

EL ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD DEL ADN MITOCONDRIAL EN POBLACIONES HUMANAS DEL NOROESTE DE PATAGONIA: ESTADO ACTUAL Y PERSPECTIVAS FUTURAS

María B. Postillone¹ y S. Ivan Perez²

INTRODUCCIÓN

Conocer la diversidad biológica de los individuos que habitaron el noroeste de Patagonia es central para reconstruir los procesos evolutivos de las poblaciones humanas de la región. En particular, el estudio de la diversidad genética heredable constituye un paso fundamental para comprender el modo del poblamiento regional, los cambios demográficos que tuvieron lugar desde el poblamiento inicial, así como los procesos y eventos que dieron forma a la estructura poblacional (Templeton 2006; Nielsen y Slatkin 2013). Los cambios en la diversidad biológica observados en las poblaciones se relacionan de manera directa con los procesos y eventos que dieron origen a la misma en el pasado, de manera que un aumento en la diversidad puede estar relacionada con eventos de migración o crecimiento demográfico, mientras que una disminución significativa en la diversidad puede ser el resultado de cuellos de botella o descensos moderados del tamaño poblacional en el pasado.

¹ Departamento de Ciencias Naturales y Antropológicas, Centro de Estudios Biomédicos, Biotecnológicos, Ambientales y de Diagnóstico, Universidad Maimónides. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. E-mail: mbpostillone@gmail.com. ² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). División Antropología, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Argentina.

En los últimos años, la obtención y análisis de datos de ADN mitocondrial (ADNmt) se ha convertido en una vía particularmente adecuada y eficaz para dar respuesta a los problemas mencionados. Esto se basa en las propiedades de esta molécula cuya tasa de mutación es relativamente rápida, se hereda intacta de madres a hijos, no recombina y generalmente está libre del efecto ambiental (Wallace 1995; Endicott y Ho 2008). Para el noroeste de Patagonia los marcadores moleculares del ADNmt han sido previamente empleados en el contexto de estudios a escala continental. Estos estudios se han centrado principalmente en explorar el tiempo de origen y la distribución geográfica de los haplogrupos o subhaplogrupos fundadores con el fin de inferir las rutas migratorias de los primeros americanos (Merriwether et al. 1995; Perego et al. 2009; Bodner et al. 2012; de Saint Pierre et al. 2012a). Sin embargo, hasta el presente no se ha efectuado una descripción rigurosa del patrón de variación del ADNmt a escala regional que permita comprender los procesos y eventos evolutivos locales que originaron la variación poblacional a lo largo del Holoceno.

El objetivo de este trabajo es realizar un análisis exploratorio de la diversidad genética de las poblaciones humanas del noroeste de Patagonia. En particular, se recopilan y analizan los datos disponibles de ADNmt de poblaciones humanas contemporáneas del noroeste de Patagonia -Neuquén y Río Negro en Argentina y Bio-Bío, Araucanía, Región de los Ríos y Región de Los Lagos en Chile- a partir de los cuales se estiman medidas de diversidad nucleotídica y haplotípica. Asimismo, con el objetivo de estimar el tiempo más probable en el que se produjo la diversificación genética en la región, se reconstruye una genealogía molecular y se calcula el tiempo para el ancestro común más reciente del subhaplogrupo más frecuente. Para contar con un marco comparativo, la variación observada en el noroeste se compara con la presente en el extremo sur de Patagonia -Santa Cruz y Tierra del Fuego en Argentina y las Regiones de Magallanes y Aisén en Chile- donde se tienen en cuenta secuencias previamente publicadas de individuos prehispánicos (García-Bour et al. 2004; de La Fuente et al. 2015). Finalmente, se discuten y delimitan estudios futuros que contribuirán a comprender la historia evolutiva de las poblaciones humanas del noroeste de Patagonia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Secuencias de ADNmt

Las secuencias de ADN mitocondrial (ADNmt) fueron obtenidas de la base de datos GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) y de publicaciones previas (Ginther et al. 1993; Moraga et al. 2000, 2010; García-Bour et

al. 2004; Perego et al. 2009; Catelli et al. 2011; Bodner et al. 2012; de Saint Pierre et al. 2012a,b; de La Fuente et al. 2015). Se recopiló un total de 341 secuencias que cuentan con 1016 pares de bases (pb) de la región control del ADNmt (posicionadas entre las bases 16.024 y 576 en la secuencia de referencia de Cambridge revisada, rCRS; Andrews et al. 1999). Detalles acerca de las secuencias empleadas pueden ser encontrados en Postillone (2016) y Perez et al. (2016a). Los análisis efectuados en este trabajo solo incluyeron secuencias asignables a subhaplogrupos que presentan alta frecuencia o fueron caracterizadas como exclusivas de poblaciones aborígenes del extremo sur de Sudamérica (Perego et al. 2009; Bodner et al. 2012; de Saint Pierre et al. 2012a). Estas secuencias fueron alineadas usando el programa MAFFT v7.012b con las opciones por defecto (Katoh y Standley 2013).

Análisis estadísticos

Para estimar la diversidad en el ADNmt para el noroeste y sur de Patagonia se emplearon cinco medidas estadísticas: el número total de sitios polimórficos (S), el número de haplotipos (h), la diversidad haplotípica (Hd), el número promedio de diferencias entre pares de secuencias (k) y la diversidad nucleotídica (π) (Rozas 2009; Freeland et al. 2011). Estos estadísticos fueron calculados en el programa DNAsp 5.10 (Rozas et al. 2010). La pertenencia de cada secuencia a un haplogrupo y haplotipo fue establecida empleando la aproximación implementada en el programa HaploGrep (van Oven y Kayser 2009; Kloss-Brandstatter et al. 2011). La variación existente en los diferentes haplogrupos mitocondriales del noroeste de Patagonia fue visualizada empleando una red molecular reconstruida con el programa Network 5.0.0.0 (Fluxus Technology Ltd. 2016) mediante el método de median joining y asignando los pesos otorgados a cada sitio polimórfico según lo propuesto por Soares y colaboradores (2009).

El total de las secuencias de ADNmt, por un lado, y las secuencias correspondientes al subhaplogrupo más frecuente en la muestra del noroeste de Patagonia, por otro, fueron usadas para estimar un árbol genealógico con tiempo de coalescencia empleando el método Bayesiano desarrollado por Drummond y colaboradores (2006). Para este análisis se empleó un modelo de reloj molecular relajado que permite que la tasa de sustitución varíe entre los linajes de acuerdo a una distribución lognormal no-correlacionada (Drummond et al. 2006) y se estableció como distribución a priori para el árbol genealógico un proceso de Yule. El árbol fue estimado usando simulaciones de una cadena de Markov Monte Carlo que coestima la genealogía y el tiempo de coalescencia (Drummond et al. 2006). La simulación de la cadena de Markov fue generada con 50.000.000 de generaciones y una frecuencia de muestreo de 5000 (Ram-

baut y Drummond 2007). Las simulaciones fueron efectuadas asumiendo un modelo de evolución molecular HKY estimada con el programa Mega 6 (Tamura et al. 2007) y una tasa de sustitución por sitio por año de $3,02^{E-7}$ (s/s/a; Endicott y Ho 2008; de Saint Pierre et al. 2012a; Perez et al. 2016b). La cadena de Markov Monte Carlo fue corrida usando la aproximación Bayesiana implementada en BEAST 1.6.1 (Drummond y Rambaut 2007) y la convergencia de los parámetros fue evaluada empleando Tracer v1.5 (Rambaut y Drummond 2007).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos muestran que el haplogrupo más representado en la región fue el D en un 40,99% (incluyendo los subhaplogrupos D1 y D4h3a), seguido del haplogrupo B en un 28,83%, el haplogrupo C en un 22,97% y, por último, el haplogrupo A presente en un 7,21%. Dentro de cada haplogrupo los haplotipos presentes fueron: en A, el A2+16129 y el A2+16356, y en el haplogrupo B se observó una mayor representación del subhaplogrupo B2i que es típico de Patagonia. En cuanto a los subhaplogrupos de C, se encontraron el C1b y el C1b13 que se encuentra muy representado en individuos patagónicos. Para el D se observó una mayor diversidad de haplotipos siendo el mayoritario el haplotipo D1g con diferentes ramificaciones, seguido del D4h3a (Fig. 1).

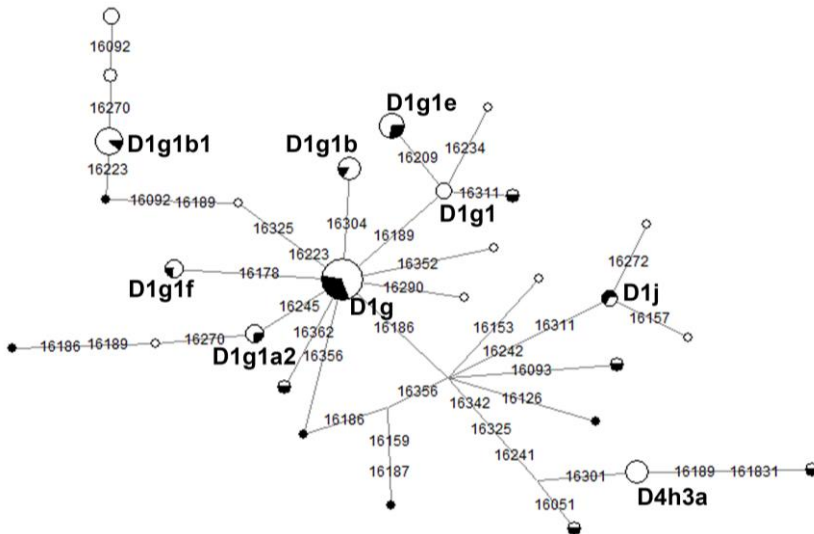


Figura 1. Red molecular reconstruida mediante el método de median joining para el haplogrupo D del Noroeste de Patagonia. En cada nodo de la red el color blanco representa la frecuencia de individuos de Chile y el color negro los individuos de Argentina

El haplogrupo D además de ser el mayoritario es el que presenta mayor diversidad de haplotipos (Fig. 1), siendo la Hd muy cercana a la obtenida para el total de las muestras analizadas (Tabla 1). Asimismo, los estadísticos S y k indican que esos haplotipos presentan diferencias importantes entre sí, con respecto a los valores observados para los otros tres haplogrupos (Tabla 1). La estimación genealógica mostró que el nodo ancestral de todos los haplotipos de D1 tiene un fechado para el ancestro común más reciente en el noroeste de Patagonia de alrededor de 15.000 años AP. El subhaplogrupo más antiguo es el D1g con una fecha de origen de 9500 años AP, mientras que el D4h3a se origina alrededor de 9000 años atrás.

Haplogrupo/ estadístico	Todos	Hg A	Hg B	Hg C	Hg D
n	222	16	64	51	91
S	64	9	18	26	29
h	74	7	24	17	29
Hd*	0,960±0,006	0,867±0,050	0,912±0,021	0,650±0,076	0,921±0,018
k	6,363	2,375	2,562	1,401	3,344
π^*	0,01917± 0,00047	0,00694± 0,00061	0,00769± 0,00062	0,00414± 0,00097	0,00986± 0,00071

Tabla 1. Estadísticos de variabilidad para los diferentes haplogrupos del noroeste de Patagonia. Referencias: n= número de secuencias analizadas; S=número total de sitios polimórficos; h=número de haplotipos; Hd=diversidad haplotípica; k=número promedio de diferencias entre pares de secuencias; π =diversidad nucleotídica. * Intervalo de confianza del 95%

Con respecto a la variabilidad descrita para la región sur de Patagonia (Tabla 2), puede observarse que el haplogrupo D es el mayoritario (50%), seguido del haplogrupo C (43,1%), con una escasa representación del haplogrupo B (6,03%) y prácticamente la ausencia del haplogrupo A (0,87%). Aunque el noroeste de Patagonia presenta una mayor diversidad haplotípica general, en el sur de Patagonia el haplogrupo D es más diverso y las diferencias entre las secuencias de los haplotipos encontrados (k) es mayor (Tabla 2). Esto puede deberse a que dentro de este último, en esa porción del continente, se observa mayor representación y diversidad del subhaplogrupo D4h3a, que posee escasos sitios polimórficos compartidos con el resto de los haplotipos de D. La estimación genealógica mostró que el nodo ancestral de todos los haplotipos de C1 tiene un fechado para el ancestro común más reciente en el sur de Patagonia de alrededor de 15.000 años AP. El subhaplogrupo más antiguo es D1g con una fecha de origen de 13.000 años AP, mientras que el D4h3a se origina alrededor de 8500 años atrás.

Haplogrupo/ estadístico	Todos	Hg A	Hg B	Hg C	Hg D
n	116	1	7	50	58
S	44	-	9	20	18
h	40	-	5	14	20
Hd*	0,936±0,013	-	0,857±0,137	0,737±0,053	0,940±0,012
k	5,827	-	3,619	1,495	4,73
π^*	0,01704± 0,00077	-	0,00322± 0,00055	0,00437± 0,00079	0,01383± 0,00065

Tabla 2. Estadísticos de variabilidad para los diferentes haplogrupos del sur de Patagonia. Referencias: n= número de secuencias analizadas; S=número total de sitios polimórficos; h=número de haplotipos; Hd=diversidad haplotípica; k=número promedio de diferencias entre pares de secuencias; π =diversidad nucleotídica. * Intervalo de confianza del 95%

DISCUSIÓN

En este capítulo hemos efectuado un análisis exploratorio de la variabilidad genética de las poblaciones humanas del noroeste de Patagonia con el fin de comprender su historia evolutiva. Los resultados obtenidos sugieren que esta región fue poblada entre 15.000 y 10.000 años atrás, un rango similar al obtenido para el extremo sur de la Patagonia. El rango de fechas para el tiempo de poblamiento de la región coincidió con los sugeridos por estudios recientes realizados considerando distintas escalas geográficas y empleando fechados radiocarbónicos calibrados (13.000-12.000 años AP), y datos moleculares (17.000-14.000 años AP; Bodner et al. 2012; Barberena et al. 2015; Perez et al. 2016a, 2016b). Es importante considerar que al emplear las fechas de coalescencia de los subhaplogrupos mayoritarios en Patagonia al momento de poblamiento de la región, asumimos que estos subhaplogrupos se originaron en la región. Los estudios efectuados hasta el presente a una escala geográfica mayor permiten sustentar esta suposición (Bodner et al. 2012; de Saint Pierre et al. 2012a).

En cuanto a la diversidad total en las secuencias del ADNmt la misma resultó ser mayor en el noroeste que en el sur de Patagonia. El grado de variación biológica presente en la región de estudio pudo haberse originado por la acción de distintos procesos y eventos evolutivos. Por un lado, la gran variación observada en el noroeste de Patagonia podría estar relacionada con los eventos migratorios que dieron origen a la población de la región, así como a pulsos migratorios posteriores desde áreas geográficas vecinas a lo largo del Holoceno. En este sentido, Moraga y colaboradores (2000) propusieron que la tendencia a la disminución en la diversidad mitocondrial en sentido norte-sur observada en el sur de Sudamérica, se podría explicar por un efecto fundador serial durante el pobla-

miento inicial del subcontinente. Hay que destacar la elevada frecuencia del subhaplogrupo D4h3a en el sur de Patagonia en comparación al noroeste patagónico, que sugiere que el mismo estuvo presente en frecuencias altas en los primeros pobladores de la región. En un trabajo más reciente se planteó que las migraciones transcordilleranas y el flujo génico entre las poblaciones al este y oeste de los Andes, ocurridos con posterioridad al proceso inicial de colonización y migración costera del Pleistoceno final, también habrían contribuido sustancialmente a la mayor diversidad genética del noroeste de Patagonia (Bodner et al. 2012). Estos autores sugieren, además, que los subhaplogrupos D1g y D1j - aunque este último se observó en baja proporción en los individuos- han estado presentes en los ancestros de las poblaciones actuales y que probablemente se hayan expandido a través de los Andes.

En qué medida los patrones descritos aquí se relacionan con el poblamiento inicial (Moraga et al. 2000) o son el producto de procesos migratorios más recientes (e.g. cambios asociados con la araucanización, que podría haber resultado en mayor diversidad y nuevos linajes en norpatagonia alrededor del siglo XVI; Bodner et al. 2012), sólo puede ser discutido en futuros estudios que empleen mayor número de datos de ADN antiguo y de diversas cronologías. Asimismo, distintas líneas de evidencia independiente tales como presencia de ítems no locales (i.e. moluscos, estilos cerámicos y representaciones rupestres; Hajduk et al. 2011) podrían contribuir a discutir la importancia de las migraciones transcordilleranas a lo largo del Holoceno.

Si se descartan los procesos migratorios como un factor importante que estructura la variación genética en la región de estudio, y se asume que el noroeste de Patagonia fue habitado por una única población a lo largo del tiempo, la mayor variación observada podría estar relacionada con un aumento de la natalidad. Los incrementos en la tasa de nacimiento y consecuente crecimiento demográfico aumentan las probabilidades de que se generen y dispersen en la población nuevas mutaciones, produciendo un aumento en la diversidad genética (Nielsen y Slatkin 2013), como es el caso del incremento de la variabilidad de haplotipos en el subhaplogrupo D1. En este sentido, estudios previos empleando datos genéticos y fechados radiocarbónicos han señalado que las poblaciones de cazadores-recolectores del noroeste de Patagonia experimentaron cambios demográficos significativos desde el poblamiento inicial, con un aumento abrupto en la tasa de crecimiento alrededor de 7000-5000 años AP (Barberena et al. 2015; Perez et al. 2016b). Es notable que este momento es coincidente con la aparición de entierros formales en el norte de la provincia del Neuquén (Della Negra et al. 2009), una evidencia arqueológica indirecta de aumento demográfico en poblaciones humanas.

Como puede observarse, las hipótesis que postulan la existencia de procesos migratorios o de crecimiento poblacional (i.e. tasa de natalidad-tasa de mor-

alidad) podrían ser plausibles para explicar la mayor variación genética observada en el noroeste de Patagonia con respecto al sur de Patagonia. La asociación de los patrones de variación descritos aquí con procesos migratorios o de aumento en la tasa de natalidad puede ser discutida en futuros estudios que exploren los cambios espaciales en la diversidad genética a lo largo del tiempo, tanto en la región de estudio como en regiones vecinas, empleando por ejemplo modelos filogeográficos (Lemmon y Lemmon 2008; Lemey et al. 2010) y ADNmt antiguo (Molak et al. 2015). En este sentido, actualmente se encuentran en desarrollo proyectos de investigación que tienen como objetivo estudiar la dinámica poblacional y su relación con los cambios ecológicos de los grupos humanos del noroeste de Patagonia durante el Holoceno mediante el empleo de datos moleculares de ADNmt antiguo y moderno. Con este fin, hasta el presente se han recolectado muestras de ADNmt moderno en Las Ovejas (dpto. Minas), Rincón de Los Sauces y Buta Ranquil (dpto. Pehuenches) y Las Lajas (dpto. Picunches), así como muestras antiguas procedentes de diversos sitios arqueológicos con cronologías entre 5000 y 200 años calibrados AP. Los estudios en curso, junto con datos de ADNmt moderno y antiguo generados recientemente para áreas geográficas adyacentes (de Saint Pierre et al. 2012a; Crespo 2015; Postillone 2016), permitirán poner a prueba modelos formales acerca de los procesos y eventos evolutivos que dieron lugar a la variación presente en las poblaciones humanas del noroeste de Patagonia en general, y de la provincia del Neuquén en particular.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por la ANPCYT (Dinámica poblacional humana y variación en el nicho ecológico en el Noroeste de Patagonia durante el Holoceno- PICT 2134), la Universidad Nacional de La Plata (Ecología y evolución de las poblaciones humanas del Noroeste de Patagonia (prov. del Neuquén) durante el Holoceno) y el CONICET (Dinámica poblacional humana y cambios en el nicho ecológico en el noroeste de Patagonia durante el Holoceno- PIP 729). Al evaluador anónimo y a Valeria Bernal quienes hicieron numerosos comentarios que mejoraron la calidad de este trabajo.

REFERENCIAS CITADAS

Andrews RM, Kubacka MI, 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.

- Barberena R, Prates L, de Porras ME 2015. The human occupation of north-western Patagonia (Argentina): paleoecological and chronological trends. *Quatern Int*, 356: 111-126.
- Bodner M, Perego UA, Huber G, Fendt L, Rock 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 HJ, Parson W 2012. Rapid coastal spread of first Americans: Novel insights from South America's Southern Cone mitochondrial genomes. *Genome Res*, 22: 811–820.
- Catelli ML, Alvarez-Iglesias V, Gómez-Carballa A, Mosquera-Miguel A, Romanini C, Borosky A, Amigo J, Carracedo A, Vullo C, Salas 2011. The impact of modern migrations on present-day multi-ethnic Argentina as recorded on the mitochondrial DNA genome. *BMC Genet*, 12: 77.
- Crespo CM 2015. Estudio de la variabilidad mitocondrial en poblaciones prehistóricas de la Patagonia. Sus implicancias en el proceso de poblamiento regional. Tesis doctoral inédita, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.
- 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.
- Della Negra C, Novellino P, Perez SI, Hajduk A, Bernal V 2009. Investigaciones arqueológicas y bioarqueológicas en el sitio Aquihuecó (Norpatagonia): nuevos resultados. En: *Arqueología de Patagonia. Una mirada desde el último confín*. Salemme M, Santiago F, Álvarez M, Piana E, Vázquez M, Mansur ME (eds.), Editorial Utopías, Ushuaia, pp. 669-676.
- de Saint Pierre MC, Bravi CM, Motti JM, 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 MC, Gandini F, Perego UA, Bodner M, Gomez-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.
- Drummond AJ, Ho SYW, Phillips MJ, Rambaut A 2006. Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS Biol*, 4: e88.
- Drummond AJ, Rambaut A 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evol Biol*, 7: 214.
- Endicott P, Ho, SYW 2008. A Bayesian evaluation of human mitochondrial substitution rates. *Am J Hum Genet*, 82: 895-902.

- Freeland JR, Kirk H, Petersen S 2011. *Molecular Ecology*. John Wiley & Sons, New York.
- Fluxus Technology Ltd 2016. Network 5.0.0.0. Disponible en: <http://www.fluxus-engineering.com/sharenet.htm>
- García-Bour J, Pérez-Pérez A, Álvarez S, Fernández E, López-Parra A, Arroyo-Pardo E, Turbón D 2004. Early population differentiation in extinct aborigines from Tierra del Fuego-Patagonia: ancient mtDNA sequence and Y-chromosome STR characterization. *Am J Phys Anthropol*, 123: 361-370.
- Ginther C, Corach D, Penacino GA, Rey JA, Carnese FR, Hutz MH, Anderson A, Just J, Salzano FM, King MC 1993. Genetic variation among Mapuche Indians from the Patagonia region of Argentina: Mitochondrial DNA sequence variation and allele frequencies of several nuclear genes. En: *DNA Fingerprinting: State of the science*. Pena SDJ, Chakraborty R, Epplen JT, Jeffreys AJ (eds), Birkhauser Verlag, Basel, pp. 211-219.
- Hajduk A, Albornoz AM, Lezcano MJ 2011. Espacio, cultura y tiempo: el corredor bioceánico norpatagónico desde la perspectiva arqueológica. En: *Cultura y espacio. Araucanía-Norpatagonia*. Navarro Floria P, Delrio W (eds.). Universidad Nacional de Río Negro, San Carlos de Bariloche, pp. 262-292.
- Katoh K, Standley DM 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol Biol Evol*, 30: 772-780.
- Kloss-Brandstatter A, Pacher D, Schoenherr S, Weissensteiner H, Binna R, Specht G, Kronenberg F 2011. HaploGrep: a fast and reliable algorithm for automatic classification of mitochondrial DNA haplogroups. *Hum Mutat*, 32: 25-32.
- Lemmon AR, Lemmon EM 2008. A likelihood framework for estimating phylogeographic history on a continuous landscape. *Syst Biol*, 57: 544-561.
- Lemey P, Rambaut A, Welch JJ, Suchard MA 2010. Phylogeography takes a relaxed random walk in continuous space and time. *Mol Biol Evol*, 27: 1877-1885.
- Merriwether DA, Rothhammer F, Ferrell RE 1995. Distribution of the four founding lineage haplotypes in native americans suggests a single wave of migration for the New World. *Am J Phys Anthropol*, 98: 411-430.
- Molak M, Suchard MA, Ho SYW, Beilman D, Shapiro B 2015. Empirical calibrated radiocarbon sampler: a tool for incorporating radiocarbon-date and calibration error into Bayesian phylogenetic analyses of ancient DNA. *Mol Ecol Resour*, 15: 81-86.
- Moraga M, Rocco P, Miquel J, Nervi F, Llop E, Chakraborty R, Rothhammer F, Carvalho P 2000. Mitochondrial DNA polymorphisms in Chilean aboriginal populations: implications for the peopling of the Southern Cone of the continent. *Am J Phys Anthropol*, 113: 19-29.

- Moraga M, de Saint Pierre M, Torres F, Ríos J 2010. Vínculos de parentesco por vía materna entre los últimos descendientes de la etnia Kawesqar y algunos entierros en los canales patagónicos: evidencia desde el estudio de linajes mitocondriales. *Magallania*, 38: 103-114.
- Nielsen R, Slatkin M 2013. An introduction to population genetics: Theory and applications. Macmillan Education, Sinauer Associates, Inc., Massachusetts.
- Perego UA, Achilli A, Angerhofer N, Accetturo M, Pala M, Olivieri A, Kashani BH, Ritchie KH, Scozzari R, Kong QP, Myres NM, Salas A, Semino O, Bandelt HJ, Woodward SR, Torroni A 2009. Distinctive Paleo-indian migration routes from Beringia marked by two rare mtDNA haplogroups. *Curr Biol*, 19: 1-8.
- Perez SI, Postillone MB, Rindel DD, Gobbo D, Bernal V, Gonzalez PN 2016a. Peopling time, spatial occupation and demography of Late Pleistocene-Holocene human population from Patagonia. *Quatern Int*, en prensa.
- Perez SI, Bernal V, Gonzalez PN 2016b. Past population dynamics in Northwest Patagonia: an estimation using molecular and radiocarbon data. *J Archaeol Sci*, 65: 154-160.
- Postillone MB 2016. Estudio de ADN antiguo en muestras de poblaciones precolombinas de Argentina. Tesis doctoral inédita, Universidad Nacional de La Plata, La Plata.
- Rambaut A, Drummond AJ 2007. Tracer v1.5. Disponible en: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>
- Rozas J 2009. DNA Sequence polymorphism analysis using DnaSP. En: *Bioinformatics for DNA sequence analysis. Methods in molecular biology series Vol. 537*. Posada D (ed.), Humana Press, NJ, USA, pp. 337-350.
- Rozas J, Librado P, Sánchez-DelBarrio JC, Messeguer X, Rozas R 2010. DnaSP 5.10.1. Disponible en: <http://www.ub.edu/dnasp/>
- Soares P, Ermini L, Thomson N, Mormina M, Rito T, Röhl A, Salas A, Openheimer S, Macaulay V, Richards MB 2009. Correcting for purifying selection: an improved human mitochondrial molecular clock. *Am J Hum Genet*, 84: 740-759.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S 2007. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol*, 24: 1596-1599.
- Templeton A 2006. Population genetics and microevolutionary theory. Wiley-Liss, New York.
- van Oven M, Kayser M 2009. Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. *Hum Mutat*, 30: E386-E394.
- Wallace DC 1995. Mitochondrial DNA variation in human evolution, degenerative disease, and aging. *Am J Hum Genet*, 57: 201-223.