

# EVALUANDO EL USO DE MUTACIONES EN LOS GENES DE DETERMINACIÓN DEL COLOR DEL PELAJE COMO MARCADORES DE ESPECIES DE CAMÉLIDOS EN EL SITIO FORMATIVO TEMPRANO TULÁN-54

(SAN PEDRO DE ATACAMA CHILE)

## Nombre/s y apellido/s del/los autor/es

Paloma Fernández Díaz-Maroto<sup>1</sup>, Isabel Cartajena<sup>2</sup>, Mauricio Moraga<sup>3</sup>, Juan Carlos Marín<sup>4</sup>.

1: Programa de doctorado en Antropología UTA-UCN. [palomafdm@gmail.com](mailto:palomafdm@gmail.com).

2: Departamento de Antropología, Universidad de Chile. [isabel.cartajena@gmail.com](mailto:isabel.cartajena@gmail.com).

3: Programa de Genética Humana-ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Independencia 1027, Santiago, Chile. [mmoraga@med.uchile.cl](mailto:mmoraga@med.uchile.cl)

4: Laboratorio de Genómica y Biodiversidad, Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Universidad del Bío-Bío, Casilla 447, Chillán, Chile. [jmarin@med.uchile.cl](mailto:jmarin@med.uchile.cl).

## Resumen:

We performed an ancient DNA study on skeletal remains of camelids attributed to the archaeological site, Tulán -54 (Early Formative period) located in San Pedro de Atacama, northern Chile. This site is characterized by the incorporation of initial pastoral phase in human groups with hunter-gatherer strategies subsistence. The aim of this analysis was to identify the presence of species of wild and domestic camelids from a series of mutations present in the genes that determine the color fiber expression. The diversities in coat color are a characteristic change in animal species undergoing domestication processes. The results show that mutations observed in camelid species current have also been observed in camelid species present in the Tulán -54 site.

## Introducción:

Desde los inicios del Holoceno, la interdependencia entre grupos humanos y camélidos ha sido muy estrecha constituyendo no solo un gran sustento alimenticio para los primeros grupos humanos sino que además, esta vinculación llegó a los ámbitos de la cosmovisión de las poblaciones humanas. A finales del Arcaico Tardío junto con las actividades de caza se fue desarrollando un proceso donde las dos especies de camélidos salvajes (*Llama guanicoe* y *Vicugna vicugna*) se sometieron a una selección artificial para ser domesticadas.

La domesticación de camélidos fue un proceso llevado a cabo en el continente americano hace más de 7000 años A.P (Wheeler 1984, 1988, 1995, 1999, Aschero y Yacobaccio 1998-1999,

Hesse 1982,1984). Como consecuencia de una selección artificial durante cientos de años de determinadas características fenotípicas en los camélidos salvajes, guanaco (*Llama guanicoe*) y vicuña (*Vicugna vicugna*) por parte de grupos humanos cazadores, se dio origen a dos nuevas especies de camélidos, la llama (*Llama glama*) y la alpaca (*Vicugna pacos*). Existen varias hipótesis que explican cómo pudo darse la aparición de las llamas y las alpacas, la más aceptada es que la llama deriva del guanaco y la alpaca puede ser descendiente de la vicuña, el guanaco y/o llama (Marín et al. 2007). Otras evidencias basadas en la morfología dentaria indican que las alpacas proceden exclusivamente de la vicuña (Wheeler 1984). Actualmente, la evidencia genética sugiere que la llama habría sido domesticada a partir del guanaco y la alpaca de la vicuña, con la posterior hibridación entre las formas domésticas (Wheeler 1995, Kadwell et al. 2001).

Para poder esclarecer las preguntas acerca del origen de las actuales especies domésticas de camélidos, se han realizado diversos estudios osteométricos y genéticos (Elkin et al. 1991, Menegaz et al. 1988, Cartajena et al 2007, Cartajena 2009, Cartajena et al. 2009, Kadwell et al. 2001, Marín et al. 2007). Los estudios basados en variables métricas y la aplicación de técnicas de análisis uni, bi y multivariadas han permitido diferenciar crecientemente entre los taxones basados en el criterio de tamaño, no obstante, existen amplias áreas de traslape entre ellos.

Por otro lado, dentro de los análisis genéticos se han realizado estudios de DNA mitocondrial, satelital y cromosómicos infiriendo posibles diferencias entre especies de camélidos domésticas y silvestres. Por ejemplo, se observaron diferencias en el patrón de bandeo G cromosómico para el par 1 cromosómico separando por un lado a camellos, guanacos y llamas de las especies de vicuña y alpaca. Los resultados de la secuenciación del *citocromo b* confirmaron lo observado en el cariotipo de los camélidos (Marín et al. 2007).

Sin embargo, los estudios genómicos realizados hasta ahora no permiten establecer una clara diferencia dentro de los grupos de tamaño grande (guanacos y llamas) y de tamaño pequeño (vicuñas y alpacas). No obstante, en los últimos años los estudios genéticos a nivel de DNA nuclear en camélidos actuales han permitido encontrar diferentes mutaciones, SNP (Single Nucleotide Polymorphism), para los genes responsables del tipo de pigmentación presente en las fibras de camélidos. Se trata de los genes MC1R y ASIP cuya expresión produce una coloración oscura o clara de la fibra. El cambio en la coloración del pelaje de las especies es un rasgo característico de los procesos de domesticación de animales. Este rasgo, se ha podido observar en otras especies como caballos, cerdos y pollos (Andersson 2003). Los estudios realizados sobre estos dos genes en especies actuales han arrojado resultados discriminantes para distinguir a llamas de guanacos y a las alpacas de las vicuñas (Kadwell et al. 2001, Feeley et al. 2011).

El objetivo de este trabajo ha sido extrapolar los estudios realizados en DNA actual de camélidos a restos óseos de camélidos presentes en yacimientos arqueológicos, en concreto, exponer los primeros resultados realizados en DNA antiguo sobre restos óseos de camélidos procedentes del sitio Formativo Temprano Tulán-54 (3080-2380 años A.P.). Este yacimiento se clasificó dentro

de la fase Tilocalar (Núñez et al. 2006) y se caracteriza por la presencia de un templete semisubterráneo a 3000msnm con múltiples inhumaciones de neonatos, cubiletes líticos grabados con escenas de cópula humana-camélida, bloques grabados con diseños de cabezas de camélidos y conjuntos de camélidos dinámicos, entre otras evidencias relativas a la relevancia de estos animales que indican la importancia que estas poblaciones entregaban a los camélidos, más allá de considerarlo un animal de carga o como sólo sustento alimenticio. Las evidencias osteométricas y los fanéreos apuntan a la existencia tanto de camélidos silvestres como domésticos. A partir de la extracción de DNA nuclear de células óseas se pretende localizar las mutaciones presentes en la secuencia de los genes MC1R y ASIP para poder contrastar la presencia de los diferentes taxones presentes en Tulán-54.

Se trata de un estudio pionero dentro del campo de la zooarqueología ya que no existen estudios previos que hayan realizado este tipo de análisis en restos óseos fosilizados de camélidos. Además, la cronología del sitio de estudio, Formativo temprano, corresponde a un periodo de transición hacia un modo de vida más sedentario donde las poblaciones humanas a pesar de seguir realizando actividades cazadoras-recolectoras empiezan a incorporar labores más sedentarias relacionadas con los primeros indicios de prácticas pastoralistas. Las diversas evidencias arqueológicas que están infiriendo la presencia de camélidos domésticos podrán ser confirmados a partir de los análisis genéticos.

## **Material y Métodos**

Para el presente estudio se tomó como unidad de análisis el conjunto faunístico del sitio Tulán-54, (Formativo Temprano-Puna de Atacama) y como unidad de estudio los restos óseos de camélidos. La elección de este tipo de tejido es que, junto con los dientes, ambos tejidos protegen el DNA de la degradación y de ataques bacterianos. Para este estudio se realizó la extracción de DNA procedentes de 10 restos óseos hallados en el sitio arqueológico de Tulán 54. La selección de dichas muestras corresponden mayoritariamente a falanges y huesos articulares ya que son el elemento anatómico más discriminante para diferenciar especies de camélidos.

Tanto la extracción de DNA como la preparación de la mix de PCR se llevaron a cabo en un laboratorio que presenta las condiciones de aislamiento y asepsia necesarias para evitar la posible contaminación de DNA antiguo con DNA actual.

Se extrajo una pequeña cantidad de las muestras óseas que se molieron hasta quedar como polvo, el cual, fue utilizado en la extracción del DNA. Para la extracción de este tipo de muestras se siguió el protocolo dictado por Rohland (2007) para muestras dentales y óseas fosilizadas. Posteriormente, se aisló el ADN del medio lavando en repetidas ocasiones para eliminar todos los posibles inhibidores de la PCR. Una vez obtenido el DNA purificado se procedió a su amplificación mediante la técnica de la *reacción en cadena de la polimerasa* (PCR).

Para la realización de la mix de PCR fue necesario diseñar previamente los primers que delimitarán el fragmento de DNA que nos interesa. En este estudio trabajamos con los genes

MC1R y ASIP los cuales son responsables de la expresión de una pigmentación del pelaje más oscura o clara respectivamente. Las mutaciones se localizan en fragmentos no mayores de 200 pb (pares de bases), óptimos para el trabajo en DNA antiguo.

Una vez preparadas las muestras, se realizó una PCR y posteriormente el producto de PCR se sometió a una electroforesis en gel de agarosa para observar los resultados de la amplificación de los fragmentos de DNA. Los productos de PCR con el tamaño de fragmento amplificado adecuado, fueron enviados a secuenciar para poder leer la secuencia de bases nitrogenadas e identificar la presencia o no de los SNPs presentes en ese fragmento amplificado. A partir de un programa bioinformático para la lectura de secuencias como el programa Geneious, se pudo leer secuencia de los genes para observar los SNP presentes en el fragmento del gen MC1R y ASIP.

### **Resultados y Discusión**

Se compararon los resultados obtenidos con los publicados para camélidos actuales en referencia a las mutaciones halladas en los genes que determinan la expresión del color, MC1R y ASIP. Los resultados preliminares concuerdan con los obtenidos en los análisis de DNA actual, identificando para el sitio Formativo temprano una mayoría de secuencias idénticas a las de las especies salvajes (guanaco y vicuña).

### **Referencias**

- Andersson, L., (2003). Melanocortin receptor variants with phenotypic effects in horse, pig, and chicken. *Annals of the New York Academy of Sciences* 994, 313–318.
- Aschero C.A. y Yacobaccio H.D. 1998-1999. 20 años después: Inca Cueva 7 reinterpretado. *Cuadernos del Instituto Nacional de Antropología y Pensamiento Latinoamericano* 18, 7-18.
- Cartajena I. (2009). Explorando la variabilidad morfométrica del conjunto de camélidos pequeños durante el Arcaico Tardío y el Formativo Temprano en Quebrada Tulán, norte de Chile. *Revista del Museo de Antropología* 2, 199-212.
- Cartajena I., Núñez L. y Grosjean M. (2007). Camelid domestication on the western slope of the Puna de Atacama, northern Chile. *Anthropozoologica* 42 (2), 155-173.
- Cartajena, I., A. Benavente, L. Núñez y C. Thomas. (2009). La utilización de los camélidos durante el Formativo Temprano: Una comparación entre la cuenca del Loa Medio y el Salar de Atacama. P. López, I. Cartajena, C. García, y F. Mena (eds.), *Zooarqueología y tafonomía en el confin del mundo. Monografías Arqueológicas* 1, Universidad Internacional SEK-Chile, : 181-198.
- Elkin, D., C. M. Madero, G. L. Mengoni Goñalons, D. E. Olivera y H. D. Yacobaccio (1991). Avances en el estudio arqueológico de los camélidos del Noroeste Argentino. *Actas de la VII Convención Internacional de Especialistas en Camélidos Sudamericanos*. Jujuy. En prensa

Feeley N.L., Bottomley S. y K. A. Munyard K.A. (2011). Three novel mutations in ASIP associated with black fibre in alpacas (*Vicugna pacos*), *Journal of Agricultural Science* 149, 529-538.

Hemmer H. (1990) Domestication: the decline of environmental appreciation. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom. 217 pp.

Hesse, B. 1982. Archaeological evidence for camelid exploitation in the Chilean Andes. *Säugetierkundliche Mitteilungen* 30, 201-211.

Kadwell M., Fernandez M., Stanley H.F., Baldi R., Wheeler J.C., Rosadio R. y Bruford M.W. (2001). Genetic analysis reveals the wild ancestors of the llama and the alpaca. *Proceedings of the Royal Society of London* 268: 2575-2584.

Marín J.C., Zapata B., González Benito A, Bonacic C., Wheeler J.C, Casey C. et al. (2007). Sistemática, taxonomía y domesticación de alpacas y llamas: nueva evidencia cromosómica y molecular. *Revista chilena de historia natural*. 80 (2): 121-140.

Menegaz, A.N., Goin F., Salemme C. y Ortiz Jaureguizar E. (1988). Una propuesta de sistematización de los caracteres morfométricos de los metapodios y falanges de Camelidae. En *De Procesos, Contextos y otros Huesos*, editado por N. Ratto y A. Haber, pp. 53-64. Instituto de Ciencias Antropológicas (FFyL-UBA).

Núñez L., Cartajena I., Carrasco C., de Souza P. y Grosjean M. (2006). Emergencia de comunidades pastoralistas formativas en el sureste de la Puna de Atacama. *Estudios Atacameños* 32: 93-117.

Rohland N. y Hofreiter M., (2007). Ancient DNA extraction from bones and teeth, *Nature* 2: 1756-1762.

Wheeler J.C. (1984). La domesticación de la alpaca (*Lama pacos L.*) y la llama (*Lama glama L.*) y el desarrollo temprano de la ganadería autóctona en los Andes Centrales. *Boletín de Lima* 36: 74-84.

Wheeler, J. C. (1988). Llamas and Alpacas of South America. 60th *Western Veterinary Conference*. Editado por G.M. Thomsen y K.D. Weide, pp. 301-310. Las Vegas.

Wheeler J.C. (1995). Evolution and present situation of the South-American Camelidae. *Biological Journal of the Linnean Society* 52, 271-295.

Wheeler J.C. (1999). Patrones prehistóricos de utilización de los camélidos sudamericanos. *Boletín de Arqueología PUCP* (Perú) 3, 297-306.