

Colegio Intercultural Trememn  
Departamento de Ciencias  
Biología

**El ADN del pasado**  
**Estudio del material genético de las momias y los fósiles**

Analía A. Lanter y Viviana A. Confalonieri

*La posibilidad de conocer el genoma de numerosas especies o poblaciones extinguidas ayuda a reflexionar sobre los procesos que dieron origen a la diversidad y la evolución de la vida en la Tierra.*

Desde que J. Watson y F. Crick propusieron en 1953 un modelo de la estructura del ácido desoxirribonucleico (ADN) que coincidía con las evidencias experimentales, los científicos hemos aceptado que esta molécula, presente en todos los seres vivos, es la depositaria de la información genética. Dicha información, transmitida de generación en generación, se registra como un código, el cual está determinado por el orden -o *secuencia*- de las bases nitrogenadas -la *adenina*, la *timina*, la *citocina* y la *guanina*- que forman parte esencial del ADN. El conjunto de las bases, y su ordenamiento, es lo que constituye el denominado *genoma* del organismo en estudio. Los avances logrados en biología molecular y en el estudio del ADN en especial, desde el momento en que se comprendió su estructura, son asombrosos. Probablemente solo sean comparables a los cambios que se produjeron en el campo de la física teórica durante la primera mitad del siglo XX, cuando Albert Einstein expuso su teoría de la relatividad general y provocó un cambio en la manera de interpretar los fenómenos físicos. De la misma forma, los adelantos en biología molecular en las últimas décadas del siglo XX parecen haber derribado las limitaciones que impone el tiempo cronológico a los seres vivos. Por un lado nos han permitido proyectarnos hacia el futuro, ya que por medio de los procedimientos de clonación es posible perpetuar en el tiempo linajes que poseen las mismas características genéticas que sus progenitores; y por otra parte nos permiten regresar al pasado, mediante la reconstrucción de genomas de grupos de organismos extinguidos hace millones de años. Los estudios del ADN nos ofrecen una nueva perspectiva de la realidad del mundo orgánico, abriéndonos paso a la lectura del texto más íntimo en la construcción de la vida. Sin embargo, por momentos, estos mismos estudios parecen alejarnos del mundo real y conducirnos al terreno de la ciencia-ficción, estimulando la imaginación de los especialistas y legos más audaces y entusiastas.

**Preservación del ADN 'antiguo'**

El ADN presente en las células de organismos muertos desde mucho tiempo atrás se encuentra degradado, ya que inmediatamente después del deceso se inician procesos de *autólisis* -en los que están implicadas enzimas propias del organismo- que provocan la descomposición de las sustancias orgánicas de los tejidos blandos. En una etapa posterior actúan otros agentes deteriorantes, tales como bacterias, hongos e insectos. El proceso de destrucción de los tejidos blandos puede ser lento, o incluso detenerse, dependiendo de ciertos factores ambientales o tratamientos artificiales, que contribuyen a su preservación. Según la forma en que han sido preservados, los restos orgánicos se clasifican en *secos*, *húmedos*, *encriptados* o *congelados*. A la primera clase corresponden,

por ejemplo, las momias indígenas de América del Sur. El clima seco y caluroso provoca una rápida pérdida de humedad en los cuerpos, lo cual detiene los procesos de autólisis y conduce a un estado de preservación denominado *momificación natural*. Los ejemplares de herbarios, huesos y plumas de aves encontrados en los museos, así como semillas 'arqueológicas', constituyen otros ejemplos de este tipo particular de preservación. Por otra parte, la misma humedad puede ayudar a la conservación de tejidos de origen animal o vegetal, siempre y cuando se generen condiciones *anaeróbicas* -o sea ausencia de oxígeno-, como en el sitio de Windover, Florida, Estados Unidos, donde se encontraron restos humanos enterrados en turba de los cuales se pudo extraer ADN de aproximadamente 7450 años de edad. Una forma extrema de interrupción de los procesos de descomposición -y por lo tanto de fijación natural-, es la que ocurre en aquellos organismos que han quedado atrapados -o *encriptados*- en ciertas resinas de árboles del grupo de las coníferas que, al fosilizarse, producen una de las pocas gemas orgánicas conocidas, el *ámbar*. Existen numerosos ejemplos de insectos, plantas y aun vertebrados, de decenas de millones de años de antigüedad, incluidos en ámbar, en buen estado de preservación morfológica, y cuyo ADN se ha podido recuperar.



Figura 1. Gema de ámbar con un enjambre de jejenes y ácaros encriptados. El ámbar es una resina orgánica fosilizada, producida por árboles del grupo de las Symnospermas o Coníferas, que provee condiciones excepcionales para la preservación de caracteres morfológicos y del ADN de distintos grupos de organismos.

Finalmente, las temperaturas muy bajas -y persistentes- son un factor de preservación inigualable del material orgánico. Así lo demuestran los estudios realizados en el 'hombre de hielo' encontrado en los Alpes tiroleses después de 5000 años, y los mamuts de Siberia, hallados en excelente estado de preservación luego de 20.000 a 40.000 años. En ambos casos fue posible extraer y analizar el ADN en forma exitosa.

### El estudio del ADN

En las especies vivas solo basta con tomar una pequeña muestra de células -sean estas provenientes de la sangre, la piel, los músculos, etc.-, y conservarlas en un medio conveniente hasta el momento de su análisis. Generalmente, las muestras de material fresco -o el organismo entero, en caso de ser pequeño-, se colocan en un lugar refrigerado en frascos conteniendo alcohol absoluto, o directamente en un freezer de -70°C o -80°C. El procedimiento de recuperación del ADN de especímenes arcaicos no dependerá de la especie en estudio, sino del tipo de proceso que permitió la preservación del tejido. Por ejemplo, si se desea estudiar el ADN de huesos, los mejores resultados se obtienen en aquellos que provienen de excavaciones recientes. Si se trata de material depositado en colecciones de museos, se deberán elegir los huesos más compactos y no usar las superficies externas, ya que estas pueden estar contaminadas con el ADN de otros organismos. El hueso debe ser lavado y mantenido en condiciones de baja humedad. Una vez realizados estos

procedimientos, los huesos, o los tejidos secos o momificados a estudiar, se inspeccionan cuidadosamente con el microscopio óptico a los efectos de hallar núcleos celulares donde pueda haber ADN.

El ADN de plantas fosilizadas en el interior de rocas debe ser extraído directamente en el sitio, ya que es conveniente evitar que la materia orgánica quede expuesta a la desecación, el oxígeno, la luz solar, u otros factores externos que puedan alterarla. La metodología de estudio del ADN antiguo es similar a la utilizada con el material fresco. Primero se aplica la técnica de la *reacción en cadena de la polimerasa* (PCR), que permite amplificar el material, o sea preparar numerosas copias de un determinado fragmento de ADN. Es decir que aunque la cantidad inicial de ADN sea muy escasa, luego de la reacción de PCR se dispondrá de material suficiente como para proceder a su *secuenciación*, o sea la determinación del orden en que se encuentran ubicadas las bases nitrogenadas, responsables de la información genética que reside en el ADN.

### **Principales dificultades**

Recordemos que en el ADN las bases nitrogenadas están enfrentadas - *apareadas*-, por lo que la longitud de una molécula se expresa como *número de pares de bases (pb)*. Cuando se estudia material fresco se logra amplificar fragmentos de miles de pb de largo. En cambio, en tejidos antiguos los fragmentos por lo general no exceden los 200pb, debido a la degradación del ADN que ocurre después de la muerte del organismo. El estudio de este ADN resulta entonces mucho más laborioso que el del fresco, ya que se deben amplificar numerosos fragmentos de corta longitud que abarquen, en lo posible, porciones de ADN superpuestas. De este modo, se obtienen secuencias de corta longitud que constituyen algo así como las piezas de un rompecabezas. Estas secuencias se superponen unas con otras analizando sus extremos coincidentes, de manera tal de recomponer una secuencia de ADN más larga. En el ADN antiguo suelen ocurrir daños que se van acumulando con el transcurso del tiempo. Ciertas reacciones de oxidación causan modificaciones en las bases nitrogenadas o pérdidas de las mismas, que provocan enlaces anómalos y roturas en la cadena de ADN. En consecuencia la molécula de ADN se degrada, alterándose la información genética.

Por ejemplo, las bases nitrogenas como la citosina y la timina se oxidan con facilidad, por lo que en material arqueológico se observan abundantes pirimidinas modificadas. La mayor dificultad que enfrenta el investigador que analiza el ADN antiguo es la posible contaminación de la muestra problema con el ADN de hongos, bacterias, parásitos e inclusive de células de la piel de los investigadores o curadores que hayan manipulado el material, o de restos de ADN de otros experimentos realizados en el mismo laboratorio. Para evitar este problema se deben llevar a cabo procedimientos estrictos con respecto a la selección y preparación del material de estudio, la elección de los 'cebadores' a utilizar en la técnica de PCR, y las condiciones de esterilidad del laboratorio donde se realizará el análisis.

De acuerdo con el investigador norteamericano Jeremy Austin, los requerimientos esenciales para demostrar la autenticidad del ADN antiguo son los siguientes:

- Seleccionar ejemplares y muestras de estudio en los que se observe una buena preservación de las células y sus biomoléculas.
- Seguir procedimientos de laboratorio estrictos que minimicen la contaminación.
- Reproducir el experimento, es decir, obtener el ADN supuestamente antiguo, a partir de distintas extracciones y distintos tejidos de un mismo ejemplar, de diferentes especímenes, y en última instancia, en laboratorios independientes.
- Realizar la comparación -u *homologación*- de la secuencia obtenida con el universo de secuencias conocidas disponibles en las bases de datos -por ejemplo el *GeneBank*- mediante procedimientos informáticos adecuados. Estas secuencias deberán ser analizadas en un contexto *filogenético*, es decir, juntamente con secuencias de otras especies, vivientes o extinguidas, del mismo grupo taxonómico.

#### Ejemplos interesantes



Las *moas de Nueva Zelanda* constituyen un grupo de aves no voladoras de hasta tres metros de altura y 200kg de peso; que en el pasado habría sido bastante diverso, pero actualmente está extinguido a causa del hombre. Las moas pertenecen al taxón denominado *ratites*, en el cual se incluyen también los avestruces de África, los ñandúes de América del Sur, el casuario y el emú de Australia y Nueva Guinea, y las especies vivientes de kiwi, también de Nueva Zelanda. La interpretación histórica de la distribución de las *ratites* sugiere que su presencia en los continentes del sur se debe a que su especie ancestral habitaba el primitivo supercontinente Gondwana, que al dividirse dio origen a América del Sur, África, Oceanía y Antártida.

Reconstrucción de una moa, ave del grupo de las *ratites* que habitó en Nueva Zelanda hasta hace unos 800-900 años, y se extinguió a causa de la caza intensiva por parte del hombre.

Tomando en cuenta caracteres morfológicos y biogeográficos, se interpretaba que las moas eran el grupo 'hermano' -genealógicamente más próximo- de los kiwis de Nueva Zelanda. Sin embargo, esta hipótesis cambió cuando el biólogo neozelandés Alan Cooper y otros investigadores que trabajaron junto a él en la Universidad de California, Berkeley, pudieron obtener ADN antiguo de cuatro de las doce especies de moas descritas por los paleontólogos. Estos investigadores amplificaron fragmentos de ADN de hasta 400 pares de bases a partir de material

momificado -huesos y tejido blando seco-, hallado en cuevas, de una antigüedad de aproximadamente 4000 años. La mayor parte del material estudiado se hallaba preservado en la Colección Nacional de Tejidos Congelados, del Museo Nacional de Nueva Zelanda, en Wellington. Cuando se practicó el análisis cladístico de las secuencias obtenidas, resultó que las moas no eran 'hermanas' de los kiwis, sino que habían surgido primero en la historia de las ratites, siguiendo en orden filogenético los avestruces, el grupo casuario-emú, y los kiwis. Este cladograma sugiere que las moas habitaron Nueva Zelanda antes que los kiwis, y que estos habrían arribado posteriormente, diferenciándose a partir de un antecesor común del grupo casuario-emú de Australia y Nueva Guinea. Estudios recientes sobre plantas y otros grupos de aves parecen confirmar la hipótesis de que numerosos taxones que hoy habitan en Nueva Zelanda, habrían llegado desde Australia hace unos 40-50 millones de años, cuando ambas islas estaban conectadas por el puente de Nueva Caledonia.

### El futuro

En los últimos años la Paleontología Molecular ha tenido una gran expansión, desbordando a veces la imaginación de especialistas y legos, y generando grandes expectativas. Sin embargo, esta disciplina todavía está en una etapa de desarrollo, de manera que muchos de los resultados obtenidos, sobre todo los provenientes de muestras que superan los millones de años, suelen incluir un considerable margen de error. La información proveniente de la Arqueología Molecular, en cambio, es más confiable que la mayoría de los datos paleontológicos, dado que su antigüedad no supera los miles de años; ejemplo de esto son las secuencias de ADN antiguo obtenidas a partir de momias egipcias preservadas por medios artificiales, o de momias de los aborígenes sudamericanos, naturalmente conservadas en ambientes secos. Entre los materiales arqueológicos no solo se consideran los restos humanos, sino además todo el material biológico asociado a los mismos, como los animales y vegetales que empleaban para su alimentación. El estudio del ADN de semillas antiguas, por ejemplo, puede proveer información relevante sobre los ancestros de plantas actualmente domesticadas y sobre la relación entre dicha domesticación y los distintos grupos aborígenes. La información sobre el ADN de especies o poblaciones recientemente extinguidas o en peligro de extinción, permitirá además adoptar medidas en favor de la conservación de la biodiversidad. Las técnicas que permiten extraer y analizar el ADN antiguo, contribuyen a profundizar nuestros conocimientos sobre organismos extinguidos en tiempos prehistóricos por causas naturales, y en tiempos históricos a causa de la acción devastadora del hombre; se han transformado en herramientas fundamentales para plantear nuevas hipótesis en varias ramas de la Biología.