J, Parson W, Amorim A, Gusmão L, Goios A. 2015. Admixture and Genetic Diversity Distribution

Patterns of Non-Recombining Lineages of Native American Ancestry in Colombian Populations. *PLoS One* 10:e0120155.

Zegura SL, Karafet TM, Zhivotovsky L a, Hammer MF. 2004. High-resolution SNPs and microsatellite haplotypes point to a single, recent entry of Native American Y chromosomes into the Americas. *Mol Biol Evol* 21:164–75.

Zheng H-X, Yan S, Qin Z-D, Jin L. 2012. MtDNA analysis of global populations support that major population expansions began before Neolithic Time. *Sci Rep* 2:1–8.

ANEXOS



ICANH

Instituto Colombiano de Antropología e Historia



COMUNICACIÓN
ICANH 130

No. Rad.: 1047

1 4 0 2

Bogotá, D.C.,

07 ABR 2015

Arqueólogo

Jose Vicente Rodríguez Cuenca

Carrera 26a N° 54 - 17 Apt 212

Bogotá D.C.

Cundinamarca

jvrodruiguez@unal.edu.co, panche2012@gmail.com, ampanito345@yahoo.com

Asunto: Autorización de Intervención Arqueológica

Cordial saludo,

Anexo a la presente, Autorización de Intervención Arqueológica No. 4795, que le autoriza para realizar los trabajos de intervención de bienes arqueológicos planeados dentro del proyecto:

Análisis Arqueológico Y Genético-Poblacional De Restos Óscos Precolombinos De La Sociedad Muisca Asociada Al Templo Del Sol De Sogamoso

Los requisitos mínimos de cumplimiento se encuentran al respaldo de la autorización y anexo se encuentra el texto de la evaluación. Sírvase revisarlos y comuníqueme al ICANH si existen dudas al respecto.

Atentamente,

ALESSANDRO MARTÍNEZ
Grupo de Arqueología

Calle 12 N° 2-41 Bogotá D.C., Colombia. Conmutador: (57 1) 4440544 – Fax: 4440530
quejasyreclamos@icanh.gov.co / www.icanh.gov.co





ICANH

Instituto Colombiano de Antropología e Historia



MINISTERIO DE CULTURA

ICANH 130

No. Rad.: 1047

¿Aprobar? Si

Evaluación Cualitativa

Documento: APROBADO

Solicitud de Intervención Arqueológica Aprobada. Es una muy buena propuesta de investigación, con la cual se busca ampliar el conocimiento de la estructura poblacional de las comunidades prehispánicas que habitaron el norte del Altiplano cundiboyacense (Sogamoso- alrededores) en aras de confirmar la distinción biológica y cultural de dichos grupos en relación con las poblaciones que habitaron el sur de la región (Sabana de Bogotá). A su vez, los resultados obtenidos de este estudio serán importantes para nutrir el debate acerca del poblamiento temprano de dichas zonas y los diversos patrones involucrados en este proceso.

Se destaca de la propuesta metodológica, que involucra un marco cronocultural amplio así como el análisis de marcadores moleculares, una técnica que ha sido poco implementada en la investigación arqueológica de esta región en particular, y en el territorio nacional en general, de gran utilidad para complementar los estudios que sobre el tema se han realizado a través del uso de técnicas tradicionales para el análisis de restos óseos humanos.

En relación con las muestras de estudio, y dado que éste tipo de análisis involucra la pérdida parcial o total de hueso o piezas dentales, se recomienda precisar en el informe final, el número y tipo de estructuras óseas procesadas por individuo.

Digno: Diana Garcia

Calle 12 N° 2.41 Bogotá D.C., Colombia. Conmutador: (57-1) 4440544 – Fax: 4440530
quejasyreclamos@icanh.gov.co/ www.icanh.gov.co





ICANH

Instituto Colombiano de Antropología e Historia



MINCULTURA

No. de Autorización

4795

El suscrito Director del INSTITUTO COLOMBIANO DE ANTROPOLOGIA E HISTORIA en cumplimiento de lo establecido en la Ley de Cultura, 397 del 1997, modificada por Ley 1185 de 2008 y en los Decretos Reglamentarios 833 de 2002 y 763 de 2009, considerando que el interesado cumple con los requisitos

A U T O R I Z A

A: **Jose Vicente Rodriguez Cuenca** Cédula: **19.146.978**

Quien se desempeñará como el responsable de las intervenciones arqueológicas del proyecto titulado:

Análisis Arqueológico Y Genético-Poblacional De Restos Óseos Precolombinos De La Sociedad Muisca Asociada Al Templo Del Sol De Sogamoso

Para realizar las intervenciones sobre el patrimonio arqueológico en las zonas abajo descritas durante el periodo comprendido entre los días:

Fecha Inicio: **5 de mayo de 2015**

Fecha Finalización: **5 de mayo de 2016**

El INSTITUTO COLOMBIANO DE ANTROPOLOGIA E HISTORIA agradece a todas las autoridades competentes, el prestar a los investigadores debidamente autorizados la colaboración que soliciten para el buen desarrollo de los estudios científicos.

Lista de otras personas autorizadas como parte del equipo de trabajo:

Nombre:	Jose Vicente Rodriguez Cuenca	Cédula:	19.146.978
Nombre:	Victoria Margarita Silva Montaña	Cédula:	1.032.393.077
Nombre:	Lilian Andrea Casas Vargas	Cédula:	46.383.924

Lugares específicos donde se realizarán las intervenciones sobre el patrimonio arqueológico:

Vereda/tramo:	Templo del Sol	Municipio:	Sogamoso	Depto:	Boyacá
Vereda/tramo:		Municipio:		Depto:	#N/A
Vereda/tramo:		Municipio:		Depto:	#N/A

Dada en Bogotá, D. C., el día: **19 de marzo de 2015**


ERNESTO MONTENEGRO
 Director General



Calle 12 N° 2-41 Bogotá D.C., Colombia. Conmutador: (57-1) 4440544 – Fax: 4440530
quejasyreclamos@icanh.gov.co/ www.icanh.gov.co



ICANH

Instituto Colombiano de Antropología e Historia



MINCULTURA

Bogotá D.C., 11 de JUL 2015

ICANH-132

No. Rad. Recibida: 2312-29/05/15

13/3 8 8

A QUIEN CORRESPONDA

Asunto: Solicitud de autorización de intervención de bienes arqueológicos.

Mediante el presente documento y en aplicación del Artículo 7° de la Ley 1185 de 2008, el Instituto Colombiano de Antropología e Historia – ICANH, certifica que la genetista **LILIANA ANDREA CASAS VARGAS** identificada con cédula de ciudadanía No. 46.383.924, está autorizada para movilizar e intervenir muestras de restos óseos y dentales obtenidos durante la ejecución del proyecto: "ANÁLISIS ARQUEOLÓGICO Y GENÉTICO-POBLACIONAL DE RESTOS ÓSEOS PRECOLOMBINOS DE LA SOCIEDAD MUISCA ASOCIADA AL TEMPLO DEL SOL DE SOGAMOSO", Autorización de intervención No. 4795. Dicho material no presenta riesgo biológico ni tiene valor comercial.

Esta autorización de movilización e intervención se otorga teniendo en cuenta que, a las muestras se les realizarán análisis genéticos y de datación con isótopos estables de carácter destructivo en el **INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL** de la universidad de Innsbruck (Austria) y en el **BETA ANALITIC** en la ciudad de Miami-Florida (EEUU). El procedimiento se realizará durante los meses de julio y agosto de 2015.

Para efecto de realizar seguimiento a esta autorización, es necesario que una vez finalicen los análisis, se remita a este Instituto la copia del informe final del estudio.

Atentamente,


ERNESTO MONTENEGRO PÉREZ
Director General

Proyecto: DMéndez



Calle 12 N° 2-41 Bogotá D.C., Colombia. Conmutador: (57-1) 4440544 – Fax: 4440530
quejasyreclamos@icanh.gov.co / www.icanh.gov.co

Capítulo 4

ANÁLISIS DE MITOGENOMAS COMPLETOS EN RESTOS ÓSEOS ANTIGUOS DEL NORESTE DE LOS ANDES EN SURAMÉRICA

Casas-Vargas A¹, Pallua J², Strobl C², Niederstätter H², Xavier C², Eduardoff M²,
Bodner M², Kralj P², Usaquén W¹, Silva M³, Gómez A⁴, Briceño I⁴, Ariza A⁵,
Rodríguez JV⁵, Parson W^{2,6}

¹ Grupo de Genética de Poblaciones e Identificación, Instituto de Genética, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

² Institute of Legal Medicine, Medical University of Innsbruck, Innsbruck, Austria

³ Museo Parque Arqueológico de Sogamoso, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Sogamoso, Colombia.

⁴ Instituto de Genética Humana, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

⁵ Laboratorio de Antropología Física, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

⁶ Forensic Science Program, The Pennsylvania State University, PA, USA

RESUMEN

Nosotros analizamos el mitogenoma completo de 23 restos óseos antiguos provenientes del noreste de los Andes Colombianos, 22 de ellos fueron clasificados en el periodo Muisca (siglos X-XVI d. C) provienen de los alrededores del templo del Sol en Sogamoso-Boyacá, el otro individuo fue clasificado en el periodo Formativo (X - II milenio a. C) y fue excavado a 16 Km de distancia del Templo del Sol en el municipio de Duitama-Boyacá. Se realizó la asignación de los haplogrupos mitocondriales hallando los haplogrupos A2, B2, C1 y D4h3a. Se lograron diferenciar los sublinajes con una mayor frecuencia del subhaplogrupo A2ac1, seguido por A2ad, A2y, B2d, C1b y D4h3a. La muestra perteneciente al periodo Formativo fue clasificada como B2d. Al realizar los análisis filogenéticos se identificaron 2 nuevos sublinajes del haplogrupo A2: uno de ellos fue denominado A2ac1a (mutación G > A en la posición 9591, es decir G9591A, o 9591A), y el otro

denominado A2ad3 (mutación C > T en la posición 16259, o 16259T). Según estos resultados y los análisis bayesianos consideramos que en esta región de los Andes fue un lugar de asentamiento de los linajes A2ac1a, A2ad3 y A2y, y a partir de ahí su posterior expansión en el resto de territorio hoy Colombiano y sus vecinos Ecuador, Panamá y Venezuela. Adicionalmente, el presente estudio muestra la continuidad de estos linajes mitocondriales en los últimos 10.000 años. De esta manera este estudio se convierte en referencia importante para las hipótesis del poblamiento Sur Americano.

PALABRAS CLAVE: ADN antiguo (ADNa), Colombia, Andes, ADN mitocondrial (ADNmt), amerindios, mitogenoma, poblamiento americano.

INTRODUCCION

La reconstrucción de la historia poblacional de los nativos suramericanos ha planteado diferentes hipótesis acerca del origen de los primeros pobladores. Dos de las principales propuestas para interpretar la variación biológica a partir de evidencias arqueológicas y genéticas son: 1) hipótesis migratoria, la cual sugiere que la variación entre los grupos suramericanos fue el resultado de varias oleadas migratorias (Pérez et al., 2009; Hubbe et al., 2010) y 2) hipótesis microevolutiva, que explica el surgimiento de la diversidad biológica a partir de procesos evolutivos (p. ej. deriva genética, selección natural), de manera que los grupos poblacionales serían descendientes de una misma población ancestral (González-José et al., 2008; De Azevedo et al., 2011)

En razón a su ubicación geográfica, Colombia fue un paso obligatorio para la entrada al subcontinente americano. Se han realizado varias investigaciones tanto desde la perspectiva genética como la arqueológica con el fin de vislumbrar las posibles rutas del poblamiento al subcontinente y, particularmente, las rutas del poblamiento colombiano, sin conclusiones definitivas (Keyeux et al., 2002; Melton et al., 2007; Rodríguez, 2011).

Los datos genéticos del ADN mitocondrial (ADNmt) en comunidades actuales apoyan la hipótesis de dos oleadas migratorias, una por la costa pacífica relacionando a los Chibchas de Centroamérica con Colombia, y otra por las zonas bajas de la Amazonia y Llanos Orientales (Keyeux et al., 2002; Usme-Romero et al., 2013).

Los datos arqueológicos en los Andes Orientales, específicamente en el altiplano cundiboyacense, han permitido evidenciar los primeros asentamientos humanos en Colombia. Se han logrado establecer los diferentes periodos de las primeras ocupaciones humanas: Precerámico (X - II milenio a. C.); Formativo ó Herrera ((I milenio a. C. a siglo IX d. C); Muisca (siglos X-XVI d. C.) (Rodríguez, 2015).

El ADN antiguo (ADNa) ha permitido inferir acerca de los diferentes procesos evolutivos que sufrieron las poblaciones precolombinas, mostrando linajes que en

las comunidades contemporáneas se consideran raros o infrecuentes, eventualmente derivados de los cuellos de botella por la conquista española (Llamas et al., 2016), o, alternativamente, distribuidos en zonas geográficas poco estudiadas hasta el presente. En Colombia, se han realizando varios estudios de la región HVRI del ADNmt en restos precolombinos de los tres periodos arqueológicos descritos anteriormente, y sus resultados concuerdan con una continuidad genética entre los periodos, lo cual permite postular que el origen de estas comunidades es derivado por cambios microevolutivos (Monsalve et al., 1996; Fernández, 1999; Sánchez, 2007; Silva et al., 2008; Casas-Vargas et al., 2011, 2017; Díaz-Matallana et al., 2016)

Hoy en día, nuevas tecnologías de secuenciación permiten obtener genomas completos como es el caso del mitogenoma, que han permitido esclarecer varias de las hipótesis acerca de las migraciones humanas alrededor del mundo, específicamente en América. Se han logrado obtener mitogenomas completos de secuencias pre-colombinas de más de 12.000 años de antigüedad (Rasmussen et al., 2014). Sin embargo, este tipo de estudios no se han realizado aún en Colombia en individuos precolombinos.

El presente estudio representa el primer reporte de ADNmt completo de una comunidad precolombina colombiana. El principal objetivo es mostrar la variación genética de los restos óseos antiguos provenientes de la población muisca, excavada en los alrededores del Templo del Sol en Sogamoso (Figura 1) e interpretar esta variación para dar luces acerca de sus dinámicas y orígenes poblacionales.



Figura 1. Mapa de Colombia mostrando la localización del territorio ocupado por la comunidad muisca en el tiempo de la conquista española. Tomado de (Langebaek, 1987).

MÉTODOS

Muestras arqueológicas

Se seleccionaron individuos pertenecientes a tres periodos culturales sucesivos: 5 individuos clasificados en el periodo Precerámico datados por ^{14}C dando una fecha de 7950 ± 40 a. P. calibrada de 7040 a 6680 a. C. (Beta-299693), excavados en el municipio de Floresta-Boyacá; 6 individuos clasificados en el periodo Formativo datados en 1950 ± 30 a. P. (calibrada 1970 a 1960 a. P. (Beta-424514) provenientes del municipio de Duitama-Boyacá; 1 individuo clasificado en el periodo Formativo datado en 1826 ± 40 a. P. (calibrada 155 a 390 años d. C.) (Beta-129230) proveniente del municipio de Sogamoso-Boyacá en los alrededores del Templo del Sol; 5 individuos clasificados en el periodo Muisca Temprano (siglos X-XII d. C.) datados en 1127 ± 30 a. P. (calibrada 1175 a 975 a. P.) (Beta-425959) provenientes de los alrededores del Templo del Sol-Sogamoso; 28 individuos que no poseen datación directa pero por contexto arqueológico y

material asociado fueron clasificados en el periodo Muisca (siglos IX-XVI d. C) provenientes de los alrededores del Templo del Sol en Sogamoso.

Los detalles del contexto arqueológico están dados en el capítulo 3 y en la Tabla 1. Cada uno de los análisis realizados contó con la aprobación del Instituto Colombiano de Antropología e Historia (ICANH), quien es el encargado de dar los permisos para intervenir material arqueológico. El registro de la autorización para la intervención y movilización de las muestras para análisis genético y datación es el No. 4795 del año 2015 (Ver Anexos).

No de Inventario	Muestra	ID	Material biológico	Excavación (localidad, año)	Tumba / Entierro	Periodo estimado	Sexo morfológico
SOG.MON-690025	SOG-MON025	SM25	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1969	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-860027	SOG-MON027	SM27	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1986	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-760028	SOG-MON028	SM28	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá, 1976	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	M
SOG.MON-750030	SOG-MON030	SM30	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1975	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-750031	SOG-MON031	SM31	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá, 1975	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-810032	SOG-MON032	SM32	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá, 1981	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	M
SOG.MON-540037	SOG-MON037	SM37	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1954	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-540038	SOG-MON038	SM38	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1954	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	M
SOG.MON-560039	SOG-MON039	SM39	Femur	Sogamoso-Monquirá, 1956	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-560040	SOG-MON040	SM40	Femur	Sogamoso-Monquirá, 1956	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-720043	SOG-MON043	SM43	Femur	Sogamoso-Monquirá, 1973	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-720044	SOG-MON044	SM44	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1972	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-720045	SOG-MON045	SM45	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1972	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-720046	SOG-MON046	SM46	Femur	Sogamoso-Monquirá, 1972	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-720047	SOG-MON047	SM47	Femur	Sogamoso-Monquirá, 1972	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-720048	SOG-MON048	SM48	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá, 1972	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-690056	SOG-MON056	SM56	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá, 1969	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	IND
SOG.MON-670061	SOG-MON061	SM61	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1967	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-680064	SOG-MON064	SM64	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá, 1968	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-690067	SOG-MON067	SM67	Femur	Sogamoso-Monquirá, 1969	ND	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-580068	SOG-MON068	SM68	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá, 1958	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-690069	SOG-MON069	SM69	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1969	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-700070	SOG-MON070	SM70	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá, 1970	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	M
SOG.MON-820072	SOG-MON072	SM72	Femur	Sogamoso-Monquirá, 1982	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	M
SOG.MON-600073	SOG-MON073	SM73	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1960	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-560079	SOG-MON079	SM79	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1956	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	F
SOG.MON-6000104	SOG-MON104	SM104	Femur	Sogamoso-Monquirá, 1986	Colectivo	Muisca (siglos X-XVI)	M
SOG.MON-8400109	SOG-MON109	SM109	Molar	Sogamoso-Monquirá, 1984	Individual	Muisca (siglos X-XVI)	M
SOG-MON E-01	SOG-MONE-01	SM01	Molar	Sogamoso-Monquirá, 2015	Colectivo	Muisca 1127 ±30 a. P *	M
SOG-MON E-02	SOG-MONE-02	SM02	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá, 2015	Colectivo	Muisca 1127 ±30 a. P *	F
SOG-MON E-03	SOG-MONE-03	SM03	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá, 2015	Colectivo	Muisca 1127 ±30 a. P *	F
SOG-MON E-04	SOG-MONE-04	SM04	Molar	Sogamoso-Monquirá, 2015	Colectivo	Muisca 1127 ±30 a. P *	F
SOG-MON E-05	SOG-MONE-05	SM05	Molar	Sogamoso-Monquirá, 2015	Colectivo	Muisca 1127 ±30 a. P *	F
SOG.MON-560080	SOG-MON080	SM80	Diente Anterior	Sogamoso-Monquirá. 1956	Individual	Formativo 1826±40 a. P. **	M

B-DT-D-08	B-DT-D-08	DT08	Diente Anterior	Duitama-Chucua, 1999	Individual	Formativo 1950±30 a. P. ***	IND
SIN NOMBRE	SIN NOMBRE	DT01	Femur	Duitama-Chucua, 1999	Individual	Formativo 1950±30 a. P. ***	IND
B-DT-D-07-D10	B-DT-D-07-D10	DT07	Femur	Duitama-Chucua, 1999	Individual	Formativo 1950±30 a. P. ***	IND
BDT-D-10	BDT-D-10	DT10	Femur	Duitama-Chucua, 1999	Individual	Formativo 1950±30 a. P. ***	IND
B-DT-D-11	B-DT-D-11	DT11	Femur	Duitama-Chucua, 1999	Individual	Formativo 1950±30 a. P. ***	IND
FLORESTA 430098-A	430098A	F98A	Fragmento De Cráneo	Floresta-La Puerta, 1943	Individual	Precerámico 7950±40 a. P. ****	M
FLORESTA 430098-B	430098B	F98B	Fragmento De Cráneo	Floresta-La Puerta, 1943	Individual	Precerámico 7950±40 a. P. ****	F
FLORESTA 430098-C	430098C	F98C	Fragmento De Cráneo	Floresta-La Puerta, 1943	Individual	Precerámico 7950±40 a. P. ****	F
FLORESTA 430098-E	430098E	F98E	Fragmento Diente	Floresta-La Puerta, 1943	Individual	Precerámico 7950±40 a. P. ****	F
FLORESTA 430098-F	430098F	F98F	Diente Anterior	Floresta-La Puerta, 1943	Colectivo	Precerámico 7950±40 a. P. ****	IND

Tabla 1. Descripción de las muestras analizadas.

* (calibrada 775-975 d. C. - Beta No. 425959); ** (calibrada 155 a 390 años d. C. / 1826±40 a. P. - Beta-129230); *** (calibrada 1970 a 1960 a. P. - Beta-424514); **** (calibrada de 7040 a 6680 a. C. - Beta-299693)

Extracción de ADN y análisis del mitogenoma

La superficie de los huesos y de los dientes se limpió por inmersión en hipoclorito de sodio por 20 minutos; luego se agregó etanol por 10 minutos, se dejó secar y luego se irradió en UV por 5 min cada lado. Cada material óseo fue pulverizado usando el molino RETCH MM400[®]. Se tomaron entre 0,4 y 0,7 g de pulverizado que fue transferido a tubos estériles de 15 mL y el ADN fue extraído acorde a los protocolos publicados por Amory et al., 2012. Brevemente, el pulverizado fue incubado a 56°C en 7 mL de Buffer de Lisis que contiene 0,5 M EDTA, 1% de N-laurilsarcosil, y 130 µL de proteinasa K (20 mg/mL) por 24 horas. Después de la centrifugación, el sobrenadante fue transferido a Filtros de Amicon[®], y se centrifugó a 4500 g por 40 min. El sobrenadante se transfirió a un tubo de 1,5 mL y se agregaron 5 veces más de Binding Buffer del kit de purificación MinElute PCR Purification Kit[®] (Qiagen[®], Hilden, Alemania). Luego se transfirió el contenido a los tubos de MinElute[®]. Se centrifugó a 13.000 rpm por 1 min, se agregaron 700 µL de wash buffer, se centrifugó a 13.000 rpm por 1 min y se repite este paso 2 veces más. Luego se dejó secar la columna centrifugándola vacía a 13.000 rpm por 1 min, el ADN fue eluído con 50 µL de EB Buffer por 5 min y centrifugado a 13.000 rpm por 1 min. El ADN extraído fue guardado a -20°C. Un blanco de extracción con agua fue procesado al mismo tiempo con las muestras. Posteriormente se realizó cuantificación absoluta del ADN mitocondrial siguiendo el protocolo publicado por Niederstätter y cols (2007).

Secuenciamiento de Nueva Generación

El mitogenoma completo fue amplificado por PCR usando *primers* que generan amplicones en reacciones separadas, se generan 162 amplificaciones de un tamaño alrededor de 175pb de largo. Las librerías fueron preparadas usando el kit the HID-Ion AmpliSeq[™] Mitochondrial Library Preparation Conservative Method con el Ion Library Quantitation Kit[®] (Life Technologies[®]), siguiendo las recomendaciones del fabricante. El secuenciamiento se realizó con un estricto

control de calidad para los estudios de secuenciación de mtADN en forense por el método MPS (por sus siglas del inglés: Massively Parallel Sequencing, o Secuenciación Masiva Paralela) realizado en anteriores publicaciones (Parson et al., 2013; Gomes et al., 2015). Las secuencias fueron comparadas con la secuencias de referencia de Cambridge (rCRS) (Andrews et al., 1999) usando el software IGV_2.3.60 (Thorvaldsdóttir et al., 2013).

Por último, todas las personas involucradas en el trabajo antiguo ADN se tipificaron genéticamente (secuenciación HVSI) y comparados con los resultados obtenidos.

Árboles filogenéticos y tiempos de coalescencia

Se analizaron los nuevos mitogenomas completos junto con 137 secuencias enteras mitocondriales para el haplogrupo A2, 103 para el haplogrupo B2, 41 para el haplogrupo C1b, y 46 para el haplogrupo D (D1, D2, D4h3a) (Material suplementario 1). Nosotros usamos secuencias previamente reportadas en Genbank y en PhyloTree como grupo externo para cada haplogrupo, así: El haplotipo A1 (AP013225) para el haplogrupo A2, el haplotipo B4a1a (DQ372871) para el haplogrupo B2, el haplotipo C4 (FJ951604) para el haplogrupo C1b y el haplotipo D4 (JQ704974) para el haplogrupo D4h3a. Inicialmente, un subgrupo de secuencias fueron seleccionadas para la construcción de la filogenia de todos los haplogrupos encontrados, empleando una aproximación de Máxima Parsimonia (MP) usando mtPhyl[®] 4.015 software (<https://sites.google.com/site/mtphyl/home>), que luego fue editada teniendo como referencia a PhyloTree[®] (Build 17) (van Oven and Kayser, 2009). Luego se realizó el alineamiento de las secuencias usando el programa Geneious[®] 9.1.5 (Biomatters; available from <http://www.geneious.com/>) y ajustado manualmente. Nosotros excluimos los indels y las mutaciones hotspot comunes en la posiciones 309.1C(C), 315.1C, AC en 515–522, 16182C, 16183C, 16193.1C(C), y C16519T (van Oven and Kayser, 2009).

Los árboles filogenéticos de Máxima Verosimilitud (ML Maximum likelihood), fueron construidos usando PAUP[®] 4.0a150 (Swofford, 2002) bajo el modelo

evolutivo GTR+I+G y tres particiones: HVS-II (posición 1–576), HVSII (posición 577–16023), y codificante (posición 16024–16569), con 200 réplicas de Bootstrap. En los árboles construidos para ML se utilizaron todas los individuos incluyendo las secuencias parciales del mitogenoma completo (Figuras suplementarias S1, S2, S3, S4); estos datos no se incluyen dentro de la sección de resultados.

El método Bayesiano estimó los tiempos de coalescencia de cada uno de los clados A2, B2, C1, D4 que fueron calculados usando Beast[®] v1.8.3 (Bouckaert et al., 2014).

Las edades de las secuencias antiguas fueron utilizadas como puntos de calibración en el análisis filogenético. Cuando estaba disponible la fecha de radiocarbono se utilizaba esta fecha. Para la mayoría de las muestras, se utilizó el punto medio del periodo arqueológico como punto de calibración. Para las secuencias antiguas previamente publicadas, de las que se conocían las fechas de datación, se utilizaron también estos como puntos de calibración (Tackney et al., 2015; Llamas et al., 2016). Se aplicó para cada uno de los datos, una corrida de Cadena de Markov de Montecarlo (MCMC) de 100.000.000 generaciones, con un muestreo de parámetros cada 1000 pasos. Los parámetros fueron monitoreados en Tracer[®] v1.6.1 para asegurar la convergencias de las corridas del MCMC y el tamaño del muestreo efectivo sea más alto de 200. A las corridas se les descartó el 10% como “Burn-in”. Se seleccionó el modelo sustitución GTR+I+R, a partir de un árbol *a priori* de coalescencia de tamaño constante, y un modelo de reloj estricto. Nosotros usamos TreeAnnotator[®] v1.8.3 para producir el árbol máximo de credibilidad cladística. Para visualizar los árboles usamos FigTree[®] v1.4.2 (tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/).

RESULTADOS

Diversidad genética en muestras precolombinas.

En un total de 45 muestras seleccionadas, se obtuvieron secuencias de calidad en 39 de ellas (87%) y en 6 de ellas no se obtuvo ninguna amplificación (13%); entre estas últimas, 3 corresponden al periodo Muisca y 3 al periodo Precerámico.

En 22 de las 33 muestras (67%) correspondientes al periodo Muisca se logró un éxito en la amplificación cubriendo el genoma mitocondrial en más de un 99%. En algunas de las muestras restantes (8) se logró identificar algunas mutaciones que permitieron asignar el haplogrupo para estos individuos. Entre las muestras del periodo Formativo solo se logró amplificar una muestra en un 99,98% de su extensión para el genoma mitocondrial prácticamente completo. En consecuencia, faltó secuenciar solamente un 0,2% del ADN mitocondrial total de este individuo, en la región no codificante (D-Loop) que va del nucleótido 1 al nucleótido 3, usualmente representados por la secuencia GAT. En las muestras restantes del periodo Formativo, a pesar de no contar con la secuencia mitocondrial total, también se logró hacer la asignación del haplogrupo. Para las 5 muestras del periodo Precerámico se obtuvo una baja tasa de amplificación logrando tan solo en dos (2) de ellas completar en promedio el 18% del genoma mitocondrial completo amplificando principalmente la región D-Loop, lo cual permitió asignar los haplogrupos correspondientes (Tabla 2).

ID muestra	Haplogrupo	Cobertura del mitogenoma (%)	Mutaciones adicionales a las diagnósticas del haplogrupo
SM25	A2ad	100	
SM27	B2d	100	11075C
SM28	A2ac1	99,68	182T 9591A
SM30	A2ac	75,22	9591A 11215T
SM31	A2ad	100	
SM32	C1b	78,17	689C 3891G 8260C 13191C 13326C
SM37	D4h3a	100	
SM38	A2ad	38,35	
SM39	A2ac1	85,67	182T 9591A
<u>SM40</u>	<u>ND</u>	<u>NA</u>	
SM43	A2+(64)	99,75	
SM44	A2ac1	100	182T 9591A
SM45	A2ac1	100	9591A 14791T
<u>SM46</u>	<u>ND</u>	<u>NA</u>	
SM47	A2ad	100	
SM48	A2y	100	
SM56	B2d	89,02	1719A 8485A 11914A 11986T
SM61	A2+(64)+@16111	100	
SM64	A2ac1	99,37	9591A
SM68	C1b	100	689C 2260C 3891G 7473G 8260C 13191C 13326C
<u>SM67</u>	<u>ND</u>	<u>NA</u>	
SM69	A2ad	100	
SM70	A2ac1	99,93	182T 9591A 12612G
SM72	B2d	100	
SM73	A2ad	100	
SM79-2	A2ac	25,35	
SM104	B2d	100	13928C
SM109	A2ad	100	
SM01	A2ac1	95,99	9591A
SM02	A2ac1	99,53	9591A
SM03	A2ac1	99,96	9591A
SM04	A2ac1	100	9591A
SM05	A2ac1	94,57	9591A
SM80	A2ac	77,05	9591A
DT-05	B2d	99,98	
DT08	B2d	97,33	14739A
DT01	B2d	93,65	
DT07	B2d	57,28	
DT10,1	B2d	68,86	
DT11	B2d	84,54	
F98E	C1b8	17,99	16093C

F98F	C1b	18,72
F98A	ND	NA
F98B	ND	NA
F98C	ND	NA

Tabla 2. Muestras analizadas para el genoma completo mitocondrial. ND: No determinado; NA: No Amplificado.

Para los análisis del mitogenoma completo se seleccionaron solamente las muestras que obtuvieran más del 99% de cobertura del genoma, dando un total de 23 muestras incluidas; 22 de ellas pertenecen al periodo Muisca y una (1) al periodo Formativo.

En las 22 muestras pertenecientes al periodo Muisca se encontró la siguiente distribución de haplogrupos: A2 = 77% (17), B2 = 14% (3) identificando el subhaplogrupo B2d, C1 = 5% (1) encontrando el subhaplogrupo C1b, D4h3a = 5% (1). Dentro del haplogrupo A2, se logran diferenciar 5 linajes diferentes: A2ac1 en una frecuencias de 47%, A2ad en un 35%, A2y en un 6%, A2 (con polimorfismo 64T) 6%; A2 (con polimorfismo 64 y pérdida de 16111) 6%.

El individuo clasificado en el periodo Formativo posee el subhaplogrupo B2d.

Filogenia de haplogrupos mitocondriales

La relación evolutiva de las muestras colombianas contemporáneas y otras secuencias completas americanas para cada uno de los haplogrupos están ilustradas en las figura 2, 3, 4, y 5. La información adicional concerniente al origen geográfico y étnico de cada ADNmt es mostrado en el material suplementario S1.

Haplogupo A2

Todos los individuos clasificados como A2ac1 (8) comparten las mutaciones diagnosticas para el haplogrupo A2 y adicionalmente, las mutaciones 9055A, 9377G, 9473C, 14687G, 15074C y 16213A el cual define el haplogrupo A2ac1. Un subgrupo de estas muestras comparten un polimorfismo en la posición 9591A compartiendo también esta mutación con una secuencia contemporánea de origen colombiano (Medellín) (Zheng et al., 2012) y Cubano (Behar et al., 2012), en total

son 10 individuos que poseen esta mutación en 5 haplotipos diferentes en los genomas completos. Dentro de estas muestras se encuentra otra subagrupación confirmada por el polimorfismo en la posición 182 en tres (3) de las muestras estudiadas, y esta la comparten con la secuencia de Cuba (Behar et al., 2012) (Figura 2).

Por otra parte, el subhaplogrupo A2ad se ha observado principalmente en Panamá (Perego et al., 2012) y República Dominicana (Achilli et al., 2008), designado por los motivos mutacionales en las posiciones 8471, 16175 y 16300. Dentro de este haplogrupo se observan en la filogenia tres (3) agrupaciones en las cuales se clasifica el subhaplogrupo A2ad1, el A2ad2, y el otro agrupamiento es característico por la mutación en la posición 16259T, y en este se encuentran las 6 muestras analizadas pertenecientes a este haplogrupo, el cual es compartido con una secuencia de República Dominicana (Achilli et al., 2008). Las secuencias clasificadas como A2ad del presente estudio comparten a su vez polimorfismos en las posiciones 194 y 8478, y un subgrupo de ellas poseen un polimorfismo en la posición 10084 (Figura 2).

Otro subhaplogrupo encontrado es el A2y en una de las muestras; este se caracteriza por el motivo mutacional en las posiciones 189, 207, 16293 y 16304. Adicionalmente, este haplotipo posee otras mutaciones en las posiciones 152, 14224, y presenta la pérdida de la mutación 16223, lo cual lo diferencia al compararlo con los otros haplotipos descritos de este subhaplogrupo en una comunidad Waorani considerada hace cinco años por Cardoso et al. (2012) como un aislado genético en la Amazonia ecuatoriana.

La secuencia 52 (SM61) presenta pérdida de la mutación 16111, y comparte el polimorfismo 5094 con una muestra precedente de origen hispánico (Just et al., 2008). La secuencia 113 (SM43) posee las mutaciones privadas 417A, 1711T, 8149G, 10325A.

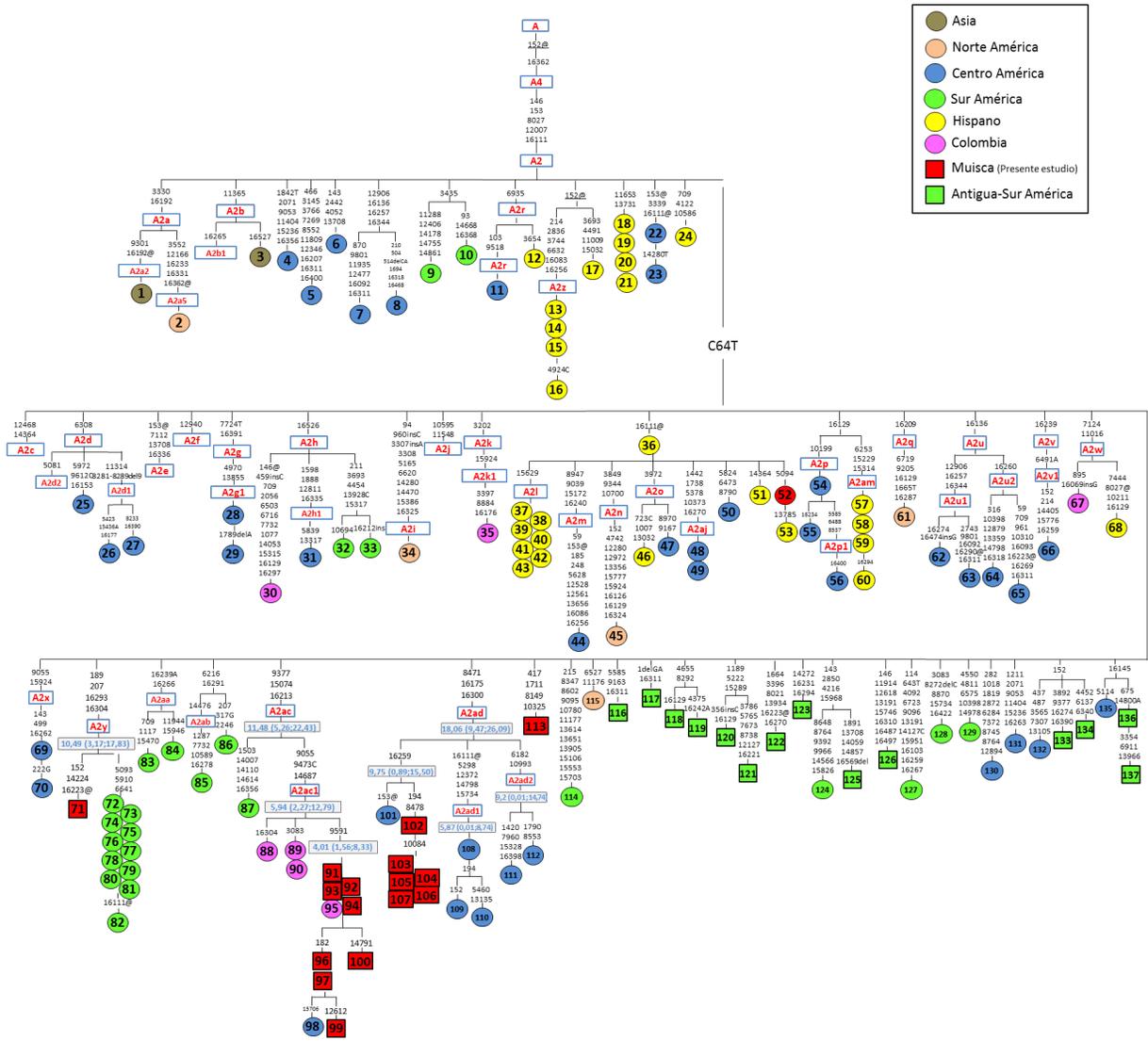


Figura 2. Árbol filogenético de Máxima Parsimonia (MP) con 137 secuencias completas de ADNmt pertenecientes al haplogrupo A2. Los círculos y los cuadrados representan individuos con mitogenoma completo, y los números con los que se identifican son los mismos asignados en la Tabla S1. Las mutaciones se muestran en las ramas (relativas a la secuencia de referencia de Cambridge revisada - CRSr). Los sufijos indican: transversiones (A, G, C o T), deleciones (del), inserciones (ins) y reversiones (@). Las mutaciones recurrentes son subrayadas. Las variaciones en las posiciones 16519, la presencia de nucleótidos C en las posiciones 309-315, tanto como los indels AC en las posiciones 515-522 no se incluyen en la filogenia. Todas las muestras fueron coloreadas acorde a su origen geográfico mostrado en la leyenda. Las edades estimadas por análisis bayesiano son reportadas en ka (kiloaños o miles de años) para los nodos en los subhaplogrupos de interés.

Haplogrupo B2

Los individuos clasificados dentro del haplogrupo B2d se caracterizaron por presentar la mutación diagnóstica en la posición 498del. La secuencia 34 (SM72) perteneciente al periodo Muisca, comparte el mismo haplotipo con la secuencia 35 (DT-05) perteneciente al periodo Formativo el cual había sido datado en 1950±30 a. P. (calibrada 1970 a 1960 a. P. (Beta-424514). Y a su vez, comparten con secuencias contemporáneas 36 y 37 pertenecientes a la población Wayuu de Colombia (Tamm et al., 2007); los individuos 38, 39 y 40 provienen de población de Medellín, Colombia (Zheng et al., 2012). De las otras muestras del estudio, la 43 (SM27) y la 44 (104) poseen polimorfismos privados en las posiciones 11075 y 13928 respectivamente (Figura 3).

Haplogrupo C1b

La muestra clasificada en el haplogrupo C1b posee mutaciones privadas en las posiciones: 689, 2260, 3891, 7473, 8260, 13191, 13326, estos polimorfismos no son compartidos con ninguna otra secuencia encontrada para este haplogrupo en el resto de América (Figura 4), este haplogrupo ha sido encontrado a lo largo de todo América y ha sido catalogado como un haplogrupo fundador en los nativos americanos (Gómez-Carballa et al., 2015b; Xavier et al., 2015).

Haplogrupo D4h3a

La muestra clasificada dentro del haplogrupo D4h3a comparte dos mutaciones en las posiciones 709 y 16319 con una secuencia procedente de población de Veracruz en México (Perego et al., 2009); adicionalmente, comparte 5 mutaciones más en las posiciones: 3594, 16023, 16245, 16468 y 16533 con una secuencia suramericana de procedencia inespecífica entre Brasil, Guyana y Venezuela (Hartmann et al., 2009); además posee una mutación privada en la posición 11809 (Figura 5). Este haplogrupo ha sido descrito a lo largo de la costa Pacífica de Norte a Sur (Perego et al., 2009; Díaz-Matallana et al., 2016).

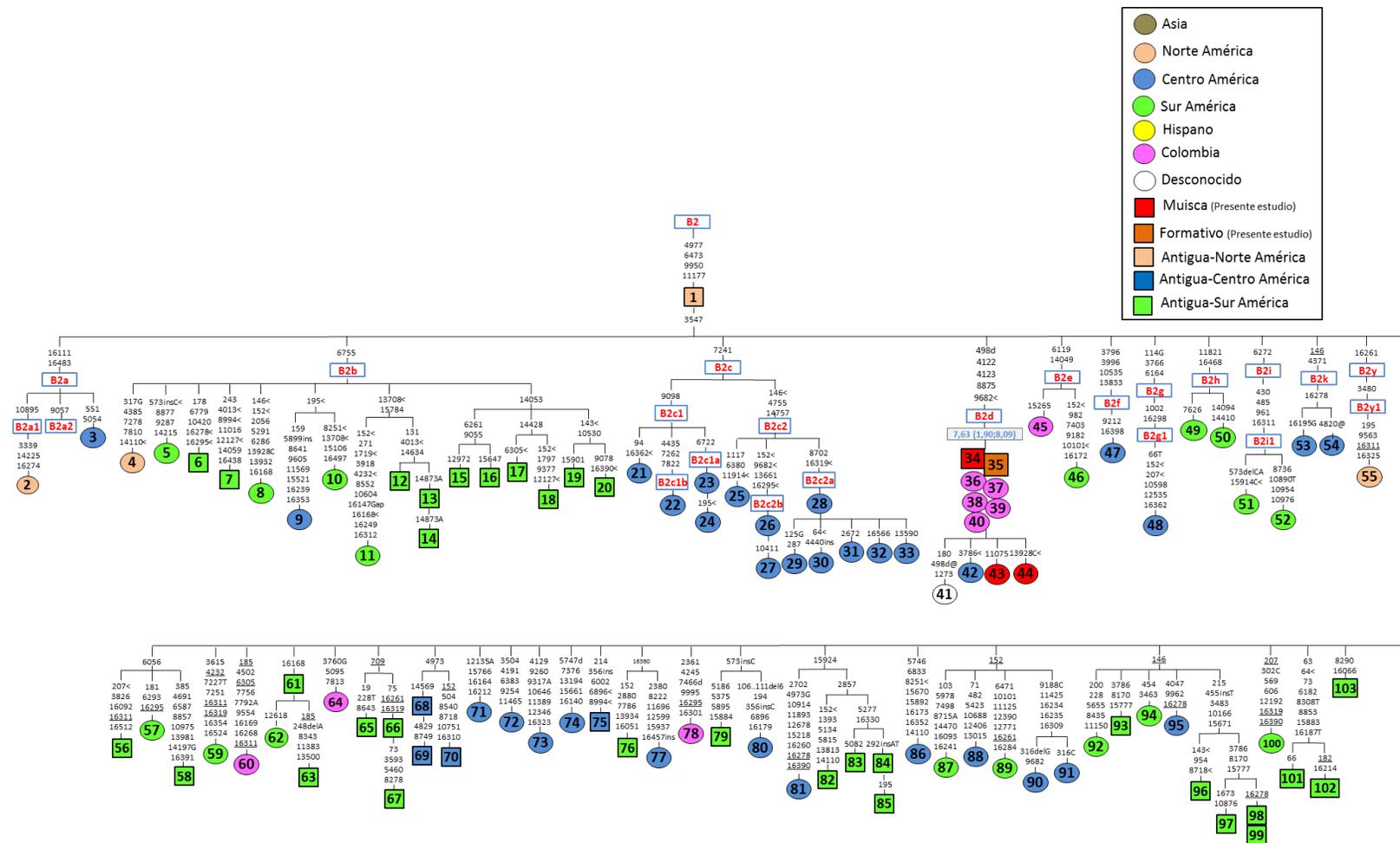


Figura 3. Árbol filogenético de Máxima Parsimonia (MP) con 103 secuencias completas de ADNmt pertenecientes al haplogrupo B2. Los círculos y los cuadrados representan individuos con mitogenoma completo, y los números con los que se identifican son los mismos asignados en la Tabla S1. Las mutaciones se muestran en las ramas (relativas a la secuencia de referencia de Cambridge revisada - CRSr). Los sufijos indican: transversiones (A, G, C o T), deleciones (del), inserciones (ins) y reversiones (@). Las mutaciones recurrentes son subrayadas. Las variaciones en las posiciones 16519, la presencia de nucleótidos C en las posiciones 309-315, tanto como los indels AC en las posiciones 515-522 no se incluyen en la filogenia. Todas las muestras fueron coloreadas acorde a su origen geográfico mostrado en la leyenda. Las edades estimadas por

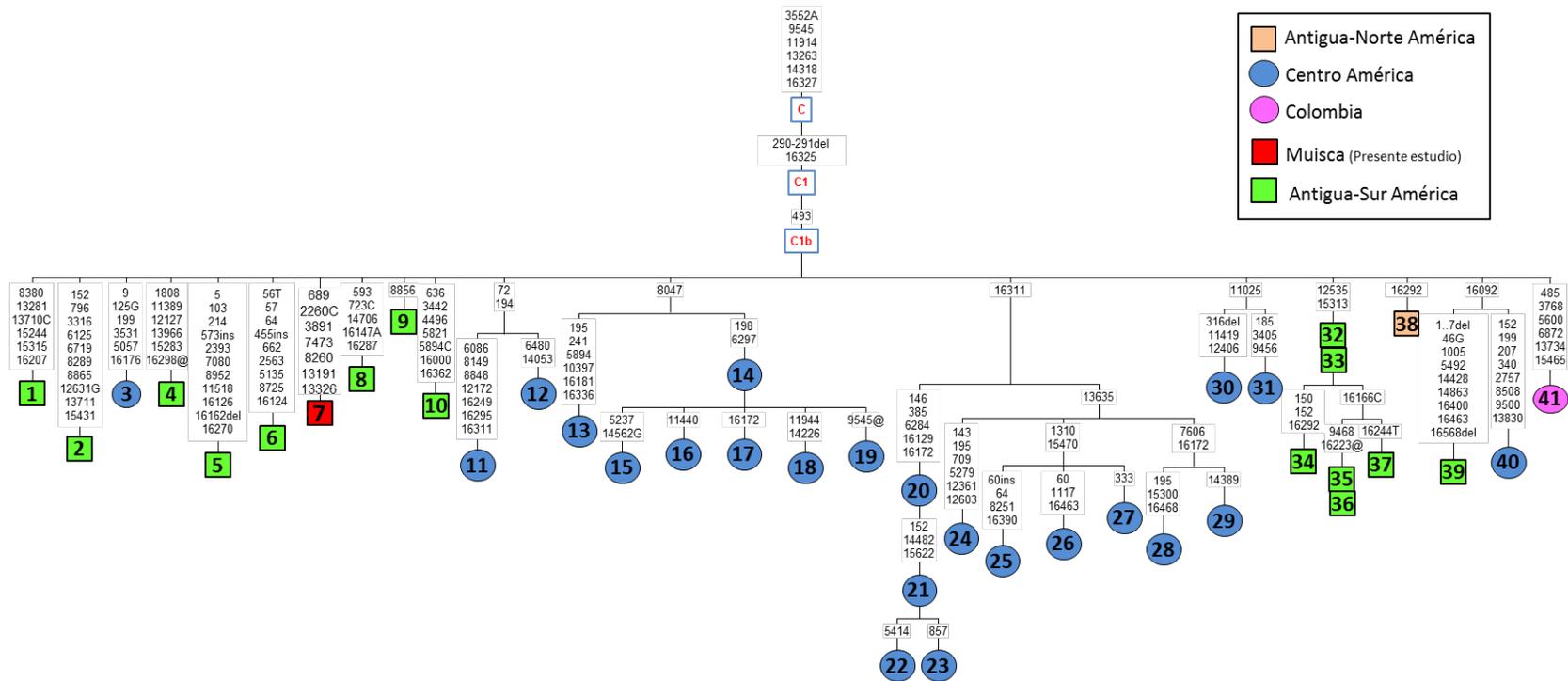


Figura 3. Árbol Filogenético de Máxima Parsimonia (MP) con 41 secuencias completas de ADNmt pertenecientes al haplogrupo C1b. Los círculos y los cuadrados representan individuos con mitogenoma completo, y los números con los que se identifican son los mismos asignados en la Tabla S1. Las mutaciones se muestran en las ramas (relativas a la secuencia de referencia de Cambridge revisada - CRSr). Los sufijos indican: transversiones (A, G, C o T), deleciones (del), inserciones (ins) y reversiones (@). Las mutaciones recurrentes son subrayadas. Las variaciones en las posiciones 16519, la presencia de nucleótidos C en las posiciones 309-315, tanto como los indels AC en las posiciones 515-522 no se incluyen en la filogenia. Todas las muestras fueron coloreadas acorde a su origen geográfico mostrado en la leyenda. Las edades estimadas por análisis bayesiano son reportadas en ka (kiloaños o miles de años) para los nodos en los subhaplogrupos de interés.

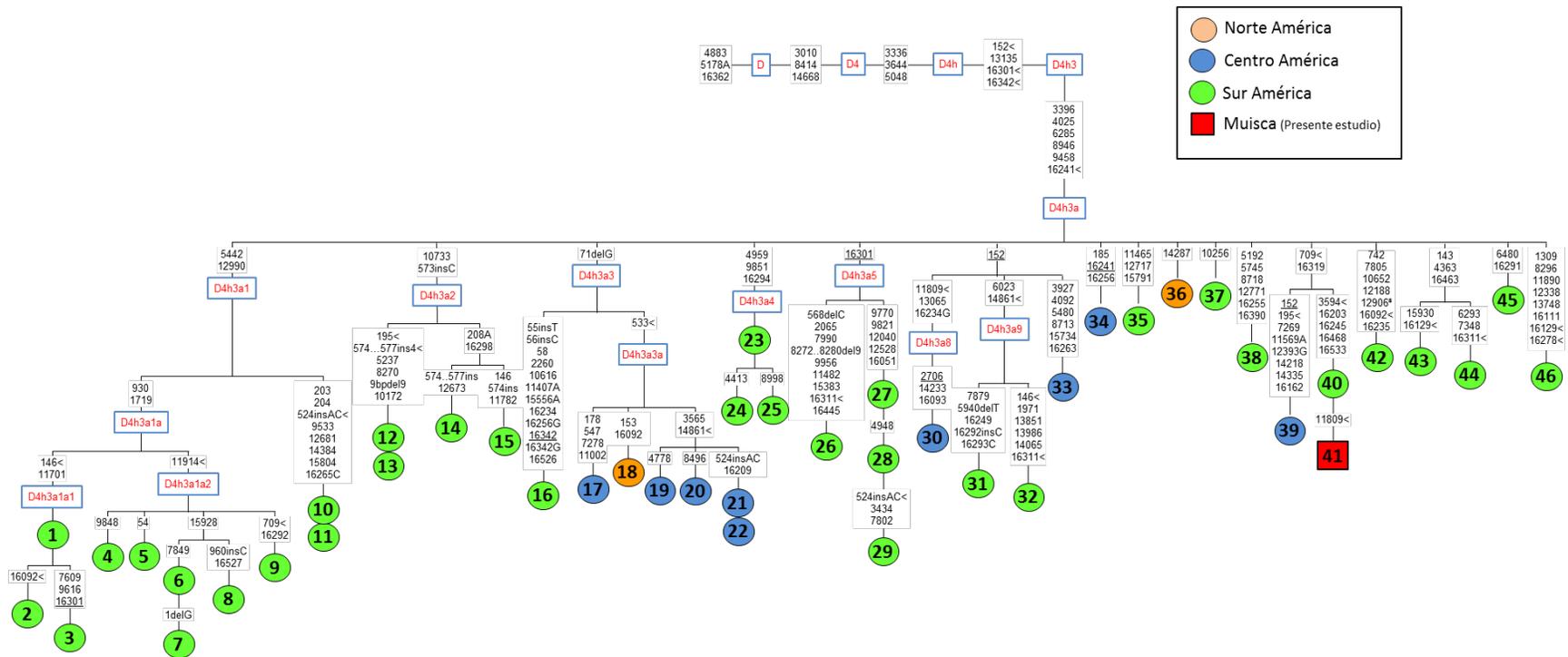


Figura 4. Árbol filogenético de Máxima Parsimonia (MP) con 46 secuencias completas de ADNmt pertenecientes al haplogrupo D4h3a. Los círculos y los cuadrados representan individuos con mitogenoma completo, y los números con los que se identifican son los mismos asignados en la Tabla S1. Las mutaciones se muestran en las ramas (relativas a la secuencia de referencia de Cambridge revisada - CRSr). Los sufijos indican: transversiones (A, G, C o T), deleciones (del), inserciones (ins) y reversiones (@). Las mutaciones recurrentes son subrayadas. Las variaciones en las posiciones 16519, la presencia de nucleótidos C en las posiciones 309-315, tanto como los indels AC en las posiciones 515-522 no se incluyen en la filogenia. Todas las muestras fueron coloreadas acorde a su origen geográfico mostrado en la leyenda. Las edades estimadas por análisis bayesiano son reportadas en ka (kiloaños o miles de años) para los nodos en los subhaplogrupos de interés.

Estimación del Tiempo del Ancestro Común Más Reciente.

Por medio de análisis Bayesiano se calculó el *Tiempo del Ancestro Común Más Reciente* (TMRCA, por sus siglas en inglés), el cual arrojó las fechas aproximadas de coalescencia de los subhaplogrupos encontrados en las muestras analizadas, teniendo en cuenta un intervalo de confianza (IC) del 95%, son detallados en la Tabla 3. Para los haplogrupos C1b y D4h3a, no se logró obtener el TMRCA, ya que en los análisis bayesianos no se obtuvo un tamaño efectivo de la muestra (ESS) superior a 200, por lo tanto los datos no son congruentes.

Clado	Edad (Años)	IC 95% limite inferior (Años)	IC 95% limite superior (Años)
A2y	10.490	3.170	17.83
A2ac	11.480	5.260	22.430
A2ac1	5.940	2.270	12.790
A2ac1a*	4.010	1.560	8.330
A2ad	18.060	9.470	26.090
A2ad1	5.870	10	8.740
A2ad2	9.200	10	14.740
A2ad3*	9.750	890	15.500
B2d	7.630	1.900	8.090

Tabla 3. Estimación de TMRCA de los ancestros comunes de los haplogrupos encontrados en el presente estudio.

DISCUSIÓN

Siendo la actual Colombia un paso obligado hacia el poblamiento del subcontinente suramericano los resultados en mitogenomas completos muestran nuevos conocimientos acerca de los linajes antiguos que dieron origen a la diversidad genética tanto de nuestro territorio como del resto del continente.

En la distribución de frecuencias mitocondriales se observa que el haplogrupo A2 es el más frecuente en estas poblaciones, lo cual es concordante con otros estudios que se han realizado a partir de regiones más cortas como el HVRI en población precolombina también de origen de la macro familia lingüística Chibcha (Mata-Míguez et al., 2012; Díaz-Matallana et al., 2016), siendo este el haplogrupo

característico también en comunidades contemporáneas de origen lingüístico Chibcha de Centroamérica (Perego et al., 2012; Mizuno et al., 2014) y Colombia (Usme-Romero et al., 2013; Xavier et al., 2015), como se describió anteriormente en el capítulo 2 (Casas-Vargas et al., 2017). Con estos resultados se confirma el origen común de estos grupos muiscas precolombinos y otros grupos lingüísticos Chibcha colombianos y centroamericanos, lo cual es concordante con los datos antropológicos (Rodríguez, 2011).

Según los haplotipos encontrados a partir de los mitogenomas completos el subhaplogrupo más frecuente fue el A2ac1. Al realizar la búsqueda de otras secuencias completas en el resto del continente se observó que sólo existen cinco reportes previos en comunidades contemporáneas, cuatro de ellas en Colombia – principalmente en el municipio de Medellín (Zheng et al., 2012)–, y una proveniente de Cuba (Behar et al., 2012). Al realizar los análisis filogenéticos, se observa un agrupamiento definido por una mutación en la posición 9591 en el que todas las muestras analizadas poseen esta mutación y lo comparten con otras dos secuencias previamente reportadas. Esto estaría indicando la necesidad de definir un nuevo sublinaje que se propone denominar A2ac1a. Adicionalmente, al observar las secuencias parciales en las cuales se obtuvo un cubrimiento del mitogenoma completo menor del 99%, se logró asignar el haplogrupo A2ac en cinco de ellas, en las que se observa también el polimorfismo 9591A (Tabla 2).

Al obtener los tiempos de coalescencia por medio de análisis bayesiano, se obtiene que el origen de haplogrupo A2ac surgió hace 11.480 años; el subhaplogrupo A2ac1 se originó hace aproximadamente 5.900 años, y el nuevo sublinaje A2ac1a es más joven originándose hace aproximadamente 4.000 años. Este es uno de los primeros reportes de los tiempos de coalescencia para el haplogrupo A2ac y A2ac1.

Adicionalmente a este sublinaje, y a partir de los análisis en mitogenomas completos, se logran confirmar los hallazgos registrados en el capítulo 3 de esta tesis, donde se describió cómo, a partir de análisis en la región HVRI, se observó un nuevo subhaplogrupo denominado A2ad3, caracterizado por la mutación en la posición 16259. En los análisis filogenéticos del mitogenoma completo se observa

de nuevo esta agrupación, compartiendo esta mutación con otra secuencia completa que había sido reportada anteriormente y clasificada como A2ad (Achilli et al., 2008) y con origen en República Dominicana. Al realizar los tiempos de coalescencia encontramos que el haplogrupo A2ad se originó hace 18.000 años, similar a lo encontrado por Perego et al. 2012, donde se obtuvo una fecha de 16.000 años (Perego et al., 2012). Los sublinajes descritos por Perego et al. 2012, son los A2ad1 y A2ad2, con tiempos de coalescencia de 5.000 y 9.000 años respectivamente. En nuestros resultados, los tiempos obtenidos para A2ad1 y A2ad2 fueron consistentes con este reporte (A2ad1: 5.800 años y A2ad2: 9.200 años). Según estos análisis, el nuevo sublinaje A2ad3 se originó hace 9.750 años, aproximadamente.

Otro sublinaje interesante del haplogrupo A2 encontrado en el presente estudio fue el A2y, para el cual se obtuvo una fecha de origen alrededor de los 10.500 años. Este sublinaje es compartido con otras secuencias completas que provienen de la Amazonia ecuatoriana, en la comunidad Waorani, la cual es considerada como un aislado genético. En consecuencia, y en su momento, este subhaplogrupo había sido reportado como “específico” de esta población (Cardoso et al., 2012).

Para el haplogrupo B2d, se logró establecer un posible origen hace aproximadamente 7.600 años, similar a lo reportado por Zheng et al. 2012, quienes obtuvieron una fecha de 6.300 años por el método bayesiano (Zheng et al., 2012). En este reporte, estos investigadores definen este haplogrupo B2d como específico colombiano, a partir de los datos de los 1000 genomas. En este repositorio, las muestras que representan a Colombia tienen origen en el municipio de Medellín. En una publicación posterior que incluye el análisis de la región control, se describe este haplogrupo en la población de Panamá (Perego et al., 2012). En una búsqueda en otros reportes del continente se encontró la presencia en menor proporción de este haplogrupo en México (González-Martín et al., 2015) y Venezuela (Castro-de-Guerra et al., 2012). Dentro de este haplogrupo, siete secuencias comparten el mismo haplotipo, una de ellas (No. 35) pertenece al periodo Formativo datada en 1950 ± 30 a. P. Otra de ellas (No. 34), fue clasificada

en el periodo Muisca (siglos X-XVI d. C), y las otras cinco son contemporáneas. De esta manera se observa una continuidad de los linajes mitocondriales a través del tiempo hasta nuestros días.

Según los últimos reportes acerca del poblamiento americano, a partir del análisis de mitogenomas, se ha postulado que la diversificación de linajes desde el paso inicial por el estrecho de Bering ocurrió entre 16.000 y 13.000 años a. P., y el tiempo de expansión desde en norte a sur del continente habría tomado alrededor de 1.400 años, lo cual es compatible con las evidencias arqueológicas y genéticas encontradas hasta el presente (Llamas et al., 2016). En el contexto colombiano, y según los hallazgos del presente estudio, se podría concordar en que los primeros pobladores entraron a Suramérica atravesando el istmo de Panamá a finales del Pleistoceno, en una sola oleada migratoria, **hace aproximadamente 15.000-13.500 años a. P.** (Rothhammer and Dillehay, 2009; Cooke et al., 2013; Dickau et al., 2015). Los Andes Orientales colombianos fueron ocupados por dos posibles rutas: por el norte, siguiendo los ríos Magdalena, Sogamoso y Opón, y extendiéndose por Santander y Boyacá. Alternativamente, por el valle del río Bogotá, al sur de la anterior ruta, dispersándose por la región del altiplano Cundiboyasense (Rodríguez, 2011). Estos primeros pobladores que ocuparon el territorio boyacense permanecieron en esta región hasta la llegada de los conquistadores, lo cual se evidencia tanto por material arqueológico, en el cual se han encontrado restos humanos (Floresta-Boyacá) datados aproximadamente 8.000 años con una morfología craneal característica de los Paleoamericanos (Dolicocéfalo). Adicionalmente, **se han puesto en evidencia efectos de cambios ambientales acontecidos entre el II-I milenio a. C. que habrían conllevado a cambios morfológicos característicos de los periodos posteriores en los tiempos previos a la conquista (proceso de braquicefalización y gracilización que acompañó al desarrollo de la agricultura y a la sedentarización de la población).** Nuestros hallazgos genéticos concuerdan con el origen de los subhaplogrupos mitocondriales **hace alrededor de 10.000 años.** Tal es el caso del subhaplogrupo **A2y, el cual se originó en este tiempo: un subgrupo poblacional de este linaje habría migrado hacia el sur ubicándose en la Amazonía, y posteriormente, por**

cambios ambientales, estas poblaciones podrían haberse aislado del resto del territorio. Por tal motivo este haplogrupo no había sido descrito en otras poblaciones.

Adicionalmente, hay evidencia de asentamiento de otros dos linajes como es el caso del subhaplogrupo A2ad3 hace alrededor de los 9.000 años y uno más joven, el A2ac1a, hace aproximadamente 4.000 años, que se expandieron consecutivamente en el resto del territorio colombiano y en los países vecinos, observándose una continuidad genética hasta nuestros días.

Un buen ejemplo de este hecho es, justamente, la evidencia del subhaplogrupo A2ac1a tanto en el ADN mitocondrial de la investigadora principal del presente trabajo como en el ADN mitocondrial de 8 individuos precolombinos de los alrededores del Templo del Sol, en una región geográfica que coincide con el lugar de origen de la investigadora, cuya familia materna proviene de una población cercana a Sogamoso, distante solo 15 km del Templo del Sol. A pesar de pertenecer al mismo subhaplogrupo, el haplotipo de la investigadora difiere claramente en la posición 150 de la región hipervariable II en el asa mitocondrial, en donde se presenta un polimorfismo C > T.

Estos hallazgos retratan la importancia que tuvo el Templo del Sol en Sogamoso como principal centro religioso no solo desde los inicios de los muiscas, sino desde periodos anteriores, al haberse convertido eventualmente en un lugar de tradición ancestral desde sus primeros pobladores. Tal y como se puede concluir del ejemplo citado del subhaplogrupo A2ac1a, la evidencia de esta ancestría perdura en el genoma de las comunidades de la región.

CONCLUSIONES

Nuestros hallazgos representan el primer reporte de mitogenomas completos en muestras antiguas precolombinas en Colombia, permitiendo dar una mayor resolución a los análisis en ADNmt y encontrando nuevos conocimientos sobre los linajes precolombinos: se lograron definir dos nuevos subhaplogrupos que, según los datos obtenidos en el presente estudio, pudieron haberse originado en el

territorio colombiano y, a partir de esta localización primaria, haberse dado su expansión hacia territorios vecinos. Se demuestra así la importancia de los territorios precolombinos que hoy limitan las fronteras de Colombia como paso inicial al subcontinente suramericano, y se sientan bases moleculares para el análisis de las hipótesis acerca del origen del hombre americano.

BIBLIOGRAFIA

- Achilli A, Perego U a., Bravi CM, Coble MD, Kong Q-P, Woodward SR, Salas A, Torroni A, Bandelt H-J. 2008. The Phylogeny of the Four Pan-American MtDNA Haplogroups: Implications for Evolutionary and Disease Studies. *PLoS One* 3:e1764.
- Andrews RM, Kubacka I, Chinnery PF, Lightowlers RN, Turnbull DM, Howell N. 1999. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nat Genet* 23:147.
- De Azevedo S, Nocera A, Paschetta C, Castillo L, González M, González-José R. 2011. Evaluating microevolutionary models for the early settlement of the New World: the importance of recurrent gene flow with Asia. *Am J Phys Anthropol* 146:539–52.
- Behar DM, Van Oven M, Rosset S, Metspalu M, Loogväli EL, Silva NM, Kivisild T, Torroni A, Villems R. 2012. A “copernican” reassessment of the human mitochondrial DNA tree from its root. *Am J Hum Genet* 90:675–684.
- Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, Vaughan T, Wu CH, Xie D, Suchard MA, Rambaut A, Drummond AJ. 2014. BEAST 2: A Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis. *PLoS Comput Biol* 10:1–6.
- Cardoso S, Alfonso-Sánchez M a, Valverde L, Sánchez D, Zarrabeitia MT, Odriozola a, Martínez-Jarreta B, de Pancorbo MM. 2012. Genetic uniqueness of the Waorani tribe from the Ecuadorian Amazon. *Heredity (Edinb)* 108:609–615.
- Casas-Vargas A, Gómez A, Briceño I, Díaz-Matallana M, Bernal JE, Rodríguez JV. 2011. High genetic diversity on a sample of pre-Columbian bone remains from

- Guane territories in northwestern Colombia. *Am J Phys Anthropol* 649:637–649.
- Casas-Vargas A, Romero L, Usaquen W, Zea S, Silva M, Briceño I, Gómez A, Rodríguez JV. 2017. Diversidad del ADN mitocondrial en restos óseos prehispánicos asociados al templo del sol en los andes orientales colombianos. *Biomédica* 37:1–9.
- Castro-de-Guerra D, Figuera Pérez C, Bravi CM, Saunier J, Scheible M, Irwin J, Coble MD, Rodríguez-Larralde a. 2012. Sequence variation of mitochondrial DNA control region in North Central Venezuela. *Forensic Sci Int Genet* 6:e131-3133.
- Cooke R, Ranere A, Pearson G, Dickau R. 2013. Radiocarbon chronology of early human settlement on the Isthmus of Panama (13,000-7000BP) with comments on cultural affinities, environments, subsistence, and technological change. *Quat Int* 301:3–22.
- Díaz-Matallana M, Gómez A, Briceño I, Rodríguez JV. 2016. Genetic analysis of Paleo-Colombians from Nemocón , Cundinamarca provides insights on the early peopling of Northwestern South America. *Rev Acad Colomb Cienc* 40:461–483.
- Dickau R, Aceituno FJ, Loaiza N, López C, Cano M, Herrera L, Restrepo C, Ranere AJ. 2015. Radiocarbon chronology of terminal Pleistocene to middle Holocene human occupation in the Middle Cauca Valley, Colombia. *Quat Int* 363:43–54.
- Fernández C. 1999. La arqueología molecular aplicada ala solución de problemas prehistoricos: análisis de ADN mitocondrial en momias y restos óseos prehispánicos (Tesis).
- Gomes SM, Bodner M, Souto L, Zimmermann B, Huber G, Strobl C, Röck AW, Achilli A, Olivieri A, Torroni A, Côrte-Real F, Parson W. 2015. Human settlement history between Sunda and Sahul: a focus on East Timor (Timor-Leste) and the Pleistocenic mtDNA diversity. *BMC Genomics* 16:70.
- Gómez-Carballa A, Catelli L, Pardo-Seco J, Martínón-Torres F, Roewer L, Vullo C, Salas A. 2015. The complete mitogenome of a 500-year-old Inca child

- mummy. *Sci Rep* 5:16462.
- González-José R, Bortolini MC, Santos FR, Bonatto SL. 2008. The peopling of America: craniofacial shape variation on a continental scale and its interpretation from an interdisciplinary view. *Am J Phys Anthropol* 137:175–87.
- González-Martín A, Gorostiza A, Regalado-Liu L, Arroyo-Peña S, Tirado S, Nuño-Arana I, Rubi-Castellanos R, Sandoval K, Coble MD, Rangel-Villalobos H. 2015. Demographic history of indigenous populations in Mesoamerica based on mtDNA sequence data. *PLoS One* 10.
- Hartmann A, Thieme M, Nanduri LK, Stempf T, Moehle C, Kivisild T, Oefner PJ. 2009. Validation of microarray-based resequencing of 93 worldwide mitochondrial genomes. *Hum Mutat* 30:115–122.
- Hubbe M, Neves W a, Harvati K. 2010. Testing evolutionary and dispersion scenarios for the settlement of the new world. *PLoS One* 5:e11105.
- Just RS, Diegoli TM, Saunier JL, Irwin JA, Parsons TJ. 2008. Complete mitochondrial genome sequences for 265 African American and U.S. “Hispanic” individuals. *Forensic Sci Int Genet* 2:45–48.
- Keyeux G, Rodas C, Gelvez N, Carter D. 2002. Possible migration routes into South America deduced from mitochondrial DNA studies in Colombian Amerindian Populations. *Hum Biol* 74:211–33.
- Langebaek C. 1987. *Mercados, Poblamiento e Integración Étnica entre los Muisca del siglo XVI*. Bogotá D.C.: Banco de la República.
- Llamas B, Fehren-Schmitz L, Valverde G, Soubrier J, Mallick S, Rohland N, Nordenfelt S, Valdiosera C, Richards SM, Rohlach A, Barreto-Romero MI, Flores-Espinoza I, Tomasto-Cagigao E, Watson-Jimenez L, Makowski K, Santiago-Leboreiro-Reyna I, Mansilla-Lory J, Ballivian-Torrez JA, Rivera MA, Burger RL, Constanza-Ceruti M, Reinhard J, Wells RS, Politis G, Santoro CM, Standen VG, Smith C, Reich D, Ho SYW, Cooper A, Haak W. 2016. Ancient mitochondrial DNA provides high-resolution timescale of the peopling of the Americas. *Sci Adv*.
- Mata-Míguez J, Overholtzer L, Rodríguez-Alegría E, Kemp BM, Bolnick DA. 2012. The genetic impact of Aztec imperialism: Ancient mitochondrial DNA evidence

- from Xaltocan, Mexico. *Am J Phys Anthropol* 149:504–516.
- Melton PE, Briceño I, Gómez A, Devor E, Bernal JE, Crawford MH. 2007. Biological Relationship Between Central and South American Chibchan Speaking Populations : Evidence From mtDNA. *Am J Phys Anthropol* 770:753–770.
- Mizuno F, Gojobori J, Wang L, Onishi K, Sugiyama S, Granados J, Gomez-Trejo C, Acuña-Alonzo V, Ueda S. 2014. Complete mitogenome analysis of indigenous populations in Mexico: its relevance for the origin of Mesoamericans. *J Hum Genet*:1–9.
- Monsalve M V, Cardenas F, Guhl F, Delaney a D, Devine D V. 1996. Phylogenetic analysis of mtDNA lineages in South American mummies. *Ann Hum Genet* 60:293–303.
- van Oven M, Kayser M. 2009. Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. *Hum Mutat* 30:386–394.
- Parson W, Strobl C, Huber G, Zimmermann B, Gomes SM, Souto L, Fendt L, Delport R, Langit R, Wootton S, Lagacé R, Irwin J. 2013. Reprint of: Evaluation of next generation mtGenome sequencing using the Ion Torrent Personal Genome Machine (PGM). *Forensic Sci Int Genet* 7:632–639.
- Perego UA, Achilli A, Angerhofer N, Accetturo M, Pala M, Olivieri A, Kashani BH, Ritchie KH, Scozzari R, Kong Q, Myres NM, Salas A, Semino O, Woodward SR. 2009. Distinctive Paleo-Indian Migration Routes from Beringia Marked by Two Rare mtDNA Haplogroups. *Curr Biol*:1–8.
- Perego U a, Lancioni H, Tribaldos M, Angerhofer N, Ekins JE, Olivieri A, Woodward SR, Pascale JM, Cooke R, Motta J, Achilli A. 2012. Decrypting the mitochondrial gene pool of modern Panamanians. *PLoS One* 7:e38337.
- Perez SI, Bernal V, Gonzalez PN, Sardi M, Politis GG. 2009. Discrepancy between cranial and DNA data of early Americans: implications for American peopling. *PLoS One* 4:e5746.
- Rasmussen M, Anzick SL, Waters MR, Skoglund P, DeGiorgio M, Stafford TW, Rasmussen S, Moltke I, Albrechtsen A, Doyle SM, Poznik GD, Gudmundsdottir V, Yadav R, Malaspina A-S, White SS, Allentoft ME, Cornejo

- OE, Tambets K, Eriksson A, Heintzman PD, Karmin M, Korneliussen TS, Meltzer DJ, Pierre TL, Stenderup J, Saag L, Warmuth VM, Lopes MC, Malhi RS, Brunak S, Sicheritz-Ponten T, Barnes I, Collins M, Orlando L, Balloux F, Manica A, Gupta R, Metspalu M, Bustamante CD, Jakobsson M, Nielsen R, Willerslev E, V SSW, Allentoft ME, Cornejo OE, Tambets K, Eriksson A, Heintzman PD, Karmin M, Korneliussen TS, Meltzer DJ, Pierre TL, Stenderup J, Saag L, Warmuth VM, Lopes MC, Malhi RS, Brunak S, Sicheritz-Ponten T, Barnes I, Collins M, Orlando L, Balloux F, Manica A, Gupta R, Metspalu M, Bustamante CD, Jakobsson M, Nielsen R, Willerslev E. 2014. The genome of a Late Pleistocene human from a Clovis burial site in western Montana. *Nature* 506:225–229.
- Rodríguez JV. 2011. Los chibchas : hijos del sol , la luna y los Andes . Orígenes de su diversidad. Bogotá D.C.: Instituto de Desarrollo Urbano: Universidad Nacional de Colombia.
- Rodríguez JV. 2015. El parque Arqueológico de Facatativá: proceso de recuperación y conservación de la memoria de sus antiguos habitantes. Bogotá D.C.: Universidad Nacional de Colombia, CAR.
- Rothhammer F, Dillehay TD. 2009. The late Pleistocene colonization of South America: an interdisciplinary perspective. *Ann Hum Genet* 73:540–9.
- Sánchez C. 2007. Secuenciación de ADN mitocondrial a partir de fragmentos óseos prehispánicos hallados en el sector de Candelaria La Nueva en Bogotá.
- Silva A, Briceño I, Burgos J, Torres D, Villegas V, Gómez A, Bernal JE, Rodríguez JV. 2008. Análisis de ADN mitocondrial en una muestra de restos óseos arcaicos del periodo Herrera en la sabana de Bogotá. *Victoria*:569–577.
- Swofford D. 2002. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
- Tackney JC, Potter BA, Raff J, Powers M, Watkins WS, Warner D, Reuther JD, Irish JD, O'Rourke DH. 2015. Two contemporaneous mitogenomes from terminal Pleistocene burials in eastern Beringia. *Proc Natl Acad Sci*:201511903.
- Tamm E, Kivisild T, Reidla M, Metspalu M, Smith DG, Mulligan CJ, Bravi CM,

- Rickards O, Martinez-Labarga C, Khusnutdinova EK, Fedorova SA, Golubenko M V., Stepanov VA, Gubina MA, Zhadanov SI, Ossipova LP, Damba L, Voevoda MI, Dipierri JE, Villems R, Malhi RS. 2007. Beringian standstill and spread of native American founders. *PLoS One* 2:1–6.
- Thorvaldsdóttir H, Robinson JT, Mesirov JP. 2013. Integrative Genomics Viewer (IGV): High-performance genomics data visualization and exploration. *Brief Bioinform* 14:178–192.
- Usme-Romero S, Alonso M, Hernandez-Cuervo H, Yunis EJ, Yunis JJ. 2013. Genetic differences between Chibcha and Non-Chibcha speaking tribes based on mitochondrial DNA (mtDNA) haplogroups from 21 Amerindian tribes from Colombia. *Genet Mol Biol* 36:149–57.
- Xavier C, Builes JJ, Gomes V, Ospino JM, Aquino J, Parson W, Amorim A, Gusmão L, Goios A. 2015. Admixture and Genetic Diversity Distribution Patterns of Non-Recombining Lineages of Native American Ancestry in Colombian Populations. *PLoS One* 10:e0120155.
- Zheng H-X, Yan S, Qin Z-D, Jin L. 2012. MtDNA analysis of global populations support that major population expansions began before Neolithic Time. *Sci Rep* 2:1–8.

INFORMACION DE SOPORTE

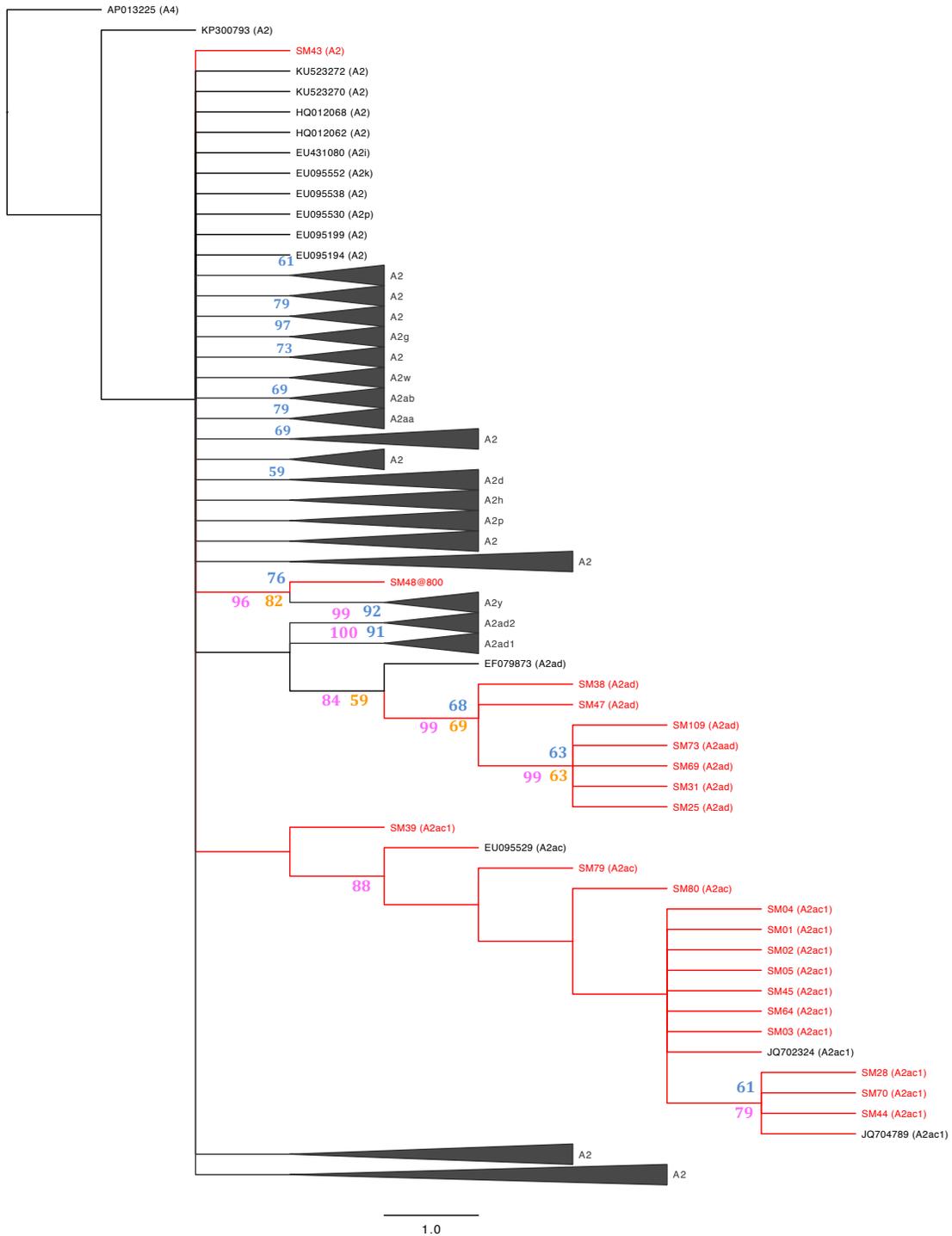


Figura S1. Filogenia máxima verosimilitud (ML) del haplogrupo A2. Las secuencias del presente estudio son resaltados en color rojo. Los soportes de Bootstrap de las ramas por medio

de análisis de ML están dados en color naranja, para el análisis de MP en color Azul, y para el análisis bayesiano en color rosado.

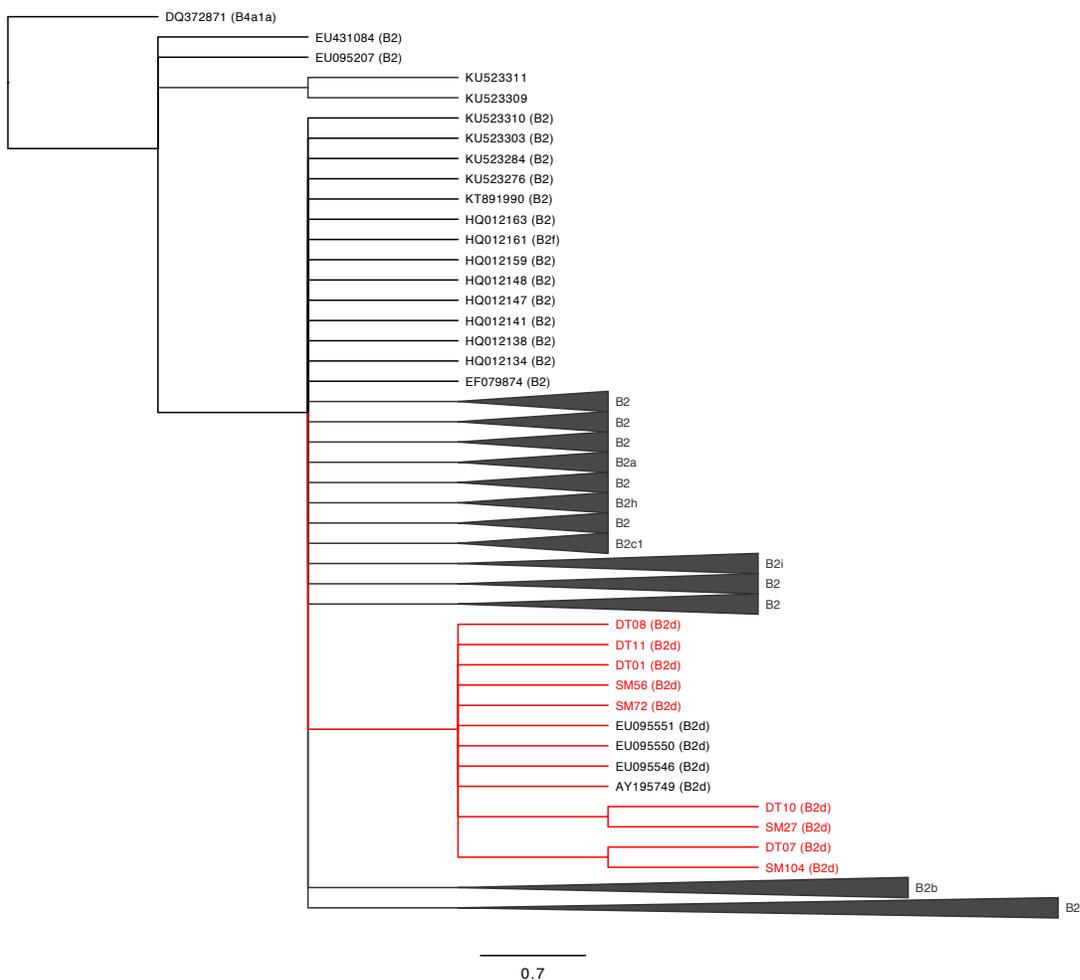


Figura S2. Filogenia máxima verosimilitud (ML) del haplogrupo B2. Las secuencias del presente estudio son resaltados en color rojo.

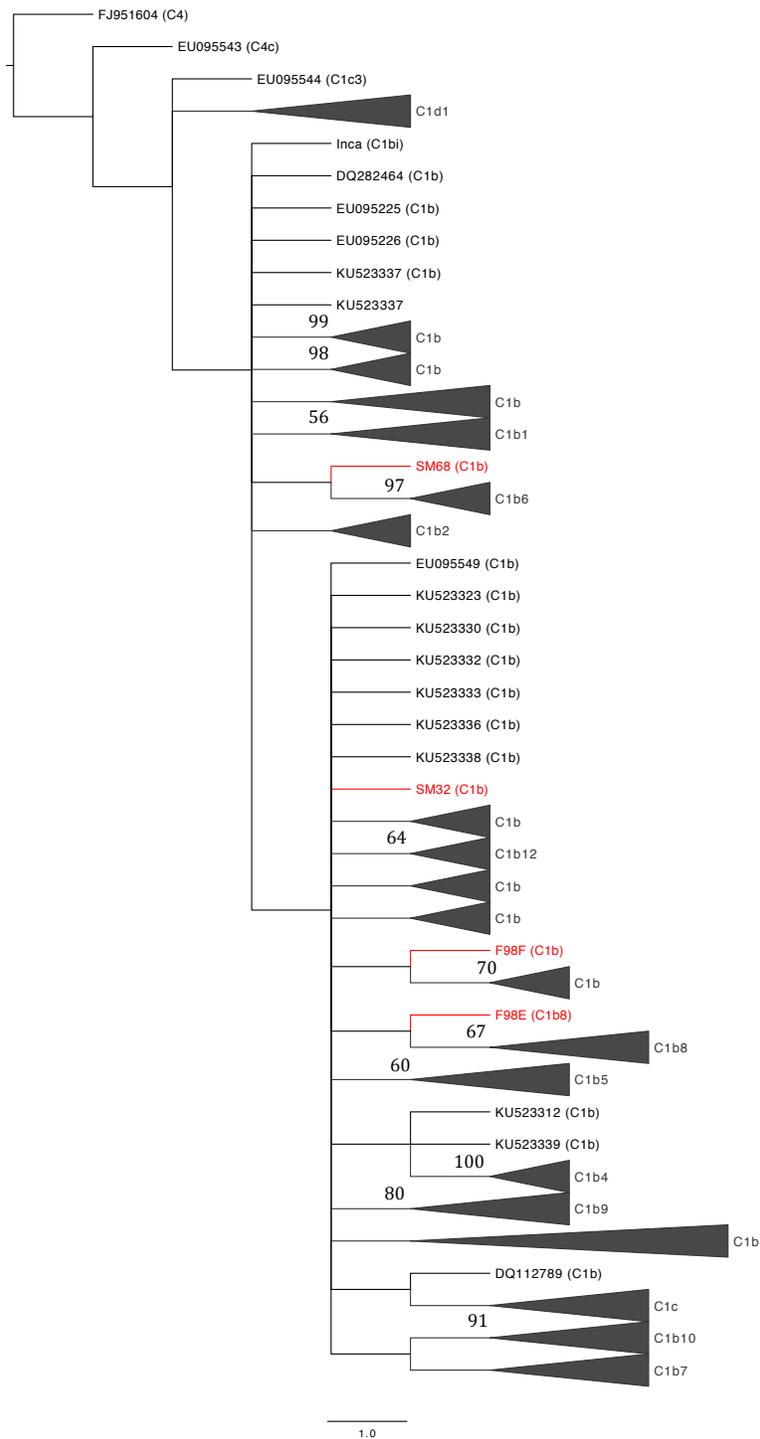


Figura S3. Filogenia máxima verosimilitud (ML) del haplogrupo C1. Las secuencias del presente estudio son resaltados en color rojo. Los soportes de Bootstrap de las ramas por medio de análisis de MP están dados en color negro.

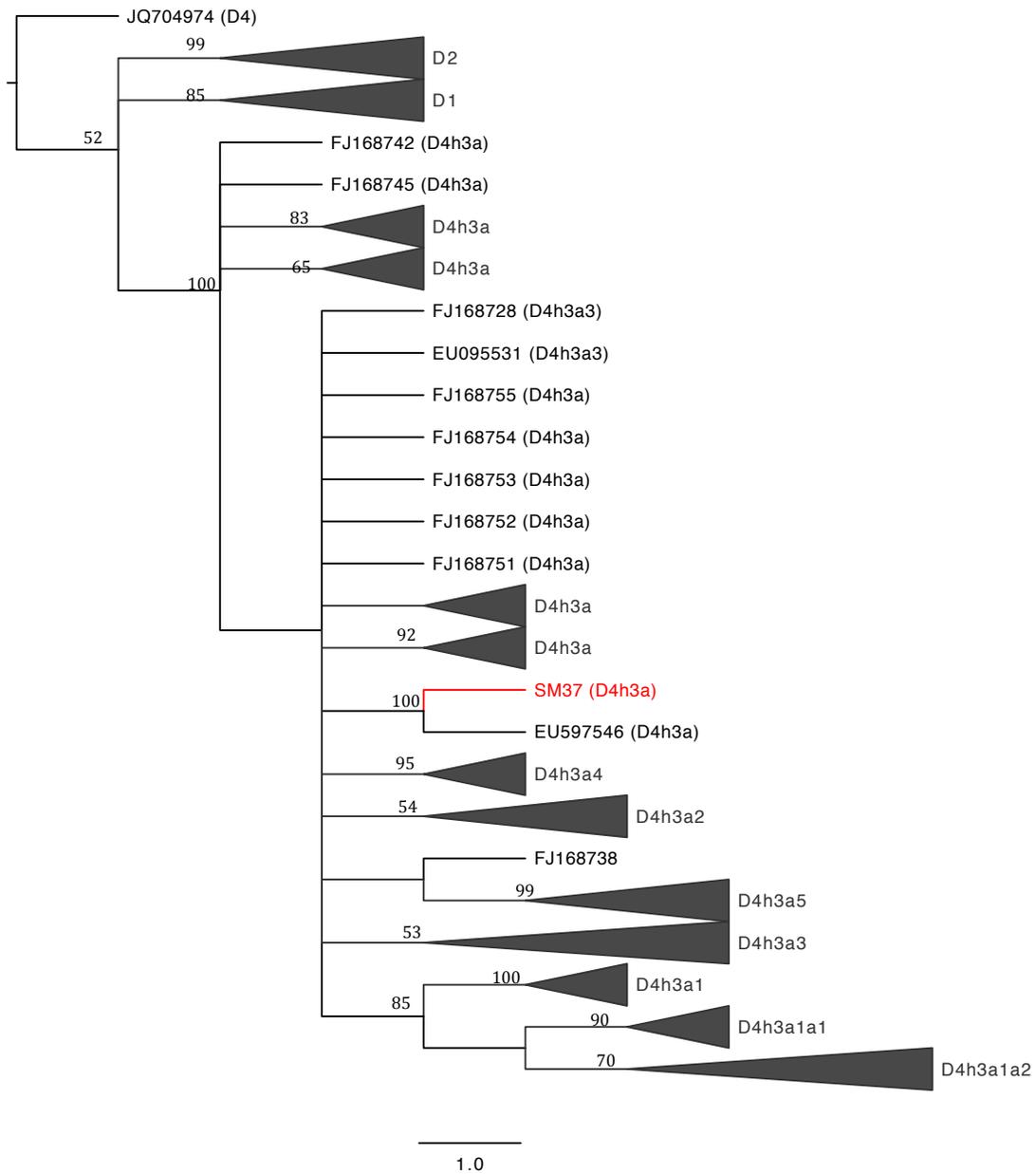


Figura S4. Filogenia máxima verosimilitud (ML) del haplogrupo D4h3. Las secuencias del presente estudio son resaltadas en color rojo. Los soportes de Bootstrap de las ramas por medio de análisis de MP están dados en color negro.

Conclusiones

En el presente estudio analizamos el ADNmt en tres niveles sucesivos de resolución. El primero, la resolución macro, corresponde a los análisis del polimorfismo de fragmentos de restricción (RFLP) (**Capítulo 2**) que fueron los primeros publicados en los años 90 del siglo pasado en los reportes genético poblacionales: a partir de ellos se establecieron las primeras hipótesis del origen del hombre moderno, con base en lo que se denomina hoy como macrohaplogrupos (A, B, C, D y X, en el caso americano). El segundo nivel de resolución de nuestro trabajo, consistente en el análisis de la región control o D-Loop (**Capítulo 3**), ampliamente utilizada debido a su tamaño relativamente corto e hipervariabilidad comparada con la región codificante, nos permitió definir la mayoría de haplogrupos de las muestras precolombinas, sin necesidad de secuenciar la región codificante. Además, en razón a que la mayoría de los laboratorios de genética cuentan con la facilidad de amplificar y secuenciar este tipo de fragmentos, se dispone actualmente de una gran base de datos de diferentes poblaciones en toda América y el resto del mundo. Por último, el nivel de mayor resolución, y que corresponde a la secuenciación del genoma mitocondrial completo (**Capítulo 4**), nos permitió analizar la totalidad de las mutaciones presentes en las mitocondrias de algunos individuos precolombinos, y obtener así una asignación más específica de subhaplogrupos para cada uno de ellos.

Al integrar toda la información resultante de estos tres niveles de resolución metodológica y analítica, nosotros logramos mostrar cómo estaban compuestos genéticamente los primeros pobladores de esta región (periodo Precerámico), así como los representantes del periodo sucesivo (Formativo) hasta el periodo Muisca inmediatamente anterior a la conquista española. Este análisis se hizo con base en restos humanos hallados en diferentes tipos de excavaciones, con distancias relativamente cercanas entre sí (en promedio de 15Km), es decir que hacían parte del mismo espacio geográfico, pero en diferentes temporalidades. Pudimos así

rastrear en el curso de más de 8.000 años algunos linajes que dieron origen a la diversidad genética de estas comunidades precolombinas.

Los tres grados de resolución son consistentes partiendo desde los análisis de los RFLP que nos dieron una primera aproximación a la distribución de frecuencias de los haplogrupos americanos, mostrando que los orígenes de la población del periodo Muisca provenían probablemente de Centroamérica, ya que compartían ancestros genéticos comunes con poblaciones pertenecientes a la familia lingüística Chibcha. Adicionalmente a los RFLP mitocondriales, se logró establecer el sexo de algunos individuos y eventuales relaciones de parentesco por medio de análisis de marcadores autosómicos.

En el segundo nivel de resolución, la región control del ADNmt demostró que cuatro de los cinco haplogrupos fundadores de los nativos americanos se encontraban presentes en los tres periodos culturales sucesivos (Precerámico, Formativo y Muisca), concordando con las hipótesis acerca de la continuidad genética que se estableció en las poblaciones colombianas hasta llegar a los tiempos actuales. Adicionalmente, se puso en evidencia un nuevo sublinaje mitocondrial (A2ad3) el cual no había sido reportado previamente en ninguna población americana precolombina y el reporte del subhaplogrupo (A2y) que en su momento se había reportado como específico de una población aislada de la amazonia ecuatoriana.

En cuanto al tercer nivel de resolución, es decir el de la obtención de la secuencia completa del genoma mitocondrial en restos precolombinos, el presente trabajo corresponde a uno de los primeros reportes de este tipo en Colombia. Gracias a este tercer tipo de análisis, se lograron definir dos nuevos subhaplogrupos (A2ac1a y A2ad3) que, según los datos obtenidos por nosotros, fue un lugar de asentamiento para estos linajes que posteriormente pudieron haberse expandido hacia territorios vecinos.

Según los resultados anteriores, y en función la diversidad genética encontrada en los tres periodos culturales sucesivos proveniente del los alrededores del Templo del Sol en Sogamoso, se observa que esta era una comunidad muy diversa tanto culturalmente como genéticamente y que siendo este uno de los principales

centros religiosos para los Muisca, sus orígenes ancestrales pueden remontarse desde finales del Pleistoceno e inicios del Holoceno (más de 10.000 años de antigüedad) a partir de comunidades centroamericanas que atravesaron el istmo de Panamá llegando hasta el valle del río Magdalena. A partir de este punto, pudieron subir por dos rutas a los Andes Orientales: a- Por el Norte (valle y cañón de los ríos Sogamoso-Chicamocha y Opón) b- por el Sur (valle y cañón del río Bogotá) extendiéndose por el altiplano cundiboyacense. En la región de Sogamoso habrían tenido lugar algunos de estos primeros asentamientos, y allí habrían surgido nuevos sublinajes mitocondriales que se mantuvieron y subdividieron en el tiempo a través de las generaciones dando origen a la diversidad genética encontrada en estos últimos periodos antes de la conquista. Después de este evento, y a pesar del cuello de botella genético que significó la colonización española, algunos de estos subhaplogrupos continuarían presentes en las comunidades actuales de la región. Estos linajes mitocondriales se expandieron también en otras regiones del territorio colombiano y en territorios vecinos como Panamá, Ecuador, Perú y Venezuela. Otra ruta adicional de expansión, pudo ocurrir hacia el Norte por Venezuela, logrando atravesar el arco Antillano, ocupando territorios como Cuba y República Dominicana (**Figura 1**).

Adicionalmente, este estudio es uno de los primeros en el país en el que se realiza análisis de la variabilidad genética en restos arqueológicos que pertenezcan a tres periodos culturales sucesivos dando una perspectiva temporal y espacial de las poblaciones precolombinas de los Andes Orientales, según nuestros resultados a nivel genético indican que la heterogeneidad morfológica de estas comunidades fueron producto de procesos microevolutivos *in situ*, como los cambios ambientales ocurridos principalmente en II-I milenio a. C, la selección natural, domesticación de plantas como el maíz que permitió el crecimiento demográfico, procesos de deriva genética en pequeños grupos, y el flujo génico entre varias regiones acompañado por el intercambio comercial, dieron origen a la diversidad genética encontrada en estas poblaciones precolombinas.

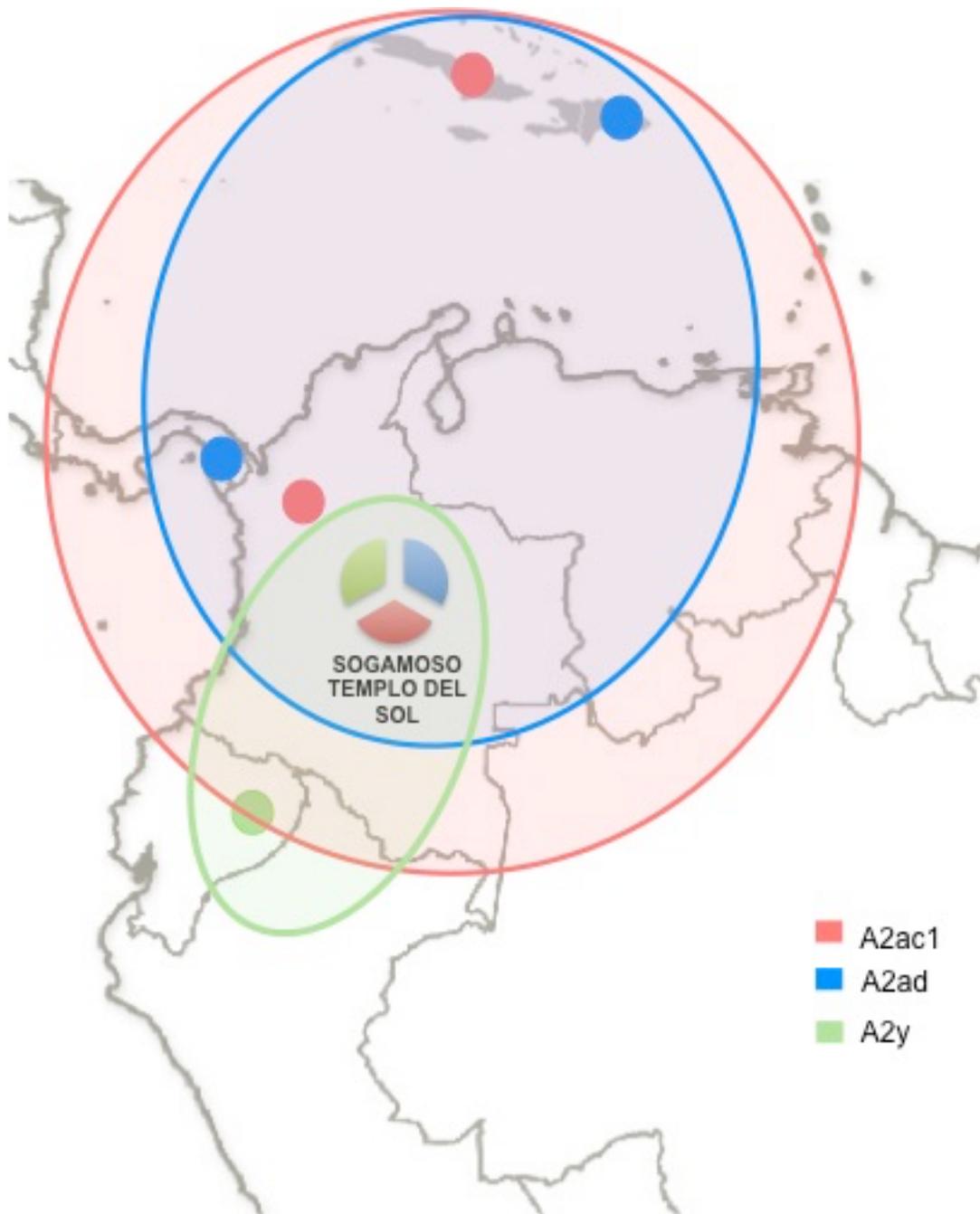


Figura 1. Modelo de asentamiento y expansión de los linajes presentes en el Templo del Sol. Asentamiento poblacional en los Andes Orientales, dando origen a nuevos linajes, expansión al territorio colombiano y países vecinos (Ecuador, Perú, Venezuela, Panamá Cuba y República Dominicana).