

Identificación de la presencia de ADN antiguo en restos óseos de la cultura capacha de Colima

Juan Alberto Román Berrelleza* / Andrés Saúl Alcántara Salinas** /
Angélica González Oliver***

ISSN: 2007-6851

p. 94-p. 104

Fecha de recepción del artículo: 12 de noviembre de 2015

Fecha de publicación: julio de 2016

Título del artículo en inglés: "DNA testing on ancient Colima's osseous remainings"
diariodecampo.mx

Resumen

Se analiza una colección osteológica recuperada del sitio arqueológico Las Fuentes en Colima, México, cuyos materiales corresponden a la fase cultural capacha del Formativo temprano (1500 a.C.). Las vasijas asa de estribo y las acinturadas, asociadas con los entierros, guardan una similitud con las elaboradas por las culturas de América del Sur, lo cual plantea probables contactos culturales y comerciales. Mediante la recuperación de los esqueletos y análisis del ADN mitocondrial (ADNmt) se pretende establecer hipótesis sobre estas relaciones. El artículo expone los avances y primeros resultados obtenidos.

Palabras clave: identificación, ADN, restos óseos, Colima, capacha.

Abstract

The article presents progress and preliminary results of the analysis of an osteological collection from the archaeological site of Las Fuentes, Colima, whose materials correspond to the Capacha cultural phase of the Early Formative (1500 BC). Stirrup spout, narrow-waisted vessels, associated with burials, bear a similarity with those made by cultures in South America, which suggests probable cultural and commercial contacts. Through the recovery of skeletons and mitochondrial DNA (mtDNA) analysis, an attempt is made to establish a hypothesis on these relations.

Keywords: DNA testing, bone remains, Colima, Capacha culture.

La antropología física, como rama de la antropología que se ocupa del estudio del ser biológico dentro de su contexto sociocultural, se ha nutrido de una amplia gama de métodos y técnicas provenientes de otras disciplinas y especialidades para alcanzar sus objetivos. La incorporación de los avances logrados en campos propios de la física, la química, la botánica, la zoología, la medicina, la odontología y, a últimas fechas, de las tecnologías moleculares tiene el propósito de obtener información para resolver problemas de investigación que todavía no encuentran una respuesta ni una solución adecuadas. En este caso se trata de incursionar desde la perspectiva antropofísica, y en concreto desde la osteología, en el ámbito de las características de la genética de los individuos de la población prehispánica de Colima, con el apoyo de los planteamientos metodológicos y técnicos generados por la bioquímica molecular.

La utilización de estrategias bioquímicas en estudios como éste obedece a dos razones fundamentales. En primer lugar, concordamos con otros investigadores en el sentido de que estas disciplinas han abierto nuevos horizontes en la investigación bioantropológica, puesto que las técnicas y metodologías desarrolladas en estos campos para el análisis del material genético humano han

* Profesor-investigador, Museo del Templo Mayor, INAH (excavadorsp@hotmail.com).

** Profesor-investigador, Centro INAH Colima (asa503r@hotmail.com).

*** Profesora titular de tiempo completo, Facultad de Ciencias, UNAM (goliver@unam.mx).

aportado nuevos datos y con ello la posibilidad de interpretaciones mejor solventadas para abordar temas clave de la antropología física y la arqueología. En segundo lugar, debido a que en la literatura de nuestra especialidad no se han encontrado criterios suficientemente claros y precisos para identificar, sin lugar a dudas, los marcadores genéticos de los individuos que se recuperan en las excavaciones arqueológicas, lo cual ha limitado los alcances interpretativos de las investigaciones antropofísicas y arqueológicas.

En razón de lo anterior, la presente investigación se enfoca en obtener material genético de restos óseos humanos pertenecientes a individuos prehispánicos recuperados en un predio cercano a la ciudad de Colima, con el propósito de identificar marcadores genéticos poblacionales del genoma mitocondrial, cuyo éxito permitirá caracterizar, en primera instancia, las frecuencias de dichos marcadores en la antigua población colimense de este sitio. A su vez, el conocimiento de estas frecuencias permitirá compararlas con las de otras poblaciones antiguas y contemporáneas del continente americano. Esto último ayudará, por ejemplo, a corroborar o refutar varios aspectos relacionados con la hipótesis de la existencia de contactos entre las poblaciones de Colima y las de América del Sur.

El panorama cultural de Colima

El estado de Colima forma parte del área cultural denominada como occidente mesoamericano. Por sus características geográficas y sus condiciones climáticas, se trata de una zona caracterizada por contar con abundancia de recursos naturales, lo cual la convirtió en un área extremadamente favorable para el establecimiento de grupos humanos que la habitaron desde épocas muy tempranas. Esta bondad en recursos y diversidad de nichos ecológicos de la que son poseedores estos vastos territorios se debe a que se ubica entre los conjuntos serranos que forman el Eje Volcánico Transversal, la Sierra Madre del Sur y la Sierra Madre Occidental; además, se beneficia de los fenómenos atmosféricos estacionales que proveen de abundantes lluvias y cuenta con variados y extensos litorales que limitan, al sur, con el océano Pacífico.

Desarrollada en este rico ambiente natural, la historia cultural del occidente mesoamericano ha presentado diversas problemáticas cuya complejidad exhibe dificultades al interpretarlas y explicarlas; por ello, a lo largo del tiempo ha producido muchas incógnitas pa-

ra quienes se dedican a estudiarla. Desde que fue reconocida como área cultural por la comunidad científica durante el desarrollo de la IV Mesa Redonda de la Sociedad Mexicana de Arqueología, en 1946, investigadores de la talla de Paul Kirchhoff, Salvador Toscano y Daniel Rubín de la Borbolla ya destacaban que los materiales arqueológicos de occidente eran producto de tradiciones culturales diferentes o poco comunes respecto a las existentes en las otras regiones de Mesoamérica (Olay, 2004a: 52).

A pesar de los notables avances que presentan las investigaciones que se desarrollan en el área en la actualidad, éstas avanzan a cuentagotas, no obstante los enormes esfuerzos por parte de los investigadores que dedican su trabajo a esta región. Por ello se intenta aprovechar al máximo cada uno de los hallazgos recuperados, sin importar lo grandes o pequeños que sean, a fin de obtener datos novedosos que permitan avanzar en el armado del rompecabezas de los procesos sociales que se han dado en esta región a lo largo de un poco más de tres mil años de historia prehispánica, ya que esta área cultural aún está lejos de ser comprendida a cabalidad y todavía se encuentra más lejano el momento en que su historia empiece a ser escrita.

Una de las investigadoras pioneras que trabajó en la región fue la doctora Isabel Kelly. Aunque no fue la primera, a ella le correspondió efectuar notables planteamientos sobre el desarrollo cultural del área. Inició sus investigaciones a finales de la década de 1930, que consistieron en un trabajo sistematizado por toda el área. Después de 40 años de estudios relevantes y acuciosos, propuso diversos aspectos que contribuyen al conocimiento del occidente mesoamericano. Una de sus aportaciones más importantes consistió en que definió los cuatro complejos cerámicos que caracterizan el área de occidente (Kelly, 1974, 1976, 1978). Pese a la distancia temporal de sus estudios, éstos se mantienen como los pilares más sólidos para quien desee introducirse en el estudio de la problemática cultural prehispánica de Colima, a la que la doctora Kelly denominó el Eje Armería (Kelly, 1980).

En su último trabajo, publicado en 1980, la doctora Kelly dio a conocer la existencia de un nuevo complejo cerámico en Colima, sobre el cual había trabajado durante largo tiempo. Hasta ese momento esa cerámica, a la que se asigna el nombre de "complejo capacha", era desconocida por la comunidad científica. La importancia de estos materiales arqueológicos y otros asociados con ellos se debió al hecho de que mediante los estudios de fechamiento absoluto efectuados por Kelly con

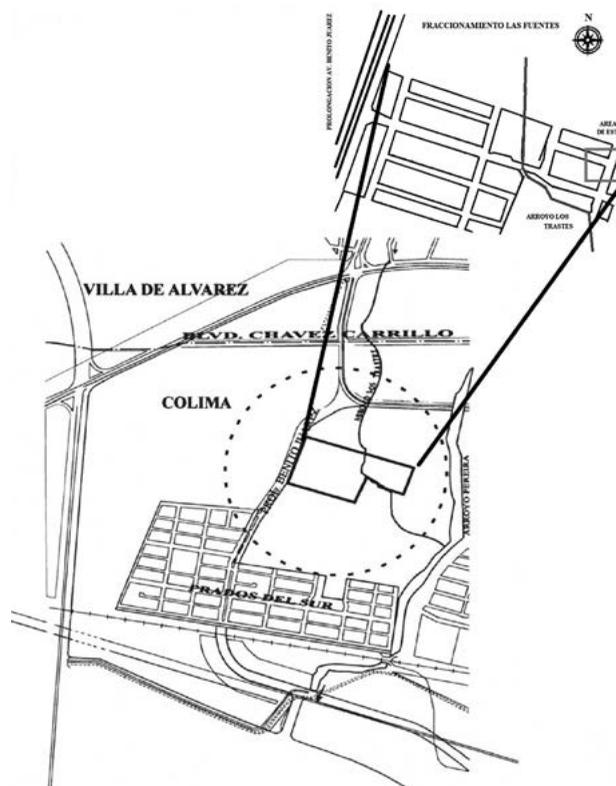


Figura 1. Localización del área donde se recuperó el cementerio capacha, en los terrenos del fraccionamiento Las Fuentes.

la técnica del radiocarbono obtuvo fechas que oscilan entre 1500 y 1200 a.C. De acuerdo con la temporalidad estimada mediante esta técnica, el complejo capacha se ubica cronológicamente en el periodo Formativo o Preclásico mesoamericano. Con su propuesta, Isabel Kelly adjudicó a las poblaciones de este periodo una identidad de la que carecían.

La problemática del complejo capacha

Desde sus orígenes, el complejo capacha ha sido objeto de diversas críticas por parte de los especialistas, que de manera básica centran sus señalamientos en dos vertientes. Por un lado está el cuestionamiento a los fechamientos propuestos por la doctora Kelly, pues muchos investigadores dudan de su veracidad. Tal es el caso de las objeciones realizadas por Joseph B. Mountjoy a partir de sus trabajos realizados en el sitio de Mascota, Jalisco (Alcántara, Almendros y Olay, 2010: 21). Allí el investigador obtuvo fechas que ubican a este periodo alrededor de 1200 y 800 a.C., lo cual significa una temporalidad más reciente a la establecida por Kelly. Además, Mountjoy cuestiona la forma en que se obtuvieron los materiales fechados, pues considera que se trataba de contextos poco seguros. Por últi-

mo, cuestionó que Kelly colocara al complejo capacha en un periodo anterior al Opeño, Michoacán, antes del surgimiento del sitio de Teopantecuanitlán, Guerrero, y antes del surgimiento de San Lorenzo Tenochtitlán, Veracruz.

En cuanto a los contactos de la cultura capacha con Tlatilco, la doctora Kelly hace referencia al *corpus* de similitudes presentes en ambos materiales cerámicos, para lo cual se auxilió con varios elementos y atributos que le permitieran definir el estilo. Entre los más destacados se encuentran las vasijas con decoración zonal y baño guinda, las denominadas “asa estribo”, y por último los trífidos, que en Tlatilco son botellones de cuello largo y boca pequeña (*ibidem*: 19).

Los contactos entre América del Sur y el occidente de México

Respecto a las similitudes con el sur del continente, Kelly reportó que los materiales encontrados en occidente presentaban similitudes con vasijas de la costa de Ecuador, específicamente con los de la fase Machalilla, caracterizadas sobre todo por las vasijas asa estribo. Para ella era clara la posibilidad de la existencia de contactos culturales o comerciales entre ambas zonas geográficas; de hecho, ella fue quien señaló que los materiales capacha son originarios de la región sur del continente, pero que presentaron un desarrollo local y, por ende, único y diferente a lo sudamericano (*ibidem*: 20).

Este planteamiento adquirió una gran relevancia entre los investigadores de este corredor cultural, el cual pretendidamente conectaba a Sudamérica con Mesoamérica, por lo que las discusiones y desacuerdos estuvieron a la orden del día. El primer esfuerzo para solucionar esta interrogante fundamental surgió en 1958, durante el XXXIII Congreso de Americanistas, celebrado en Costa Rica. A partir de las evidencias expuestas por varios arqueólogos que trabajaron en diversos sitios a lo largo de las costas del Pacífico, desde Perú hasta México, se pusieron de manifiesto en forma contundente las similitudes existentes entre los materiales arqueológicos recuperados en cada sitio investigado. A partir de ese momento se logró un consenso entre la comunidad científica, el cual se plasmó en la minuta del evento, donde se acordó la búsqueda de la resolución y esclarecimiento de aquellas semejanzas, en particular para la etapa del Formativo, que era donde más trascendencia presentaba el fenómeno (Olay, 2004a: 55-56).

A partir de esta coyuntura y del esfuerzo entre diversas dependencias e instituciones científicas surgió el denominado Proyecto A, conformado por 10 proyectos que trabajarían a lo largo de la costa del Pacífico, desde Perú hasta México. Se trató de un proyecto ambicioso y de gran alcance, del cual estuvieron a cargo los doctores Clement Meighan y H. B. Nicholson, quienes lo iniciaron con el reconocimiento del territorio de las costas mexicanas (*ibidem*: 56).

Así, entre 1959 y 1970 se recorrieron las costas de Nayarit, Jalisco, Colima y Michoacán en un esfuerzo por identificar cualquier manifestación que corroborara los contactos entre Sudamérica y Mesoamérica, en particular para el Formativo, con fechas que oscilaran entre 1200 y 800 a.C. Desafortunadamente estos objetivos nunca se alcanzaron y quedaron en el olvido conforme se adentraban en otras problemáticas, como las novedosas aportaciones realizadas en la temática de las tumbas de tiro y diversas aportaciones que enriquecieron el conocimiento arqueológico de la región de occidente (Olay, 2004b: 282), aunque no resolvieron la problemática central concerniente a esos contactos.

Las particularidades culturales en la región de occidente son la base para pensar en la posibilidad de que la zona tuvo una constante y prolongada relación cultural y comercial con Sudamérica, una posibilidad que se evidencia en los materiales cerámicos, a la cual se suman las semejanzas en los patrones mortuorios conocidos como la tradición de tumbas de tiro (Meighan, 1972: 65). Al parecer en este punto es más claro el contacto entre ambas áreas culturales, ya que tales patrones se tienen identificados desde la fase Machalilla en Ecuador y se encuentran asimismo en la cultura capacha asentada en la región de Colima y Jalisco. De manera específica, los patrones mortuorios de la tumba de tiro del occidente mesoamericano son similares a los de diversas culturas sudamericanas, como la San Agustín, Colombia; Chorrera, La Tolita y Jama Coaque, Ecuador; Chavín de Huantar, Vicus, Gallinazo, Salinar, Moche, Paracas y Nazca, Perú, con un rango temporal que va de 1200 a.C. a 700 d.C. (Hernández, 2013: 90).

Una posibilidad del porqué de la existencia de estos contactos a gran distancia fue expuesta por Verónica Hernández (*ibidem*: 91): “[...] una de las pistas señala una ruta por el Pacífico, de sur a norte, en busca de un tipo de concha, el *Spondylus princeps*, de significado religioso esencial para ciertos pueblos sudamericanos”.

Los contextos de la cultura capacha en Colima

El estudio del Formativo en Colima a partir del complejo capacha ha presentado diversas problemáticas derivadas de los propios contextos, ya que tras los trabajos efectuados por Isabel Kelly la recuperación de los mismos ha sido escasa y, en la mayoría de los casos, se trata de pequeños conjuntos funerarios que no han permitido realizar un análisis ni una interpretación adecuados. A esto se suman las características climatológicas y los tipos de suelos de esta región tropical, donde la acidez es muy fuerte. Combinado con el clima cálido y húmedo, lo anterior destruye casi todo elemento orgánico y afecta en gran medida los restos óseos existentes, lo cual complica aún más su estudio y las posibles aportaciones en la interpretación de resultados.

Por otro lado, el factor que más ha modificado o destruido grandes áreas de depósitos mortuorios es la práctica recurrente de los campesinos de buscar objetos arqueológicos en sus terrenos de cultivo. El único objetivo de este saqueo es obtener recursos económicos por medio de la venta clandestina de los hallazgos, en una práctica de tráfico ilegal que alimenta un mercado en crecimiento constante.

En este ámbito se enmarca el presente trabajo, que constituye un intento de contribuir a la resolución de las interrogantes que no han obtenido una respuesta satisfactoria en cuanto a lo ocurrido en ese periodo. En fechas recientes se descubrieron dos sitios con elementos capacha: Las Fuentes y Puertas de Rolón. Aquí sólo nos referiremos al primero.

Rescate Las Fuentes

El hallazgo de este contexto capacha en 2002 fue el resultado de una inspección de verificación de unos terrenos donde se llevaban a cabo afectaciones con maquinaria pesada en gran parte de la superficie. Como resultado de la visita, se recuperaron vasijas capacha que se encontraban expuestas luego de los trabajos del traspaso. Esto ocasionó la suspensión total de la obra, en tanto no se realizara el trabajo arqueológico respectivo. El sitio se ubicaba al sur de la ciudad de Colima, y en el lugar se corroboró la existencia de contextos capacha. Se trataba de un sitio con depósitos funerarios que más tarde se excavaron y registraron. El área se localizaba en el extremo noreste del fraccionamiento Las Fuentes, en terrenos de la antigua hacienda El Cortijo (figura 1).



Figura 2. Entierro 18. Se observa a un individuo en posición decúbito dorsal al que se le colocaron diversas vasijas. Nótese la complejidad del conjunto.



Figura 3. Entierro 16. Uno de los conjuntos más complejos, donde al personaje principal se le depositaron 22 elementos cerámicos.

Como menciona Oliveros (2000: 31), por sí solos los objetos recuperados no darían luz sobre la concepción del mundo y su sociedad. Así, mediante los trabajos de excavación y el registro llevado a cabo se recuperó información valiosa que refleja las expresiones rituales sucedidas al momento del enterramiento, plasmadas en los contextos funerarios a partir de la forma de deposición de los cuerpos y objetos que lo acompañan (Alcántara, Almendros y Olay, 2010: 33).

Con la exploración arqueológica se corroboró el uso de un espacio funerario de manera recurrente y prolongada por parte de quienes utilizaron el sitio para los enterramientos. El espacio presenta características particulares, debido a que se ubica en un área donde el grupo tenía asegurado que el depósito de sus ancestros no fuera alterado. Quienes crearon el espacio funerario escogieron una planicie aluvial en medio de los arroyos Pereyra y Los Trastes, ya que consideraron que, al encontrarse delimitado por es-

tas corrientes de agua, el espacio se hallaría relativamente protegido.

La deposición de los entierros se realizó de manera ordenada y se intentó respetar los espacios entre uno y otro entierro, dejando entre cada uno distancias entre 20 y 50 cm. Por otra parte, se detecta una diferenciación social de los personajes depositados, la cual quedó plasmada en el registro arqueológico, definido a partir del modo en que se realizó la deposición de las osamentas y su asociación con los artefactos dejados a manera de ofrenda.

En la unidad de excavación se detectaron entierros sencillos y múltiples. En ambos casos los personajes llegaban a presentar un ajuar funerario muy complejo que en algunos casos incluía hasta tres niveles de deposición para un mismo evento, y donde el gran número de vasijas, así como la complejidad en sus formas, fueron uno de los marcadores más destacados para esta inferencia (figuras 2-3).

Asimismo, se encontraron inhumaciones de personajes depositados sin ninguna ofrenda o con hasta dos elementos cerámicos, los cuales correspondían a deposiciones sencillas (figuras 4-5).

En la actualidad, los materiales arqueológicos producto de este rescate aún se encuentran en fase de estudio y conservación. Los elementos recuperados como ofrenda se encuentran en análisis y en la mayoría de los casos ya se restauraron. Entre las formas cerámicas características de esta fase se encuentran las típicas vasijas acinturadas o bules, vasijas con decoración en rojo zonal, tecomates, una vasija de asa estribo incompleta, así como diversas vasijas tanto zoomorfas y antropomorfas que son muy relevantes para una posterior interpretación (figuras 6-11).

Los restos óseos se enviaron a la Escuela Nacional de Antropología e Historia para los estudios correspondientes, los cuales se encuentran a cargo del antropólogo físico Juan Alberto Román Berrelleza, quien ha establecido vínculos con la Facultad de Ciencias de la UNAM, a través de la doctora Angélica González Oliver, para realizar estudios más específicos a partir de análisis de ADN presente en los materiales. Se pretende identificar los marcadores genéticos mitocondriales de los individuos y corroborar la posible vinculación entre América del Sur y el occidente mesoamericano con base en la detección de determinados marcadores.

Se trata del primer intento de utilización de esta técnica de análisis para Colima, en una muestra repre-

sentativa de los restos óseos recuperados durante el proceso de excavación. En este trabajo se expondrán los primeros avances en la aplicación de la técnica, a partir de los cuales se hará una evaluación de los alcances potenciales en el resto de los materiales óseos, para determinar si es pertinente continuar con su aplicación.

El análisis molecular de los restos óseos

La antropología molecular analiza la variación genética codificada en las proteínas y ácidos nucleicos que se encuentra en las poblaciones humanas antiguas o contemporáneas para identificar las relaciones genéticas entre éstas, así como su origen e historia evolutiva ocurrida durante procesos migratorios, de mezcla, aislamiento y diferenciación, entre otros (Stoneking, 2000; Pérez, 2013).

La aparición de la técnica de amplificación *in vitro* del ADN, denominada “reacción en cadena de la polimerasa” (PCR, por sus siglas en inglés), genera la producción exponencial de copias de un segmento nucleotídico específico. Por su gran sensibilidad, esta técnica se convirtió en el método ideal y más utilizado para los estudios del ADN antiguo (Pérez, 2013).

Al mismo tiempo, la identificación de distintos marcadores genéticos, como los polimorfismos de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP, por sus siglas en inglés), sitios polimórficos de las regiones hipervariables I y II del ADN mitocondrial (ADNmt), polimorfismos del cromosoma Y, microsatélites y minisatélites, facilitó el análisis de la genética de las poblaciones humanas. Los avances recientes en las tecnologías de secuenciación de alto rendimiento y de los programas informáticos especializados incrementaron los estudios de la variación genética de las poblaciones humanas antiguas y contemporáneas del mundo (Pineda, en prensa).

El genoma mitocondrial y el cromosoma Y presentan una herencia uniparental; es decir, el ADNmt se hereda en exclusiva por la vía materna y el cromosoma Y, por la paterna. Debido a su forma de herencia, se utilizan como la principal herramienta para investigar la evolución humana y discernir acerca de las relaciones de ancestro-descendencia (Cavalli-Sforza, 1997; Stoneking, 2000).

A diferencia del material genético nuclear, el ADNmt carece de eventos de recombinación en cada generación y posee una tasa de mutación cinco a 10 veces mayor que la de aquél. La alta tasa de mutación del

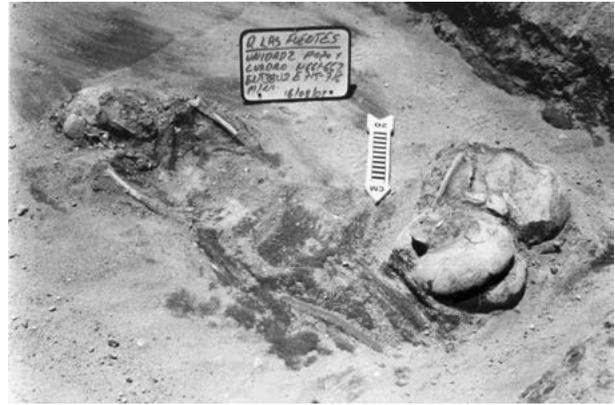


Figura 4. Entierro 38. En este ejemplo se observa un entierro individual al que sólo se le colocaron dos elementos cerámicos. Se aprecia el grado de deterioro tanto de los restos óseos como de los objetos cerámicos.



Figura 5. Entierro 28. Es uno de los depósitos que contrasta de manera clara con los entierros complejos antes observados. A este individuo sólo se le ofreció un elemento cerámico.

ADNmt permite discriminar entre poblaciones cercanamente relacionadas.

Al poseer un mayor número de copias, el ADNmt presenta ventajas frente al cromosoma Y. Una célula sólo tiene una copia del cromosoma Y, mientras que en ella hay un número variable de mitocondrias que depende del tejido en cuestión. Cada mitocondria posee entre dos y 10 copias del ADN, una característica que permite que la recuperación y amplificación del ADNmt resulte más fácil. Una madre hereda el ADNmt a todos sus hijos independientemente de su sexo, mientras que un padre sólo hereda el cromosoma Y a los hijos varones. Debido a su herencia materna y a la ausencia de recombinación, el ADNmt acumula mutaciones en su secuencia con el paso del tiempo. Es importante mencionar que el análisis del ADNmt y del cromosoma Y sólo corresponde a una parte de la historia genética de los individuos o de las poblaciones, ya sea la matrilineal o patrilineal (Stoneking y Soodyall, 1996; Lell *et al.*, 1997; Pérez, 2013).



Figura 6. Vasija acinturada o bule, la forma característica del periodo capacha. Se trata del Elemento 1 del Entierro 16.

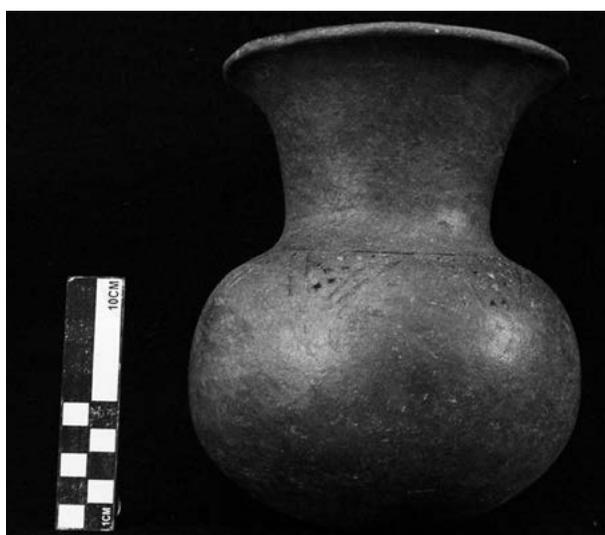


Figura 7. Olla simple de borde alto con decoración en "V" en la parte superior del cuerpo. Esta pieza se colocó como ofrenda del Entierro 47 y se registró como Elemento 4 del contexto mortuario.



Figura 8. Vasija antropomorfa que al parecer representa a un personaje de sexo femenino. La pieza se ofrendó en un entierro complejo que denota la importancia del personaje inhumado. Se recuperó en el Entierro 19.



Figura 9. Vasija zoomorfa que representa un loro. La pieza formó parte de la ofrenda mortuoria del Entierro 16.



Figura 10. Vasija miniatura de cerámica con la típica decoración capacha. Constituye una rareza, ya que este tipo de elementos pocas veces se recuperan. Procede de la Ofrenda 3.

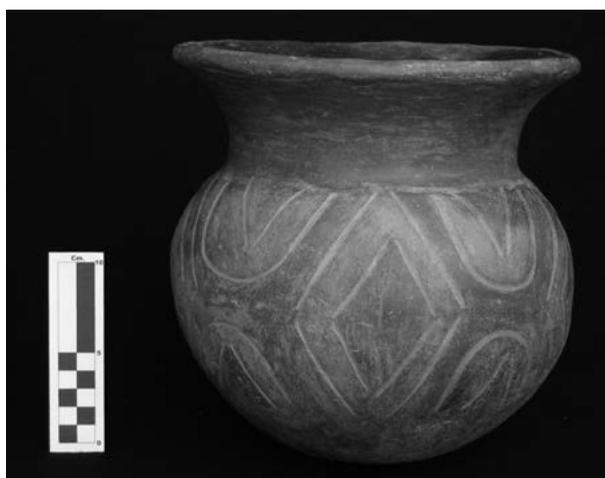


Figura 11. Olla con decoración rojo zonal. Un ejemplo de lo más representativo de este tipo cerámico capacha. Formaba parte de la ofrenda del Entierro 3.

En un inicio los estudios del ADNmt y del cromosoma Y de las poblaciones nativas actuales de América se enfocaron en el poblamiento de América, lo cual corroboró el origen asiático de los nativos americanos y proporcionó nueva información sobre la fecha en que éste ocurrió, el tamaño aproximado de la población colonizadora, las migraciones ocurridas y las rutas de migración en el interior continental. Estos temas siguen en debate y no existe un consenso entre los especialistas del área.

Los análisis de marcadores moleculares del cromosoma Y y del ADNmt humano se usaron después para abordar problemáticas más específicas acerca de América. Los datos moleculares, en conjunto con los culturales, lingüísticos, históricos y geográficos, permiten realizar estudios moleculares a escala regional para comprender mejor la composición y relaciones genéticas entre las poblaciones humanas actuales y antiguas.

En 1992, Torroni y colaboradores analizaron RFLP del ADNmt en varias poblaciones contemporáneas nativas de América y propusieron cuatro haplogrupos fundadores, inicialmente denominados A, B, C y D. Años después se identificó a un quinto haplogrupo fundador, llamado X, presente en la minoría de los nativos americanos (Brown *et al.*, 1998). En la actualidad, los haplogrupos se denominan con una nueva nomenclatura: A₂, B₂, C₁, D₁ y X_{2A} (Tamm *et al.*, 2007). En los análisis de poblaciones de América del Norte se encontró que la distribución de las frecuencias de los haplogrupos mitocondriales es atribuible a relaciones lingüísticas, geográficas o culturales (Lorenz y Smith, 1996).

Cada uno de los haplogrupos mitocondriales -A₂, B₂, C₁, D₁ y X_{2A}- se relacionan con dos mutaciones específicas de la región hipervariable I (HVRI, por sus siglas en inglés) del ADNmt, claramente identificadas en los nativos americanos (Tamm *et al.*, 2007). La secuencia de la HVRI permite identificar los haplotipos del ADNmt que proveen una mejor evidencia de la ancestralidad compartida entre poblaciones antiguas e ir más allá de la distribución de las frecuencias de los haplogrupos identificados en éstas (Eshleman *et al.*, 2003).

En la década de 1980 se iniciaron los estudios del ADN humano antiguo en Norteamérica, y con éstos se identificó una serie de problemas técnicos. La secuencia de ADN de interés existe en pequeñas cantidades y muestra un exceso de ADN que proviene de bacterias, hongos u otras especies. Además, la gran mayoría de las moléculas de ADN que se extraen de restos anti-

guos presentan daños físicoquímicos que impiden su amplificación. Los extractos de ADN antiguo contienen componentes no identificados en la mayoría de los casos que inhiben la acción de las enzimas ADN polimerasas durante la PCR (Pääbo y Wilson, 1988; Sampietro *et al.*, 2006).

No obstante, el uso de la PCR junto con el ADN polimerasa y el uso de albúmina de sérica bovina permitieron superar las dificultades y amplificar el ADN de interés, al incrementarlo en cantidades que permiten su análisis mediante técnicas convencionales de secuenciación (Pääbo y Wilson, 1989).

Con el desarrollo del análisis del ADN antiguo surgieron los criterios de autenticidad. El principal problema es el ADN humano moderno, fuente de contaminación del ADN humano antiguo. La contaminación puede provenir de quienes han manipulado las muestras biológicas (restos óseos, pelo, dientes, tejidos momificados y coprolitos), o de quienes realizan los procesos del análisis genético molecular en el laboratorio. Por ende, para obtener resultados confiables se ha implementado una serie de medidas preventivas y de controles para detectar contaminación con ADN moderno en una muestra antigua (Pääbo y Wilson, 1989; Cooper y Poinar, 2000; Willerslev y Cooper, 2005; Gilbert *et al.*, 2005a, 2005b).

Mesoamérica fue un área ocupada por diferentes poblaciones humanas que poseían un conjunto de características culturales en común. Existe mucha información histórica y cultural acerca de las mismas, aunque se desconoce la composición genético-biológica de la mayoría.

En este trabajo proponemos analizar en conjunto los haplogrupos y haplotipos del ADNmt en individuos antiguos que pertenecen a la colección del material osteológico del sitio arqueológico de Las Fuentes, en Colima, con el objetivo de conocer su composición genética.

A fin de eliminar la posible presencia de ADN moderno en los restos óseos, al iniciarse el estudio de algunos individuos las muestras se sumergieron durante 10 minutos en hipoclorito de sodio concentrado y se irradiaron con UV a 254 nm durante cinco minutos en un CL-1000 Ultraviolet Crosslinker. Después se realizó el método de extracción con la técnica de Krings *et al.* (1997), basada en solventes orgánicos y sílica (Boom *et al.*, 1990). Este método lo hemos utilizado exitosamente en otros estudios (González-Oliver, 2001; De la Cruz *et al.*, 2008, 2010).

La identificación de los haplogrupos mitocondriales en los individuos prehispánicos se ha realizado por análisis de restricción. Los *primers* empleados y las condiciones de amplificación por PCR utilizadas fueron descritas en González-Oliver *et al.* (2001). Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en un termociclador Eppendorf Master Cycler Gradient modelo AG22331 de uso exclusivo para el ADN antiguo.



Figura 12. Proceso inicial de extracción del ADN de una muestra de hueso.



Figura 13. Colocación de los tubos en el termociclador. Cada uno contiene los componentes químicos y los extractos obtenidos de las muestras de hueso con que se llevará a cabo la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).



Figura 14. Los productos resultantes de la PCR se someten a electroforesis para corroborar si un determinado marcador genético amplificó, así como para comprobar que no existió contaminación en el proceso.

Resultados iniciales y procesos a seguir

Con base en estos procedimientos, se efectuó la fase experimental, en la que hasta ahora se han analizado pocos individuos, la cual arroja un resultado negativo para el haplogrupo A, sobre todo porque los extractos de este marcador no amplificaron en este primer intento; así, se tendrán que repetir en varias ocasiones hasta corroborar que no existe ADN de calidad para el análisis de este marcador.

Posteriormente se analizaron los individuos para el haplogrupo B y se encontró que un individuo es B, mientras que los otros no presentaron los productos de amplificación para este marcador. Los resultados pueden indicar que no hay ADN en los extractos de estos individuos –excepto en el que presentó B–, aunque, como en el caso anterior, será necesario repetir los experimentos (figura 12). Esta situación resulta preocupante, ya que se podría correlacionar con el daño sufrido por los huesos a causa del pH ácido del suelo y otros factores, lo cual probablemente trajo como consecuencia la destrucción y ausencia del ADN en algunos individuos.

Cabe mencionar que los haplogrupos A y B son los más frecuentes entre las poblaciones indígenas actuales del centro y norte de México, en tanto que el A lo es en poblaciones antiguas de Mesoamérica (De la Cruz *et al.*, 2008; González-Oliver *et al.*, 2001). Hasta ahora se ha logrado amplificar el ADN de un individuo (figuras 13- 14), y falta realizar las pruebas para identificar el marcador genético en los ejemplares restantes. Es importante señalar que, desafortunadamente, la fase experimental se efectúa con mucha lentitud y presenta un considerable atraso a causa de que al proyecto no se le han asignado los recursos necesarios por parte del INAH para continuar con el análisis de manera más consistente. Aun así, la identificación del haplogrupo B en uno de los individuos de capacha es uno de los primeros resultados obtenidos en el análisis de ADN antiguo en individuos de esta importante cultura del occidente de México.

La amplificación de la región hipervariable I se llevará a cabo en dos o tres fragmentos superpuestos con los *primers* propuestos por Vigilant *et al.* (1989), debido a que el ADN recuperado de restos antiguos está sujeto a procesos de degradación que propician su fragmentación en tamaños que varían entre 100 y 500 pares de bases (PB) (Pääbo y Wilson, 1989; Handt *et al.*, 1994; Höss *et al.*, 1996). Los protocolos del análisis de la HVRI se han utilizado en otros estudios para analizar

ADN moderno de individuos indígenas (Pérez, 2013; Pineda, 2015) y se optimizan las condiciones necesarias de acuerdo con las muestras antiguas a estudiar (Bravo, en proceso). Se identificarán las dos cadenas del ADN antiguo mediante la secuenciación automatizada directa en un secuenciador ABI Prism 310 de Applied Biosystem del Laboratorio de Secuenciación Genómica de la Biodiversidad y de la Salud del Instituto de Biología de la UNAM.

Asimismo se realizará la edición de las secuencias con el *software* CodonCode 3.0.1, y se obtendrá la secuencia de cada individuo, la cual se comparará tanto con la secuencia de referencia del ADN mitocondrial (Anderson *et al.*, 1981; Andrews *et al.*, 1999), como con las secuencias obtenidas por los investigadores que realizaron el análisis molecular y con otros individuos antiguos de Mesoamérica reportados en la literatura.

Cabe precisar que todos los procedimientos experimentales se han llevado a cabo con reactivos grado biología molecular en el laboratorio del grupo de investigación de antropología molecular de la Facultad de Ciencias de la UNAM. El laboratorio de ADN antiguo está separado del laboratorio de ADN moderno y del laboratorio donde se manipulan los productos de PCR, con la finalidad de evitar una contaminación cruzada de las muestras durante los pasos de extracción y amplificación o el acarreo de productos previamente amplificados por PCR (Sampietro, 2006).

Consideraciones finales

La problemática cultural presentada en el caso de la cultura capacha respecto a sus orígenes, distribución territorial, extensión temporal, desarrollo alcanzado, áreas de influencia y relaciones regionales o continentales, entre otros aspectos, constituye puntos cruciales a resolver y, en esa medida, resulta fundamental para entender a esta cultura en su verdadera dimensión sociocultural, en relación con las características peculiares del resto de las culturas mesoamericanas.

Así, por ejemplo, se ha expuesto que a partir de los materiales arqueológicos –en particular los artefactos de cerámica perteneciente a este complejo cultural, como las vasijas asa de estribo y las vasijas acinturadas– no ha sido posible corroborar una clara filiación del grupo que las creó, pues sus formas únicas no son comparables con ninguna otra cerámica elaborada por grupos con la misma temporalidad y cercanía a la región de occidente. Sin embargo, su similitud con las fabricadas por las cul-

turas de América del Sur ha planteado su probable contacto, lo cual tampoco se ha corroborado.

En razón de lo anterior, se avizora que el empleo de herramientas novedosas, como las que aporta la antropología molecular, proporcionan información valiosa para desentrañar la problemática de esta fascinante cultura. Consideramos que los resultados del estudio genético permitirán entender mejor la compleja dinámica sociocultural de la población de la cultura capacha, no sólo a escala regional por la relación que pudo haber establecido con los grupos de los alrededores, sino también continental, por los contactos e intercambios que hipotéticamente pudo haber tenido con poblaciones de otras latitudes.

Agradecimientos

A la química farmacéutica biológica Miriam Jetzabel Bravo López por su participación en el análisis de las muestras, así como el apoyo de la UNAM, PAPIIT-IN306014.

Bibliografía

- Alcántara Salinas, Andrés Saúl, "Un panteón preclásico en Colima", tesis de licenciatura en arqueología, México, ENAH, 2005, pp. 25-58.
- Alcántara Salinas, Andrés Saúl, Laura Almendros y Ángeles Olay, "La tradición capacha. Evaluación y perspectivas desde el valle de Colima", en *El sistema fluvial Lerma-Santiago durante el Formativo y el Clásico temprano*, México, INAH, 2010, pp. 19-41.
- Anderson, S. A. *et al.*, "Sequence and Organization of the Human Mitochondrial Genome", en *Nature*, vol. 290, núm. 5806, 1981, pp. 457-465.
- Andrews, R. M. *et al.*, "Reanalysis and Revision of the Cambridge Reference Sequence for Human Mitochondrial DNA", en *Nature Genetics*, vol. 23, núm. 2, 1999, p. 147.
- Boom, R. *et al.*, "Rapid and Simple Method for Purification of Nucleic Acids", en *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 28, núm. 3, 1990, pp. 495-503.
- Bravo López, M. J., "Análisis del ADN mitocondrial en mayas contemporáneos y antiguos de Xcaret, Quintana Roo", tesis de maestría en ciencias biológicas, México, UNAM, en proceso.
- Brown, M. D. *et al.*, "mtDNA Haplogroup X: An Ancient Link Between Europe/Western Asia and North America?", en *American Journal of Human Genetics*, vol. 63, núm. 6, 1998, pp. 1852-1861.
- Cavalli-Sforza, L. L. y A. W. Edwards, "Phylogenetic Analysis. Models and Estimation Procedures", en *American Journal of Human Genetics*, vol. 19, núm. 3, 1997, pp. 233-257.

- Cooper, A. y H. N. Poinar, "Ancient DNA: Do it Right or Not at All", en *Science*, núm. 289, 2000, p. 1139.
- Cruz Laina, I. de la *et al.*, "Sex Identification of Children Sacrificed to the Ancient Aztec Rain Gods in Tlatelolco", en *Current Anthropology*, vol. 49, núm. 3, 2008, pp. 519-526.
- _____, "Análisis de los linajes del ADN mitocondrial en la población maya del periodo colonial (siglos XVI-XVII) de Xcaret, Quintana Roo", en *III Simposio Internacional El Hombre Temprano en América*, México, IIA-UNAM/INAH/Museo del Desierto, 2010, pp. 103-109.
- Eshleman, J. A., R. S. Malhi y D. G. Smith, "Mitochondrial DNA Studies of Native Americans: Conceptions and Misconceptions of the Population Prehistory of the Americas", en *Evolutionary Anthropology*, núm. 12, 2003, pp. 7-18.
- Gilbert, M. T. P. *et al.*, "Assessing Ancient DNA Studies", en *Trends in Ecology & Evolution*, núm. 20, 2005a, pp. 541-544.
- _____, "Biochemical and Physical Correlates of DNA Contamination in Archaeological Human Bones and Teeth Excavated at Matera, Italy", en *Journal of Archaeological Science*, núm. 32, 2005b, pp. 785-793.
- González-Oliver, A. *et al.*, "Founding Amerindian Mitochondrial DNA Lineages in Ancient Maya from Xcaret, Quintana Roo", en *American Journal of Physical Anthropology*, vol. 116, núm. 3, 2001, pp. 230-235.
- Handt, O. *et al.*, "Ancient DNA: Methodological Challenges", en *Experientia*, núm. 50, 1994, pp. 524-529.
- Hernández Díaz, Verónica, "Muerte y vida en la cultura de tumbas de tiro", en *Miradas renovadas al Occidente indígena de México*, México, UNAM/INAH/CEMCA, 2013, pp. 79-91.
- Höss, M. *et al.*, "DNA Damage and DNA Sequence Retrieval from Ancient Tissues", en *Nucleic Acids Research*, núm. 24, 1996, pp. 1304-1307.
- Kelly, Isabel, "Stirrup Pots from Colima, Some Implications", en *The Archaeology of West México*, Ajijic, Sociedad de Estudios Avanzados del Occidente de México, 1974, pp. 2006-2011.
- _____, "Archaeological Research in Colima, México", en *National Geographic Society Research Reports 1968. Projects*, Washington, D.C., 1976, pp. 189-197.
- _____, "Archaeological Research in Colima, México", en *National Geographic Society Research Reports 1968. Projects*, Washington, D.C., 1978, pp. 307-311.
- _____, *Ceramic Sequence in Colima: Capacha, an Early Phase*, Tucson, The University of Arizona Press (Anthropological Papers of the University of Arizona, 37), 1980, pp. 3-17.
- Krings, M. *et al.*, "Neandertal DNA Sequences and the Origin of Modern Humans", en *Cell*, núm. 90, 1997, pp. 19-30.
- Lell, J. T. *et al.*, "Y Chromosome Polymorphisms in Native American and Siberian Populations: Identification of Native American Y Chromosome Haplotypes", en *Human Genetics*, vol. 100, núms. 5-6, 1997, pp. 536-543.
- Lorenz, J. G. y D. G. Smith, "Distribution of Four Founding mtDNA Haplogroups among Native North Americans", en *American Journal of Physical Anthropology*, vol. 101, núm. 3, 1996, pp. 307-323.
- Meighan, Clement, *Archaeology of the Morett Site*, Austin/Berkeley/Los Ángeles, University of California Press, 1972.
- Olay Barrientos, María de los Ángeles, "El Occidente mesoamericano. Una historia en construcción", en *Introducción a la arqueología del Occidente de México*, México, Universidad de Colima/INAH, 2004a, pp. 43-78.
- _____, "Arqueología de Colima", en *Introducción a la arqueología del Occidente de México*, México, Universidad de Colima/INAH, 2004b, pp. 271-300.
- Oliveros Morales, José Arturo, "El espacio de la muerte: Hacedores de tumbas en el mundo prehispánico", tesis de doctorado en antropología, México, ENAH, 2000.
- Pääbo, S., J. Gilfford y A. C. Wilson, "Mitochondrial DNA Sequences from a 7000 Year Old Brain", en *Nucleic Acids Research*, vol. 16, núm. 20, 1988, pp. 9775-9788.
- Pääbo, S., R. G. Higuchi y A. C. Wilson, "Ancient DNA and the Polymerase Chain Reaction", en *Journal Biology Chemistry*, núm. 264, 1989, pp. 9709-9712.
- Pérez Martínez, M., "Relaciones genéticas determinadas con ADN mitocondrial en poblaciones mesoamericanas contemporáneas mazahua, otomí, lacandona, y maya anti-gua", tesis de licenciatura, México, UNAM, 2013, p.101.
- Pineda Vázquez, D., "Estudio del ADN mitocondrial en poblaciones indígenas contemporáneas: mixe, mixteca y maya del sureste de México", tesis de maestría en ciencias biológicas, México, UNAM, en prensa.
- Sampietro, M. L. *et al.*, "Tracking Down Human Contamination in Ancient Human Teeth", en *Molecular Biology Evolution*, núm. 29, 2006, pp. 1801-1807.
- Stoneking, M., "The Human Genome Project and Molecular Anthropology", en *Genome Research*, vol. 7, núm. 2, 1997, pp. 87-91.
- _____, "Hypervariable Sites in the mtDNA Control Region are Mutational Hotspots", en *American Journal of Human Genetics*, vol. 67, núm. 4, 2000, pp. 1029-1032.
- Stoneking, M. y H. Soodyall, "Human Evolution and the Mitochondrial Genome", en *Current Opinion in Genetics & Development*, vol. 6, núm. 6, 1996, pp. 731-736.
- Tamm, E. *et al.*, "Beringian Standstill and Spread of Native American Founders", en *PLoS ONE*, vol. 2, núm. 9, 2007, p. e829+.
- Torroni, A. *et al.*, "Native American Mitochondrial DNA Analysis Indicates that the Amerind and the Nadene Populations Were Founded by Two Independent Migrations", en *Genetics*, vol. 130, núm. 1, 1992, pp. 153-162.
- Vigilant, L. *et al.*, "Mitochondrial DNA Sequences in Single Hairs from a Southern African Population", en *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 86, núm. 23, 1989, pp. 9350-9354.
- Willerslev, E. y A. Cooper, "Review Paper. Ancient DNA", en *Proceedings of the Royal Society of London. Biological Sciences*, vol. 272, núm. 1558, 2005, pp. 3-16.