

MUNIBE (Antropología-Arkeologia)	nº 62	49-63	SAN SEBASTIÁN	2011	ISSN 1132-2217
----------------------------------	-------	-------	---------------	------	----------------

Recibido: 2011-06-30
Aceptado: 2011-12-12

El ADN antiguo aplicado a contextos arqueopaleontológicos: el caso de la cueva de Arlanpe (Lemoa, Bizkaia)

Ancient DNA applied to archaeopaleontological contexts: the case of Arlanpe cave site (Lemoa, Bizkaia)

PALABRAS CLAVES: determinación taxonómica, domesticación; ADN mitocondrial.

KEY WORDS: taxonomical determination; domestication; mitochondrial DNA.

GAKO-HITZAK: zehaztapen taxonomikoa, domestikazioa; ADN mitokondriala.

Cristina VALDIOSERA^(1,2), Asier GÓMEZ-OLIVENCIA^(2,3), Joseba RIOS-GARAZAR⁽⁴⁾, Diego GARATE⁽⁵⁾, Emma Matilda SVENSSON^(6,7), Irene UREÑA⁽²⁾, Ricardo RODRÍGUEZ⁽²⁾, Diego ARCEREDILLO^(8,9), Eneko IRIARTE⁽¹⁰⁾, Juan, Luis ARSUAGA^(2,11)

RESUMEN

Los estudios de ADN antiguo están permitiendo conocer nuevos datos sobre la biología de especies actuales y extintas. Las técnicas de ADN antiguo pueden ser una herramienta adicional y complementaria dentro de los estudios multidisciplinares que son necesarios para abordar distintas problemáticas arqueopaleontológicas. En este artículo repasamos algunas de las aplicaciones en estos contextos: la determinación taxonómica y sexual, los estudios para conocer el proceso de domesticación, o la estructura filogeográfica durante ciclos glaciares subrayando la existencia o no de refugios glaciares. También proporcionamos información preliminar referente a la aplicación de estas técnicas en el yacimiento de Arlanpe (Lemoa, Bizkaia). En este yacimiento hemos obtenido ADN mitocondrial de muestras de oso pardo, gran bóvido y cabra montés. Una de las muestras de oso pardo de Arlanpe está dentro del clado 3c compuesto de osos pardos extintos de Alaska. Dos de las muestras de gran bóvido de Arlanpe han sido clasificadas como uro (*Bos primigenius*) mediante métodos genéticos.

ABSTRACT

Ancient DNA studies are increasingly becoming a very powerful tool by providing new insights into both, extant and extinct species. Therefore, this type of studies can easily be incorporated within a multidisciplinary approach for archaeopaleontological studies. In this article we review some of these applications, emphasizing on sexual and taxonomical determination, domestication events, and phylogeographic structure during glacial cycles highlighting the importance of the presence or absence of glacial refugia. Here we present new and preliminary data on ancient DNA studies applied to the site of Arlanpe (Lemoa, Bizkaia). In this site we have obtained mitochondrial DNA from brown bear, large bovinds and iberian ibex remains. One of the bear samples from Arlanpe is included within the 3c clade, which is composed by extinct bears from Alaska. Two of the large bovid samples from Arlanpe have been identified as auroch (*Bos primigenius*) using DNA analysis.

LABURPENA

ADN zaharraren azterketen bitartez aukera dugu egungo eta desagertutako espezieen biologiari buruzko datu berriak ezagutzeko. ADN zaharraren teknikak tresna gehigarria eta osagarria izan daitezke problematika arkeopaleontologiko desberdinei aurre egiteko beharrezkoak diren diziplina anitzeko azterketen barruan. Artikulu honetan testuinguru horietako aplikazioetako batzuk errepasatu ditugu: zehaztapen taxonomikoa eta sexuala, domestikazio-prozesua ezagutzeko azterlanak, edo egitura fileografikoa glaziarretan zehar, aterpe glaziarrik ote zegoen ala ez azpimarratuz. Arlanpeko aztarnategian (Lemoa, Bizkaia) teknika horien aplikazioari buruzko atariko informazioa ere eskaintzen dugu. Aztarnategi horretan hartz arrearen, bobido handiaren eta basahuntzaren laginetako ADN mitokondriala lortu dugu. Arlanpeko hartz arrearen laginetako bat Alaskako desagertutako hartz arreen 3c klado konposatuaren barnean dago. Bobido handiaren laginetako bi Uro gisa (*Bos primigenius*) sailkatu dira metodo genetikoaren bitartez.

⁽¹⁾ Center for GeoGenetics, Natural History Museum of Denmark, University of Copenhagen. Oster Voldgade 5- 7 1350, Copenhagen K, Denmark.

⁽²⁾ Centro Mixto Universidad Complutense de Madrid-Instituto de Salud Carlos III (UCM-ISCIII) de Investigación sobre Evolución y Comportamiento Humanos, Madrid, Avda. Monforte de Lemos 5 (Pabellón 14). 28029 Madrid.

⁽³⁾ PAVE. Division of Biological Anthropology. Department of Archaeology and Anthropology. University of Cambridge, Pembroke Street, Cambridge CB2 3DZ, UK.

⁽⁴⁾ Departamento de Ciencias Históricas, Universidad de Cantabria. Avenida de Los Castros s/. 39005 Santander.

⁽⁵⁾ Arkeologi Museoa. Mallona galtzadak 2, 48006 Bilbao.

⁽⁶⁾ Department of Evolutionary Biology, Evolutionary Biology Centre (EBC). Uppsala University, Norbyvägen 18D, 752 36, Uppsala, Sweden.

⁽⁷⁾ Department of Primary Industries, Biosciences Research Division, Victorian AgriBiosciences Centre (VABC), 1 Park Drive, Bundoora Vic 3083, Australia

⁽⁸⁾ Departamento de Geología. Facultad de Ciencia. Universidad de Salamanca, 37008 Salamanca.

⁽⁹⁾ Área de Prehistoria, Departamento de CC. Históricas y Geografía, Edificio I+D+i, Universidad de Burgos, 09001 Burgos.

⁽¹⁰⁾ Institución Milá i Fontanals (CSIC), C/Egipcíacques 15, 08001 Barcelona.

⁽¹¹⁾ Departamento de Paleontología, Facultad de Ciencias Geológicas, Universidad Complutense de Madrid, Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid.

1.- INTRODUCCIÓN

El reciente desarrollo de técnicas de extracción y análisis de ADN antiguo ha permitido obtener nuevas herramientas para poder abordar cuestiones del ámbito de la paleobiología, de la filogeografía, así como otras propias de la arqueología. En el marco de los proyectos de investigación multidisciplinares en arqueología la incorporación de expertos de ADN antiguo permite abordar estas cuestiones, ampliando así la información disponible a partir del registro óseo recuperado en los contextos arqueológicos.

Este trabajo tiene un doble objetivo: por un lado revisar de manera sucinta algunas de las aplicaciones de las técnicas de ADN antiguo en contextos arqueológicos y paleobiológicos para después comentar algunos de los resultados obtenidos de la aplicación de dichas técnicas en restos procedentes de la cueva de Arlanpe (Lemoa, Bizkaia).

2.- EL ADN ANTIGUO EN CONTEXTOS ARQUEOPALEONTOLÓGICOS

Las nuevas técnicas de estudio de ADN están facilitando la obtención de importante información taxonómica y filogenética de especies extintas de manera directa e independiente. Esto ha permitido facilitar la interpretación de sus relaciones con parientes actuales más cercanos (ver por ejemplo, el rinoceronte lanudo *Coelodonta antiquitatis*; ORLANDO *et alii*, 2003) y confirmar o rechazar distintas hipótesis filogenéticas previas basadas en la morfología ósea, con resultados reproducibles. Así, VALDIOSERA *et alii* (2006) pudieron confirmar la relación entre *Ursus deningeri* y *Ursus spelaeus* y el estudio del ADN antiguo del ciervo gigante *Megaloceros giganteus* lo puso en relación más próxima con el gamo *Dama* spp. que con ciervo *Cervus* spp. (LISTER *et alii*, 2005).

Entre los muchos estudios que pueden ser abordados mediante técnicas de ADN antiguo, en el yacimiento de Arlanpe hemos emprendido algunas investigaciones orientadas a conocer los procesos de domesticación; conocer la diversidad genética, la paleodemografía y los patrones filogeográficos de especies en el pasado; así como la determinación sexual y taxonómica de restos no diagnósticos. A continuación pasamos a revisar algunas de estas aplicaciones, junto con los resultados obtenidos en Arlanpe (punto 4).

2.1. Determinación taxonómica y sexual

Saber a qué especie pertenecen los restos recuperados en un yacimiento es el primer paso para poder abordar estudios paleobiológicos, y además, en contextos arqueológicos, puede ofrecer información sobre las preferencias cinegéticas de los cazadores del pasado, e incluso sobre a qué especie pertenecían estos cazadores. La presencia de especies contemporáneas morfológicamente similares y la recuperación de restos fragmentarios, no diagnósticos, dificultan la determinación taxonómica. KRAUSE *et alii* (2007) analizaron mediante técnicas genéticas restos humanos pertenecientes a un individuo inmaduro pero taxonómicamente no diagnósticos de la cueva de Okladnikov (Altai, Siberia) datados entre 29.990 ± 500 y 37.800 ± 450 años BP (sin calibrar). Estos restos contenían ADN mitocondrial de tipo Neandertal, por lo que se pudo extender el rango de distribución de los Neandertales en base a su registro fósil unos 2.000 km hacia el este.

Por otro lado, un dimorfismo sexual extremo puede llevar a que una clasificación en base a la morfología proponga varias especies distintas para restos que realmente pertenecen a una única especie. Este es el caso de los restos de la moa *Dinornis* cuyos restos habían sido clasificados en tres especies presentes en tres islas en base a la morfología. Los análisis genéticos realizados por BUNCE *et alii* (2003) demostraron que los tres morfotipos en cada isla pertenecían a la misma especie pero que existían diferencias significativas como para clasificar los ejemplares de cada isla en especies distintas.

El sexo, junto a otros aspectos como el peso y la edad de muerte, son importantes parámetros para el estudio de la paleobiología de una especie. Estos datos nos pueden ofrecer información adicional sobre aspectos del agente acumulador en los yacimientos arqueopaleontológicos, tales como la presencia de selección de presa. La determinación sexual de restos faunísticos en contextos arqueopaleontológicos suele realizarse en base a criterios osteométricos usando distintos métodos estadísticos (ver ALTUNA, 1978; MONCHOT y LÉCHELLE, 2002; ARCEREDILLO *et alii*, 2011).

Los estudios de ADN también se han usado en la determinación sexual de restos arqueológicos dando resultados coherentes con los criterios morfométricos. SVENSSON *et alii* (2008) extrajeron ADN

de 26 restos distales de metacarpo recuperados en el yacimiento medieval de Skara (Suecia) así como en 16 muestras modernas de sexo conocido. En el 100% de las muestras modernas el sexo obtenido mediante el ADN antiguo fue coherente con el sexo conocido. En el caso de la muestra medieval, pudo extraerse ADN en 22 de las 26 muestras y en todas ellas se obtuvieron resultados congruentes con los resultados osteométricos. Los resultados de este estudio abren la posibilidad de la utilización de técnicas de ADN antiguo para determinar el sexo en restos menos diagnósticos osteométricamente.

2.2. Procesos de domesticación

Los estudios de ADN antiguo pueden ayudar a conocer el proceso de la domesticación de distintas especies. Es de especial interés conocer si la domesticación de cierta especie fue un evento único, localizado temporal y espacialmente, o si presenta un patrón más complejo con distintos eventos en distintos lugares y cronologías. Uno de los casos más interesantes es la domesticación del ganado vacuno europeo que ocurrió en Oriente Próximo hace alrededor de 10 mil años a partir de uros (*Bos primigenius*) que habitaban esa región (BRADLEY *et alii*, 1998; LOFTUS *et alii*, 1994; TROY *et alii*, 2001), para después llegar a Europa a través de diferentes rutas (AJMONE-MARSAN *et alii*, 2010; BEJA-PEREIRA *et alii*, 2006; BRADLEY *et alii*, 1996). Más allá de este esquema, todavía se debate si los uros europeos contribuyeron al "pool" genético del ganado doméstico en Europa. En este contexto, es fundamental conocer la diversidad genética de los uros del Pleistoceno europeo. Los datos genéticos obtenidos tanto de ganado doméstico moderno como arqueológicos ponen en duda la hipótesis de un único evento de domesticación para el ganado doméstico taurino y avivan la discusión sobre el posible flujo genético entre los uros y el ganado taurino (ACHILLI *et alii*, 2008, 2009; EDWARDS *et alii*, 2010; GÖTHERSTRÖM *et alii*, 2005; SVENSSON y GÖTHERSTRÖM, 2008; ver una reciente revisión en LIRA, 2010). El caso de la Península Ibérica es especial por la sorprendente diversidad genética en el ganado vacuno doméstico durante la Prehistoria reciente (Neolítico-Edad del Bronce) (ANDERUNG y GÖTHERSTRÖM, datos sin publicar), mucho mayor que la encontrada en Europa Central en la misma época. La existencia de un efecto fundador, en ausencia de domestica-

ción/introgresión local, daría unos resultados contrarios. Los uros supuestamente desaparecieron de Iberia en el Calcolítico (DAVIS y MORENO GARCIA, 2007; ver también ANDERUNG *et alii*, 2005), habiendo coexistido con el ganado doméstico procedente de Oriente Medio durante miles de años. Por ello, basado en una larga coexistencia, se discute la posibilidad de la hibridación del ganado doméstico con uros ibéricos, o la domesticación local de los mismos.

2.3. Diversidad genética, paleodemografía y patrones filogeográficos

Los análisis de ADN antiguo permiten estudiar los cambios en la diversidad genética que pueden reflejar fluctuaciones demográficas, la existencia de flujo genético entre distintas poblaciones, migraciones y/o sustitución de poblaciones, entre otros. Una de las aplicaciones de estos estudios ha sido testar el modelo clásico de los refugios glaciares y la recolonización postglacial. Este modelo supone que las especies que sobrevivieron aisladas en las Penínsulas Ibérica, Itálica y Balcánica durante el último máximo glacial, expandieron posteriormente su rango de distribución hacia el norte cuando las temperaturas subieron y las condiciones climáticas fueron más favorables. Esta expansión dependería de la capacidad de dispersión de las especies y de sus propios requerimientos ecológicos (HEWITT, 2004). La contracción del área de distribución de las especies en refugios glaciares y la subsiguiente expansión hacia el norte (modelo de expansión/contracción) ocurriría repetidas veces durante las distintas glaciaciones, lo que produciría una considerable reorganización de los genomas poblacionales. Durante el periodo de aislamiento en refugios, las poblaciones sufrirían diferenciación de los linajes llevando a la divergencia genética entre las poblaciones de los distintos refugios a lo largo de varios ciclos glaciares (alopatria repetida) (HEWITT, 1996, 1999). La recolonización de las especies se llevaría a cabo a partir de uno o más refugios y sus genomas podrían mezclarse o no. En todo caso, estos genomas reorganizados, se distribuirían a lo largo de grandes áreas intracontinentales durante la expansión post-glacial. Este hecho provocaría una reducción en la diversidad (IBRAHIM *et alii*, 1996) debido a efectos como la aparición de cuellos de botella y efectos fundador de los individuos al frente del bloque poblacional en dispersión en las áreas recolonizadas. Al mismo

tiempo, las poblaciones más grandes y estables que sobrevivirían en los refugios glaciales preservarían mayores niveles de diversidad genética. La colonización post-glacial de la mayoría de las especies ocurrió a partir del límite norte de su distribución, dentro de los refugios durante el último máximo glacial (LGM-last glacial maximum, hace entre 16.000 y 22.000 años) (HEWITT, 2004). Se cree que la dinámica poblacional, resultante de los ciclos glaciares durante el Pleistoceno tuvo consecuencias genéticas que aún pueden ser observadas en la estructura de las poblaciones actuales de varias especies. Se ha sugerido que los refugios glaciares han jugado un papel fundamental en la distribución filogeográfica de varias especies actuales, como pueden ser el saltamontes (*Chorthippus parallelus*), el erizo (*Erinaceus europaeus* y *E. concolor*) los robles (*Quercus* spp.), las musarañas enanas (*Sorex minutus*), las musarañas comunes (*Sorex araneus*), los tritones (*Triturus vulgaris* y *Triturus montandoni*) y el oso pardo (*Ursus arctos*), entre otros (TABERLET y BOUVET, 1994; TABERLET *et alii*, 1998; HEWITT, 1999; pero ver más abajo).

La ubicación geográfica exacta de los refugios glaciares y la influencia que han tenido en los patrones de diversidad actuales aún continúan siendo tema de debate. Existen evidencias paleontológicas y filogeográficas de que los refugios glaciares de especies templadas no estaban restringidos a penínsulas que quedaron aisladas durante el LGM. Por ejemplo, hubo poblaciones de topillos rojos (*Clethrionomys glareolus*) que sobrevivieron al LGM cerca de los Cárpatos y que contribuyeron a la recolonización post-glacial del centro de Europa (KOTLIK *et alii*, 2006). Las poblaciones mediterráneas de musarañas enanas (*Sorex minutus*), musarañas comunes (*Sorex araneus*) y topillos rojos no contribuyeron al acervo genético de las poblaciones actuales del centro de Europa. De hecho, se ha sugerido la existencia de refugios glaciares en el centro de Europa y Asia para estos taxones (BILTON *et alii*, 1998). La presencia de especies de bosques de clima templado en el centro de Europa, en lugares como Hungría, durante periodos de máximo enfriamiento, sugiere que otras especies de climas templados pudieron haber sobrevivido también en estas zonas (WILLIS *et alii*, 2000).

Los nuevos análisis en poblaciones antiguas de oso pardo (*Ursus arctos*) de la Península Ibérica así como en el resto de Europa han permitido a VALDIOSERA *et alii* (2007) sugerir que la estructura po-

blacional actual no resulta de eventos climáticos críticos acontecidos durante el Pleistoceno, en contra de lo propuesto por TABERLET y BOUVET (1994) y HEWITT (1996). Estos resultados parecen apoyar un escenario biogeográfico con un constante flujo génico entre las distintas poblaciones de osos pardos de Europa, incluso en los momentos de máxima glaciación. Los osos de la Península Ibérica no permanecieron aislados, ni siquiera en el LGM dado que se ha detectado flujo génico con poblaciones de osos procedentes de Italia hace 18.000 años (VALDIOSERA *et alii*, 2007).

El estudio de las dinámicas poblacionales en fósiles permite analizar los momentos en los que se produjeron cuellos de botella que debilitaron la diversidad genética de las poblaciones. UREÑA *et alii* (2011) han estudiado restos de *Capra pyrenaica* de niveles paleolíticos y neolíticos en el yacimiento de Chaves (Huesca). Según estos autores, la población de Chaves no sufrió flujos genéticos externos a lo largo del tiempo: existió una continuidad genética en la cabra montés de Chaves entre el Paleolítico y el Neolítico, pero en este último periodo había una menor diversidad genética. Por ello, uno o varios cuellos de botella se debieron producir antes del Neolítico, posiblemente debido al aumento de la presión de caza y/o a la competencia con el ganado doméstico.

3.- EL YACIMIENTO ARQUEOLÓGICO DE LA CUEVA DE ARLANPE

La cueva de Arlanpe es una pequeña cavidad que se abre en calizas del Cretácico medio (Albiense) del monte Pagotxueta (UTM: 30T 519254 4782262, 204 m.s.l.) (Figura 1) y domina un ensanchamiento del valle de Arratia en su confluencia con el río Ibaizabal. El yacimiento fue descubierto por el grupo espeleológico Alegría Club de Amorebieta en 1961 e identificado como un yacimiento del Paleolítico Inferior por J. M. Barandiarán (MARCOS MUÑOZ, 1982). En 2006, se realizó una primera exploración de la cavidad y una campaña de sondeos (RIOS GARAIZAR *et alii*, 2007) poniendo de relieve el potencial de las ocupaciones paleolíticas que ha sido confirmado en las campañas de excavación desarrolladas entre 2007 y 2010 (RIOS GARAIZAR *et alii* 2007, 2008a, 2009, 2010). Esta excavación ha afectado a unos 9m² distinguiéndose dos sectores de excavación diferenciados, uno al fondo de la cueva y el otro en la entrada, con dos secuencias estratigráficas disociadas.

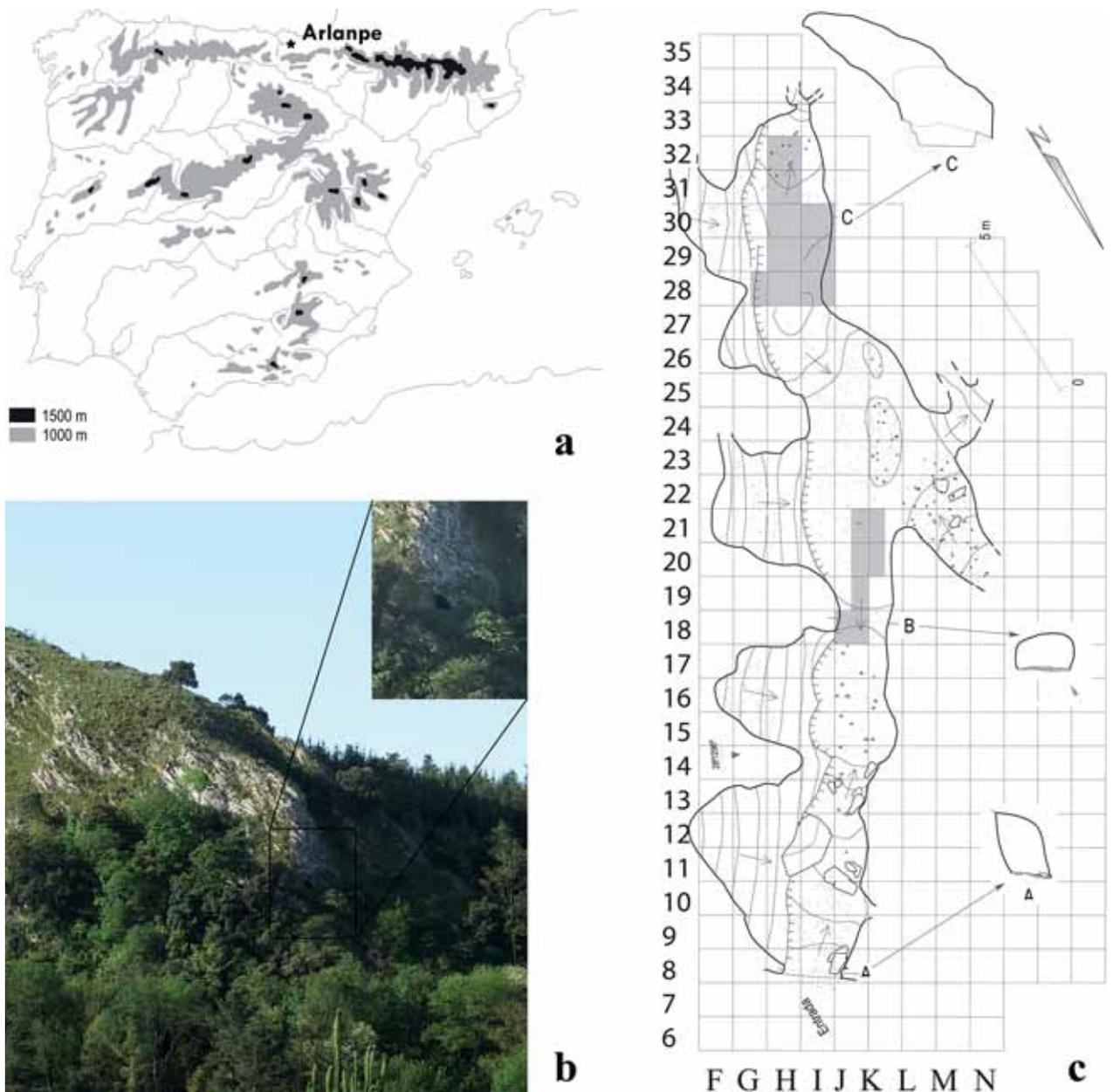


Fig. 1. a) Situación de Arlanpe en la Península Ibérica. b) Vista del monte Pagotxueta, donde se abre la cueva de Arlanpe, y anteriores de la boca de la cueva. c) Planta de la cueva de Arlanpe con las dos zonas de excavación en gris (cada cuadro representa 1 m²).

La secuencia cultural recuperada en Arlanpe se inicia con las ocupaciones del Paleolítico Inferior que se remontan probablemente al último interglacial (MIS5e). Estas ocupaciones aparecen representadas en el fondo de la cavidad en los niveles D y C. El nivel D muestra una buena conservación mientras que el nivel C parece haberse formado por la alteración hídrica de sedimento de la parte superior del nivel D. En la entrada de la cavidad, en los niveles IV-V y VI, se han localizado evidencias que apuntan a que esos niveles podrían tener una cronología similar al nivel D (RIOS-GARAIJAR *et alii*, 2011).

En la secuencia del fondo, los niveles B y A muestran importantes alteraciones antrópicas y naturales (madrigueras) y en su interior aparecen mezclados materiales del Paleolítico Inferior, de un Paleolítico Superior indeterminado, probablemente Auriniense, y materiales postpaleolíticos de la Edad del Bronce y de época tardorromana (s. IV). En estos niveles aparece abundante fauna descontextualizada con un estado de conservación relativamente bueno.

En la secuencia de la entrada encontramos por encima del nivel IV, dos niveles solutenses, III y II. El nivel III parece haberse formado por el colapso

de una madriguera que se ha rellenado con materiales del nivel superior (II). El nivel II presenta una abundante industria lítica y ósea, típica solutrense, y abundantes restos de fauna, además de superficies de hogar parcialmente desmanteladas. Estos niveles se han datado en torno a 17.000 BP (RIOS-GARAIJAR *et alii*, 2008b). Por encima de este nivel, se desarrolla un potente paquete, poco fértil, atribuido al Magdaleniense medio por datación radiocarbónica (nivel I). Este nivel está cortado en varios puntos por fosas rellenas con materiales de época tardorromana, tanto restos de cerámica, objetos metálicos y de vidrio, como restos de fauna doméstica (Gutiérrez Cuenca *et alii*, en preparación).

En resumen, la secuencia estratigráfica y cultural de Arlanpe proporciona una serie de ventanas temporales discontinuas del Eemiense, del final del Pleistoceno superior y del Holoceno con una buena conservación de la fauna y un amplio espectro taxonómico, constituyendo un conjunto propicio para la integración del registro óseo del yacimiento en distintos programas de ADN antiguo con un ámbito más amplio (tanto geográfico como cronológico) de actuación.

4.- ESTUDIOS DE ADN ANTIGUO EN LA CUEVA DE ARLANPE

Los estudios presentados en este artículo con fauna proveniente de Arlanpe se refieren a tres taxones: oso pardo (*Ursus arctos*), gran bóvido (*Bos primigenius/Bos taurus/Bison priscus*) y cabra montés (*Capra pyrenaica*). También se intentó extraer ADN mitocondrial de un resto de caballo (*Equus ferus*) (ARL.H29.4.4.2) del que se extrajo una muestra de 200 mg. Con esta muestra no se obtuvo ADN mitocondrial (LIRA, comunicación personal). El protocolo de extracción de ADN y los sistemas de cebadores (también denominados *primers*) utilizados para este resto de caballo fueron los publicados en LIRA *et alii* (2010).

Hasta ahora, muchos restos de los que se ha obtenido resultados positivos provienen de contextos estratigráficos revueltos dado que fueron los primeros que se excavaron durante las primeras campañas de excavación y dada la buena preservación de los restos encontrados en estos contextos. Aunque estos restos tienen, en un principio escaso valor arqueológico retienen valor paleobiológico, y una vez datados son especímenes que pueden ser incluidos en estudios como los anteriormente descritos. Los restos muestreados

más recientemente incorporan, en mayor proporción restos recuperados en estratigrafía *in situ*.

4.1. Metodología de muestreo

Los muestreos para hacer estudios de ADN antiguo en Arlanpe han requerido la perforación de una pequeña parte del hueso o diente con el fin de obtener un gramo de polvo por cada muestra. Esta pequeña perforación ha intentado, en lo posible, preservar la morfología externa y se ha realizado en zonas que no presenten alteraciones tafonómicas o tras el estudio de las mismas. Los restos han sido muestreados en el laboratorio de ADN antiguo del Centro UCM-ISCI (Madrid), usando campanas de extracción, esterilizando las superficies y el material utilizado mediante irradiación con luz ultravioleta y limpieza con hipoclorito de sodio y etanol, uso de guantes y mascarillas para evitar la contaminación de las muestras con ADN exógeno. La cantidad muestreada, un gramo, está calculada para llevar a cabo tres extracciones de ADN. Además de la primera extracción de ADN, la segunda extracción serviría para la comprobación de los resultados, y la tercera se haría en un laboratorio independiente para validar los resultados previos. De ese gramo se reservan al menos 100mg para su datación radiométrica mediante análisis del $\delta^{14}\text{C}$. Dos muestras de *Bos* y una de *Ursus* de Arlanpe fueron muestreadas dos veces para obtener una mayor cantidad de polvo para poder realizar análisis adicionales de ADN o de ^{14}C .

4.2. Oso pardo (*Ursus arctos*)

El estudio de ADN antiguo de restos de oso pardo procedentes de Arlanpe se encuadra dentro de un proyecto de estudio de la variabilidad genética de las poblaciones de oso pardo del Pleistoceno y Holoceno en Europa occidental para responder a las siguientes preguntas:

1) ¿Actuó la Península Ibérica como un refugio glacial? (ver punto 2.2)

2) Subordinada a la anterior, ¿Es la variabilidad genética actual del oso pardo ibérico resultado del aislamiento de la Península Ibérica en épocas glaciales? ¿Dicho aislamiento dio lugar a procesos endogamia y deriva, que a su vez resultaron en unidades significativamente evolutivas?

De las cuatro muestras de *Ursus arctos* analizadas hasta el momento se ha obtenido ADN mitocondrial en dos de ellas (ARL.ADN.001 y ARL.ADN.009; ver Tabla 1). De la muestra

Sigla ADN	Sigla fósil	Campaña	Nivel	Descripción	Datación*	Extracción	Amplificación	Secuenciación
ARL.ADN.01 ("Asieko")	ARL.H30.R.1	2006	A (revuelto superficial)	5º metatarsiano izquierdo	27.178 ± 433	Sí	Positiva	Sí
ARL.ADN.009	ARL.J21.2.4.10	2008	Superficial-I	Mº izquierdo	No	Sí	Positiva	Sí
ARL.ADN.010	ARL.H28.1.11.3	2008	D (Paleolítico inferior)	2º metacarpiano izquierdo	No	Sí	Negativa	-
ARL.ADN.034	ARL.H32.2.1.1	2010	A (revuelto superficial)	5º metatarsiano izquierdo	No	Pendiente	Pendiente	Pendiente

Tabla I: Inventario y resultados de las muestras de ADN antiguo de los cuatro restos de oso pardo (*Ursus arctos*) de Arlanpe que se han muestreado.

* BP sin calibrar.

ARL.ADN.009 se ha obtenido un fragmento de 136 pares de bases (pb) usando los cebadores L16164 y H16299 (HÄNNI *et alii*, 1994). Los resultados preliminares para esta muestra la sitúan dentro del clado Ibérico. En la muestra ARL.ADN.001 ("Asieko"), un quinto metatarsiano, (ver Figura 4, Tabla II) la amplificación se llevó a cabo utilizando tres pares de cebadores diseñados para amplificar un fragmento de secuencia de ADN mitocondrial de la región control o *D-loop*. Se escogió la región del *D-loop* por ser una región no codificante con una elevada tasa de mutación, lo que la convierte en la región más variable del genoma mitocondrial (BROWN *et alii*, 1993; LOPEZ *et alii*, 1997). La gran variabilidad del *D-loop* nos permite detectar los cambios genéticos a nivel inter e intrapoblacional como por ejemplo los provocados por cuellos de botella o los patrones filogeográficos causados por migraciones. La longitud total del fragmento recuperado de la muestra ARL.ADN.001 es de 197pb (sin incluir secuencias de cebadores). Es un fragmento corto, pero altamente polimórfico, por lo tanto, son fragmentos informativos sobre los cambios genéticos acumulados a través del tiempo. Cada fragmento se amplificó dos veces mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). A continuación, cada uno de los productos de PCR fue clonado y secuenciado utilizando cebadores universales M13. La purificación de las colonias de productos de PCR

se llevó a cabo utilizando placas de filtración (Montage PCRu96 Plate, Millipore). De cada producto se clonaron seis colonias, con lo cual de cada muestra se obtuvieron un total de 12 clones, para poder seleccionar la secuencia correcta. Debido a la excepcional naturaleza de los resultados, y sus implicaciones, la muestra ARL.ADN.001 fue amplificada cuatro veces más y clonada, con ocho clones por cada amplificación independiente. De un total de 48 secuencias clonadas, ocho clones de una misma amplificación difirieron del resto. Aplicando la regla de consenso mayoritario, consideramos como correctas 40 de las 48 secuencias.



Fig. 2. ARL.H30.R.1: vista dorsal (a) y lateral izquierda (b). Se trata de un quinto metatarsiano izquierdo de oso pardo de gran tamaño. Barra de escala=5cm.

Individuo/Muestra	Lado	Longitud máxima	Altura proximal	Altura diáfisis	Altura distal	Anchura epifisis proximal	Anchura diáfisis	Anchura epifisis distal	Fuente
ARL.H30.R.1 (Arlanpe)(<i>Ursus arctos</i>)	Izquierdo	98,7	30,4	13,8	16,5	(26,8)	14,4	25,0	Presente estudio
U. arctos europeos*	-	87,4 (n=15) (74,0-102,2)				24,5 (n=15) (16,0-29,7)	12,7 (n=15) (10,4-15,2)	21,2 (n=15) (15,8-25,7)	GARCÍA, 2003
Uribe arruako lezia I (332)(<i>Ursus arctos</i>)	Derecho	91,0					12,7	19,6	ALTUNA, 1973
Gasteluko koba (333) (<i>Ursus arctos</i>)	Izquierdo	91,5					13,1	21,7	ALTUNA, 1973
Aketegi (AK. I.) (<i>Ursus arctos</i>)	Derecho	80,0					10,2	18,0	ALTUNA, 1973
Karaximeko koba (330) (<i>Ursus arctos</i>)	Izquierdo	81,0					11,2	19,2	ALTUNA, 1973
Lezetxiki (nivel VI) (<i>Ursus arctos</i>)	Derecho	87,6					(13,0)	22,8	ALTUNA, 1973
U. spelaeus ibéricos	-	83,9 (n=75) (71,7-104,2)				28,9 (n=84)(21,7-42,0)	14,8 (n=84) (12,2-18,6)	24,7 (n=75) (19,8-30,2)	TORRES, 1984, en GARCÍA, 2003
U. spelaeus Cova Eirós (Lugo)	-	85,4 ± 3,86 (n=23) (78,1-91,3)	31,5 ± 3,34 (n=23) (26,0-38,3)	17,0 ± 1,60 (n=24) (13,8-19,7)	17,5 ± 1,39 (n=20) (15,1-20,0)	29,3 ± 3,1 (n=23) (24,4-35,8)	14,7 ± 1,37 (n=24) (12,0-16,2)	24,8 ± 2,15 (n=22) (20,3-28,2)	GRANDAL, 1993
Labeko koba (U. spelaeus)	-	77,5						22,1	ALTUNA y MARIEZKURRENA, 2000

Tabla II: Medidas del quinto metatarsiano de Arlanpe comparado a otras muestras de oso pardo (*Ursus arctos*) y de las cavernas (*Ursus spelaeus*).

*Se refiere a osos pardos ibéricos y franceses

Median-Joining
(177 nucleotides dataset)

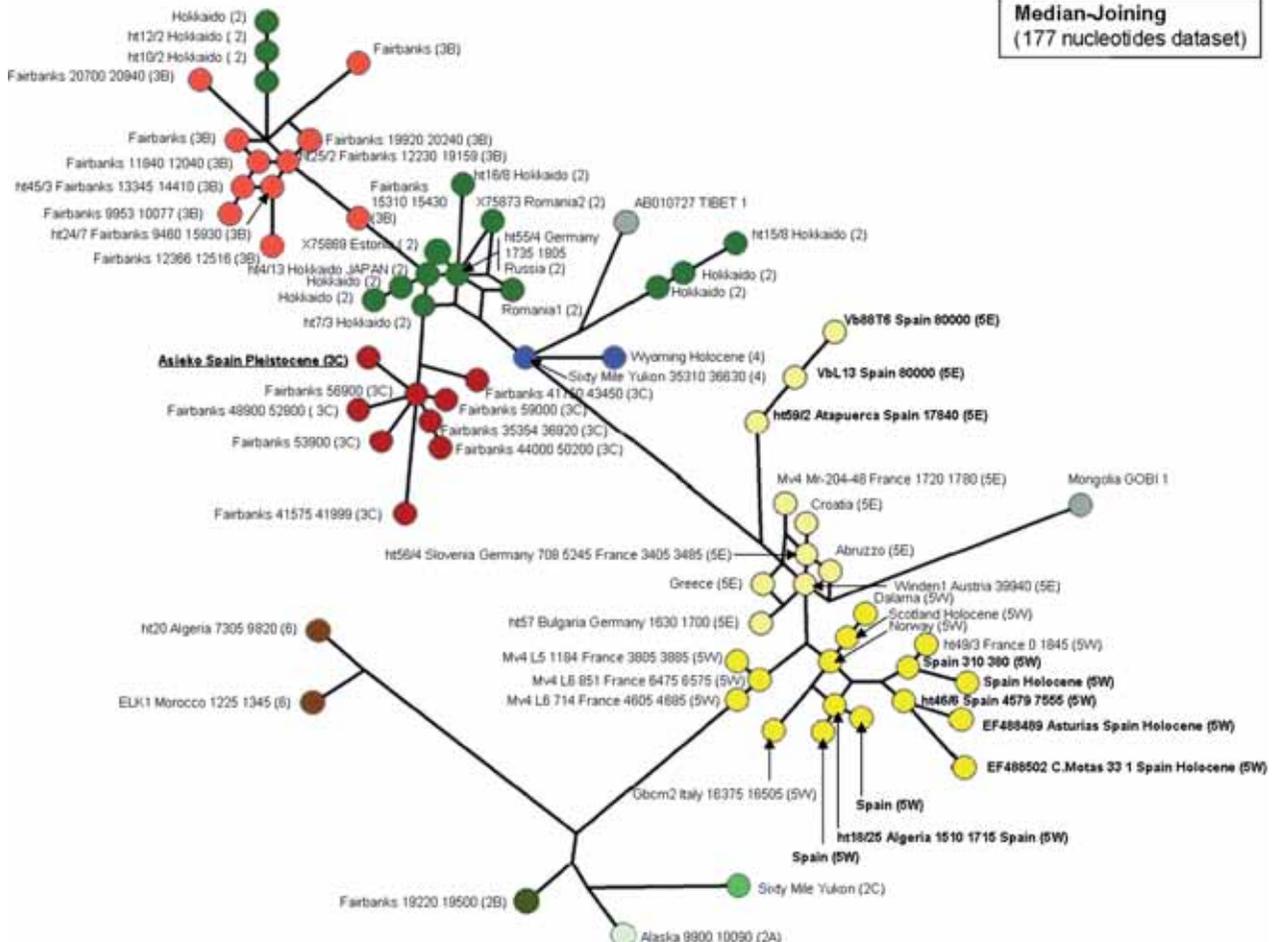


Fig. 3. El median joining network muestra la distribución de haplotipos. La muestra ARL.ADN.001 ("Asieko") se agrupa con los haplotipos del clado 3c (en rojo).

Los análisis filogenéticos situaron la muestra ARL.ADN.001 dentro del clado correspondiente al linaje oriental, que incluye a las poblaciones del norte de Escandinavia, Rusia, este de Europa y otras poblaciones de Norte América (Valdiosera *et alii*, 2008). Análisis posteriores de los árboles filogenéticos, tanto con métodos bayesianos como de máxima verosimilitud, junto con la red de haplotipos, revelaron su posición dentro del clado 3c (ver Figura 3), un clado de osos pardos extinto y únicamente encontrado hasta ahora en Alaska (BARNES *et alii*, 2002).

La sorprendente posición de la muestra dentro del clado extinto 3c en Alaska, indica que la conexión genética de los osos pardos ha sido a una escala mucho mayor de lo que se ha pensado tradicionalmente. Hasta ahora, las evidencias mostraban que la población más distante geográficamente que habría influenciado genéticamente a los osos pardos Ibéricos se encon-

traba en el este de Europa. Estos nuevos análisis han revelado que el clado 3c no estaba restringido únicamente a Beringia, sino que se llegó a extender hasta la Península Ibérica.

El estudio de esta muestra, junto con más evidencias a partir del registro fósil, confirma que ha habido un importante flujo genético durante el Pleistoceno que ha mantenido un tamaño de población efectivo estable, y que el grupo ibérico ha sufrido un efecto de cuello de botella importante en tiempos históricos recientes (VALDIOSERA *et alii*, 2008). Por tanto, la estructura de población genética que observamos actualmente sería interpretada como el resultado de una actividad antrópica reciente, en contra de la idea hasta ahora establecida y ampliamente aceptada de ser el resultado de un proceso de aislamiento geográfico causado por eventos climáticos críticos durante el Cuaternario (TABERLET y BOUVET, 1994, HEWITT, 1996).

4.3. Gran bóvido (*Bos primigenius/Bos taurus/Bison priscus*)

El estudio de ADN antiguo de gran bóvido de Arlanpe se abordó con dos objetivos:

1) Determinación taxonómica: intentar determinar si estos restos pertenecían a los géneros *Bison* o *Bos*. En Bizkaia hay evidencias de la presencia de ambos géneros durante el Paleolítico (ver Tabla III) y en la inmensa mayoría de los yacimientos, al no recuperarse restos diagnósticos que permitan su identificación (pero ver SALA *et alii*, 2010) sólo se hace mención a la presencia de gran bóvido o bovini (ver por ejemplo, ALTUNA, 1992; CASTAÑOS, 2005).

2) Ahondar en el estudio de la domesticación del ganado vacuno en la Península Ibérica para conocer si existieron eventos de domesticación locales o si hubo flujo genético de *Bos primigenius* hacia el ganado doméstico (*Bos taurus*). Este estudio se basa en el análisis de restos de ambas especies de *Bos*.

Se han tomado 14 muestras de Arlanpe, de las que, hasta el momento sólo se ha podido hacer extracciones de ADN antiguo por duplicado en seis de ellas (nombradas Ar1-Ar6; ver Tabla IV) usando el método descrito por YANG *et alii* (1998)

y modificado de acuerdo con MALMSTRÖM *et alii* (2007) y SVENSSON *et alii* (2007).

Para poder evaluar la calidad de las muestras de *Bos* antes de proceder a otros análisis genéticos, en todas las extracciones se buscó un fragmento de 70 pb del ADN mitocondrial que contiene un polimorfismo de nucleótido único (single nucleotide polymorphism- SNP) que permite separar el ADN bovino auténtico (endógeno) del ADN humano contaminante (exógeno). La relación de ADN de *Bos* en referencia a la cantidad de ADN humano en una muestra es un buen indicador de la preservación. Si esta relación es cercana a 1, hay mucho ADN auténtico en la muestra por lo que se puede esperar una alta posibilidad de éxito en los análisis subsiguientes. En cambio, si la relación es baja, indica que la muestra contiene más contaminación que moléculas auténticas, por lo que los resultados obtenidos a partir de esas muestras deberían ser tratados con cautela. La evaluación de la calidad de las muestras de *Bos* de Arlanpe se realizó usando una herramienta de pirosecuenciación para la cuantificación de alelos (Pyrosequencing allele quantification tool) (ver detalles en MALMSTRÖM *et alii*, 2007).

Especie	Yacimiento	Cronología	Descripción	Referencia(s)
Bisonte (<i>Bison priscus</i>)	Axlor	Musteriense	Restos óseos	ALTUNA, 1972
	Venta Laperra	Auriñaciense/Gravetiense	Grabados profundos	ARIAS CABAL <i>et alii</i> , 1998/99
	Santimamiñe	Magdaleniense medio/superior	Pinturas negras	ARANZADI <i>et alii</i> , 1925; GONZÁLEZ SAINZ, 2009
Uro (<i>Bos primigenius</i>)	Arenaza	Gravetiense/Solutrense	Pintura roja y grabado	GARATE <i>et alii</i> , 2000/01/02
	El Rincón	Premagdaleniense (?)	Grabados	GONZÁLEZ SAINZ y GARATE MAIDAGAN, 2006
	Santa Catalina	Magdaleniense superior/final	Grabado en un percutor	RUIZ IDARRAGA y BERGANZA, 2004

Tabla III: Evidencias de la presencia de bisonte (*Bison priscus*) y uro (*Bos primigenius*) en el Paleolítico de Bizkaia.

Sigla ADN*	Sigla fósil	Campaña	Nivel	Descripción	Presencia de ADN**	Resultados reproducibles	Resultados datación C14***
ARL.ADN.003 (Ar1)	ARL.H29.2.1.12	2007	A (revuelto superficial)	Primera falange	No	-	No
ARL.ADN.004 (Ar2)	ARL.H29.4.5.2	2007	B (revuelto)	Fragmento húmero derecho	Sí (10%)	No	No (Sin colágeno)
ARL.ADN.005 (Ar3)	ARL.H30.R.5	2006	A (revuelto superficial)	Fragmento de primera falange	Sí (30%)	Sí	19.700 +/- 455
ARL.ADN.006 (Ar4)	ARL.H30.4.1.19	2006	A (revuelto superficial)	Fragmento de molar superior	Sí (98%)	Sí	23.416 +/- 433
ARL.ADN.007 (Ar5)	ARL.H29.4.3.2	2007	B (revuelto)	Fragmento de costilla	No	-	-
ARL.ADN.008 (Ar6)	ARL.H28.3.9.4	2008	D (Paleolítico Inferior)	Fragmento de molar	No	-	-
ARL.ADN.026	ARL.H29.3.9.37	2008	D (Paleolítico Inferior)	Fragmento de corona	Por analizar	-	-
ARL.ADN.027	ARL.H32.1.2.2	2010	A (revuelto superficial)	Fragmento de corona	Por analizar	-	-
ARL.ADN.028	ARL.I30.3.8.8	2009	D + C cantos	P ² izquierdo completo	Por analizar	-	-
ARL.ADN.029	ARL.J21.2.4.32	2008	Superficial-I	Fragmento de corona	Por analizar	-	-
ARL.ADN.030	ARL.K20.3.10.2	2009	Fosa N	2ª falange completa	Por analizar	-	-
ARL.ADN.031	ARL.K20.3.10.11	2009	Fosa N	1ª falange completa	Por analizar	-	-
ARL.ADN.032	ARL.K20.3.11.6	2009	Fosa N	I ² izquierdo completo	Por analizar	-	-
ARL.ADN.033	ARL.K21.3.13.71	2008	II	Fragmento de corona.	Por analizar	-	-

Tabla IV: Inventario y resultados de las muestras de ADN antiguo de los 14 restos de gran bóvido de Arlanpe.* Entre paréntesis la sigla del laboratorio.

** Entre paréntesis se representa el % contenido de ADN mitocondrial auténtico. *** Resultados BP sin calibrar.



Fig. 4. ARL.H30.R.5: vista externa (axial) (a) y vista interna (abaxial) (b) de una primera falange. Barra de escala = 5cm.

Las tres muestras (Ar2, Ar3 y Ar4) que mostraron presencia de ADN mitocondrial fueron analizadas en mayor profundidad así como datadas por Carbono 14. Finalmente sólo Ar3 (una falange -ver Figura 4 y Tabla V) y Ar4 (ver Figura 5) contenían ADN de calidad suficiente para poder dar resultados reproducibles. Estas dos muestras han sido genotipadas para SNPs mitocondriales a través de pirosecuenciación. Debido a la gran calidad de la muestra Ar4, ésta también fue analizada con la idea de conseguir recuperar el genoma mitocondrial completo usando tecnología de secuenciación de última generación shot-gun Illumina HiSeq. Con esta última técnica se han ob-



Fig. 5. ARL.H30.4.1.19: vista bucal (a) y vista oclusal (b) de un fragmento de molar superior. Barra de escala = 1 cm.

tenido resultados positivos, que están todavía en fase de análisis.

La secuenciación de 100 pares de bases de la región control o *D-loop* del ADN mitocondrial dio como resultado que los fragmentos Ar3 y Ar4 per-

Especimen/Muestra	Especie	Longitud máxima	Diámetro Antero-Posterior proximal*	Diámetro Antero-Posterior distal*	Fuente
ARL.H30.R.5 (Arlanpe)	<i>B. primigenius</i>	86,5	42,8	33,2	Presente estudio
Pinilla (<i>B. primigenius</i>)	<i>B. primigenius</i>	79,4			BUITRAGO, 1992
Achenheim (<i>B. primigenius</i>)	<i>B. primigenius</i>	80			BOUCHUD (1972), en BUITRAGO (1992)
Gibijo3 (falange anterior) (<i>B. primigenius</i>)	<i>B. primigenius</i>	73,0-69,5			ALTUNA (1974) en BUITRAGO (1992)
Labeko Koba4 (<i>Bos/Bison</i>)	<i>Bos/Bison</i>	73,36 (n=7)			
		(68,5-80,0)			ALTUNA y MARIEZKURENA (2000)
Labeko Koba4 (<i>Bos/Bison</i>)	<i>Bos/Bison</i>	77,29 (n=12)			
		(72,0-93,0)			ALTUNA y MARIEZKURENA (2000)

Tabla V: Medidas de la falange de gran bóvido de Arlanpe comparado a otras muestras de gran bóvido. *Medidas tal como explica BUITRAGO (1992).

tenecían a *Bos primigenius* y no a *Bison priscus*. La secuencia contenía mutaciones diagnósticas para el haplogrupo P, encontrado casi exclusivamente en el uro europeo. Además, la datación directa de estos dos especímenes los sitúa dentro del Paleolítico Superior (Gravetiense-Solutrense), mucho antes de los primeros eventos de domesticación de ganado vacuno. Los análisis de los SNPs mitocondriales clasificaron estos dos restos como pertenecientes a haplotipos diferentes (y probablemente nuevos, al menos en el caso Ar4) dentro del haplogrupo P. Estos resultados concuerdan con la gran diversidad genética encontrada en los uros ibéricos y además nos permiten empezar a conocer la diversidad genética en los uros y su estructura poblacional antes de los primeros eventos de domesticación hace alrededor de diez mil años.

La importancia de los análisis en curso con la muestra Ar4, es que los genomas mitocondriales completos son cruciales para la detección de líneas maternas adicionales que los análisis de la región D-loop pueden pasar por alto (ACHILLI *et alii*, 2008), así como para poder realizar inferencias filogenéticas con mayor exactitud (HIENDLER *et alii*, 2008). Actualmente se está trabajando en la comparación de estos especímenes con otras secuencias recuperadas en los uros del norte y centro de Europa (EDWARDS *et alii*, 2010; LARI *et alii*, 2011).

4.4. Cabra montés (*Capra pyrenaica*)

El estudio de ADN antiguo de restos de cabra montés de Arlanpe se engloba dentro de una investigación más amplia que pretende conocer

cómo se distribuían en el pasado las poblaciones de cabra montés, analizar las relaciones filogenéticas entre ellas y estudiar sus dinámicas poblacionales, así como estudiar mejor la filogenia de este taxón en relación con otras especies de *Capra* emparentadas en base a restos óseos provenientes de diversos yacimientos de la Península Ibérica.

Se han muestreado trece restos de cabra montés, seis de los cuales se han analizado preliminarmente, recuperando ADN en tres de ellos (ver Tabla VI). La cabra montés es un endemismo de la Península Ibérica cuya distribución actual es mucho más restringida de lo que lo era en el pasado debido a enfermedades epidémicas, la caza incontrolada, el sobrepastoreo y la destrucción progresiva del hábitat natural (AMILLS *et alii*, 2004). De las cuatro subespecies originariamente descritas por CABRERA (1911) (*Capra pyrenaica pyrenaica*, *C.p.lusitanica*, *C.p.victoriae*, *C.p.hispanica*), en la actualidad sólo sobreviven las dos últimas. El estudio del ADN antiguo en la cueva de Arlanpe tiene como primer objetivo conocer qué subespecie habitaba Bizkaia en el Pleistoceno superior. Como hipótesis nula a testar, se trataría de la subespecie *C.p.pyrenaica*, el bucardo del Pirineo, extinto en 2000, cuya distribución se extendería en el pasado también por la Cordillera Cantábrica (CABRERA, 1911).

5.-RESUMEN Y CONCLUSIONES

Las nuevas técnicas de ADN antiguo permiten obtener importantes datos para poder abordar distintas cuestiones arqueopaleontológicas. En el caso del yacimiento de la cueva de Arlanpe hasta

Sigla del fósil	Campaña	Nivel	Descripción	Presencia de ADN
ARL.H28.3.6.3	2008	C	M ² izquierdo	No
ARL.H28.2.7.1	2008	C	1 ^º falange	No
ARL.H29.1.3.484	2008	B (revuelto)	M ³ derecho	Sí
ARL.H29.3.7.5	2007	D (Paleolítico inferior)	M ³ derecho	Sí
ARL.G28.4.3.10	2008	B (revuelto)	M ³ izquierdo	Sí
ARL.H29.2.9.1	2008	D (Paleolítico inferior)	Cuerpo de hemimandíbula derecha con dentición completa	No
ARL.H32.2.1.2	2010	A (revuelto)	Fragmento de maxilar derecho	En análisis
ARL.H31.4.1.3*	2010	A (revuelto)	Fragmento de hemimandíbula derecha con P ₄ , M ₁ y un premolar supernumerario	En análisis
ARL.H29.3.9.15	2008	D (Paleolítico inferior)	M ² derecho	En análisis
ARL.J20.2.11.4	2009	I-II (Solutrense-Magdalenense)	M ³ izquierdo	En análisis
ARL.J20.2.6.4	2009	I (Magdalenense)	M ³ derecho	En análisis
ARL.K20.1.4.34	2008	I (Magdalenense)	M ² derecho	En análisis
ARL.K21.3.16.69	2008	II (Solutrense superior)	Hemimandíbula izquierda con P ₄ y M ₁	En análisis

Tabla VI: Inventario y resultados de las muestras de ADN antiguo de los trece restos de cabra montés (*Capra pyrenaica*).

*Ver GÓMEZ-OLIVENCIA *et alii* (en prensa).

el momento se ha obtenido ADN mitocondrial de muestras de oso pardo (*Ursus arctos*), uro (*Bos primigenius*) y cabra montés (*Capra pyrenaica*):

Una de las muestras de oso pardo de Arlanpe está dentro del clado 3c, un clado de osos pardos extinto y únicamente encontrado hasta ahora en Alaska. Estos nuevos análisis han revelado que el clado 3c no estaba restringido a Beringia, sino que se llegó a extender hasta la Península Ibérica. El estudio de esta muestra junto con más evidencias a partir del registro fósil, confirma que ha habido un importante flujo genético durante el Pleistoceno que ha mantenido un tamaño de población efectivo estable, y que el grupo ibérico ha sufrido un efecto de "cuello de botella" importante en tiempos históricos recientes.

Dos de las muestras de gran bóvido de Arlanpe han sido clasificadas como uro (*Bos primigenius*) mediante métodos genéticos. Estos dos restos han sido clasificados como pertenecientes a haplotipos diferentes (y probablemente nuevos, al menos en una de las muestras) dentro del haplogrupo P. Estos resultados concuerdan con la gran diversidad genética encontrada en los uros ibéricos y además nos permiten empezar a entender su diversidad genética y su estructura poblacional antes de los primeros eventos de domesticación hace alrededor de diez mil años.

6.-AGRADECIMIENTOS

En primer lugar queremos agradecer al equipo excavación e investigación de Arlanpe todos sus esfuerzos. Este trabajo se ha realizado en el marco de proyecto financiado por la Fundación Barandiarán titulado: "Las ocupaciones humanas de la cueva de Arlanpe: El final del Paleolítico Inferior, el final del Solutrense y la Tardoantigüedad". Las excavaciones en Arlanpe están financiadas por la Diputación Foral de Bizkaia, el Ayuntamiento de Lemoa y el Gobierno Vasco. Los estudios de la fauna de Arlanpe han sido realizados con ayudas de becas de investigación de Eusko Ikaskuntza a AGO y DAA. CV tiene el apoyo de la Comisión Europea a través de un contrato Marie Curie. AGO tiene un contrato postdoctoral del Ministerio de Educación (Programa Nacional de Movilidad de Recursos Humanos del Plan Nacional de I+D+I 2008-2011). IU disfruta de una beca predoctoral FPI del Ministerio de Ciencia e Innovación dentro del proyecto

CGL2006-13532-C03-02. RR disfruta de una beca predoctoral FPI del Ministerio de Ciencia e Innovación dentro del proyecto CGL2009-12703-C03-03. DA tiene una beca predoctoral de la Junta de Castilla y León y recibe apoyo del proyecto de investigación Caja de Burgos-Universidad de Burgos 2009/00184/001 y del Ministerio de Ciencia e Innovación (Proyecto CGL2009-12703-C03-01). CV, AGO, IU, RR, JLA reciben apoyo del Ministerio de Ciencia e Innovación (Proyecto CGL2009-12703-C03-03). EMS agradece el apoyo de la Fundación Helge Ax:son Johnson, The Nilsson-Ehle Donations, la Fundación P O Lundells y la Real Academia de Ciencias de Suecia (Royal Swedish Academy of Sciences). El recibe el apoyo del proyecto de investigación "AGRIWES-TMED: Origins and spread of agriculture in the south-western Mediterranean region" financiado por el ERC. Gracias a Jaime Lira por analizar la muestra de caballo de Arlanpe y a Nuria García por la determinación taxonómica de la muestra ARL.ADN.001. Agradecemos los comentarios de dos revisores anónimos y de Aimara que han permitido mejorar el texto.

7. BIBLIOGRAFÍA

ACHILLI, A., *et alii*.

- 2008 Mitochondrial genomes of extinct aurochs survive in domestic cattle. *Current Biology* 18(4), 157-158.
 2009 The Multifaceted Origin of Taurine Cattle Reflected by the Mitochondrial Genome. *Plos One* 4(6), e5753.

AJMONE-MARSAN, P.

- 2010 A global view of livestock biodiversity and conservation – GLOBALDIV. *Animal Genetics*(1-5), 1365-2052.

ALTUNA, J.

- 1972 Fauna de mamíferos de los yacimientos prehistóricos de Guipúzcoa. *Munibe* 24, 1- 492.
 1973 Hallazgos de oso pardo (*Ursus arctos*, *Mammalia*) en cuevas del País Vasco. *Munibe* 25, 121-170.
 1978 Dimorphisme sexuel dans le squelette postcephalique de *Capra pyrenaica* pendant le Würm final. *Munibe* 30(4), 201-214.
 1992 El medio ambiente durante el Pleistoceno Superior en la región Cantábrica con referencia especial a sus faunas de mamíferos. *Munibe (Antropología-Arkeología)* 43,13-29.

ALTUNA, J.M. y MARIEZKURRENA, K.

- 2000 Macromamíferos del yacimiento de Labeko Koba (Arrasate, País Vasco). *Munibe (Antropología-Arkeología)* 52, 107-181.

- AMILLS, M., *et alii*.
2004 Low diversity in the major histocompatibility complex class II DRB1 gene of the Spanish ibex, *Capra pyrenaica*. *Heredity* 93, 266-272.
- ANDERUNG, C. *et alii*.
2005 Prehistoric contacts over the Straits of Gibraltar indicated by genetic analysis of Iberian Bronze Age cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (24), 8431-8435.
- ARANZADI, T., BARANDIARÁN, J.M. y EGIUREN, E.
1925 *Exploraciones de la caverna de Santimamiñe (Basando-Cortézubi)*. I. Figuras rupestres. Bilbao. (Reed. en J.M. de Barandiarán, 1976. Obras completas. Vol. IX, 13-89, Bilbao).
- ARCEREDILLO, D., GÓMEZ-OLIVENCIA, A. y GARCÍA-PÉREZ, A.
2011 Three statistical methods for sex determination in extant and fossil caprines: assessment of the *Rupicapra* long bones. *Journal of Archaeological Science* 38, 2450-2460.
- ARIAS CABAL, P., *et alii*.
1998/99 Dataciones absolutas para el arte rupestre paleolítico de Venta Laperra (Carranza, Bizkaia). *Kobie* 25, 85-93.
- BARNES, I., *et alii*.
2002 Dynamics of Pleistocene population extinctions in Berin-gian brown bears. *Science* 295, 2267-2270.
- BEJA-PEREIRA, A., *et alii*.
2006 The origin of European cattle: evidence from modern and ancient DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103(21), 8113-8.
- BILTON, D.T. *et alii*.
1998 Mediterranean Europe as an area of endemism for small mammals rather than a source for northwards postglacial colonization. *Proceedings Biological Sciences* 265, 1219-1226.
- BRADLEY, D.G., *et alii*.
1996 Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93(10), 5131-5135.
1998 Genetics and domestic cattle origins. *Evolutionary Anthropology* 6(3), 79-86.
- BROWN, J.R., *et alii*.
1993 Intraspecific DNA sequence variation of the mitochondrial control region of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Molecular Biology and Evolution* 10, 326-341.
- BUITRAGO, A.M.
1992 *Estudio de los artiodáctilos del yacimiento del Pleistoceno medio de Pinilla del Valle (Madrid)*. Universidad Complutense de Madrid. Madrid.
- BUNCE, M., *et alii*.
2003 Extreme reversed sexual size dimorphism in the extinct New Zealand moa *Dinornis*. *Nature* 425, 172-175.
- CABRERA, A.
1911 The subspecies of the Spanish Ibex. *Proceedings of the Zoological Society of London LXVI*, 963-977.
- CASTAÑOS, P.M.
2005 Revisión actualizada de las faunas de macromamíferos del Würm antiguo en la Región Cantábrica. En Lasheras JA, Montes R, eds. *Neandertales cantábricos, estado de la cuestión*, 201-207. Museo de Altamira. Santander.
- DAVIS, S.J.M. y MORENO-GARCÍA, M.
2007 Of metapodials, measurements and music – eight years of miscellaneous zooarchaeological discoveries at the IPA, Lisbon. *O Arqueólogo Português, Série IV(25)*, 9-165.
- EDWARDS, C.J., *et alii*.
2010 A Complete Mitochondrial Genome Sequence from a Mesolithic Wild Aurochs (*Bos primigenius*). *Plos One* 5(2).
- GARATE, D., JIMÉNEZ, J.M. y ORTIZ, J.
2000/01/02 El arte rupestre paleolítico de la cueva de Arenaza (Gal damedes, Bizkaia). *Kobie (Paleoantropología)* 26, 5-64.
- GARCÍA, N.
2003 *Osos y otros carnívoros de la Sierra de Atapuerca*. Fundación Oso de Asturias. Gijón.
- GÓMEZ-OLIVENCIA, A., *et alii*.
en prensa Dental anomalies in the mandible of *Capra pyrenaica*: presence of two permanent fourth premolars in a Pleistocene wild goat from Arlanpe cave (Bizkaia, Northern Spain). *International Journal of Osteoarchaeology*. DOI: 10.1002/oa.1295
- GONZÁLEZ SAINZ, C.
2009 Des peintures et des gravures pariétales sur une formation stalagmitique de la Cámara de Santimamiñe (Biscaye). De l'étude au comportement graphique Magdalénien. *L'Anthropologie* 113 (5), 795-819.
- GONZÁLEZ SAINZ, C. y GARATE MAIDAGAN, D.
2006 Los grabados y pinturas rupestres de la cueva de El Rincón, en el contexto artístico del desfiladero del río Carranza (Bizkaia-Cantabria). *Zephyrus 59 Homenaje a Francisco Jordá*, 135-154.
- GÖTHERSTRÖM, A., *et alii*.
2005 Cattle domestication in the Near East was followed by hybridization with aurochs bulls in Europe. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 272(1579), 2345-2350.
- GRANDAL, A.
1993 Estudio paleontológico de los restos de *Ursus spelaeus* ROSENMÜLLER-HEINROTH 1794 (Mammalia, Carnivora, Ursidae) de Cova Eirós (Triascastela, Lugo, NW de la Península Ibérica). Universidade da Coruña. A Coruña.
- GUTIÉRREZ CUENCA, E., *et alii*.
(en preparación) El uso de la cueva de Arlanpe (Lemoa, Bizkaia) en época tardorromana.

HÄNNI, C., *et alii.*

- 1994 Tracking the origins of the cave bear (*Ursus spelaeus*) by mitochondrial DNA sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 91, 12336-12340.

HEWITT, G.M.

- 1996 Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society* 58, 247-276.
- 1999 Post-glacial recolonization of European biota. *Biological Journal of the Linnean Society* 68, 87-112.
- 2004 Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society London* 359, 183-195.

HIENDLEDER, S., *et alii.*

- 2008 Complete mitochondrial genomes of *Bos taurus* and *Bos indicus* provide new insights into intra-species variation, taxonomy and domestication. *Cytogenetic and Genome Research* 120(1-2), 150-156.

IBRAHIM, K., NICHOLS, R. y HEWITT, G.

- 1996 Spatial patterns of genetic variation generated by different forms of dispersal during range expansion. *Heredity* 77, 282-291.

KOTLIK, P., *et alii.*

- 2006 A northern glacial refugium for bank voles (*Clethrionomys glareolus*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103, 14860-14864.

KRAUSE, J., *et alii.*

- 2007 Neanderthals in central Asia and Siberia. *Nature* 449, 902-904.

LARI, M., *et alii.*

- 2011 The complete mitochondrial genome of an 11,450-year-old aurochs (*Bos primigenius*) from Central Italy. *BMC Evolutionary Biology* 11(1), art. no. 32.

LIRA, J.

- 2010 Revisión sobre la genética del origen del ganado vacuno y las aportaciones del ADN antiguo. *Munibe (Antropología-Arkeología)* 61, 153-170.

LIRA, J., *et alii.*

- 2010 Ancient DNA reveals traces of Iberian Neolithic and Bronze Age lineages in modern Iberian horses. *Molecular Ecology* 19, 64-78.

LISTER, A.M., *et alii.*

- 2005 The phylogenetic position of the 'giant deer' *Megaloceros giganteus*. *Nature* 438(7069), 850-853.

LOFTUS, R.T., *et alii.*

- 1994 Evidence for 2 independent domestications of cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91(7), 2757-2761.

LOPEZ, J.V., *et alii.*

- 1997 Rates of nuclear and cytoplasmic mitochondrial DNA sequence divergence in mammals. *Molecular Biology and Evolution* 14, 277-286.

MALMSTRÖM, H., *et alii.*

- 2007 More on contamination: The use of asymmetric molecular behavior to identify authentic ancient human DNA. *Molecular Biology and Evolution* 24(4), 998-1004.

MARCOS MUÑOZ, J.L.

- 1982 Carta arqueológica de Vizcaya. Primera parte: yacimientos en cueva. *Cuadernos de Deusto*, 8. Universidad de Deusto. Bilbao.

MONCHOT, H. y LÉCHELLE, J.

- 2002 Statistical nonparametric methods for the study of fossil populations. *Paleobiology* 28(1), 55-69.

ORLANDO, L., *et alii.*

- 2003 Ancient DNA analysis reveals woolly rhino evolutionary relationships. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 28(3), 485-499.

RIOS-GARAIJAR, J., *et alii.*

- 2007 Cueva de Arlanpe (Lemoa). *Arkeoikuska* 2006, 145-148.
- 2008a Cueva de Arlanpe. *Arkeoikuska* 2007, 270-272.
- 2008b Nuevos datos sobre la transición entre el Solutrense Superior y el Magdalenense inferior en la Región cantábrica: la cueva de Arlanpe (Lemoa, Bizkaia). *Sautuola* 14, 95-104.
- 2009 Segunda campaña de excavación de la cueva de Arlanpe (Lemoa). *Arkeoikuska* 2008, 289-292.
- 2010 4ª Campaña de excavación de la cueva de Arlanpe (Lemoa, Bizkaia). *Arkeoikuska (en prensa)*.
- 2011 The Lower to Middle Palaeolithic transition in northern Iberia: new data from Arlanpe Cave. *Antiquity* 85. <http://antiquity.ac.uk/projgall/rios-garaijar329/>

RUIZ IDARRAGA, R. y BERGANZA, E.

- 2004 *Una piedra, un mundo: un percutor magdalenense decorado*. Diputación Foral de Álava. Vitoria-Gasteiz.

SALA, M.T.N., *et alii.*

- 2010 Presencia de bisonte (*Bison priscus* Bojanus, 1827) y uro (*Bos primigenius* Bojanus, 1827) en las cuevas del Búho y de la Zaramora (Segovia, España). *Munibe (Antropología-Arkeología)* 61, 43-55.

SVENSSON, E.M. y GÖTHERSTRÖM, A.

- 2008 Temporal fluctuations of Y-chromosomal variation in *Bos taurus*. *Biology Letters* 4(6), 752-754.

SVENSSON, E.M., GÖTHERSTRÖM, A. y VRETEMARK, M.

- 2008 A DNA test for sex identification in cattle confirms osteometric results. *Journal of Archaeological Science* 35(4), 942-946.

SVENSSON, E.M., *et alii.*

- 2007 Tracing genetic change over time using nuclear SNPs in ancient and modern cattle. *Animal Genetics* 38(4), 378-383.

TABERLET, P. y BOUVET, J.

- 1994 Mitochondrial DNA polymorphism, phylogeography, and conservation genetics of the brown bear *Ursus arctos* in Europe. *Proceedings Biological Sciences* 255, 195-200.

TABERLET, P., *et alii*.

- 1998 Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Mol Ecol* 7, 453-464.

TROY, C.S., *et alii*.

- 2001 Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature* 410(6832), 1088-1091.

UREÑA, I., *et alii*.

- 2011 Filogenia y evolución local de la cabra montés (*Capra pyrenaica*) en el yacimiento Cuaternario de Chaves (Huesca, España). *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural* 105 (1-4), 7-16.

VALDIOSERA, C.E., *et alii*.

- 2006 Typing single polymorphic nucleotides in mitochondrial DNA as a way to access Middle Pleistocene DNA. *Biology Letters* 2, 601-603.

- 2007 Staying out in the cold: glacial refugia and mitochondrial DNA phylogeography in ancient European brown bears. *Molecular Ecology*, 16, 5140-5148.

- 2008 Surprising migration and population size dynamics in ancient Iberian brown bears (*Ursus arctos*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, 5123-5128.

WILLIS, K.J., RUDNER, E. y SUMEGI, P.

- 2000 The Full-Glacial forests of Central and Southeastern Europe. *Quaternary Research* 53, 203-213.

YANG, D.Y., *et alii*.

- 1998 Technical note: Improved DNA extraction from ancient bones using silica-based spin columns. *American Journal of Physical Anthropology* 105(4), 539-543.