UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS GEOLÓGICAS
Departamento de Paleontología

TESIS DOCTORAL

Estudio de la domesticación del caballo (Equus caballus) en la península ibérica a partir del análisis de ADN mitocondrial antiguo

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Jaime Lira Garrido

Director

Juan Luis Arsuaga Ferreras

Madrid
Ed. electrónica 2019

© Jaime Lira Garrido, 2018

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Ciencias Geológicas

Departamento de Paleontología

Estudio de la domesticación del caballo (*Equus caballus*) en la península ibérica a partir del análisis de ADN mitocondrial antiguo

Jaime LIRA GARRIDO

Tesis Doctoral dirigida por:

Dr. D. Juan Luis ARSUAGA FERRERAS

Madrid, 2018

AGRADECIMIENTOS

Si para las páginas que componen esta tesis he procurado usar la cabeza, éstas quiero reservarlas para escribirlas con el corazón.

Hace ya muchos años, Juan Luis Arsuaga y el Equipo de Investigación de Atapuerca me brindaron la oportunidad de realizar un viaje. Cuando me embarqué en esta aventura, yo no me imaginé que el camino iba a ser largo. Pero recorrerlo ha valido la pena.

Nunca le he dicho a Juan Luis Arsuaga de qué manera ha marcado mi vida esta investigación. Desde estas páginas, mi más sincero agradecimiento por haber confiado en mí la tarea de rastrear los orígenes de la domesticación del caballo en Iberia, y haberme dado la oportunidad de contar una historia.

Gracias también a José María Bermúdez de Castro y Eudald Carbonell y a la Fundación Atapuerca, por haber apoyado esta tesis con una beca de investigación.

Durante la travesía he tenido la oportunidad de conocer investigadores de muchas disciplinas, a los que he observado, he escuchado, y de los que he procurado aprender. Con el tiempo, algunos se han convertido en amigos, y al resto me los llevo como lo que son, grandes camaradas. Parafraseando a D. Arturo Pérez Reverte, mientras que los amigos son aquellas personas maravillosas que la vida te pone en el camino, los camaradas en cambio son esas personas, no necesariamente amigos, que *han estado contigo ahí*, donde narices quiera que sea eso.

Durante estos años el Centro Mixto UCM-ISCIII ha sido el lugar donde más tiempo he pasado. Por ese motivo, hace ya mucho, empecé a considerarlo como mi casa, y a su gente "mi familia" con los que he crecido charlando, discutiendo ideas, y aprendiendo: Ana Gracia, Francisco Gracia, Ignacio Martínez, Milagros Algaba, Elena Santos, Álvaro Gómez, Ricardo Rodríguez, Irene Ureña, Cristina Valdiosera, Noemí Sala, Alejandro Bonmatí, Eva Poza, Nuria García, Almudena Alcázar, Adrián Pablos, Ana Pantoja, Mari Cruz Ortega, Marian Galindo, Virginia Martínez, Yahya Bensaid, Ignacio de Gaspar, Rolf Quam, Carlos Lorenzo, Mónica Villalba y Montserrat Sanz me han brindado la oportunidad de compartir y discutir conmigo sobre ciencia.

Lo dicho en el párrafo anterior se extiende también a los miembros de otra rama de la familia que viven, o han pasado, por Burgos: José Miguel Carretero, Rebeca García, Laura

Rodríguez, Amalia Pérez, Marina Martínez de Pinillos, Eneko Iriarte, y Asier Gómez, muchas gracias por vuestro apoyo.

Al grupo de investigadores de neurociencia cognitiva del Centro Mixto: Manolo Martín Loeches, Pilar Casado, Paco Callado, Sabela Fontdevilla, David Hernández, Francisco Javier Espuny y Laura Jiménez. Gracias por tener siempre un momento para escuchar mis divagaciones y compartir conmigo las vuestras.

Además de convivir en el campo con "mi familia", las campañas de excavación de Atapuerca me han brindado la posibilidad de conocer y trabajar con otras personas: Ana Isabel Ortega, muchas gracias. Contigo aprendí mis primeras nociones de excavación en El Portalón. Fortunato Lázaro "Fortu", muchas gracias por enseñarme a moverme en una cueva, y sobre todo, por tener siempre una sonrisa. Arantza Aramburu, Ana Abrunhosa y Raquel Asiaín, gracias por el apoyo durante las campañas de excavación y durante el resto del año.

No quiero olvidarme de otras personas con las que empecé esta andadura y ya no continúan excavando en el equipo. Ellos estuvieron ahí en los primeros años de El Portalón, y de ellos aprendí muchos conceptos de arqueología y de fauna: Ana Citores, Laura Juez, Encarna y Moncho.

Desde hace ya muchos años, durante el mes de julio, la Residencia de Estudiantes Gil de Siloé (Burgos) me lleva acogiendo y atendiendo todas mis necesidades. A la cabeza está Miguel Ángel Millán y, junto a él, Isabel Díez y muchísimas personas que han hecho que me sienta en casa. Es mérito de ellos. Muchas gracias gracias a todos por hacerlo siempre fácil.

La Fundación Atapuerca avaló esta investigación con una beca predoctoral, y además, la gente que la constituye siempre se ha interesado por los avances que se iban generando. José María Rodríguez-Ponga, Susana Sarmiento, Patricia Martínez, Eva Manrique, Cristina Cuesta, Sonia Alonso y Verónica Martín. A la institución y a las personas que la componen, muchas gracias.

Quiero agradecer también a la Fundación Ancestros su interés por este trabajo y su apoyo con una ayuda a la investigación.

Este viaje lo he hecho con personas que, en todo momento han estado cuidando de mí e interesándose por cada pequeño avance. Aunque no lo saben, esta investigación tiene parte

de ellos. Son personas enamoradas del trabajo bien hecho, y he procurado aplicar la profesionalidad que he visto en sus tareas.

Ana Gracia, me llevo de ti tu gusto exquisito por los pequeños detalles, y el concepto de ser claro, conciso y rotundo. Quién me iba a decir el 28 de septiembre de 2001, en la inauguración de tu exposición, que el ADN me iba a traer hasta aquí.

Laura Rodríguez y Rebeca García, dos hallazgos excepcionales que han modelado mi manera trabajar. Los números no deben ser un problema si sabes entender las ecuaciones que hay detrás de ellos. Por todo lo que he aprendido de ciencia y de la vida, tengo una deuda con vosotras. Gracias por todas las horas, que han sido muchas, escuchando mis ideas, y proponiéndome otras nuevas. Desde hace ya varios años todo lo que me habéis enseñado viaja conmigo, en mi mochila. Además, las tablas que he generado para esta investigación pueden leerse gracias a la ayuda de Rebeca. Si no hubiera sido por ella, las habría presentado de una manera mucho más tosca. Gracias, “Rebe”.

Alfonso Esquivel, te conocí en Atapuerca, pero te descubrí en nuestros talleres de siete años por España. Siempre que escucho que las cosas salen mejor si las haces con cariño, inevitablemente, me acuerdo de ti. Por todo, gracias, “Alf”.

Alejandro Bonmatí, has visto crecer esta tesis desde su germen hasta el final, me has visto perderme y reencontrarme. Has viajado con ella (y conmigo) por toda Iberia. Gracias por todo tu apoyo, por tener siempre un minuto para escucharme, y por todo lo que me has enseñado relacionado con programas de diseño y tratamiento de imágenes.

Javier Trueba, gracias por tu apoyo constante y tu interés por este trabajo a lo largo de todos estos años. Sin tu dedicación profesional a Atapuerca, no tendríamos el material gráfico que nos permite asombrar con los secretos del corazón de la sierra. Además, de ti me llevo una idea que me regalaste una noche en Atapuerca, “Procura escribir, al menos, una hoja todos los días. Sí, sé que puede resultar complicado, pero procura hacerlo”. Esta frase la he adoptado para la tesis, y para todo lo demás.

Almudena Alcázar es ese tipo de personas en las que te apoyas a diario porque siempre está ahí, y como se convierte en algo habitual, acabas por no decir nunca nada. Este es el mejor momento para verbalizarlo. Muchas gracias, “Almu”.

A María Ángeles Galindo Pellicena debo agradecerle su dedicación a la fauna de El Portalón, y todas las horas que hemos pasado juntos discutiendo sobre esa colección.

A Virginia Martínez Pillado quiero agradecerle su constante apoyo y todos los momentos que ha tenido para discutir conmigo cuestiones paleoclimáticas y sus cronologías asociadas.

A Álvaro Gómez, por todas las horas compartidas diseccionando variables y además, buenas historias. Por estar siempre ahí y "viajar conmigo a Kafiristán". Gracias, Álvaro

A Elena Santos tengo que agradecerle su presencia constante resolviéndome dudas sobre edición y estilos y escuchando las variantes de "mi historia". Gracias, "Ele".

Gracias también a Mónica Villalba y Montserrat Sanz, por todas las horas dedicadas, escuchando mis dudas sobre las maneras de afrontar los análisis y compartiendo los vuestros.

A Ana Pantoja, Noemí Sala y Adrián Pablos, por todos los años y experiencias compartidas. Gracias por escucharme siempre y por vuestro apoyo.

A Asier Gómez, por las campañas de excavación compartidas, por haberme escuchado siempre y por los consejos recibidos, muchas gracias.

Gloria Cuenca, gracias por enseñarme la profesionalidad con la que haces tu trabajo, y por haber estado y estar ahí, escuchando, y siempre con una sonrisa. Además, tu tripulación es única, y han marcado mi paso por las excavaciones de Atapuerca: José Luis Barco, Juan Rofes y Sergio Rasal y por supuesto, Cristobal, Javi, Francisco, Alfredo y "Pimi", simplemente gracias.

Rolf Quam, "mi hermano mayor". Un ejemplo de cómo ir al grano y saber detectar evidencias circunstanciales. Lo que he aprendido realizando parte de esta investigación a tu lado, me lo llevo para la vida.

Durante muchos años he tenido en la figura de Ignacio Martínez a un maestro. Su modo de entender la biología evolutiva, y su generosidad a la hora de discutir sus reflexiones han moldeado mi forma de pensar. Muchas gracias, Nacho.

Para Anders Götherström tengo un recuerdo especial. Él me enseñó los principios básicos en el mundo del ADN antiguo. Además, con él aprendí que hay límites, que cuando los alcanzas, rompes y meditas sobre ello, inevitablemente, creces. Gracias, porque me has hecho más fuerte.

Con Love Dalén comencé mis lecturas sobre parámetros relacionados con genética de poblaciones. Muchas gracias por toda la ayuda que me ofreciste.

Quiero agradecer también a mis compañeros de laboratorio, Cristina Valdiosera, Ricardo Varela e Irene Ureña, con los que he compartido inquietudes e ideas sobre el proceder en las extracciones de ADN de los fósiles.

Esta tesis no se podría haber realizado sin los restos fósiles excavados en 20 yacimientos españoles. Varios se están excavando en la actualidad o se han estado excavando hasta hace poco. Estoy en deuda con los directores de esos yacimientos, por el interés y la confianza que han depositado en mí para esta investigación. Ellos son Jesús Jordá, Soledad Corchón, Pablo Arias, Gema Adán, Carme Olària, Valentín Villaverde, Juan Luis Arsuaga, José María Bermúdez de Castro, Eudald Carbonell, Alfredo Pérez González, Enrique Baquedano, Carmen Cacho, Noemí Sala y Milagros Algaba.

Otras muestras están custodiadas en museos de diferentes provincias de España. Esas instituciones, y sobre todo sus trabajadores, facilitaron mi trabajo lo máximo posible. Mi más sincero agradecimiento al Museo de Burgos y en especial a Marta Negro y Belén Castillo, por haberme ayudado en la búsqueda de los caballos de las excavaciones de Apellániz en El Portalón. Al Museu Comarcal de Banyoles y a su conservador Josep Tarrús, por ayudarme con la búsqueda de los materiales de Bora Gran. A Begoña Sánchez Chillón del Museo Nacional de Ciencias Naturales, tener siempre un momento para mí y ayudarme en la búsqueda de restos de caballo. Hipólito Collado llamó mi atención sobre Cancho Roano, y el director del Museo de Badajoz, Carlos Kurtz, me permitió estudiar los restos con la constante ayuda de sus conservadores. A Jordí Agustí por permitirme estudiar los restos de La Carihuela depositados en el Institut Català de Paleontologia Miquel Crusafont. Muchas gracias a todos por vuestro apoyo.

Quiero agradecer también a José Miguel Carretero y a Josep Maria Vergès todas las facilidades que me han dado para poder estudiar los materiales de los yacimientos de Atapuerca de El Portalón de Cueva Mayor y de El Mirador.

Aprovecho estas páginas también para agradecer a Jesús Jordá, Soledad Corchón, María Ángeles Cueto, Arturo Morales y María Ángeles Galindo su ayuda en la identificación taxonómica y/o anatómica de las muestras procedentes de los yacimientos de Jarama VI, Las Caldas, La Garma A, parte de la colección de Cova Fosca y las muestras de El Portalón de Cueva Mayor de las campañas 2008 - 2011. No quiero olvidarme tampoco de Gema Adán, que

siempre me ha regalado su tiempo para discutir sobre la estratigrafía de Cueva Oscura de Ania. Asimismo, los comentarios que me proporcionó Joaquín Pascual Barea sobre la etimología de la palabra *cebro* me fueron de gran ayuda para el capítulo dedicado a este animal.

Esta tesis tampoco se podría haber realizado sin el tesón de dos personas que, desde la biblioteca de la Facultad de Ciencias Geológicas de la UCM, han enriquecido este trabajo rastreando las bibliotecas de todo el mundo. Mi más sincera gratitud para con Pedro Martín Duque y Mariví Romero Sanz, estoy en deuda con vosotros.

Además, he pasado largas temporadas en la Biblioteca de la Facultad de Historia de la UCM, recopilando información sobre monografías de excavaciones, de arte rupestre y consultando documentación relacionada con fueros medievales. Sin esta exquisita colección de material bibliográfico alojada en al UCM, este trabajo habría ido mucho más lento. Muchas gracias a todos aquellos que han convertido a esa biblioteca en una de las más completas de una universidad española.

En la secretaría de la Facultad de Geología de la UCM trabaja Lidia Bartolomé Gómez, y su ayuda a lo largo de estos años, y sobre todo en el tramo final de esta tesis, ha sido capital. Muchas gracias, Lidia.

Muchas gracias a los compañeros del Departamento de Paleontología de la UCM, con Fernando Garía Joral a la cabeza, por haber facilitado el camino con todos los trámites burocráticos que esta tesis ha necesitado.

En el Instituto de Salud Carlos III de Chamartín he tenido la oportunidad de conocer a un grupo de personas que han hecho todo lo posible por facilitar mi trabajo, con José María Almansa a la cabeza. Además, en el capus de Majadahonda tuve la oportunidad de trabajar en el laboratorio de Juan Emilio Echevarría visualizando geles. Muchas gracias a todos por vuestra ayuda.

La secuenciación del ADN antiguo se ha llevado a cabo en las instalaciones del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas. Pero además, el laboratorio de Orlando Domínguez y su equipo técnico, me abrieron las puertas y me acogieron como uno más para que pudiera realizar en sus instalaciones todo el trabajo de post-PCR. Mi más sincero agradecimiento para Orlando Domínguez, Jorge Monsech, Purificación Arribas, Guadalupe Luengo, Ángeles Rubio y David Rodríguez.

Esta investigación ha ganado con las críticas que ha recibido por parte de Lidia Colominas y Pepa Rey. Muchísimas gracias.

Guillermo López, José Alberto López, Jorge Martínez, Yolanda Sánchez, Eva Ballesteros y Paula Ballesteros. Estamos juntos desde hace más de 30 años, y me seguís aguantando. Es un honor para mí decir que soy vuestro amigo. Gracias por escucharme, a la hora que fuera, y por haberos dejado arrastrar a más de un yacimiento.

Víctor Herrero, Marta Guijarro, Montserrat Latorre, María Jurado, Ramón Llorent, Patricia Herranz, Maite López, Eusebio López, Jesús Jadraque, Rut Iniesta, Alberto González Andrés Hernangómez, María Luisa Laguna y Sergio Hernández; sin vosotros igualmente habría estudiado Biología sí, pero habría sido otra cosa. A vuestro lado, he crecido. Y junto a María Jiménez, Fernando Pascual y Javier García me habéis ayudado a reflexionar, una y otra vez, sobre el modo de hacer ciencia, e indirectamente sobre cómo enfocar esta investigación.

A María Luisa Laguna y Stefano Furlati les agradezco los momentos que me han dedicado para enfrentarse a un texto en italiano del siglo XIII y trasmitirme sus secretos. Lo mismo hizo Carlos Peral y Claudia Schwartz con varios textos en alemán. A todos, muchas gracias.

Carlos Chico y David Fernández, gracias por los ánimos y buenas vibraciones que me habéis trasmitido. Lo mismo le digo a Carlos Millán y el recuerdo que deja en mí su “santuario” burgalés. Gracias por vuestro interés, vuestro apoyo, vuestra complicidad, y por estar ahí.

Nieves Martínez, gracias por haberme escuchado todas las veces que nos hemos reunido.

Hace 16 años conocí a dos niños con los que he convivido y han cambiado mi vida. Ahora, ya adultos, tengo la oportunidad de darles las gracias porque siempre me han recordado cómo es el mundo a través de los ojos de un niño. Martín y Juan Linage, muchas gracias por recalcarme que las cosas se pueden, y deben, escribir lo más fácil posible.

De Francisco Gracia Téllez he procurado imitar su modo sistemático de trabajar. Desde el plano profesional, convivir contigo me ha permitido juntar una colección de consejos sobre la redacción clara de ideas, que espero haber reflejado en este trabajo. Desde el plano personal, me quedo con la vitalidad que siempre has derrochado, con tu complicidad, con tu buen humor, y al final, con tu coche.

Francisco Gracia Pérez, o la meticulosidad a la hora de hacer las cosas, algo que he procurado imitar. Y además, abrazos y apretones de mano, aunque todavía hoy no me aclaro sobre qué se da primero. Pero lo importante para mí es saber que te tengo ahí cerca, para darme los dos. Gracias por todo, Paco.

A Berta, Bertita, Francesc, Elian, Philippe, y vuestra progenie, os descubrí en momentos cálidos y me unió a vosotros la adversidad. Gracias por todo el cariño que me habéis dado, y que me dais. Desde el primer momento os habéis fijado en esta investigación y habéis insuflado ánimos. Muchas gracias por vuestro apoyo.

Ricardo "Richard" Téllez, un gran descubrimiento. Muchas gracias por todo el tiempo que me has dedicado, cuando he tenido que plasmar las ideas de esta investigación en inglés. Volveremos a vernos, pero *aún* no.

Luis Miguel Conto, más que un primo, *un compadre*. Siempre has estado cuando te he necesitado y después, discretamente, te has ido. Y así, una y otra vez, año tras año, y ya van más de 30. Simplemente, Gracias.

Dorita Garrido, Tino Conto, Rosi Conto, Manolo Garrido, Ana Pérez, Nuria Garrido y Emilio Rodríguez. Ellos son mi baluarte en las tierras del norte, de donde viene mi mitocondria. Gracias por todo lo que me habéis enseñado. Creciendo a vuestro lado he aprendido que, lo último que debes hacer ante una situación difícil, es rendirte.

Quiero terminar dedicando unas líneas a las tres personas que más quiero en este planeta. Por un lado a Pilar Garrido y Jaime Arnoldo Lira, mis padres. Me habéis enseñado que la vida es una playa que se toma al asalto, y hay que estar preparado. Gracias por estar ahí, siempre.

Por otro lado, a mi compañera de viaje, Ana Gracia. No sé por dónde empezar. Profesionalmente estoy en deuda contigo por todo lo que me has enseñado. Siempre me has apoyado para llegar hasta aquí. Y personalmente, has sido mi faro en la oscuridad. Todos los puertos a los que he llegado los he tomado contigo en mi mente, pensado en la hora de llegar a casa y contarte lo que he visto.

Y ahora que he vuelto a mi tierra, gracias a todos vosotros por haberme enseñado que, lo que mejor que te puede dar la vida, son las experiencias de un camino largo.

A mis padres

A Ana

Y aunque considero que esta obra es indigna de seros presentada, confío no obstante en que por Vuestra benevolencia la aceptaréis, dado que no podría haceros mejor regalo que el de ofreceros la posibilidad de aprender, en poquísimo tiempo, lo que a mí me ha costado tanto años y tantas dificultades y peligros llegar a conocer.

Nicolás Maquiavelo. *El Príncipe*

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS ..... *I*

ÍNDICE ..... *XIII*

RESUMEN ..... *XXIII*

ABSTRACT ..... *XXVI*

NOTAS ..... *XXIX*

Sobre la nomenclatura taxonómica utilizada en esta investigación ..... **XXIX**

Sobre la calibración de las fechas por radiocarbono ..... **XXX**

Sobre la nomenclatura de los haplogrupos ..... **XXX**

ABREVIATURAS ..... *XXXII*

CAPÍTULO 1 ..... *1*

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS **3**

CAPÍTULO 2 ..... *9*

2. LA DOMESTICACIÓN DEL CABALLO **11**

2.1. La domesticación animal 11
2.2. Sobre la nomenclatura del caballo 14
2.3. Los últimos caballos salvajes de Eurasia: los tarpanes 17
2.4. Los caballos de Przewalski 18
2.5. Otros caballos considerados salvajes 24
2.6. El censo caballar en la actualidad 26
2.7. El rango de distribución de los caballos salvajes 28
2.8. Los caballos salvajes a comienzos del Holoceno 29
2.9. Posibles ancestros del caballo doméstico 32
2.9.1. Ancestros inferidos a partir de las razas 32
2.9.2. Ancestros inferidos a partir del arte rupestre paleolítico 34
2.10. Los primeros caballos domésticos 35
2.11. Los cambios genéticos de los primeros caballos domésticos 42

CAPÍTULO 3 ..... *45*

3. EL CABALLO EN LA PENÍNSULA IBÉRICA DURANTE EL PLEISTOCENO SUPERIOR **47**

3.1. El registro paleontológico 47
3.1.1. Cordillera y litoral cantábrico 47
3.1.2. El noreste y el prepirineo 49
3.1.3. La cuenca Mediterránea 50
3.1.4. El sur de la península ibérica 51
3.1.5. La fachada atlántica 52
3.1.6. La Meseta Central 52
3.1.7. Las subespecies de caballo en la península ibérica 53
3.2. Representaciones del arte rupestre 55

CAPÍTULO 4 61

4.1. EL CABALLO EN LA PENÍNSULA IBÉRICA DURANTE EL HOLOCENO 63
4.1.1. El caballo durante el Epipaleolítico, Mesolítico y Neolítico 63
4.1.1.1. El Epipaleolítico y el Mesolítico 63
4.1.1.2. El Neolítico 63
4.1.1.3. Transición Neolítico final – Calcolítico 66
4.1.1.3.1. El Poblado de "Los Castillejos" en Las Peñas de los Gitanos (Montefrío, Granada) 66
4.1.1.3.2. El yacimiento de la Ereta del Pedregal (Valencia) 66
4.1.1.3.3. El yacimiento de Fuente Flores (Valencia) 67
4.1.2. El caballo durante el Calcolítico 68
4.1.2.1. El Cerro de la Virgen de la Cabeza (Orce, Granada) 70
4.1.2.2. El castro de Zambujal (Torres Vedras, Portugal) 72
4.1.2.3. Los Cerros de "Los Castillejos" de Fuente de Cantos y el Cerro de la Horca (Extremadura) 72
4.1.2.4. El abrigo de Cueva Rubia (Palencia) 74
4.1.2.5. Terrera Ventura (Tabernas, Almería) 74
4.1.3. El caballo durante la Edad del Bronce 75
4.1.3.1. El Cerro de la Virgen de la Cabeza (Orce, Granada) 75
4.1.3.2. El Cerro de la Encina (Monachil, Granada) 76
4.1.3.3. La Cuesta del Negro (Purullena, Granada) 78
4.1.3.4. El poblado de Peñalosa (Baños de la Encina, Jaén) 79
4.1.3.5. Mesa de Ronda la Vieja (Acinipo, Málaga) 79
4.1.3.6. El Portalón de la sierra de Atapuerca (Burgos) 80
4.1.3.7. El Moncín (Muela de Borja, Zaragoza) 81
4.1.3.8. El abrigo de Cueva Rubia (Palencia) 82
4.1.3.9. El castro de Zambujal (Torres Vedras, Portugal) 83
4.1.3.10. Los bocados de Fuente Álamo (Cuevas de Almanzora, Almería) 83
4.1.3.11. Los bocados de Cabezo Redondo (Villena, Alicante) 84
4.1.4. El caballo durante la Edad del Hierro 84
4.1.4.1. Evidencias zooarqueológicas 87
4.1.4.2. Evidencias de elementos de metal para la monta y el control de los caballos 91
4.1.4.3. Evidencias de manifestaciones artísticas 94
4.1.4.4. Evidencias literarias 96
4.1.4.5. La caballería 97

4.2. LA DOMESTICACIÓN DEL CABALLO EN EL ARTE RUPESTRE POSTPALEOLÍTICO 99
4.2.1. El arte rupestre postpaleolítico 99
4.2.2. Las representaciones de caballos y jinetes en el arte postpaleolítico 106

CAPÍTULO 5 117

5. ESTUDIOS SOBRE *Equus hydruntinus* IBÉRICOS 119
5.1. Distribución geográfica y temporal de *Equus hydruntinus* 119
5.2. Taxonomía de *Equus hydruntinus* 121
5.3. Inferencia del hábitat de *Equus hydruntinus* 123
5.4. La extinción de *Equus hydruntinus* en la península ibérica 125
5.5. La relación entre *Equus hydruntinus* y el cebro ibérico 130
5.5.1. Introducción al caso del cebro ibérico 130
5.5.2. La etimología del vocablo *cebro* 131
5.5.3. La identificación del cebro 132

5.5.3.1. La identificación del cebro con el onagro 132
5.5.3.2. La identificación del cebro con caballos salvajes 134
5.5.3.3. La identificación del cebro con équidos asilvestrados 136
5.5.3.4. La identificación del cebro con *Equus hydruntinus* 136
5.5.4. Topónimos y área de distribución del cebro en la península ibérica 137
5.5.5. Referencias medievales del cebro ibérico 141
5.5.6. Descripción del cebro ibérico 148
5.5.7. Principales usos documentados del cebro ibérico 149
5.5.7.1. El aprovechamiento de la piel 149
5.5.7.2. El aprovechamiento de la carne 151
5.5.7.3. Su posible uso como animal doméstico 153
5.5.8. Sobre la desaparición del cebro 156

CAPÍTULO 6 161

6. ESTUDIOS PREVIOS CON ADN MITOCONDRIAL 163
6.1. Características del ADN mitocondrial 163
6.2. Estudios sobre la domesticación del caballo en la península ibérica con ADN mitocondrial 165
6.2.1. Estudios con ADN mitocondrial moderno 165
6.2.2. Estudios con ADN mitocondrial antiguo 172
6.3. Estudios genéticos sobre *Equus hydruntinus* previos a esta investigación 178

CAPÍTULO 7 185

7. MATERIAL Y MÉTODOS 187
7.1. Protocolos de Laboratorio 187
7.1.1. El laboratorio de ADN antiguo 189
7.1.2. Manipulación de los fósiles y preparación de reactivos 191
7.1.3. Protocolos de extracción de ADN antiguo 193
7.1.3.1. Protocolo de extracción número 1 194
7.1.3.2. Protocolo de extracción número 2 197
7.1.4 Estrategias de amplificación de ADN 201
7.1.4.1. Relación de cebadores y programas de PCR utilizados en la amplificación de ADN mitocondrial de *Equus ferus* / *Equus caballus*. 201
7.1.4.2. Relación de cebadores y programas de PCR utilizados en la amplificación de ADN mitocondrial de *Equus hydruntinus*. 205
7.1.4.3. Relación de cebadores y programa de PCR utilizados en la amplificación de ADN mitocondrial de *Equus asinus*. 209
7.1.4.4. Relación de cebadores y programa de PCR utilizados en la amplificación de ADN mitocondrial de *Bos taurus*. 209
7.1.5. Tratamiento de muestras post-PCR 210
7.1.5.1. Visualización de resultados en geles de agarosa 210
7.1.5.2. Protocolo de purificación de muestras para secuenciación. 211
7.1.6. Manipulación informática de secuencias genéticas 211
7.2 Relación de yacimientos estudiados 212
7.3. Criterios de determinación taxonómica y morfológica de los restos estudiados 214
7.3.1. Caracteres utilizados para las determinaciones taxonómicas 214
7.3.1.1. Dentición superior 214
7.3.1.2. Dentición inferior 215
7.3.2. Criterios de diferenciación morfológica sobre dientes 216
7.3.2.1. Dentición superior 216

7.3.2.2. Dentición inferior 217
7.4. Análisis sobre *Equus ferus* / *Equus caballus* 218
7.4.1. La cueva de Las Caldas (San Juan de Priorio, Asturias) 218
7.4.1.1. Localización del yacimiento 218
7.4.1.2. Historia de las excavaciones en Las Caldas 219
7.4.1.3. Descripción de Las Caldas 219
7.4.1.4. Cronoestratigrafía de Las Caldas 220
7.4.1.4.1. El Solutrense 223
7.4.1.4.2. El Magdaleniense 224
7.4.1.5. El estudio de la fauna de Las Caldas 225
7.4.1.5.1. La fauna del Solutrense 225
7.4.1.5.2. La fauna del Magdaleniense inferior 226
7.4.1.5.3. La fauna del Magdaleniense medio 226
7.4.1.6. Muestras de Las Caldas seleccionadas para esta investigación 227
7.4.1.7. El proceso de extracción de ADN de la fauna de Las Caldas 229
7.4.1.7.1. Extracción de ADN 229
7.4.1.7.2. Amplificación de ADN 229
7.4.2. El yacimiento de Cueva Oscura de Ania (Las Regueras, Asturias) 230
7.4.2.1. Localización del yacimiento 230
7.4.2.2. Historia de las excavaciones en Cueva Oscura de Ania 231
7.4.2.3. Descripción de Cueva Oscura de Ania 231
7.4.2.4. Cronoestratigrafía de Cueva Oscura de Ania 236
7.4.2.4.1. Cronoestratigrafía propuesta para los niveles azilienses 236
7.4.2.4.2. Cronoestratigrafía propuesta para el nivel magdaleniense 238
7.4.2.5. El estudio de la fauna de Cueva Oscura de Ania 239
7.4.2.6. Muestras de Cueva Oscura de Ania seleccionadas para esta investigación 240
7.4.2.7. El análisis de radiocarbono sobre la fauna de Cueva Oscura de Ania 244
7.4.2.8. El proceso de extracción de ADN de la fauna de Cueva Oscura de Ania 244
7.4.2.8.1. Extracción de ADN 244
7.4.2.8.2. Amplificación de ADN 244
7.4.3. El yacimiento de La Garma A (Omoño, Cantabria) 246
7.4.3.1. Localización del yacimiento 246
7.4.3.2. Descripción de los yacimientos del monte de La Garma 246
7.4.3.3. Descripción de La Garma A 249
7.4.3.4. El estudio de la fauna de La Garma A 250
7.4.3.5. Muestras de La Garma A seleccionadas para esta investigación 251
7.4.3.6. El proceso de extracción de ADN de la fauna de La Garma A 252
7.4.3.6.1. Extracción de ADN 252
7.4.3.6.2. Amplificación de ADN 252
7.4.4. El yacimiento de Bora Gran d'En Carreras (Serinyà, Girona) 253
7.4.4.1. Localización del yacimiento 253
7.4.4.2. Descripción de Bora Gran 253
7.4.4.3. Historia de las excavaciones de Bora Gran 254
7.4.4.4. El estudio de la fauna de Bora Gran 256
7.4.4.5. Muestras de Bora Gran seleccionadas para esta investigación 258
7.4.4.6. El análisis de radiocarbono sobre la fauna de Bora Gran 260
7.4.4.7. El proceso de extracción de ADN de la fauna de Bora Gran 260
7.4.4.7.1. Extracción de ADN 260
7.4.4.7.2. Amplificación de ADN 261
7.4.5. El yacimiento de Cova Fosca (Alto Maestrazgo, Castellón) 262

7.4.5.1. Localización del yacimiento 262
7.4.5.2. Historia de las excavaciones en Cova Fosca 263
7.4.5.3. Descripción de Cova Fosca 263
7.4.5.4. Cronoestratigrafía de Cova Fosca 264
7.4.5.5. El estudio de la fauna de Cova Fosca 270
7.4.5.6. Muestras de Cova Fosca seleccionadas para esta investigación 270
7.4.5.7. Análisis de radiocarbono sobre las muestras de Cova Fosca 271
7.4.5.8. El proceso de extracción de ADN de la fauna de Cova Fosca 271
7.4.5.8.1. Extracción de ADN 271
7.4.5.8.2. Amplificación de ADN 273
7.4.6. El yacimiento de Cova Foradada (Xàbia, Alicante) 274
7.4.6.1. Localización del yacimiento 274
7.4.6.2. Historia de las excavaciones de Cova Foradada 274
7.4.6.3. Descripción de Cova Foradada 274
7.4.6.4. Cronoestratigrafía de Cova Foradada 277
7.4.6.5. El estudio de la fauna de Cova Foradada 279
7.4.6.6. Muestras de Cova Foradada seleccionadas para esta investigación 280
7.4.6.7. El proceso de extracción de ADN de la fauna de Cova Foradada 283
7.4.6.7.1. Extracción de ADN 283
7.4.6.7.2. Amplificación de ADN 283
7.4.7. El yacimiento de El Portalón de Cueva Mayor (sierra de Atapuerca, Burgos) 284
7.4.7.1. Localización del yacimiento: La sierra de Atapuerca 284
7.4.7.1.1. Características geográficas y geológicas de la sierra de Atapuerca 286
7.4.7.1.2. La sierra de Atapuerca en la Historia 288
7.4.7.1.3. Historia de las intervenciones científicas en la sierra de Atapuerca 289
7.4.7.2. El yacimiento de El Portalón (sierra de Atapuerca, Burgos) 292
7.4.7.2.1. Historia de las excavaciones en El Portalón 293
7.4.7.2.2. Descripción de El Portalón 297
7.4.7.2.3. Cronoestratigrafía de El Portalón 297
7.4.7.3. El estudio de la fauna de El Portalón 302
7.4.7.4. Muestras de El Portalón seleccionadas para esta investigación 308
7.4.7.5. El análisis de radiocarbono sobre la fauna de El Portalón 310
7.4.7.6. El proceso de extracción de ADN de la fauna de El Portalón. 313
7.4.7.6.1 Extracción de ADN 313
7.4.7.6.2. Amplificación de ADN 313
7.4.8. El yacimiento de Jarama VI (Valdesotos, Guadalajara) 314
7.4.8.1. Localización del yacimiento 314
7.4.8.2. Historia de las excavaciones de Jarama VI 314
7.4.8.3. Descripción de Jarama VI 315
7.4.8.4. Cronoestratigrafía de Jarama VI 317
7.4.8.4.1. El análisis de la industria lítica y las dataciones de radiocarbono convencionales 318
7.4.8.4.2. Los análisis de radiocarbono con ultrafiltración 320
7.4.8.5. El estudio de la fauna de Jarama VI 321
7.4.8.6. Muestras de Jarama VI seleccionadas para esta investigación 322
7.4.8.7. El proceso de extracción de ADN de la fauna de Jarama VI 323
7.4.8.7.1. Extracción de ADN 323
7.4.8.7.2. Amplificación de ADN 323
7.4.9. El yacimiento de Cancho Roano (Zalamea de la Serena, Badajoz) 325
7.4.9.1. Localización del yacimiento 325

7.4.9.2. Historia de las excavaciones en Cancho Roano 325
7.4.9.3. Descripción de Cancho Roano y cronología 326
7.4.9.4. El estudio de la fauna de Cancho Roano 329
7.4.9.5. Muestras de Cancho Roano seleccionadas para esta investigación 329
7.4.9.6. Análisis de radiocarbono sobre las muestras de Cancho Roano 330
7.4.9.7. El proceso de extracción de ADN de las muestras de Cancho Roano 330
7.4.9.7.1. Extracción de ADN 330
7.4.9.7.2. Amplificación y purificación de ADN 330
7.4.10. Descripción de la muestra utilizada como comparativa 332
7.4.10.1. Muestra de comparativa de ADN antiguo 332
7.4.10.2. Muestra de comparativa de caballos modernos. 334
7.4.10.2.1. Caballos modernos ibéricos o de origen ibérico 334
7.4.10.2.2. Caballos modernos no ibéricos 337
7.4.11. Alineamiento de secuencias 339
7.4.12. Selección de modelos evolutivos 339
7.4.13. Análisis con gráficos de redes o *networks* 342
7.4.13.1. Análisis de las secuencias de nuestra investigación 346
7.4.13.2. Análisis comparativo con las secuencias del GenBank 348
7.4.14. Análisis filogenéticos con métodos probabilísticos 350
7.4.14.1. Filogenias basadas en métodos probabilísticos 350
7.4.14.2. Análisis de Máxima Verosimilitud 350
7.4.14.2.1. Inferencia filogenética de Máxima Verosimilitud con PhyML 353
7.4.14.2.2. Soporte de ramas con PhyML 354
7.4.14.2.3. Análisis de datos 356
7.4.14.3. Análisis bayesianos 357
7.4.14.3.1. Análisis de datos 363
7.4.15. Análisis de Componentes Principales 364
7.4.16. Análisis de diversidad nucleotídica 366
7.4.17. Dinámica del tamaño efectivo poblacional de los caballos ibéricos 368
7.4.17.1. Análisis de la variación en el tamaño efectivo de la población 368
7.4.17.2. Entorno informático utilizado 371
7.4.17.3. Utilización de muestras heterócronas 374
7.4.17.4. Preparación de las matrices de datos 375
7.4.17.4.1. Matriz de datos con secuencias antiguas 376
7.4.17.4.2. Matriz de datos con secuencias antiguas y modernas ibéricas segregadas y emergentes 377
7.4.17.4.3. Matriz de datos con secuencias antiguas y modernas ibéricas arcaicas y autóctonas 377
7.4.17.4.4. Matriz de datos con secuencias antiguas y los caballos de Achilli et al. (2012) 377
7.4.17.5. Selección del modelo de sustitución nucleotídica 377
7.4.17.6. Análisis de aleatorización de fechas de radiocarbono 378
7.4.17.7. Selección de modelos demográficos con Stepping Stone (SS) 379
7.4.17.8. Parámetros implementados en los modelos demográficos 381
7.4.17.8.1. Matriz de datos con las 79 secuencias antiguas 381
7.4.17.8.2. Matriz de datos con 150 secuencias antiguas y modernas ibéricas segregadas y emergentes 383
7.4.17.8.3. Matriz de datos con 222 secuencias antiguas y modernas ibéricas arcaicas y autóctonas 384
7.4.17.8.4. Matriz de datos con 160 secuencias antiguas y los caballos de Achilli et al. (2012) 384

7.5. Análisis sobre *Equus hydruntinus* 386
7.5.1. La muestra del yacimiento de Galería de las Estatuas (sierra de Atapuerca, Burgos) 386
7.5.1.1. El yacimiento de la Galería de las Estatuas (sierra de Atapuerca, Burgos) 386
7.5.1.2. Descripción morfológica de la muestra AT-GE-189 388
7.5.1.3. El análisis de radiocarbono sobre la muestra AT-GE-189 389
7.5.1.4. El proceso de extracción de ADN de la muestra AT-GE-189 389
7.5.1.4.1. Extracción de ADN 389
7.5.1.4.2. Amplificación, purificación y secuenciación de ADN 390
7.5.2. El yacimiento de El Mirador (sierra de Atapuerca, Burgos). 391
7.5.2.1. Localización del yacimiento 391
7.5.2.1.1. Historia de las excavaciones en El Mirador 391
7.5.2.1.2. Descripción de El Mirador 392
7.5.2.1.3. Cronoestratigrafía de El Mirador 393
7.5.2.2. El estudio de la fauna de El Mirador 397
7.5.2.3. Los estudios con équidos de El Mirador 398
7.5.2.4. Muestras de El Mirador seleccionadas para este estudio 401
7.5.2.5. El proceso de extracción de ADN de las muestras de El Mirador 402
7.5.2.5.1. Extracción de ADN 402
7.5.2.5.2. Amplificación, purificación y secuenciación de ADN 402
7.5.3. Descripción de la muestra utilizada como comparativa 404
7.5.3.1. Selección de muestras de asnos domésticos y salvajes 404
7.5.3.2. Selección de otras muestras de équidos para análisis filogenéticos globales 405
7.5.3.3. Identificación de clados de *Equus kiang*/*Equus hemionus*/*Equus hydruntinus* con las muestras de Bennett *et al*. (2017) 407
7.5.4. Análisis filogenéticos globales 408
7.5.4.1. Alineamiento de secuencias 408
7.5.4.2. Selección de modelos de sustitución nucleotídica 408
7.5.4.3. Tratamiento de los indels 409
7.5.4.4. Análisis filogenéticos de Máxima Verosimilitud (ML) 410
7.5.4.5. Análisis de Inferencia Bayesiana (IB) sobre *Equus hydruntinus* 411
7.5.5. Identificación de clados de *Equus kiang*/*Equus hemionus*/*Equus hydruntinus* con las muestras de Bennett *et al*. (2017) 412

CAPÍTULO 8 413

8. RESULTADOS 415
8.1. Análisis sobre *Equus ferus* / *Equus caballus* 417
8.1.1. Muestras de Las Caldas (San Juan de Priorio, Asturias) 417
8.1.1.1. Resultados genéticos obtenidos 417
8.1.2. Muestras de Cueva Oscura de Ania (Las Regueras, Asturias) 422
8.1.2.1. Resultados genéticos obtenidos 422
8.1.2.2. Resultados de las dataciones de radiocarbono 423
8.1.3. Muestras de La Garma A (Omoño, Cantabria) 425
8.1.3.1. Resultados genéticos obtenidos 425
8.1.4. Muestras de Bora Gran d'En Carreras (Serinyà, Girona) 428
8.1.4.1. Resultados genéticos obtenidos 428
8.1.4.2. Resultados de las dataciones de radiocarbono 429
8.1.5. Muestras de Cova Fosca (Ares del Maestre, Castellón) 432
8.1.5.1. Resultados genéticos obtenidos 432
8.1.5.2. Resultados de las dataciones de radiocarbono 434

8.1.6. Muestras de Cova Foradada (Xàbia, Alicante)....436
8.1.6.1. Resultados genéticos obtenidos....436
8.1.7. Muestras de El Portalón de Cueva Mayor (sierra de Atapuerca, Burgos)....438
8.1.7.1. Resultados genéticos obtenidos....438
8.1.7.2. Resultados de las dataciones de radiocarbono....443
8.1.8. Muestras de Jarama VI (Valdesotos, Guadalajara)....447
8.1.8.1. Resultados genéticos obtenidos....447
8.1.9. Muestras de Cancho Roano (Zalamea de la Serena, Badajoz)....449
8.1.9.1. Resultados genéticos obtenidos....449
8.1.9.2. Resultados de las dataciones de radiocarbono....453
8.1.10. Relación de yacimientos y muestras sobre los que no se ha obtenido ningún resultado positivo....456
8.1.10.1. La cueva del Conde (Asturias)....456
8.1.10.2. La peña de Estebanvela (Segovia)....458
8.1.10.3. La cueva de la Zarzamora (Segovia)....459
8.1.10.4. La cueva del Portalón de Tejadilla (Segovia)....461
8.1.10.5. La Cueva del Camino (Pinilla del Valle, Madrid)....463
8.1.10.6. Cova Negra (Xàtiva, Valencia), Cova Beneito (Muro, Alicante) y Cova de les Cendres (Teulada-Moraira, Alicante)....464
8.1.10.7. La Carihuela (Granada)....467
8.1.11. Gráficos de redes o networks....469
8.1.11.1. Análisis de las secuencias de nuestra investigación....469
8.1.11.1.1. Análisis comparativo 1....470
8.1.11.1.2. Análisis comparativo 2....473
8.1.11.1.3. Análisis comparativo 3....475
8.1.11.1.4. Análisis comparativo 4....476
8.1.11.1.5. Análisis comparativo 5....480
8.1.11.1.6. Análisis comparativo 6....482
8.1.11.2. Análisis globales....484
8.1.11.2.1. Gráfico de redes 1: muestras antiguas....484
8.1.11.2.1.1. Descripción de las muestras pleistocenas....493
8.1.11.2.1.2. Descripción de las muestras holocenas....495
8.1.11.2.2. Gráfido de redes 2: muestras modernas ibéricas....507
8.1.11.2.2.1. Caballos modernos ibéricos y las muestras de nuestra investigación....512
8.1.11.2.2.2. Caballos modernos ibéricos y las muestras de Cieslak *et al*. (2010)....517
8.1.11.2.2.3. Las secuencias antiguas y los caballos de la raza Sorraia....518
8.1.11.2.2.4. Las secuencias antiguas y otros caballos ibéricos....520
8.1.11.2.3. Gráfico de redes 3: muestras modernas no ibéricas....522
8.1.11.2.3.1. Relación de las secuencias modernas no ibéricas con los caballos pleistocenos....527
8.1.11.2.3.2. Relación de las secuencias modernas no ibéricas con el haplogrupo Lusitano C....527
8.1.11.2.3.3. Relación de las secuencias modernas no ibéricas con el haplogrupo de CFo02....529
8.1.11.2.3.4. Relación de las secuencias modernas no ibéricas con el haplogrupo A4/A....529
8.1.11.2.3.5. Relación de secuencias modernas no ibéricas con los haplogrupo C1/M y ---/M....531
8.1.11.2.3.6. Relación de las secuencias modernas no ibéricas con el haplogrupo A6/C....533

8.1.11.2.3.7. Relación de las secuencias modernas no ibéricas con el haplogrupo B2/I534
8.1.11.2.3.8. Relación de las secuencias modernas no ibéricas con el haplogrupo F1/P 535
8.1.11.2.3.9. Relación de las secuencias modernas no ibéricas con el haplogrupo D1-D3/L 535
8.1.11.2.3.10. Relación de las secuencias modernas no ibéricas con la raza Sorraia 543
8.1.11.2.3.11. Relación de las secuencias modernas no ibéricas con la raza Marismeña 544
8.1.12. Distribución de haplogrupos en poblaciones ibéricas, euroasiáticas y americanas a partir de los gráficos de redes 546
8.1.13. Análisis filogenéticos con métodos probabilísticos 555
8.1.13.1. Análisis filogenéticos con ML 555
8.1.13.1.1. Análisis filogenético 1 con ML 556
8.1.13.1.2. Análisis filogenético 2 con ML 561
8.1.13.1.3. Análisis filogenético 3 con ML 579
8.1.13.2. Análisis bayesianos 599
8.1.13.2.1. Análisis filogenético 1 con IB 599
8.1.13.2.2. Análisis filogenético 2 con IB 602
8.1.13.2.3. Análisis filogenético 3 con IB 604
8.1.14. Distribución de haplogrupos en poblaciones ibéricas, euroasiáticas y americanas: análisis combinado de gráficos de redes y filogenias de ML 608
8.1.15. Análisis de Componentes Principales (PCA) 625
8.1.15.1. PCA del análisis combinado de gráficos de redes y filogenias de ML con todas las poblaciones antiguas 625
8.1.15.2. PCA del análisis combinado de gráficos de redes y filogenias de ML con eliminación de poblaciones antiguas con tamaños muestrales pequeños 627
8.1.15.3. PCA del análisis combinado de gráficos de redes: influencia de los haplogrupos --/M y A6/C 629
8.1.16. Análisis de diversidad nucleotídica 632
8.1.17. Dinámica del tamaño efectivo poblacional en los caballos ibéricos. 636
8.1.17.1. Análisis de aleatorización de fechas de radiocarbono 636
8.1.17.2. Análisis de la variación en el tamaño efectivo de la población 636
8.1.17.2.1. Matriz de datos con las 79 secuencias antiguas 636
8.1.17.2.2. Matriz de datos con 150 secuencias antiguas y modernas ibéricas segregadas y emergentes 641
8.1.17.2.3. Matriz de datos con 222 secuencias antiguas y modernas ibéricas arcaicas y autóctonas 643
8.1.17.2.4. Matriz de datos con 160 secuencias antiguas y los caballos de Achilli et al (2012) 645
8.2. Análisis sobre *Equus hydruntinus* 648
8.2.1. Muestra de la Galería de las Estatuas (sierra de Atapuerca, Burgos) 648
8.2.1.1. Descripción morfológica de la muestra AT-GE-189 648
8.2.1.1.1. Superficie oclusal 649
8.2.1.1.2. Superficie de la pared externa o bucal 649
8.2.1.2. Resultados genéticos obtenidos sobre AT-GE-189 650
8.2.1.3. Resultados de los análisis de radiocarbono sobre AT-GE-189 652
8.2.2. Muestras de El Mirador (sierra de Atapuerca, Burgos) 653
8.2.2.1. Resultados genéticos obtenidos 654
8.2.3. Selección de *Equus asinus* y *Equus africanus* 656
8.2.4. Análisis filogenéticos globales 659

8.2.5. Identificación de clados de *Equus kiang*/*Equus hemionus*/*Equus hydruntinus* con las muestras de Bennett *et al*. (2017) 665

CAPÍTULO 9 667

9. DISCUSIÓN 669

9.1. Autenticidad de las muestras de ADN antiguo 669
9.2. Sobre los yacimientos donde no se ha obtenido ningún resultado positivo 673
9.3. Diferencias entre las filogenias de ML e IB 679
9.4. Evidencias de la domesticación del caballo en la península ibérica 680
9.4.1. Líneas maternas de caballos pleistocenos 681
9.4.2. Líneas maternas de caballos holocenos 683
9.4.2.1. Haplogrupo Lusitano C 683
9.4.2.2. Haplogrupo C1/M (Jansen/Achilli) y haplogrupo O-P de Achilli 684
9.4.2.3. Haplogrupo Hg168-169 686
9.4.2.4. Haplogrupo A-B de Achilli 686
9.4.2.5. Haplogrupo HgCFo02 687
9.4.2.6. Haplogrupo K de Achilli 688
9.4.2.7. Haplogrupo L de Achilli 689
9.4.2.8. Haplogrupos con caballos de Sorraia 692
9.5. Las poblaciones antiguas ibéricas y su relación con otras poblaciones antiguas 694
9.5.1. Distribución de haplogrupos 694
9.5.2. Análisis de diversidad nucleotídica 696
9.6. Análisis de la dinámica del tamaño efectivo poblacional de los caballos ibéricos 697
9.7. Análisis sobre *Equus hydruntinus* 700

CAPÍTULO 10 707

10. CONCLUSIONES 709

BIBLIOGRAFÍA 713

RESUMEN

El desarrollo de las sociedades humanas, sobre todo en Europa, ha dependido de seis especies de animales domésticos: el perro y los ganados vacuno, caprino, ovino, porcino y caballar. El caballo fue el último animal que se domesticó, marcando positivamente el desarrollo de las sociedades que tuvieron acceso a caballos domésticos.

Los primeros caballos domésticos aparecieron en las estepas euroasiáticas hace ~5000 años. Diversos estudios han sugerido que, además del foco principal de domesticación en las estepas, hubo otras zonas en Eurasia donde las poblaciones de caballos salvajes locales pudieron domesticarse o, al menos, incorporar ejemplares a las poblaciones de caballos domésticos procedentes de otros lugares. En este contexto, se ha sugerido que la península ibérica pudo ser un foco de domesticación alternativo, hipótesis que se ha estudiado desde diferentes disciplinas.

El ADN mitocondrial es uno de los marcadores moleculares más utilizados en los estudios sobre la domesticación del caballo. En los caballos modernos se han diferenciado hasta 18 haplogrupos, principalemente interpretados como diferentes eventos de domesticación o al menos, episodios de introgresión. Se ha destacado la frecuencia del haplogrupo D1 (ahora incluido en el haplogrupo L) entre los caballos ibéricos, de origen ibérico y los del norte de África. Este haplogrupo se ha considerado como el reflejo de un evento de domesticación ocurrido en el norte de África o en la península ibérica.

Además, también se ha buscado a los ancestros de los caballos domésticos examinando razas ibéricas. Se ha considerado que los caballos de Sorraia pudieran ser los representantes de los caballos salvajes que se domesticaron en Iberia.

Nuestra investigación ha contrastado la hipótesis que propone que los caballos salvajes ibéricos contribuyeron en la formación de las poblaciones domésticas ibéricas. Se ha analizado el ADN mitocondrial recuperado en restos faunísticos de caballos ibéricos pleistocenos y holocenos. Además, esta investigación también ha analizado las relaciones filogenéticas entre *Equus ferus*/*Equus caballus* y *Equus hydruntinus* ibéricos. Se ha analizado la complejidad que existe en la correcta asociación taxonómica de fósiles de équidos a *Equus hydruntinus* y la posible permanencia de este taxón en Iberia hasta la Edad del Bronce.

Hemos examinado 225 restos de équidos de 20 yacimientos ibéricos con cronologías del Pleistoceno superior y distintos momentos culturales del Holoceno, desde el Mesolítico/Neolítico hasta la Edad Media. Se ha recuperado ADN mitocondrial de 86 restos de 11 yacimientos, y con cronologías que comprenden los últimos 50.000 años. Posteriormente, estas muestras se han comparado con más de 2000 muestras antiguas y modernas ibéricas y no ibéricas.

En relación a la hipótesis de la península ibérica como foco alternativo en la domesticación del caballo, entre los caballos ibéricos pleistocenos y holocenos se han identificado diferentes haplogrupos, destacando la importancia del Lusitano C. Durante el Holoceno, el haplogrupo Lusitano C es exclusivo de poblaciones antiguas y modernas ibéricas. Las muestras antiguas proceden de distintos momentos culturales, desde el Mesolítico/Neolítico hasta el Bronce medio. Este haplogrupo está asociado a caballos de poblaciones salvajes y a caballos que podían estar pasando por el momento de su domesticación. Las muestras modernas proceden de caballos ibéricos y de origen ibérico. Estas evidencias confirman que en la península ibérica ocurrieron, por lo menos, episodios de introgresión, donde al menos las yeguas salvajes ibéricas estuvieron involucradas en la formación de las poblaciones domésticas ibéricas. En la actualidad, este haplogrupo está representado por muy pocos caballos, por lo que sugerimos el desarrollo de programas de gestión del patrimonio genético caballar ibérico que contemplen, al menos, al haplogrupo Lusitano C.

A partir de la distribución holocena del haplogrupo A-B en Europa y en la península ibérica, proponemos que este haplogrupo entró en Iberia a partir del Bronce medio con caballos domésticos procedentes de Europa. Consideramos al Bronce medio como la etapa cultural donde ya había caballos domésticos en Iberia, al menos por aporte de efectivos foráneos.

El análisis del haplogrupo L propone que la evidencia segura más antigua de su presencia en Iberia corresponde a la Edad del Hierro. Las evidencias más antiguas de este haplogrupo en el resto de Eurasia proceden de poblaciones europeas de la Edad del Bronce y asiáticas de la Edad del Hierro. Por estos motivos, se ha considerado que el haplogrupo L entró en Iberia con caballos domésticos durante la segunda mitad de II milenio aC o comienzos del I milenio aC.

Además, en los análisis genéticos sobre los caballos de Sorraia no se han encontrado muestras antiguas ibéricas en ninguno de los tres haplotipos de esta raza. Considerando los

haplogrupos a los que pertenecen estos haplotipos proponemos para Sorraia un origen foráneo, entrando en Iberia con caballos domésticos a partir de la Edad del Hierro.

Asimismo, hemos estudiado la fluctuación del tamaño efectivo de las poblaciones de los caballos ibéricos durante los últimos 50.000 años. Los análisis llevados a cabo con el estimador de verosimilitud marginal *Stepping Stone*, no permiten afirmar que las poblaciones de caballos ibéricos hayan experimentado cambios significativos en el tamaño efectivo poblacional durante este marco temporal.

En los estudios con *Equus hydruntinus* ibéricos, la mayoría de restos faunísticos asociados a este taxón han ofrecido ADN mitocondrial de caballo, poniendo de manifiesto la dificultad de adscribir correctamente restos faunísticos a *Equus hydruntinus*. Además, varios restos fósiles asociados a *Equus hydruntinus* por su tamaño pequeño han ofrecido ADN de caballo. Por este resultado proponemos que hay que ampliar el rango inferior de variación de tamaño de los restos faunísticos de *Equus ferus/Equus caballus* ibéricos.

La única muestra morfológicamente determinada como *Equus hydruntinus* y de la que se ha obtenido ADN no asociado con caballos, pertenece filogenéticamente al subgénero *Hemionus*. Este resultado apoya la propuesta de que *Equus hydruntinus* sea en realidad una subespecie de *Equus hemionus*, denominándose *Equus hemionus hydruntinus*.

Por último, los análisis filogenéticos del ADN mitocondrial del *Equus hydruntinus* de la Edad del Bronce de El Mirador de Atapuerca lo asocian con caballos y, en concreto, con el haplogrupo Lusitano C. Además, estos resultados apoyan la propuesta de que *Equus hydrutinus* no formó parte de las listas faunísticas del Holoceno ibérico.

ABSTRACT

The development of human societies, especially in Europe, depended on main six domestic animals: dog, cattle, goat, sheep, pig and horse. Horses were the last to be domesticated, triggering the development of those societies that had access to domestic horses.

The first domestic horses appeared in the Eurasian steppes ~5000 years ago. Several studies have suggested that, in addition to this main focus of domestication, there were other areas in Eurasia where local wild horse populations could be domesticated or, at least, wild individuals were incorporated to the domestic populations coming from other places. It has been suggested that the Iberian Peninsula could be an alternative horse domestication centre, and this hypothesis has been studied from different disciplines.

Mitochondrial DNA is a molecular marker widely used in horse domestication studies. Up to 18 haplogroups have been differentiated in modern horses. They have been mainly interpreted as different domestication events or, at least, introgression episodes. The frequency of D1 haplogroup (now included in L haplogroup) among modern Iberian horses, horses of Iberian origin and those from North Africa has been highlighted. This haplogroup has been considered an evidence of a domestication event occurred in North Africa or the Iberian Peninsula.

In addition, Iberian breeds have been screened looking for the ancestors of the Iberian domestic horses, and the Sorraia horses have been considered as close relatives of the wild horses domesticated in Iberia.

This PhD Thesis has tested the hypothesis about the Iberian wild horses contribution to the origin of the modern Iberian horse domestic stock. We have analyzed ancient mitochondrial DNA from Pleistocene and Holocene Iberian horse remains. Furthermore, this research has also studied the phylogenetic relationships between *Equus ferus*/*Equus caballus* and Iberian *Equus hydruntinus* specimens. We have assessed the *Equus hydruntinus* taxonomic association complexity and further, the potential survival of *Equus hydruntinus* in Iberia until de Bronze Age.

This research was carried out analysing 225 equid remains from 20 Iberian sites, with chronologies associated to the Upper Pleistocene and different Holocene cultural periods.

Mitochondrial DNA was recovered from 86 fossil or subfossil remains coming from 11 sites, and with chronologies expanding the last 50,000 years. Moreover, these samples have been compared with more than 2000 ancient and modern Iberian and non-Iberian samples.

Regarding the hypothesis of the Iberian Peninsula as an alternative focus for horse domestication, different haplogroups have been identified between the Pleistocene and Holocene Iberian horses, pinpointing the importance of the Lusitano C haplogroup. During the Holocene, Lusitano C haplogroup has been documented exclusively in ancient and modern Iberian populations. Lusitano C haplogroup ancient samples have been detected in different cultural periods, from Mesolithic/Neolithic to Middle Bronze Age. They were associated to wild horse populations as well as with horses that could already have the domestic status. Additionally, Lusitano C haplogroup modern samples come from Iberian horses and horses of Iberian origin. These evidences confirm that, at least, introgression occurred in the Iberian Peninsula with the wild mares involved in the makeup of the Iberian domestic populations. Today, this haplogroup is represented by very few horses. For this reason, we suggest to develop management programs to preserve the Iberian horse genetic heritage including, at least, the Lusitano C haplogroup.

Taking into account the European and Iberian A-B haplogroup Holocene distribution, we propose that this haplogroup entered from Europe to Iberia with domestic horses during the Middle Bronze Age. This proposal considers the presence of Iberian domestic horses at least since the Middle Bronze Age, by foreign domestic horse contribution.

This research has shown that the oldest reliable evidence of L haplogroup in Iberia comes from the Iron Age. In addition, the oldest L haplogroup evidences in the rest of Eurasia have been detected in Bronze Age East European populations and Iron Age Asiatic ones. For this reason, we suggest that L haplogroup entered in Iberia with domestic horses during the second half of the 2nd millennium BC or the beginning of the 1st millennium BC.

No ancient Iberian samples have been found in any of the three Sorraia breed haplotypes. Considering the haplogroups where they are included, we propose that the Sorraia horses have an allochthonous origin to the Iberian Peninsula, entering to Iberia with domestic horses at least since the Iron Age.

We have reconstructed the demographic history and fluctuation of the Iberian horse effective population size during the last 50,000 years. The Stepping Stone marginal likelihood

estimator model selection results have not shown significant size changes in the Iberian horse populations during this temporary framework.

With regard to Iberian *Equus hydruntinus*, almost all the faunal remains associated to this taxon have yielded horse mitochondrial DNA. These results highlight the complexity of a proper determination of *Equus hydruntinus* remains. In addition, several fossil remains associated to *Equus hydruntinus* using their small size as a criteria, have offered horse mitochondrial DNA. For this reason, we propose that the lower range of size variation of Iberian *Equus ferus*/ *Equus caballus* faunal remains must be enlarged.

Only one sample, morphologically determined as *Equus hydruntinus,* yielded DNA not related with horses. Phylogenetic analyses assigned the sample to the subgenus *Hemionus*. This result supports the proposal that *Equus hydruntinus* is, indeed, a subspecies of *Equus hemionus*, being called *Equus hemionus hydruntinus*.

Finally, the mitochondrial DNA phylogenetic analyses of the Bronze Age *Equus hydruntinus* sample from El Mirador (Atapuerca), cluster this sample with horses, specifically with Lusitano C haplogroup. This results support the proposal that *Equus hydrutinus* was not part of the Iberian Holocene faunal complex.

NOTAS

Sobre la nomenclatura taxonómica utilizada en esta investigación

En relación a esta investigación, y con la finalidad de ser lo más objetivos posibles, los restos faunísticos identificados paleontológicamente como de caballos salvajes, se han definido taxonómicamente como *Equus ferus* (Boddaert, 1785). Además, esta denominación se ha hecho extensible para todos los trabajos que hemos utilizado de comparativa, donde al tratar al caballo salvaje se lo había denominado como *Equus caballus*. Asimismo, todos los restos faunísticos asociados a caballos salvajes que se han publicado como *Equus caballus* y nosotros hemos podido analizar genéticamente, aparecen en esta investigación catalogados como *Equus ferus*.

De este modo, en nuestra investigación la denominación de *Equus caballus* (Linnaeus, 1758), ha quedado restringida para aquellos individuos que pertenecen a la forma doméstica.

En cambio, no hemos modificado los nombres que otros autores utilizaron en sus trabajos. La nomenclatura de las especies, subespecies, variedades, tipos o formas se presenta como ellos las publicaron.

Además, aquellos restos que no se ha podido diferenciar como salvajes o domésticos, aparecen definidos como *Equus* sp.

La denominación de *Equus* sp también se ha utilizado en aquellos restos donde no se ha podido diferenciar con seguridad el caballo (ya bien sea salvaje o doméstico) de otro taxón. Esta circunstancia ha ocurrido analizando colecciones faunísticas donde era posible encontrar restos asociados a *Equus ferus* / *Equus caballus*, *Equus hydruntinus* o *Equus asinus*.

En los casos en los que nosotros hemos diferenciado los restos para utilizarlos en esta investigación, la diferenciación taxonómica se ha realizado siguiendo principalmente criterios morfológicos. Con algunos restos también se han llevado a cabo análisis biométricos, pero estos análisis no se han realizado de manera generalizada por dos motivos. En primer lugar porque quedaban fuera del ámbito de actuación de esta investigación y, en segundo lugar,

porque estos análisis han formado o forman parte de otras investigaciones con las que nuestro estudio intenta complementarse.

La mayoría de los restos faunísticos que se han analizado son restos de dentición. En el Capítulo 7: *Material y Métodos,* se presentan los criterios morfológicos que se han tenido en cuenta para diferenciar taxonómicamente los restos analizados.

Sobre la calibración de las fechas por radiocarbono

Siempre que ha sido posible, las fechas radiométricas obtenidas de las publicaciones consultadas se han ofrecido en años calibrados BP y aC. La calibración se ha realizado a 2σ utilizando la curva de calibración IntCal 13 del programa informático OxCal 4.2 de análisis de información cronológica (Bronk, 1995; Reimer, 2013). Este programa informático se encuentra accesible a partir del recurso electrónico (https://c14.arch.ox.ac.uk).

Hemos realizado estas calibraciones para una mejor comparación de los resultados con la literatura asociada a patrones de migraciones humanas y actividades antrópicas a partir de Neolítico, que suelen discutir sus resultados utilizando años calibrados (Sommer *et al*., 2011).

Sobre la nomenclatura de los haplogrupos

Durante los últimos 20 años se han propuesto varias nomenclaturas para diferenciar a los haplogrupos identificados en las filogenias de caballos y su utilización ha originado confusión en los resultados publicados en distintos trabajos. Vilà *et al.* (2001) presentó una nomenclatura que fue modificada por Jansen *et al.* (2002) al publicar el primer estudio metapoblacional sobre la diversidad mitocondrial de los caballos. El análisis de la región control del ADN mitocondrial de más de 600 caballos permitió distinguir hasta 17 haplogrupos diferentes (Jansen *et al*., 2002). Sin embargo, posteriores estudios, también centrados en el análisis de la región control del ADN mitocondrial, definieron una nueva nomenclatura (Cieslak *et al*., 2010). Estas nomenclaturas se vieron posteriormente modificadas por el estudio filogenético de Achilli *et al.* (2012), donde se presenta una nueva filogenia con 18 haplogrupos basada, esta vez, en mitogenomas completos. Achilli *et al*. (2012) desaconsejaron la utilización de la nomenclatura de Cieslak *et al.* (2010), pero estudios posteriores han continuado utilizándola (Matoso Silva *et al*., 2015; Elsner *et al.*, 2016).

En este trabajo de investigación hemos utilizado las nomenclaturas de Jansen *et al.* (2002) y Achilli *et al*. (2012). La nomenclatura de Jansen *et al*. (2002) se ha utilizado por ser la primera definida a partir de un estudio global con gran cantidad de individuos. La nomenclatura de Achilli *et al*. (2012) se ha utilizado por ser la obtenida a partir de mitogenomas completos, y considerarla susceptible de no ser modificada por trabajos posteriores.

En los gráficos de redes y análisis filogenéticos hemos utilizado ambas nomenclaturas de manera conjunta y aparecen detalladas como Jansen/Achilli. Con estas nomenclaturas hemos podido identificar todos los haplogrupos definidos previamente en Jansen *et al.* (2002) y Achilli *et al.* (2012). Una vez definidos los haplogrupos con las nomenclaturas Jansen/Achilli, en posteriores estudios de distribución de haplogrupos por poblaciones o de Análisis de Componentes Principales, hemos utilizado únicamente la nomenclatura de Achilli *et al*. (2012). La razón de utilizar solamente una nomenclatura en estos análisis ha sido la de ofrecer una mayor claridad expositiva de los resultados.

ABREVIATURAS

^{14}C: Carbono 14.

aC.: Antes de Cristo.

ACT: Tiempo de Autocorrelación (*Auto-correlation time*).

AD: *Anno Domini.*

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

ADNmt: ADN mitocondrial.

AICc: Criterio de Información de Akaike corregido (*corrected Akaike Information Criterion*).

ARN: Ácido ribonucleico.

ARNr: Ácido ribonucleico ribosómico.

ARNt: ARN de transferencia.

b2k: Before 2000.

BF: Factores Bayes (*Bayes Factor*).

BLM: *Boreau of Land Managenement*.

BP: Antes del presente (*Before Present*).

BSA: Albúmina de Suero Bovino (*Bovine Serum Albumin*).

BSP: *Bayesian Skyline Plot*.

cal.: Calibrado.

Da: Dalton.

ddH_2O: Agua desionizada.

dNTPs: Desoxirribonucleótidos trifosfato.

dP: Premolar decidual.

DRT: Prueba de aleatorización de fechas (*Date Randomization Test*).

EDTA: Ácido etildiaminotetraacético (*Ethylenediaminetetraacetic acid*).

EIA: Equipo de Investigación de Atapuerca.

GI: *Greenland Interstadial.*

GISP: *Greenland Ice Sheet Project*.

GMRF: Campo aleatorio de Markov Gausiano (*Gaussian Markov Random Field*).

GRIP: *Greenland Ice Core Project.*

GS: *Greenland Stadial.*

GTR: *General Time-Reversible.*

H_2O: Agua.

HCl: ácido clorhídrico.

HKY: Hasegawa, Kishino y Yano.

HMA: *Herd Management Areas*.

HME: *Posterior harmonic mean estimator*.

HPD: Máxima Densidad Posterior (*Highest Posterior Distribution*, también referido como *Highest Posterior Density*).

HVR-I: Región Hipervariable I (*Hypervariable Region I*).

IB: Inferencia bayesiana.

IRSL: Luminiscencia Estimulada por Infrarrojos (*Infrared Stimulated Luminiscence*).

JC: Jukes y Cantor.

K80: Kimura 80.

Kb: Kilobases.

LSI: Índice de tamaño logarítmico (*Logarithmic Size Index*).

M: Molares.

MCMC: *Markov Chain Monte Carlo*.

MEP: *Measurably Evolving Population*.

Mg: miligramos.

$MgCl_2$: Cloruro de Magnesio.

MIS: Estadio Isotópico Marino (*Marine Isotope Stage*).

ml: Mililitros.

ML: Máxima Verosimilitud (*Maximum Likelihood*).

mm: Milímetros.

mM: Milimolar.

msnm: Metros sobre el nivel del mar.

N: Nitrógeno.

Ne: Tamaño efectivo de la población.

NGRIP: *North Greenland Ice Core Project.*

nm: Nanómetros.

NMI: Número Mínimo de Individuos.

NR: Número de Restos.

OSL: Luminiscencia ópticamente estimulada (*Optically stimulated luminiscence*).

P: Premolares.

pb: Pares de bases.

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa (*Polymerase Chain Reaction*).

PS: *Path Sampling*.

rpm: Revoluciones por minuto.

SH-aLRT: *Shimodaira – Hasegawa approximate likelihood ratio test*.

SS: *Stepping Stone*.

TAE: Tris-Acetato-EDTA.

Taq: contracción formada a partir del nombre de la bacteria *Thermus aquaticus*.

TBE: Tris-Borato-EDTA.

TIM: Transitional model.

TMRCA: Momento del ancestro común más reciente (*Time to the Most Recent Common Ancestor*).

TPM: 3-parameter model.

TrN: Tamura y Nei.

TVM: Transversional model.

U: Ultravioleta.

IUCN: Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (*International Union for Conservation of Nature*).

μg: Microgramos.

μl: Microlitros.

V: Voltios.

CAPÍTULO 1

—Sí. Aldebarán, es el más rápido. Pero ¿qué me dices del más lento?

—Éste —y Ben-Hur señaló con las riendas a Antarés—. Mas él será el que gane, porque, ¡oh jeque!, éste estaría corriendo todo el día sin descanso y, cuando el Sol se pusiera, alcanzaría, al caballo más veloz.

Lewis Wallace. *Ben-Hur*

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

El estudio sobre el origen de los animales domésticos es un área de investigación que ha despertado mucho interés por distintos motivos (Diamond, 2002; Zeder, 2008). Los animales domésticos forman parte de un conjunto de cambios novedosos que marcaron el devenir de los grupos humanos que tuvieron la capacidad de sacar provecho de esos animales. De hecho, se ha considerado a la domesticación de animales y plantas como uno de los grandes hitos en la historia de la humanidad.

A partir del estudio de los restos faunísticos que aparecen asociados a las ocupaciones humanas, se obtiene una información muy valiosa sobre esas sociedades; permiten conocer lo que comían y, la importancia que tenían ciertos animales en cuestiones sociales o incluso religiosas, relevantes para entender a esas poblaciones humanas (Zeder, 2015).

El desarrollo de las sociedades humanas, sobre todo en Europa, se sustentó en la explotación de seis especies principales de animales domésticos: el perro y los ganados vacuno, caprino, ovino, porcino y caballar. El caballo fue el último animal que se domesticó (Clutton Brock, 1992; 1999).

A lo largo de la historia reciente de la humanidad, el caballo ha servido para multitud de tareas. Se utilizó, y todavía hoy se explota como fuente de alimento y, además, influyó de manera decisiva en el desarrollo de las comunicaciones. En algunas sociedades formaba parte de su universo religioso y, además, ha aparecido estrechamente asociado a ciertos rituales funerarios. El caballo ha sido y todavía es considerado un animal de prestigio y, hasta el siglo XX, jugó un papel crucial en el desarrollo de los conflictos bélicos (Quesada, 1997b; Clutton Brock, 1999; Quesada y Gabaldón, 2008; Cai *et al*., 2009).

Los estudios llevados a cabo en relación al origen geográfico de los primeros caballos domésticos han señalado a las estepas eurasiáticas como la zona más probable para este fenómeno (Anthony, 2007). Destaca Botai (Kazajistán) por ser el yacimiento con las evidencias más antiguas de caballos domésticos (Outram *et al*., 2009, Ludwig *et al*., 2009). Se ha propuesto que este evento tuvo lugar hace unos 5000 años, miles de años después que los eventos de domesticación de los otros animales comentados (Outram *et al*., 2009, Ludwig *et al*., 2009). En el capítulo 2 de esta investigación se detallan estos estudios con más profundidad.

Mientras que la información sobre el origen de la domesticación del caballo cada vez parece más sólida, los datos sobre el origen de los primeros caballos domésticos europeos son muy escasos. Por un lado, se ha planteado la posibilidad de un "origen único": los caballos domésticos llegaron a Europa procedentes del Este. Por otro lado, se ha propuesto un "origen multirregional" donde, además del principal foco de domesticación en las estepas euroasiáticas, los caballos de otras regiones también hubieran estado involucrados en el proceso de domesticación (Warmuth *et al.*, 2011). Ha habido investigadores que han propuesto a la península ibérica como un foco de domesticación de caballos y, desde hace décadas, se buscan evidencias de esta domesticación alternativa, analizando los restos faunísticos procedentes de los yacimientos ibéricos (Uerpmann, 1990). En el capítulo 2 se ofrece información detallada sobre los primeros caballos domésticos, el capítulo 3 desarrolla las características de las poblaciones de caballos salvajes ibéricas a finales del Pleistoceno y en el capítulo 4 se describen los estudios realizados con restos faunísticos que han servido para proponer la presencia de caballos domésticos en Iberia a partir de determinados momentos culturales.

En relación a los estudios zooarqueológicos sobre la domesticación del caballo, es interesante resaltar que ninguno de los caracteres que se utilizan tradicionalmente en el estudio de los orígenes de domesticación de otros animales se puede aplicar al estudio del caballo. No hay caracteres morfológicos claros que se puedan usar para diferenciar caballos domésticos de caballos salvajes (Zeder, 2012).

Cuando los taxones de estudio ofrecen estas dificultades, se han desarrollado alternativas para estudiar indicios de domesticación, centradas en el análisis de evidencias indirectas (Levine, 2004; Castaños, 2005b). Es posible encontrar evidencias de animales domésticos estudiando el aprovechamiento diferencial que los grupos humanos hacían sobre ellos. Una vía para obtener información de este tipo ha consistido en analizar los perfiles demográficos de los animales recuperados en los yacimientos. Pero en el caso del caballo, tampoco hay perfiles demográficos diferenciales que permitan distinguir patrones de gestión de caballos domésticos en relación a los patrones de los caballos salvajes (Zeder, 2012). Por estos motivos, la determinación de caballos domésticos se ha llevado a cabo estudiando la mayor cantidad de evidencias posibles especialmente para restos calcolíticos y, en general, para épocas posteriores (Morales y Liesau, 1995; Liesau, 1998). Se analiza la abundancia de restos, la abundancia porcentual del peso de este taxón comparado con otros taxones domésticos presentes en la muestra y su relación con el patrón de aprovechamiento. Además,

siempre que ha sido posible, estos análisis se han complementado con estudios de perfiles demográficos y de distribución de sexos, y se han estudiado también determinadas patologías que pueden estar relacionadas con el uso de bocados o con el uso de estos animales como bestias de carga (Levine, 2004; Anthony, 2007). En el capítulo 4 se detallan los análisis efectuados con los restos faunísticos de distintos yacimientos ibéricos, y que han servido para obtener conclusiones de su condición doméstica o salvaje.

Se ha sugerido que los caballos domésticos aparecieron en Iberia en algún momento comprendido entre el Neolítico final, el Calcolítico o la Edad del Bronce (Juan-Cabanilles y Martínez Valle, 1988; Pérez Ripoll, 1990; Castaños, 2005b; Martínez Valle *et al*., 2016) por lo que la horquilla temporal que barajamos supera los 1000 años. Además, hay algunos estudios que han sugerido la posibilidad de que los caballos domésticos se originaran a partir de poblaciones de caballos salvajes ibéricos. Es decir, que se hubieran domesticado de manera independiente a los episodios ocurridos en las estepas euroasiáticas (Uerpmann, 1990). Esta es una hipótesis muy sugerente. De ser cierta, añadiría más complejidad al ya, de por sí, difícil análisis del origen de la domesticación del caballo. Para contrastarla ha sido necesario encontrar nuevas evidencias y, desde otras disciplinas como la genética, se han aportado resultados altamente significativos (Jansen *et al*., 2002; Lira *et al*., 2010; Cieslak *et al*., 2010; Warmuth *et al*., 2011). En el capítulo 6 presentamos las características de los análisis genéticos realizados con ADN mitocondrial en poblaciones de caballos modernos, su interpretación en relación a los estudios de domesticación y, además, se detallan los estudios realizados con ADN mitocondrial antiguo en caballos ibéricos. Introducimos resumidamente estos conceptos en los siguientes párrafos.

En el campo de la genética, el ADN mitocondrial ha sido uno de los marcadores moleculares más ampliamente utilizados en los estudios sobre los procesos de domesticación animal (Troy *et al*., 2001; Bruford *et al*., 2003). Con respecto a los estudios sobre caballos domésticos, numerosos análisis sobre las razas actuales han documentado una gran diversidad mitocondrial. Esta característica se ha encontrado, por ejemplo, entre los caballos de raza Árabe, los caballos de raza Cheju, el Pura Sangre Inglés, el Pura Sangre Lusitana o el Pura Raza Español (Bowling *et al*., 2000; Yang *et al*., 2002; Hill *et al*., 2002; Bower *et al*., 2011; Lopes *et al*., 2005; Royo *et al*., 2005), entre otros.

El análisis del ADN mitocondrial de más de 600 individuos de, por lo menos, 25 razas distribuidas por todo el mundo, ha demostrado que en el proceso de domesticación del caballo estuvieron involucradas una gran cantidad de líneas maternas. Se han llegado a

diferenciar, como mínimo, hasta 17 haplogrupos distintos (Jansen *et al*., 2002). Estos haplogrupos se han interpretado como diferentes eventos de domesticación o, al menos, eventos de introgresión (Larson y Burger, 2013; Larson y Fuller, 2014).

La gran diversidad mitocondrial que presentan los caballos domésticos actuales provoca que las asociaciones filogeográficas de las razas sea una tarea bastante complicada, imposible de diferenciar en muchos casos (Jansen *et al*., 2002). No obstante, para algunos haplogrupos sí se han podido delimitar áreas geográficas concretas donde proponer posibles eventos de domesticación. Es el caso del haplogrupo mitocondrial D1 (integrado en la última propuesta de nomenclatura dentro del haplogrupo L en Achilli *et al*., 2012). El haplogrupo D1/L engloba a animales de diferentes razas, la mayoría procedentes del norte de África, de la península ibérica, o razas americanas de origen ibérico (Jansen *et al*., 2002; Lopes *et al*., 2005; Royo *et al*., 2005). Aunque se han diferenciado otros haplogrupos con caballos de origen ibérico, la mayoría se distribuyen en el haplogrupo D1/L. De este modo se ha propuesto a este haplogrupo D1/L como el reflejo de un evento de domesticación que podría haber ocurrido en el norte de África o en la península ibérica (Jansen *et al*., 2002).

También se ha buscado a los ancestros de los caballos domésticos ibéricos examinando razas locales y, se ha propuesto a la raza portuguesa de Sorraia como un posible candidato. A partir de las características fenotípicas de los caballos de Sorraia, se ha sugerido que pudieran ser los antepasados de algunas razas ibéricas (D'Andrade, 1945).

En la búsqueda de evidencias sobre la domesticación del caballo en la península ibérica los análisis con ADN mitocondrial antiguo también han aportado información. Hasta la fecha, se han publicado cuatro estudios sobre este tema (por orden cronológico de publicación: Seco Morais *et al*., 2007; Lira *et al*., 2010; Cieslak *et al*., 2010; Matoso *et al.,* 2015). El trabajo de Lira *et al.* (2010) ha sido publicado dentro del marco de investigación del presente trabajo, utilizando material de cronologías neolíticas, de la Edad del Bronce y Edad Media, y se desarrolla en los respectivos apartados.

Durante el Pleistoceno superior los caballos salvajes compartieron el territorio europeo con otro équido, definido como *Equus hydruntinus* (Azzaroli, 1992), especie extinta hoy en día. Este équido ha presentado varios problemas a la hora de su correcta identificación en las colecciones de restos fósiles, lo que provoca que, en ocasiones, se asocien a esta especie restos faunísticos de caballos o incluso de otros équidos (Bennett *et al*., 2017). Los estudios de los últimos años proponen para *Equus hydruntinus* un patrón de extinción temporal en función

de las diferentes zonas geográficas donde habitó. De manera general, algunos autores han presentado evidencias de su permanencia hasta la Edad del Hierro (Crees y Turvey, 2014). Para el caso de Iberia, se ha propuesto que *Equus hydruntinus* habría sobrevivido, por lo menos, hasta la Edad del Bronce (Martín *et al*., 2014). Pero además, otros autores han sugerido que este taxón podría haber perdurado en suelo ibérico hasta el siglo XVI o incluso el siglo XVII (Terrón, 1987; Cebrián y Cano, 1992). Estas son las fechas que se han propuesto para la extinción de un équido ibérico que se denominó con el nombre de *cebro*; mientras que para algunos autores los cebros serían una variante de caballos salvajes o asilvestrados, otros autores consideran que los cebros podría ser la evidencia de los últimos *Equus hydruntinus* europeos (Terrón, 1987; Cebrián y Cano, 1992). El capítulo 5 presenta las características de *Equus hydruntinu*s, su área de distribución y patrón de extinción y, además, describe de manera detallada las evidencias que han sustentado la persistencia del cebro ibérico en la península ibérica hasta tiempos históricos. En el capítulo 6 describimos los análisis previos realizados con ADN mitocondrial.

OBJETIVOS

Los objetivos principales de esta investigación son los siguientes:

A. Estudiar con ADN mitocondrial antiguo la hipótesis que propone a la península ibérica como un área donde las poblaciones de caballos salvajes locales se domesticaron de manera alternativa al foco principal de domesticación de las estepas euroasiáticas.

B. Analizar con ADN mitocondrial la hipótesis que propone que *Equus hydruntinus* perduró en la península ibérica, por lo menos, hasta la Edad del Bronce.

Estos objetivos principales se van a desarrollar trabajando sobre los siguientes objetivos específicos:

A. Hipótesis de la domesticación del caballo en la península ibérica:

1. Investigar la antigüedad del haplogrupo D1 (integrado en el haplogrupo L) en la península ibérica.

2. Examinar la hipótesis de la raza Sorraia como tipo ancestral de algunas razas ibéricas modernas.

3. Explorar la existencia de otras posibles líneas maternas involucradas en la domesticación del caballo en Iberia que no se hayan considerado previamente con ADN moderno.

4. Analizar la variabilidad genética de líneas maternas de caballos pleistocenos y holocenos ibéricos.

5. Estudiar la dinámica en las fluctuaciones del tamaño efectivo de las poblaciones de caballos pleistocenos y holocenos ibéricos de los últimos 50.000 años.

B. Hipótesis de la persistencia de Equus hydruntinus en Iberia por lo menos hasta la Edad del Bronce:

1. Caracterizar el ADN mitocondrial de individuos pleistocenos ibéricos de la especie *Equus hydruntinus*, y realizar un análisis filogenético con estos especímenes.

2. Examinar la hipótesis de la persistencia de *Equus hydruntinus* en Iberia en momentos holocenos.

Para desarrollar estos objetivos, en esta investigación se han analizado 225 restos de équidos de 20 yacimientos ibéricos, con unas cronologías que abarcan desde finales del Paleolítico Medio hasta la Edad Media. En los capítulos 7 y 8 se detallan las características de los yacimientos, de las muestras utilizadas, los protocolos desarrollados para extraer y analizar el material genético y los resultados obtenidos. La discusión de los resultados y las conclusiones de esta investigación se describen en los capítulos 9 y 10.

CAPÍTULO 2

La primera frase es fundamental. Lo sabía intuitivamente y porque había estudiado los manuscritos de tiempos pasados. Qué bien lo habían comprendido los antiguos, cómo se esmeraban en la elección del comienzo de sus obras, con cuánta facilidad debía de progresar su trabajo una vez adoptada esa decisión. ¿Por dónde empezar? ¿Cómo comenzar?

Tariq Ali, *Un sultán en Palermo*

2. LA DOMESTICACIÓN DEL CABALLO

2.1. La domesticación animal

Se ha considerado a la domesticación de animales y plantas como uno de los grandes hitos en la historia de la humanidad (Larson y Burger, 2013). Las sociedades humanas que han basado su economía en los animales domésticos y en el desarrollo agrícola han experimentado un cambio radical, que ha ido acompañado de alteraciones en la biodiversidad a escala global (Zeder, 2008; Larson y Fuller, 2014). El *origen de la domesticación* es un área de investigación que ha recibido durante los últimos años una especial atención y una creciente actividad científica desde varias perspectivas: paleontología, arqueología, antropología, ciencias ambientales, botánica, zoología y genética (Larson y Burger, 2013).

Es posible encontrar en la literatura muchas definiciones sobre domesticación y organismos domésticos. No obstante, algunos autores han considerado una tarea difícil la de formular una definición de domesticación que contemple todos los aspectos de este proceso. Esta tarea no ha resultado ser sencilla, porque en la actualidad, aunque hay muchas definiciones, no hay consenso sobre cómo definir *domesticación*. Mientras que están claros los roles de los organismos que están involucrados (domesticador y domesticado), no hay un acuerdo sobre el tipo de relación que este concepto implica, y cómo y cuándo aparece una planta o animal domesticado (Larson y Burger, 2013; Zeder, 2015).

Normalmente el concepto de domesticación se ha desarrollado desde la perspectiva del domesticador, enfatizando el agente antrópico que separa a un individuo de su población natural, y asumiendo una acción significativa en todos los ciclos de su vida. Para el profesor J.L. Arsuaga, la domesticación se caracteriza por el control de la reproducción, con el objetivo de potenciar cualquier rasgo fisiológico o fenotípico de interés para el grupo humano que está explotando a esa población (J.L. Arsuaga, comunicación personal). El concepto de la domesticación se ha desarrollado también como una relación de simbiosis, con un beneficio sobre el domesticador y el organismo domesticado. Otras definiciones han desarrollado este concepto centrándose en las modificaciones fenotípicas y su base genética. En ocasiones se ha definido la domesticación dándole más importancia a las relaciones generadas entre los grupos humanos y los organismos domesticados, que a los efectos que se pueden producir por

la domesticación en sí misma (Reed, 1984; Gautier, 1998; Ervynck *et al.,* 2001; Zeder, 2012; Larson y Burger, 2013; Zeder, 2015).

Frente a esta disparidad de definiciones, recientemente Zeder (2015) ha propuesto una nueva definición de domesticación: "La *domesticación* consiste en el mantenimiento de una relación mutualista desarrollada a lo largo de generaciones, donde un organismo asume un grado de influencia notable sobre las labores de cuidado y reproducción de otro organismo. En esta relación, el organismo influyente se encarga de proveer de manera eficiente al otro organismo de una serie de recursos. Así, el organismo que recibe los recursos presenta una ventaja respecto a otros organismos de la misma especie que se encuentran fuera del rango de relación con el organismo influyente. De este modo, el organismo domesticador y el domesticado se benefician mutuamente y ambos ven aumentada su eficacia biológica".

Bajo esta definición, debemos destacar que las relaciones coevolutivas que se van generar entre humanos y los organismos que están domesticando van a estar principalmente dirigidas por la mano del hombre. Además, el éxito de estas relaciones estará asociado a la habilidad de estos grupos humanos para desarrollar nuevos comportamientos que maximicen la obtención de un recurso procedente de una planta o animal doméstico. Finalmente, la trasmisión del conocimiento adquirido constituirá una de las etapas más importantes de este proceso (Zeder, 2012).

Los estudios actuales están centrando sus esfuerzos en identificar los impactos producidos en los organismos por la acción de la domesticación, y utilizarlos como marcadores del *tempo* y el *modo* en el que se produjo este proceso. Uno de los principales impactos de la domesticación son las respuestas genéticas, que se producen como resultado de la acción de factores que generan presión de selección. El aislamiento de individuos de sus poblaciones naturales, e incluso trasladarlos de sus hábitats naturales a otros diferentes, son procesos que van a estar asociados inherentemente a la deriva génica y al efecto fundador (Zeder, 2015).

A su vez, estas respuestas genéticas dirigen cambios fenotípicos sobre la morfología, la fisiología o el comportamiento de estos nuevos organismos domésticos. Muchos estudios sobre domesticación se han centrado en identificar supuestos rasgos fenotípicos asociados a procesos de domesticación, y han intentado entender cuándo empezaron a reflejarse en los individuos domésticos. Se ha argumentado que uno de los primeros impactos fenotípicos ocurridos entre los animales estuvo asociado a sus pautas de comportamiento, de manera que pudieran adaptarse mejor al entorno humano. La búsqueda del origen de este tipo de

impactos fenotípicos es muy complicada. Uno de los principales problemas en los estudios zooarqueológicos, es que muchos de estos rasgos no están disponibles en el registro arqueológico, y por lo tanto no se pueden analizar macroscópicamente (Zeder, 2015), pero desde hace muy poco, pueden abordarse desde una perspectiva molecular (Schubert *et al*., 2014). Otros rasgos macroscópicos, en cambio, se reflejan en modificaciones de la estructura ósea, como la reducción del tamaño del cerebro, o la persistencia de características morfológicas juveniles en individuos adultos, y se han utilizado como marcadores de evidencias de domesticación (Groves, 1994).

A diferencia del perro, el ganado ovino, el caprino, el vacuno, y el porcino, se ha considerado que con el caballo hubo un objetivo deliberado de domesticar a este taxón (Zeder, 2012). Esta consideración descansa en que, las sociedades que domesticaron por primera vez al caballo en las estepas de Asia central, ya disponían de rebaños de cabras y ovejas. A diferencia de otros modelos que explican el inicio de la domesticación de determinados animales como una relación entre taxones salvajes con los grupos humanos debido principalmente a causas accidentales, la domesticación del caballo se intenta explicar bajo un modelo intencionado (Zeder, 2012; Larson y Fuller, 2014).

Se ha considerado que este modelo intencionado fue posterior a otros modelos de domesticación animal donde la interacción inicial con el organismo con potencial para ser domesticado no fue dirigida, no había intención de generar un animal doméstico (Larson y Fuller, 2014). Solamente cuando los grupos humanos integraron a los animales domésticos en sus sociedades, fueron capaces de generar un modelo y un objetivo que podían imaginar al considerar a otros potenciales animales domésticos. Esta propuesta está avalada por el aumento significativo de evidencias de nuevos animales domésticos a partir del Holoceno medio, milenios después de los primeros episodios de domesticación. De hecho, la mayoría de los animales domésticos han aparecido en los últimos siglos, siguiendo un modelo de domesticación dirigida (Larson y Fuller, 2014).

Como se ha comentado anteriormente, uno de los resultados de la domesticación será la aparición de rasgos fenotípicos nuevos, no reconocidos entre las poblaciones salvajes. Fruto de este control humano, un animal doméstico diferirá de su ancestro salvaje en diversos caracteres, como aquellos relacionados con la etología o la morfología, pero no lo suficiente como para no poder cruzarse con sus parientes salvajes siendo capaces, además, de tener descendencia fértil.

Esta circunstancia ha planteado serios problemas en el campo de la taxonomía a la hora de ofrecer un nombre científico para los individuos domésticos y sus parientes salvajes (Groves, 1995; Gentry *et al*., 2004). En ocasiones se ha utilizado el mismo nombre científico para nombrar a individuos salvajes y domésticos, utilizando para este fin el nombre de la forma doméstica. Esto se debe a que, para la mayoría de los animales domésticos, el establecimiento del nombre científico fue anterior al nombre de los animales salvajes (Groves, 1986; 1995).

2.2. Sobre la nomenclatura del caballo

La nomenclatura científica del caballo es complicada, y a menudo se han utilizado nombres diferentes para las mismas poblaciones de caballo (Groves, 1986). *Carolus Linnaeus* asignó al caballo doméstico su nombre científico en 1758 en su obra *Systema Naturae* con la referencia binomial *Equus caballus*. Aunque este nombre ha sido utilizado para referirse indistintamente a los caballos domésticos y salvajes, hay autores que proponen para los caballos salvajes una definición diferente (Groves, 1986). La razón de otorgarle a los caballos salvajes su propio nombre científico está fundamentada en la diferenciación nominal que existe entre varios taxones domésticos y sus correspondientes ancestros salvajes (Gentry *et al*., 2004). Por ese motivo a los caballos salvajes (estrictamente hablando, y no a poblaciones de caballos readaptadas a la vida silvestre) se los ha definido utilizando otras nomenclaturas que, en ocasiones, han dado pie a confusión. En la literatura se han utilizado varios nombres para definir a los caballos salvajes, entre ellos *Equus silvestris*, *Equus ferus*, *Equus gmelini* y *Equus caballus*. Como acabamos de comentar, este último nombre no hace distinción alguna entre las poblaciones de caballos salvajes y las poblaciones domésticas. Por otro lado, los nombres de *Equus ferus* y *Equus gmelini* sí definen a caballos salvajes, pero desde el punto de vista taxonómico únicamente *Equus ferus* tendría validez. La razón se debe a que el nombre *Equus ferus* (Boddaert, 1785) se definió con anterioridad a *Equus gmelini* (Antonious, 1912) (Groves, 1995; Gentry *et al*., 2004).

Tanto *Equus ferus* como *Equus gmelini* se determinaron a partir del mismo material de referencia, un ejemplar de caballo salvaje capturado por el naturalista y explorador germano S.G. Gmelin en 1769 (Zeuner, 1963). La captura del ejemplar tuvo lugar en los alrededores de Bobrowsk o Bobrovsk (la nomenclatura varía ligeramente según las fuentes: Antonius, 1937 o Zeuner, 1963 respectivamente), cerca de Vorónezh (en la parte europea de Rusia). Esta zona

está situada cerca de la frontera con Ucrania (Antonius, 1937). Posteriormente, en 1770 se publicaría un libro sobre las expediciones de S.G. Gmelin por Rusia, donde aparecía la representación de un caballo salvaje (Clutton Brock, 1992). Además, el propio S.G. Gmelin realizó una primera descripción científica del animal, pero la escribió en alemán y no en latín (Uerpmann, 1995). No obstante, P. Boddaert en su obra *Elenchus Animalium* I (1785), tomó como base las descripciones realizadas por S.G. Gmelin para denominar al caballo salvaje como *Equus ferus* (Groves, 1986; Uerpmann, 1995). Posteriormente, y también a partir de la información ofrecida por S.G. Gmelin, el investigador O. Antonius definió en 1912 al caballo salvaje con el nombre de *Equus gmelini*, por desconocimiento del nombre propuesto por P. Boddaert (Groves, 1986; 1994).

Además, Antonius (1937) consideraba que este tipo de caballo podría haber sido el mismo se había documentado en el bosque de Bialowieza (Polonia) y que, a su vez, se había denominado como *Equus silvestris* v. Brincken, o *Equus caballus silvestris* (v. Brincken, 1828) según Zeuner (1963) o *Equus sylvestris* (Brincken, 1826) según Grooves (1994). Se ha propuesto que, de ser cierta la segunda hipótesis, entonces la nomenclatura de v. Brincken tendría preferencia sobre la nomenclatura de O. Antonius, al ser la primera más antigua (Zeuner, 1963). No obstante, la nomenclatura de v. Brincken seguiría siendo a su vez más moderna que la propuesta por P. Boddaert en 1785.

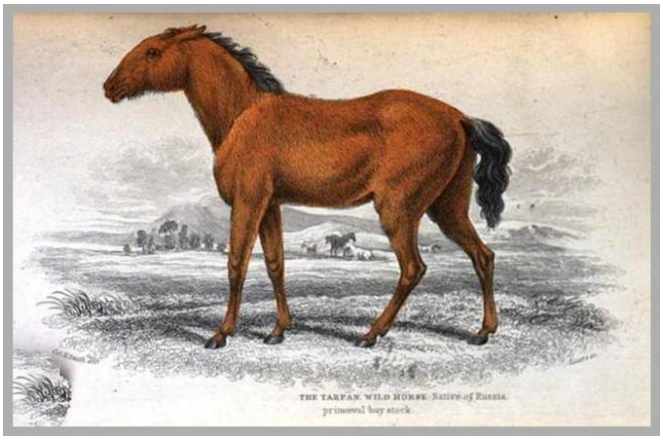


Figura 2.1. ***Representación de un tarpán del siglo XIX*** [Figura tomada de Hamilton Smith (1866)].

Aparte, este tipo de caballo salvaje también se ha denominado con el nombre genérico de *tarpán*. La palabra *tarpán* es de origen turcomano, y era el nombre que utilizaban los pueblos tártaros y cosacos para denominar a los caballos salvajes y diferenciarlos de los caballos asilvestrados (Hamilton Smith, 1866) (Figura 2.1). Sin embargo, el tarpán es un caballo cuyas características se han definido en base a descripciones históricas realizadas por viajeros, y no a partir de una clasificación sistemática biológica (Olsen, 1996). En la actualidad

solamente se conservan los esqueletos de dos especímenes identificados como tarpanes. Ambos individuos murieron en cautividad, el último de ellos en 1884 en Moscú (Figura 2.2). Para algunos autores 1884 es el año que se ha destacado para considerar el momento de extinción de los tarpanes (Olsen, 1996) mientras otros señalan el momento de su extinción en 1918, con la muerte del individuo denominado como tarpán de Dubrowka (Groves, 1994). A partir de las descripciones del caballo de Przewalski realizadas por M. Poliakof en 1881 (ver más adelante), se ha propuesto que la denominación de tarpán sea utilizada únicamente para hacer referencia a las poblaciones extintas de caballos salvajes del oeste de Eurasia.

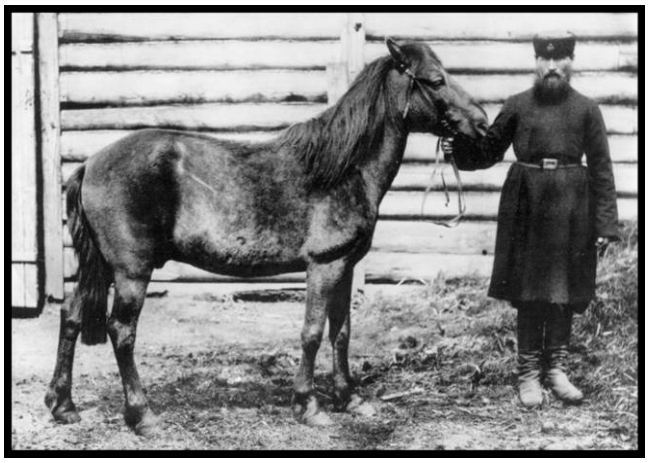


Figura 2.2. ***El tarpán de Cherson o Shatilovski***. Imagen fechada en 1884 de un tarpán del zoológico de Moscú. Está considerada presuntamente como la única foto de un tarpán vivo [Foto tomada de Groves (1994)].

Por otro lado, el caballo de Przewalski ha estado considerado como el único tipo de caballo salvaje que queda vivo en la actualidad (Figura 2.3). Sin embargo, esta visión ha sido recientemente modificada a raíz de un estudio genómico publicado el 23 de febrero de 2018 (Gaunitz *et al*., 2018) que señala a los caballos de Przewalski como caballos asilvestrados originiarios de las primeras poblaciones domésticas, y no como verdaderos caballos salvajes. Este estudio se comentará con más detalle en el apartado *2.4 Los caballos de Przewalski.*

A partir de un cráneo y una piel proporcionada por el coronel ruso de origen polaco N. Przjevalsky, el naturalista ruso M. Poliakof creó el nombre científico de *Equus przewalskii* (Poliakof, 1881).

Se han diferenciado a los caballos salvajes del este de Europa y de las estepas rusas y ucranianas bajo la denominación de *Equus ferus*, *Equus gmelini* y tarpanes por un lado, y a los caballos salvajes de Mongolia bajo el nombre de caballos de Przewalski (Clutton Brock, 1992). Actualmente se utiliza también la denominación de caballo de Przewalski para referirse a las poblaciones extintas de caballos salvajes que habitaron el este de Eurasia. Sin embargo, esta denominación debería dejar de utilizarse, en base a los recientes descubrimientos realizados sobre los caballos de Przwalski, que no los consideran más como verdaderos caballos salvajes.



Figura 2.3. ***Imagen de caballos de Przewalski***. Reserva de Salgüero de Juarros, Burgos (Foto J.L. Arsuaga).

2.3. Los últimos caballos salvajes de Eurasia: los tarpanes

Como hemos comentado en el apartado anterior, los tarpanes se han descrito a partir de un animal capturado por S.G. Gmelin cerca de Vorónezh en la primavera de 1769. El profesor Zeuner (1963) tradujo las anotaciones que hizo S.G. Gmelin sobre sus avistamientos de tarpanes. En éstas, S.G. Gmelin comenta que en los alrededores de Vorónezh había muchos caballos salvajes que durante los últimos años habían sido desplazados hacia las estepas. Cerca de Bobrovsk encontró seis caballos salvajes juntos. Intentó capturarlos con ayuda de campesinos, pero fracasaron. Al día siguiente encontraron varios caballos salvajes dirigidos por un semental, y los persiguieron hasta dar caza y matar al semental. Al tercer día, mataron a otras dos yeguas y capturaron a un potro de un año y a un individuo considerado híbrido.

Aunque no hay una clasificación sistemática biológica de este animal, se ha considerado la posibilidad de que los tarpanes se hubieran adaptado a dos tipos de hábitats, definiéndose de este modo los tarpanes de estepa y los tarpanes de bosque (Groves, 1986; 1994).

Los últimos avistamientos de tarpanes se registraron en regiones de las actuales Polonia y Ucrania (Zeuner, 1963). En Polonia los tarpanes se avistaron en dos localidades: el bosque de Bialowieza en el este del país; y una reserva en el condado de Zamoyski, cerca de Bilgoraj (sudeste de Polonia) (Antonius, 1937; Zeuner, 1963). Se ha considerado que el último avistamiento en el bosque de Bialowieza tuvo lugar a mediados del siglo XVIII, mientras que el último avistamiento en el condado de Zamoyski ocurrió a comienzos del siglo XIX, siendo este parque además el último reducto de caballos en Polonia (Antonius, 1937). Se ha argumentado

que fue el frío la causa principal de la disminución de individuos en la población que habitaba el condado de Zamoyski. Los duros inviernos ocurridos entre 1810 - 1820 produjeron que la población caballar se mermara y que los últimos supervivientes se capturaran y se ofrecieran a los campesinos de las áreas colindantes (Antonius, 1937).

En relación a los tarpanes de la actual Ucrania, se ha documentando ejemplares libres en las estepas de las regiones de Tauria y Cherson (Kherson o Jersón) hasta mediados del siglo XIX (Antonius, 1937), considerándose la desaparición de los últimos tarpanes de las estepas ucranianas en 1851 (Zeuner, 1963). La región de Jersón se encuentra localizada al norte del Mar Negro. En las estepas de Zagradoff localizadas en esta zona, en 1866 entonces bajo influencia rusa, se capturó a uno de los últimos tarpanes que posteriormente sería trasladado al zoológico de Moscú (Figura 2.2).

Por su parte, los últimos caballos salvajes del área de Vorónezh desaparecieron antes de 1800 (Antonius, 1937).

Se ha propuesto que la raza de caballos más emparentados con los tarpanes es la raza Konik originaria de Polonia (Figura 2.4). Históricamente se ha considerado que sus individuos se han cruzado con la población de tarpanes del bosque de Bialowieza (Zeuner, 1963), presuntamente desde 1820 (Groves, 1994).



Figura 2.4. ***Imagen de un caballo de la raza Konik*****.** Reserva de Salgüero de Juarros, Burgos. (Fotografía J.L. Arsuaga).

2.4. Los caballos de Przewalski

Durante los últimos 137 años, los caballos de Przewalski se han considerado como los únicos caballos salvajes que quedan vivos en la actualidad. Sin embargo, un reciente estudio genómico publicado a principios de 2018 ha señalado que los caballos de Przewalski no serían

verdaderos caballos salvajes. En su lugar, propone que este tipo de animales serían caballos asilvestrados que escaparon de las primeras poblaciones domésticas (Gaunitz *et al*., 2018). Este descubrimiento cambia radicalmente la visión que tenemos sobre los caballos de Przewalski. En este apartado presentamos las principales características de los estudios realizados con los caballos de Przewalski. Hemos mantenido su consideración como caballos salvajes hasta el estudio de Gaunitz *et al*. (2018).

A este animal se lo conoce con diferentes nombres. Entre los nombres comunes: caballo de Przewalski, caballo salvaje de Przewalskii, caballo salvaje asiático, caballo salvaje mongol y Takhi. Entre los nombre indígenas: Takh o Takhb (Wakefield *et al*., 2002).

La descripción de este caballo está vinculada con las expediciones de exploración ordenadas por el Zar Alejandro II a finales del siglo XIX. Durante su segunda expedición a Asia Central en 1878, el coronel N. Przjevalsky adquirió un cráneo y una piel de caballo en el puesto fronterizo de Zaisan (cerca de la frontera entre Rusia y la República Popular China). Pertenecían a un caballo que habían abatido a unos 80 km al norte de Gutshen (en la Región autónoma de Xinjiang) (Bouman y Bouman, 1994). Los restos fueron examinados en el Museo de Zoología de la Academia de Ciencias de San Petersburgo por el conservador M. Poliakof, quien concluyó que pertenecían a un caballo salvaje al que denominó *Equus przewalskii* (Poliakof, 1881).

El rango de distribución de este animal comprendió una extensa área esteparia entre Europa y Asia. Se ha considerado que, entre finales del siglo XIX y principios del siglo XX, la distribución del caballo de Przewalski se extendería básicamente por la zona septentrional de la Región autónoma de Xinjiang, en la República Popular China. Se localizó su límite septentrional en el río Urungu. Por el suroeste el rango de distribución llegaría hasta Tian Shan, sistema montañoso localizado entre Xinjiang y los países de Kazajistán y Kirguistán. Únicamente la parte más oriental de su distribución habría llegado hasta Mongolia (Groves, 1994).

Hasta principios del año 2018, se han considerado al caballo de Przewalski como el único tipo de caballo verdaderamente salvaje vivo en la actualidad. Considerando su carácter salvaje, este caballo se ha propuesto como el ancestro directo de los caballos domésticos (Ryder, 1994). El fenotipo del caballo de Przewalski es significativamente diferente del fenotipo de la mayoría de las razas domésticas. Se caracteriza, entre otras cosas, por presentar una estatura más pequeña y una constitución más robusta que la de muchos caballos domésticos (Figura

2.3). Además esta idea se ha visto sustentada con la asociación de morfotipos que han realizado algunos investigadores entre el caballo de Przewalski y los caballos de las representaciones de arte parietal paleolíticas de diversas estaciones europeas (Zeuner, 1963; Groves, 1994). Estas asociaciones han reforzado, a lo largo del siglo XX y comienzos del XXI, la hipótesis del caballo de Przewalski como el antecesor de los caballos domésticos.

Durante el siglo XX su tamaño poblacional empezó a disminuir drásticamente llegando a estar virtualmente extinto en estado salvaje debido a causas antrópicas. El caballo de Przewalski se extinguió en estado salvaje en la década de los 60 del siglo XX (Der Sarkissian *et al*., 2015b). No obstante, los esfuerzos por criarlo en cautividad han resultado exitosos, finalizando con su reintroducción en libertad (Bouman y Bouman, 1994). En la actualidad, las poblaciones de caballo de Przewalski están constituidas por más de 2000 individuos originados a partir de 12 individuos fundadores capturados en las postrimerías del siglo XX, así como de una hembra capturada en 1957 y sus descendientes, donde algunos de éstos eran híbridos con caballos domésticos (Goto *et al*., 2011).

Su posición taxonómica ha resultado ser siempre problemática. En los primeros años del siglo XX, la validez de *Equus przewalskii* fue puesta en duda, ya que se creía que el caballo de Przewalski no era sino un híbrido entre un poni y un kiang del Tibet (*Equus kiang*) o entre un caballo asilvestrado y un asno salvaje (Clutton Brock, 1992).

Mientras que hay autores que lo consideran una especie diferente al caballo doméstico, otros en cambio lo han considerado una subespecie entre los caballos salvajes, denominándolo *Equus ferus przewalskii* (Groves, 1994; Uerpmann, 1995; Clutton Brock, 1999). De ser el caballo de Przewalski una subespecie, el resto de poblaciones de caballos salvajes extintas deberían definirse como *Equus ferus ferus* (Uerpmann, 1995; Clutton Brock, 1987).

Se han realizado múltiples investigaciones con la finalidad de conocer si el caballo de Przewalski es una especie distinta al caballo doméstico o no. Fenotípicamente presenta diferencias con respecto a las razas de caballos domésticos (Poliakof, 1881) y, además, presentan un cariotipo (2*n* = 66) diferente del encontrado entre los caballos domésticos (2*n* = 64), aunque pueden cruzarse entre sí generando descendencia fértil (Benirschke *et al*., 1965).

Se han realizado diversos análisis genéticos que han resaltado la singularidad de este tipo de caballos. El análisis de la región control del ADN mitocondrial no ha mostrado haplotipos compartidos entre el caballo de Przewalski y los caballos domésticos, aunque los haplotipos de Przewalski forman parte de la diversidad general de los caballos domésticos (Vilà

et al., 2001; Jansen *et al*., 2002). Este mismo resultado se ha obtenido analizando mitogenomas completos de caballos modernos, donde los caballos de Przewalski forman parte de un haplogrupo que aparece distruido entre haplogrupos de caballos domésticos (Achilli *et al*., 2012). Por su parte, el análisis del cromosoma Y ha puesto de manifiesto en los caballos de Przewalski una variabilidad no encontrada entre las poblaciones caballares domésticas (Lindgren *et al*., 2004), documentándose en los caballos domésticos unos haplotipos ausentes en el caballo de Przewalski (Wallner *et al.*, 2013). Un reciente estudio realizado sobre genomas completos de caballos de Przewalski ha diferenciado tres linajes mitocondriales y dos haplotipos del cromosoma Y que no se han encontrado en ningún caballo doméstico y tampoco en caballos salvajes de hace ~16.000 años (Der Sarkissian *et al*., 2015b).

Por otro lado, en otros análisis llevados a cabo con secuenciación masiva en paralelo sobre el ADN mitocondrial y nuclear se han ofrecido resultados opuestos, no sustentando la hipótesis de los caballos de Przewalski como ancestros de los caballos domésticos (Goto *et al*., 2011).

En un esfuerzo por comprender la historia evolutiva de los caballos de Przewalski y sus relaciones filogenéticas, un reciente estudio genético analizó genomas completos de estos animales y los comparó con los genomas de caballos domésticos y caballos salvajes de finales del Pleistoceno (Der Sarkissian *et al*., 2015b). El estudio del genoma del caballo de Przewalski incluyó individuos de todos los linajes fundacionales, y se completó con el genoma de un individuo híbrido y además, con los genomas de cinco especímenes históricos. Entre estos especímenes históricos se incluyeron el holotipo del caballo de Przewalski, un individuo paratipo, un individuo híbrido y dos individuos de dos pedigrís fundacionales (Der Sarkissian *et al*., 2015b). El paratipo es un individuo que se capturó en la misma época que el holotipo, y también se utilizó en la descripción de este taxón.

A partir de los análisis filogenéticos realizados sobre los genomas nucleares de los caballos de Przewalski, de otros caballos domésticos modernos, y de caballos de finales del Pleistocenos superior, los caballos de Przewalski se distribuyeron en un grupo monofilético, grupo hermano de los caballos domésticos (Der Sarkissian *et al*., 2015b). Sin embargo, las filogenias obtenidas con los mitogenomas no han corroborado la monofilia de los genoma nucleares (Der Sarkissian *et al*., 2015b).

Con los genomas de los caballos de Przewalski se han identificado variantes genéticas que se han relacionado con el fenotipo tan distintivo de estos caballos (Der Sarkissian *et al*.,

2015b). Se han identificado variantes genéticas que codifican, entre otros, para proteínas asociadas con los procesos metabólicos, la actividad cardiaca, la digestión de proteínas, así como genes asociados a desórdenes en músculos, ligamentos, y tejidos que rodean a los músculos, capilares sanguíneos y nervios (Der Sarkissian *et al*., 2015b).

Además, también se identificaron entre los caballos de Przewalski a 76 genes codificadores de proteínas como candidatos a haber sufrido barrido selectivo (Der Sarkissian *et al*., 2015b). Estos genes están asociados con rutas metabólicas, con el sistema cardiovascular, con la contracción muscular, con el sistema inmunitario, así como con rutas de señalización de hormonas que son esenciales en el comportamiento sexual y en la agresividad.

Aparte, se han modelizado los escenarios que pudieron reflejar la historia poblacional de los ancestros de caballos de Przewalski y caballos domésticos. Los mejores modelos propusieron un flujo génico asimétrico después de la divergencia ocurrida entre caballos de Przewalski y ancestros de los caballos domésticos datada hace ~ 54.000 – 35.000 años (Schubert *et al*., 2014, Der Sarkissian *et al*. 2015b). Se propuso que este flujo génico se produjo prácticamente desde los caballos de Przewalski hacia los caballos domésticos (Der Sarkissian *et al*., 2015b), siendo muy probable que el intercambio genético hubiese tenido lugar hasta época reciente, hasta hace aproximadamente unos 200 años (Der Sarkissian *et al*., 2015b).

Con la intención de conocer el impacto que pudo tener el cuello de botella sufrido por el caballo de Przewalski durante su cría en cautividad durante los últimos ~ 110 años, se realizaron estimaciones de endogamia y de heterocigosidad promedio (Der Sarkissian *et al*., 2015b). Se comprobó que la cría en cautividad ha actuado significativamente sobre la diversidad genética de los caballos de Przewalski, reduciéndose la heterocigosidad y aumentando el coeficiente de endogamia (Der Sarkissian *et al*., 2015b).

La heterocigosidad promedio de los caballos de Przewalski actuales resultó ser similar a la de otras especies de mamíferos en peligro, y menor a la de caballos domésticos y a la de los ejemplares de Przewalski históricos. Respecto a los análisis de endogamia, se ha comprobado que los caballos de Przewalski actuales presentan una mayor cobertura de endogamia (proporción de bloques mayormente homocigotos) que los caballos domésticos, y mayor también a la observada en los ejemplares de Przewalski históricos (Der Sarkissian *et al*., 2015b).

Como hemos comentado anteriormente, la consideración de caballo “salvaje” en los Przewalski se ha visto revocada en base a los resultados publicados por Gaunitz *et al*. (2018).

En el trabajo de Gaunitz *et al*. (2018) se secuenciaron 20 genomas de caballos de Botai y 22 genomas de caballos de otras partes de Eurasia, al canzando un total de 42 genomas de muestras de los últimos 5000 años. El estudio de estos genomas se han completado con 46 genomas de caballos previamente publicados de los cuales 18 son antiguos y 28 modernos (Schubert *et al*., 2014; Der Sarkissian *et al*., 2015b; Librado *et al*., 2017). En total, los 88 genomas analizados se distribuyeron del siguiente modo 1) considerados salvajes (*n*=10) y 2) domésticos (*n*=78). Entre los considerados salvajes se analizaron 3 caballos antiguos (~51.000 - 42.800 años) y 7 caballos de Przewalski (6 modernos y uno de siglo XIX). Los 78 genomas restantes de caballos domésticos se distribuían del siguiente modo: 25 Eneolíticos (~5000 años); 7 de la Edad del Bronce (~4100 – 3000 años); 18 de la Edad del Hierro (~2800 – 2200 años); 1 caballo parto y 2 romanos (~2000 – 1600 años); 3 caballos posteriores a los romanos (~1200 – 100 años) y 22 caballos modernos de 18 razas.

El trabajo de Gaunitz *et al*. (2018) diferenció dos grupos genéticos entre los caballos domésticos antiguos, donde solo uno de ellos ha llegado hasta la actualidad. Sorprendentemente, el grupo doméstico que corresponde a los caballos de Botai (ver apartado *2.10 Los primeros caballos domésticos*) no presenta descendientes domésticos actuales, sino a los caballos de Przewalski. Diferentes análisis permitieron concluir que los caballos de Przewalski son en realidad, caballos asilvestrados procedentes de las poblaciones que se domesticaron en Botai. Además, este proceso de asilvestrado estuvo acompañado de diversos cambios biológicos con respecto a los caballos de Botai, como los asociados a una pérdida de robustez en el esqueleto apendicular y una selección negativa hacia determinadas variantes de coloración de capas. Por lo tanto y según estas conclusiones, los caballos de Przewalski no son auténticos caballos salvajes, sino los descendiente asilvestrados de los primeros caballos que se explotaron por las gentes de Botai. La nueva percepción que se propone para los caballos de Przewalski contrasta totalmente con la consideración que se les ha dado en numerosos estudios genéticos con el cromosoma Y o el ADN mitocondrial (Wallner *et al*., 2013; Goto *et al*., 2011), bien analizando la región control del ADN mitocondrial (Vilà *et al*., 2001; Jansen *et al*., 2002) o con genomas mitocondriales completos de individuos modernos (Achilli *et al*., 2012), con análisis genómicos (Schubert *et al*., 2014) en incluso con análisis genómicos con individuos propios de Przewalski modernos y antiguos (Der Sarkissian *et al*., 2015b).

2.5. Otros caballos considerados salvajes

Se ha argumentado la persistencia de poblaciones de caballos salvajes en Europa occidental hasta momentos holocenos recientes. Durante las invasiones de Britania (55 – 54 aC.), Julio César mencionó la presencia de caballos salvajes que habrían sido amansados por las poblaciones locales (Groves, 1986). No obstante, debido a que en las Islas Británicas los caballos se extinguieron entre finales del Pleistoceno (Groves, 1986; Clutton Brock, J, 1987) y comienzos del Holoceno, documentándose todavía caballos salvajes a comienzos del Preboreal (9600 – 8600 años cal. aC.) (Sommer *et al*., 2011), se ha sugerido que los caballos descritos por Julio César fueran en realidad animales asilvestrados.



Figura 2.5. El paleontólogo germano-ruso E. Pfizenmayer (a la izquierda) junto al mamut de Berezovka, tras una excavación preliminar (Foto tomada de Wolinsky, 2010).

Por otro lado, Heródoto describió caballos blancos en las Marismas de Pinsk (entre las actuales Ucrania y Bielorrusia), que han sido denominados como *Equus herodoti* (Groves, 1986). Además, Heródoto también describió caballos salvajes blancos pastando junto a la laguna de la que nace el río Hipanis, el tercer río que recorría la Escitia (Heródoto, Libro IV, LII). Este río está asociado con el actual río Bug que nace en Ucrania y discurre entre Biolorrusia y Polonia (Groves, 1994, Pascual, 2012). Se ha sugerido que este tipo de caballo perteneciera a poblaciones de tarpanes, ya que Bökönyi (1974) había argumentado que cuando los tarpanes mudaban el pelo en otoño les crecía pelo blanco por debajo. De este modo, es probable que en invierno su pelaje gris pelo de rata o gris ceniciento (capa ratonera o grulla) fuera más blanco, y fuera este tipo de pelaje el descrito por Heródoto.

A principios del siglo XX se documentó la presencia de un tercer tipo de caballo salvaje. Esta información fue obtenida por E. Pfizenmeyer durante la excavación del mamut de Beresovka en 1901 (Antonius, 1937) (Figura 2.5). Los nativos Lamutes le comentaron que cazaban habitualmente caballos salvajes de capa blanca en una zona entre los ríos Omolon y Anjuj, en la fachada norte del cinturón de Taiga (en el extremo noreste de Siberia) (Zeuner, 1963). Aunque no hay más información al respecto, se ha sugerido algún tipo de relación entre estos caballos y los caballos de la raza Jakuto, debido a que el pueblo Jakuto tiene a los criadores de caballos más septentrionales (Antonius, 1937; Zeuner, 1963).

Se han propuesto varias hipótesis para el origen de los caballos de Jakuto (Librado *et al*., 2015). La hipótesis más aceptada propone que este tipo de caballos descienden de una población fundadora llevada a esa zona por los jakutos entre los siglos XIII – XV, como resultado de la presión ejercida por los mongoles. Otra hipótesis propone que son descendientes directos de caballos pleistocenos de esa zona, que se domesticaron por los jakutos en un evento de domesticación secundaria. Una tercera hipótesis sugiere que son el resultado de cruzar caballos traídos por los jakutos a esa zona con poblaciones locales. En un reciente estudio, se han analizado los genomas de 11 ejemplares: 9 caballos actuales Jakuto y 2 individuos antiguos que vivieron en la región (Librado *et al*., 2015). Uno de ellos vivió hace unos 5200 años y el otro es de comienzos del siglo XIX. Estos genomas se compararon además con genomas de caballos de Przewalski, caballos modernos, y dos ejemplares de finales del Pleistoceno recuperados en la península de Taimyr (Schubert *et al*., 2014). No se encontró ninguna relación entre los caballos Jakuto modernos y el individuo de medidos del Holoceno y tampoco con los caballos pleistocenos, destacando por tanto que los caballos Jakuto son un grupo de caballos domésticos genéticamente distintos de las poblaciones pleistocenas de la península de Taimyr y de las holocenas que habitaron lo que hoy es la República de Sajá, donde se han desarrollado los jakutos.

Además de los genomas nucleares de los dos individuos antiguos, también consiguieron recuperar 16 genomas mitocondriales de otros restos faunísticos, que se compararon con los genomas de 27 individuos antiguos y 78 modernos. Se pudo observar una estrecha relación entre el mitogenoma del caballo del siglo XIX y casi todos los caballos Jakutos modernos con los caballos domésticos modernos.

Los análisis conjuntos de los genomas nucleares y los mitocondriales confirmaron las afinidades filogenéticas existentes entre los caballos Jakuto y los caballos domésticos actuales, separándose del grupo formado por los caballos de Przewalski y de otro grupo constituido por

caballos de finales del Pleistoceno, en el que también estaría incluida el ejemplar de hace ~5200 años. Estos resultados sugieren que la población de la que descienden los actuales caballos Jakuto se introdujo en esta región geográfica con posterioridad a hace ~5200 años, pero antes del siglo XIX, lo que refuerza la hipótesis de su llegada a la región sobre los siglos XIII – XV.

2.6. El censo caballar en la actualidad

Según la *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO), en la actualidad existen unas 50.000 especies de aves y de mamíferos conocidas, y solamente se han domesticado 50 de ellas (FAO, 2007). Más concretamente, de las 148 especies de herbívoros y omnívoros con un peso igual o superior a 45 kg susceptibles de ser domesticadas, solamente 14 han pasado con éxito el filtro de la selección artificial (Diamond, 2002). Aún con este número tan reducido de animales domésticos, el desarrollo de las sociedades humanas ha estado sustentado en cinco especies principales: vacas, cabras, ovejas, cerdos y caballos. El ganado vacuno, el ovino, el caprino y el porcino son las especies de mamíferos que mayor distribución y mayor número de individuos presentan, seguidas del ganado caballar y los asnos, que presentan una distribución más pequeña que la del ganado vacuno y ovino (FAO, 2007). Pero el caballo fue el último animal de este conjunto que se llegó a domesticar, y se ha propuesto que el progreso económico de la humanidad ha dependido más del caballo que de los otros cuatro animales domésticos (Clutton Brock, 1987).

Actualmente hay 55 millones de cabezas de caballos repartidas por todo el mundo (FAO, 2007). El país con más caballos es China, seguido de México, Brasil y Estados Unidos. Otros países que presentan más de un millón de cabezas de caballo son Argentina, Colombia, Mongolia, La Federación Rusa, Etiopía y Kazajistán. Según la FAO (2007), se han contabilizado 633 razas para esta especie, lo que supone el 14% de todas las razas de mamíferos del mundo.

Otros estudios en cambio, han propuesto que el número global de caballos asciende a 62 millones distribuidos en 789 razas, de las cuales 253 están consideradas como razas raras y, 107 razas se han extinguido recientemente (Hall, 2005).

Según el *Domestic Animal Diversity Information System* (www.dad.fao.org), en la península ibérica se han diferenciado 17 razas de caballos. Tres razas se encuentran en Portugal y 14 en España. Las razas portuguesas son: el caballo Pura Sangre Lusitana, el Garrano

y la raza Sorraia. Las razas de caballos españolas son las siguientes: Burguete, caballo de Monte del País Vasco, caballo de Pura Raza Gallega, Cavall Mallorquí, caballo Español-Andaluz, Hispano-Árabe, Hispano-Bretón, Jaca Navarra, Losina, Mallorquina, Menorquina, Monchina, Poni Asturcón y Pottoka.

Otra clasificación más completa diferencia hasta 26 las razas en el patrimonio caballar de la península ibérica, las cuales se distribuyen en cinco grandes bloques: 1) razas arcaicas, 2) razas autóctonas, 3) razas emergentes, 4) razas integradas y 5) razas parentales segregadas (www.magrama.gob.es/; Sánchez Belda, 2012).

Se considera que las **razas arcaicas** tienen su origen en otras antiguas y, además, se conservan en su estado original. La principal raza residente en la península ibérica sería la raza Sorraia de Portugal. Por otro lado, se han considerado nueve **razas autóctonas**, originadas en la península ibérica: Pura Raza Española, seis razas del grupo de las jacas (Asturcón, Caballo de Pura Raza Gallega, Jaca Navarra, Losina, Monchina y Pottoka) y dos razas insulares (Mallorquina y Menorquina).

Por su parte, las **razas emergentes** son aquellas consideradas de procedencia autóctona y que están apareciendo recientemente en el ámbito zootécnico de la ganadería. Dentro de este grupo se consideran dos razas y una población asilvestrada (Sánchez Belda, 2012): la raza Pura Sangre Lusitana (con un Registro Genealógico desde 1942), la raza Marismeña (integrada en el año 2005 en el Catálogo Oficial de Razas de Ganado de España del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente -MAGRAMA), y la población de caballos de las Retuertas. Esta última no es una raza reconocida en el Catálogo Oficial de Razas del MAGRAMA, es una población asilvestrada sometida a programas de conservación desde la década de 1980, que presenta algunas singularidades morfológicas, funcionales y genéticas (Vega Pla *et al*., 2006; Sánchez Belda, 2012).

Se consideran **razas integradas** aquellas que se han importado de otras áreas y se han desarrollado con éxito en la península ibérica cruzándose con razas autóctonas. El Catálogo Oficial de Razas del MAGRAMA incluye dentro de este grupo a la raza Árabe, Anglo – Árabe, Pura Sangre Inglés y Trotador Español. Seis razas nuevas habrían derivado de éstas: Hispano – Árabe, Hispano – Anglo – Árabe, caballo de Burguete, caballo de Monte del País Vaso, cavall Pirinenc Catalá e Hispano – Bretón (Sánchez Belda, 2012).

Mientras tanto, en Portugal se habrían desarrollado las **razas parentales segregadas**, definiendo en este conjunto aquellas razas que tienen un origen ibérico. Se consideran dentro de este grupo a dos razas, Alter Real y Garrana (Sánchez Belda, 2012).

Por último, para los caballos que no pertenecían a ninguna raza con Libro Genealógico, en 1999 se creó la raza de Caballo de Deporte Español (www.magrama.gob.es/).

2.7. El rango de distribución de los caballos salvajes

A partir de los estudios realizados sobre manadas de caballos modernos asilvestrados se ha comprobado que el caballo es una especie con una gran tolerancia ecológica. En la actualidad, los caballos asilvestrados se encuentran distribuidos por todo el mundo. Hay contabilizadas 24 poblaciones de caballos asilvestrados repartidas por América, África, Europa y Asia, incluyendo hábitats tan variados como desiertos, montañas, bosques templados, islas barrera, los estuarios pantanosos de la región de Camargue (sur de Francia), el cabo Toi (Japón), la pampa argentina o los llanos de Venezuela (Boyd y Keiper, 2005).

Se ha considerado al caballo salvaje como un taxón característico de ambientes abiertos y esteparios (Sommer *et al*., 2011). Aunque está adaptado a vivir en ambientes fríos y húmedos como los bosques abiertos, la tundra y las praderas, también puede desarrollarse en hábitats semidesérticos (Bennett y Hoffmann, 1999).

Durante el Pleistoceno superior, el caballo ocupó hábitats periglaciares en una distribución casi circumpolar a las masas de hielo. El área de distribución del caballo salvaje durante el Último Máximo Glaciar comprendía desde la península ibérica hasta el norte de Asia, y por el puente de Beringia hasta Alaska abarcando parte de América del Norte (Uerpmann, 1995; Bennett y Hoffmann, 1999) (Figura 2.6).

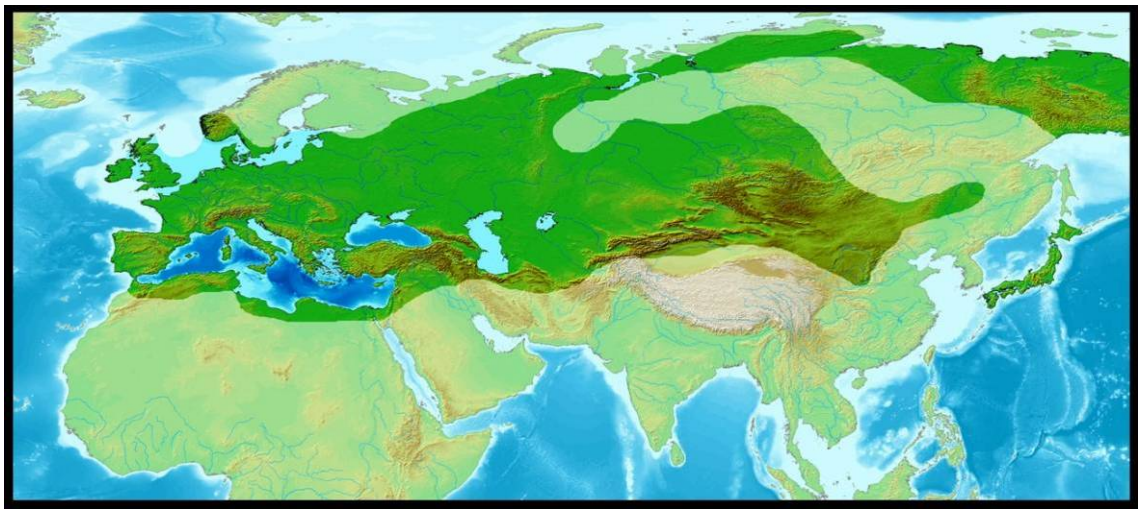


Figura 2.6. ***Distribución del caballo en Eurasia y el norte de África a finales del Pleistoceno superior***. El sombreado en color verde oscuro muestra la distribución (Modificado a partir de Bennett y Hoffmann, 1999).

Además, se ha sugerido que las poblaciones de caballos salvajes pudieron habitar el norte de África en las zonas al norte de las Montañas Atlas, desde el este de la actual Tánger hasta Túnez (Bennett y Hoffmann, 1999). En la zona de Próximo Oriente, es probable que las poblaciones de caballos salvajes estuvieran distribuidas por las tierras que hoy delimitan Egipto (Bennett y Hoffmann, 1999), distribuyéndose por una franja de terreno paralela a la margen oriental del Mar Mediterráneo (Davis, 1980). El límite meridional habría estado situado al sur del río Jordán y en la región central de los Montes Zagros (Irán) (Uerpmann, 1987; 1995).

2.8. Los caballos salvajes a comienzos del Holoceno

Como hemos podido apreciar en el apartado anterior, el área de distribución del caballo salvaje ocupó prácticamente todo el territorio europeo a finales del Pleistoceno superior. No obstante, esta distribución empezó a variar significativamente como consecuencia de los cambios ambientales asociados al final de las glaciaciones.

Debido a estos sucesos, a lo largo del Holoceno la presencia de este taxón en Europa fue cada vez más residual, llegándose a considerar incluso su extinción a comienzos del Holoceno (Sommer *et al*., 2011). Para analizar esta situación, un estudio ha profundizado en la dinámica espacio-temporal de los caballos salvajes europeos de cronologías holocenas. Este estudio ha utilizado publicaciones que detallaban en sus listas faunísticas restos de caballos salvajes holocenos, entre la cronozona Preboreal y el final de la cronozona Atlántico (*ca*. 9600 – 3750

años cal. aC). Estas fechas son anteriores a las primeras evidencias de domesticación del caballo (Outram *et al*., 2009; Sommer *et al*., 2011) como veremos en el siguiente apartado.

Se obtuvieron 207 registros de yacimientos con restos de caballos. Éstos se distribuían principalmente entre el norte y el centro de Europa (Figura 2.7). El sur de Europa se caracterizó por una ausencia significativa de restos de caballos salvajes. De hecho, solamente se han documentado cinco yacimientos, y todos asociados a la península ibérica (Sommer *et al*., 2011). Sin embargo, el resultado obtenido para la península ibérica no es representativo de los registros reales que hay publicados. Por ese motivo, en el apartado *4.1. El caballo en la península ibérica durante el Holoceno,* se desarrollará con mayor extensión esta situación.

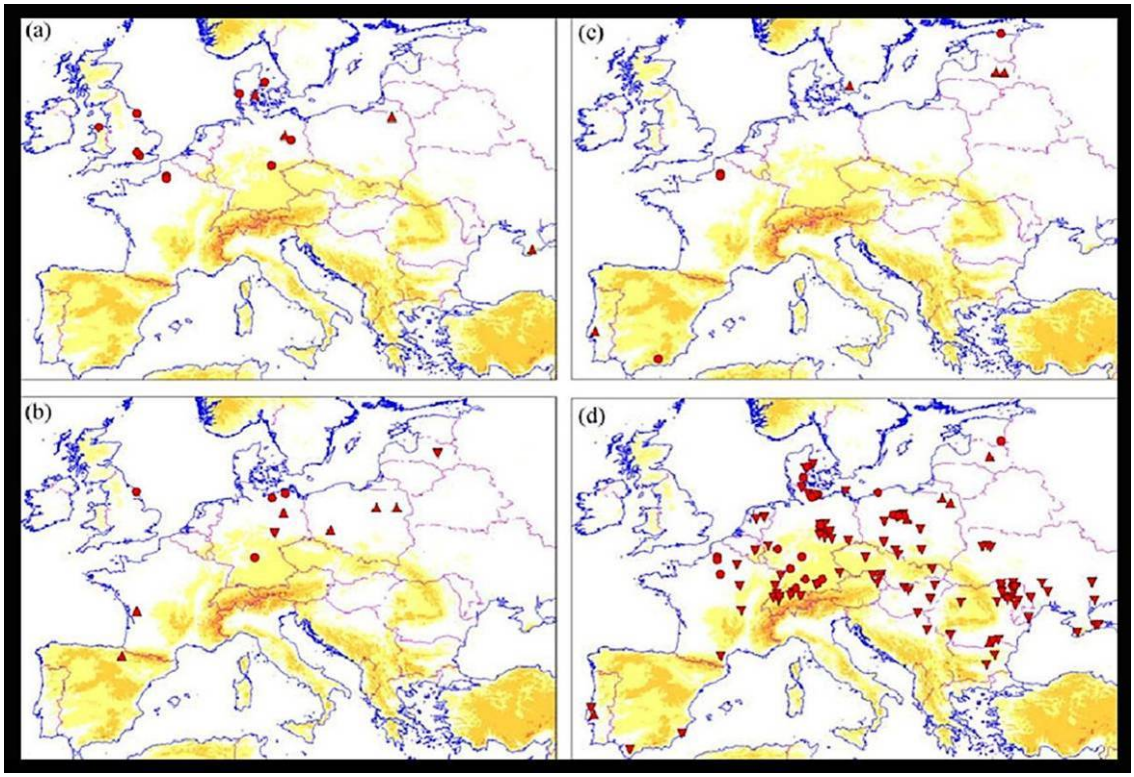


Figura 2.7. ***Patrón espaciotemporal del registro de* Equus ferus *en Europa desde el Holoceno inferior al Holoceno medio***. **(a)** *Preboreal* (9600 – 8600 años cal. aC), **(b)** *Boreal* (8600 – 7100 años cal. aC), **(c)** *Atlántico Inicial* (7100 – 5500 años cal. aC) y **(d)** *Atlántico Final* (5500 – 3750 años cal. aC). Los círculos representan yacimientos donde los restos óseos se han datado directamente por radiocarbono; los triángulos representan los yacimientos donde está datado por radiocarbono el contexto donde han aparecido los restos de caballo; los triángulos invertidos representan yacimientos donde el contexto está datado a partir de materiales arqueológicos (Figura tomada de Sommer *et al*., 2011).

De todas maneras, estos 207 registros han permitido confirmar definitivamente que las poblaciones de caballo salvaje, aunque disminuyeron significativamente en territorio europeo, nunca llegaron a extinguirse (Sommer *et al*., 2011). Esta disminución poblacional se ha asociado a una estructuración de su área de distribución a partir de indicadores paleoecológicos. Aunque el caballo es un animal adaptado a regiones esteparias y abiertas, su

persistencia en el paisaje cambiante de la Europa de principios del Holoceno se ha intentado explicar proponiendo que: 1) una o más poblaciones se pudieron adaptar gradualmente a ambientes más boscosos o, 2) los caballos persistieron gracias a la presencia de grandes áreas abiertas entre los bosques de Europa Central.

Se ha podido comprobar que a comienzos del Preboreal (9600 – 8600 años cal. aC), todavía era posible encontrar caballos salvajes entre Gran Bretaña y Polonia (Figura 2.7). Durante la cronozona Boreal (8600 – 7100 años cal. aC) su presencia se ha documentado principalmente entre Alemania y Polonia (Figura 2.7). A comienzos del periodo Atlántico (7100 – 5500 años cal. aC) el caballo salvaje se convierte en un taxón residual, prácticamente ausente en Europa central (Figura 2.7). A partir del final de la cronozona Atlántico (5500 – 3750 años cal. aC), se ha observado un aumento de los registros de caballo en diferentes partes de Europa (Figura 2.7) (Sommer *et al*., 2011).

Esta dinámica se ha asociado directamente con el cambio del paisaje a comienzos del Holoceno. A partir de este estudio se ha podido comprobar que hubo una fragmentación en el área de distribución de las poblaciones de caballos salvajes, originando pequeñas poblaciones relictas. Posteriormente, a medida que avanzaron los ecosistemas boscosos en detrimento de los espacios abiertos en Europa central, se habría producido la extinción de estas poblaciones regionales. Este proceso habría ocurrido entre el 7700 – 5200 años cal. aC (Sommer *et al*., 2011).

Por otro lado, ha resultado muy significativo el aumento en la frecuencia de registros de caballos salvajes en diferentes partes de Europa en el último tramo de la cronozona Atlántico (5500 – 3750 años cal. aC). Este fenómeno se ha asociado con la aparición del Neolítico, el consiguiente desarrollo de los cultivos agrícolas y la introducción de rebaños de animales domésticos. De este modo, se habría originado un paisaje de tipo mosaico con zonas despejadas entre las masas forestales. Las evidencias de este impacto antrópico se han documentado en el espectro polínico de varios yacimientos alemanes y, se ha propuesto que la aparición de estas nuevas zonas habría sido beneficiosa para los caballos salvajes (Sommer *et al*., 2011).

Con relación a los caballos de la península ibérica, se ha comentado una continuidad en el registro de caballos salvajes desde comienzos del Holoceno hasta el periodo Atlántico. Esto ha permitido sugerir que la península ibérica hubiese sido un refugio para este taxón,

desarrollándose una población aislada que probablemente se extinguió a comienzos de la Edad del Bronce (Sommer *et al*., 2011) (Figura 2.7).

En conjunto, estos resultados han puesto de manifiesto la poca adaptabilidad del caballo salvaje a zonas boscosas, evidencia que no concuerda con las propuestas de otros investigadores sobre la existencia de *formas* / variedades de caballos salvajes adaptados al bosque (ver *apartado 2.3. Los últimos caballos salvajes de Eurasia: los tarpanes,* y ver también siguiente apartado).

2.9. Posibles ancestros del caballo doméstico

2.9.1. Ancestros inferidos a partir de las razas

Debido a la gran variedad de tamaños que presentan en la actualidad las razas de caballos domésticos (desde pequeños ponis del norte de Europa, pasando por los caballos pesados del norte y el centro de Europa, y los caballos estilizados como los de la raza Árabe), se ha sugerido que a finales del Pleistoceno debieron de existir varias especies de caballos salvajes que posteriormente se domesticaron (Clutton Brock, 1987). Cuando Darwin escribió su libro *La variación de los animales y las plantas bajo la domesticación* (Darwin, 1868), no estaba claro el número de progenitores de los que descendían todas las razas de caballos domésticos. Mientras algunos investigadores sugerían que todas las razas debían descender de al menos dos especies distintas de caballos salvajes, otros en cambio proponían, por lo menos, hasta cinco estirpes primitivas para explicar toda la variabilidad actual (Darwin, 1868; 1875).

En 1869, A. Sanson sugirió que los caballos domésticos procedían de ocho tipos distintos, cada uno con un antepasado diferente (Clutton-Brock, 1987). Por su parte, J.C. Ewart en 1907 clasificó a todos los caballos en tres tipos o variedades distintas: 1) la *variedad de estepa*, que incluía a los caballos de Przewalski; 2) la *variedad de bosque*, que comprendía a los caballos tipo poni; y 3) la *variedad de llanura* (Clutton-Brock, 1987).

Otros autores han clasificado a los caballos en otras tres categorías diferentes a la clasificación de J.C. Ewart. Estas categorías se basan fundamentalmente en el tamaño y son: 1) caballos de “sangre fría”, que engloba a los caballos de tiro pesado (como la raza Clydesdale); 2) caballos de “sangre caliente”, donde destacan los caballos de raza Árabe y, 3) caballos de

"sangre templada", categoría que define a los cruces entre las anteriores, como el Pura Sangre Inglés (Zeuner, 1963; Clutton Brock, 1987; Bennett y Hoffmann, 1999). Se ha sugerido que los caballos de "sangre fría" deberían haber tenido un ancestro diferente al de los caballos de "sangre caliente", proponiéndose como candidatos a grandes caballos pleistocenos como *Equus germanicus* y *Equus abeli* (Zeuner, 1963).

El investigador O. Antonius también consideraba que el caballo doméstico había tenido múltiples orígenes. A principios del siglo XX este investigador llegó a reconocer nueve especies de caballos salvajes europeos "cuaternarias y recientes". Algunas especies las enmarcó en el Pleistoceno medio (*Equus suessenbornensis* y *Equus mosbachensis*), otras en cambio eran de cronología dudosa (*Equus woldrichi* y *Equus abeli*), y otras dos eran especies hipotéticas, que no estaban basadas en especímenes reales (*Equus gracilis* y *Equus sequianus*). Las tres especies de caballos salvajes restantes que quedaban las asoció a momentos finales del Pleistoceno superior y al Holoceno: *Equus gmelini* (denominación para el tarpán europeo, actualmente extinto), *Equus ferus* (denominación en la que incluía al caballo de Przewalski y al caballo de Solutré del Pleistoceno superior) y *Equus germanicus* (para caballos de las regiones de Renania y Bohemia) (Groves, 1986).

Más tarde en 1937 O. Antonius consideró que, de todas las poblaciones que habitaron Eurasia, solamente se conservaban dos o tres razas locales. Estas razas estaban representadas por el caballo denominado por él *Equus gmelini*, por *Equus przewalskii*, y posiblemente por una tercera especie o raza local. Esta raza local habría estado caracterizada por caballos del este de Siberia asociados con la raza Jakuto (Antonius, 1937).

Por su parte, otros autores han considerado hasta siete *formas* de caballos diferentes de finales del Pleistoceno, que habrían contribuido de manera diferencial a la formación de las poblaciones caballares domésticas. Estas formas se han denominado del siguiente modo: *Equus caballus alaskae*, *Equus caballus caballus*, *Equus caballus ferus*, *Equus caballus mexicanus*, *Equus caballus mosbachensis*, *Equus caballus przewalskii* y *Equus caballus pumpelli* (Bennett y Hoffmann, 1999).

La lista de autores que a lo largo del siglo XX han reconocido diferentes formas/razas/subespecies/ecotipos ancestrales del caballo doméstico es extensa. En este trabajo no vamos a desarrollar todas las alternativas que se han barajado, ya que nos alejaríamos significativamente de la exposición de los antecedentes relacionados con nuestra problemática. Una revisión de autores que han propuesto diferentes nombres para los caballos

pleistocenos está publicada por Groves (1986). Siendo caballos salvajes, en ocasiones se han referido a ellos como subespecies de *Equus caballus*, con la consiguiente confusión generada en los códigos de nomenclatura.

2.9.2. Ancestros inferidos a partir del arte rupestre paleolítico

A partir del estudio de las pinturas rupestres del occidente europeo, ha habido autores que han identificado distintos ancestros o variedades de las razas de caballos actuales (Zeuner, 1963). Analizando la morfología de los caballos del arte rupestre de las estaciones de España, Italia o Francia, en ocasiones se han encontrado afinidades con el caballo de Przewalski. Los cuerpos compactos con patas cortas y, las cabezas pequeñas asociadas a cuellos gruesos con crines erectas, se han considerado evidencias sólidas para justificar la presencia del caballo de Przewalski en Europa occidental.



Figura 2.8. ***Representación de un caballo con la capa de invierno***. Salón Negro de la Cueva de Niaux (Ariège, Francia) (Foto: Bradshaw Foundation).

Otros autores, en cambio, no han encontrado evidencias de la presencia del caballo de Przewalski en las representaciones rupestres, sino que han identificado al tarpán. En 1921, O. Abel asoció con un tarpán la representación magdaleniense de un caballo localizado en el Salón Negro de la Cueva de Niaux (Ariège, Francia) (Zeuner, 1963) (Figura 2.8). Posiblemente encontrara similitudes entre esta representación y un caballo con la capa de invierno (Figura 2.9) Un poco más hacia el Norte, en la Gruta de Les Combarelles (Les Eyzies, Francia) (Figura 2.10), se clasificaron a los caballos representado en el arte rupestre en cuatro tipos a partir de los que se originarían los caballos domésticos: 1) tipo Libio, 2) tipo Nórdico, 3) tipo Céltico y 4) Tarpán (Capitan, Breuil y Peyrony, 1924 en Zeuner, 1963).



Figura 2.9. ***Recreación de un tarpán en la Reserva de Salgüero de Juarros (Burgos)***. El animal presenta la capa de invierno (Foto: J.L. Arsuaga).

No obstante, los factores estilísticos, las variaciones interindividuales o las imprecisiones de los dibujos obligan a tratar con cautela este tipo de análisis. De hecho, se han llegado a diferenciar hasta 18 nuevas especies de caballos para finales del Pleistoceno superior, atendiendo a las representaciones de arte mueble de las estaciones de Europa occidental (Blanchard, 1964 en Groves, 1986).



Figura 2.10. ***Vista panorámica del emplazamiento de la cueva de Les Combarelles (Les Eyzies de Tayac, Francia)***. La entrada a la cavidad se encuentra a la derecha, junto a la edificación utilizada como centro de recepción de visitas.

2.10. Los primeros caballos domésticos

Aunque ha habido propuestas que han sugerido que los primeros caballos domésticos podrían haber aparecido a finales del Pleistoceno superior (Piette, 1906), hoy en día esta hipótesis carece de fuerza. Las investigaciones actuales sobre el origen de los primeros caballos domésticos proponen que este evento tuvo lugar durante el Holoceno. No obstante, la búsqueda de los primeros caballos domésticos se ha encontrado con varias dificultades. Los principales problemas han hecho referencia al *tempo* y el *modo* en el que la domesticación del caballo tuvo lugar.

Por un lado, las investigaciones llevadas a cabo durante el siglo XX habían sugerido una significativa disminución del caballo en gran parte de Europa occidental a comienzos del Holoceno (Altuna, J. y Mariezkurrena, K, www.pottoka.info/lapottoka/libro.php?id=es), proponiéndose su extinción en la península ibérica (Bökönyi, 1978). De este modo, las poblaciones de caballos salvajes habrían quedado restringidas a la zona de las estepas euroasiáticas, y el caballo habría aparecido en Europa ya domesticado en momentos recientes (Gimbutas, 1977). Hoy en día se ha podido comprobar que aunque las poblaciones de caballos salvajes disminuyeron en Europa, no llegaron a extinguirse. Ejemplos de este tipo se pueden encontrar en yacimientos con niveles mesolíticos y neolíticos de la península ibérica y de otras regiones europeas (Altuna, 1995; Castaños, 2004; Sommer *et al*., 2011).

Los estudios llevados a cabo en relación al origen geográfico de los primeros caballos domésticos han señalado a las estepas eurasiáticas como la zona más plausible para este fenómeno. Concretamente, los restos de caballos recuperados en los yacimientos de Dereivka (Ucrania) y Botai (Kazajistán) han sido objeto de diversos análisis que han presentado resultados contradictorios (Anthony y Brown, 2003; Levine, 2004; 2005) que, o bien reafirmaban o bien rechazaban el estado doméstico de estos caballos. No obstante, las investigaciones más recientes sobre la aparición de los primeros caballos domésticos han reforzado la hipótesis que postulaba que el evento de domesticación principal ocurrió en las estepas euroasiáticas. Se ha propuesto que este evento tuvo lugar hace unos 5000 años (Ludwig *et al*., 2009) y, además, han corroborado la idea de que en el yacimiento de Botai (Kazajistán) ya había caballos domésticos por lo menos hacia el 4600 BP. (~ 3500 años cal. aC) (Outram *et al*., 2009).

Botai es un asentamiento eneolítico situado en las estepas al norte de Kazajistán, donde sus gentes desarrollaron una economía especializada en la caza de caballos salvajes en ~3700 – 3000 años cal. aC (Anthony, 2007). En Botai se han recuperado ~300.000 huesos de animales, de los que el 99,9% pertenecen a caballos. De estos restos de caballos, entre el 75-90% se han asociado a caballos salvajes (Anthony, 2007). Esta conclusión se ha obtenido analizando las proporciones entre los sexos y las edades de muerte. La proporción 1:1 de machos y hembras encontrados en el asentamiento y la presencia de individuos de todas la edades sugieren que la mayoría de estos animales eran caballos salvajes. Sin embargo, varias evidencias descubiertas en los restos faunísticos de algunos caballos de Botai proponen que estas gentes cazaban a los caballos salvajes usando caballos domésticos (Anthony, 2007). Entre las evidencias más importantes, destacamos la presencia de desgaste asociado a bocados en

algunos segundos premolares inferiores, así como el descubrimiento en el asentamiento de parcelas de estabulación con estiércol de caballo. Además, la propuesta del uso de caballos domésticos como montura o como tiro se sustenta en los cambios significativos que se han identificado a partir del ~3700 años cal. aC en las estrategias de asentamiento y en el tipo y cantidad de animales cazados, en la presencia de cuerpos completos en lugar de elementos anatómicos concretos entre los caballos cazados y, en el desgaste en los segundos molares comentado anteriormente (Anthony, 2007).

Además, otras investigaciones han ofrecido nuevas evidencias indirectas de caballos domésticos en restos óseos y materiales arqueológicos de Botai (Outram *et al*., 2009). Destacan análisis adicionales sobre un conjunto de segundos premolares inferiores, los cuales presentaban unas erosiones características ocasionadas por la acción de algún tipo de bocado. Además, los análisis biométricos realizados sugirieron que algunos de estos caballos ya eran domésticos. Otra evidencia la encontraron analizando restos de cerámica. El análisis de los residuos orgánicos de ácidos grasos en estas cerámicas, puso de manifiesto que algunas sirvieron para contener leche de yegua (Outram *et al*., 2009).

Por otro lado, estos resultados concuerdan con los obtenidos en el estudio de la variabilidad del color de las capas mediante el análisis de ADN antiguo. A partir de la información de seis genes responsables del color de la capa en una gran cantidad de restos fósiles de caballos procedentes de diferentes yacimientos euroasiáticos, se observó que el color de las capas había sido bastante homogéneo hasta un momento, hace unos 5000 años, en el que empezaron a aparecer nuevas coloraciones en caballos de Siberia y de Europa del Este. Se ha propuesto que estos cambios en la coloración de las capas se debiesen al efecto producido la presión de selección sobre la cría de caballos (Ludwing *et al*., 2009).

Asimismo, estas evidencias se han visto sustentadas por un estudio que ha combinado el uso de marcadores autosómicos y simulaciones de diferentes escenarios demográficos en las estepas euroasiáticas (Warmuth *et al*., 2012). En este estudio se utilizaron 26 marcadores microsatélites de 322 caballos no asociados a razas, procedentes de 12 localidades geográficas que se encontraban distribuidas entre Lituania y Ucrania en el límite occidental, así como China y Mongolia en el límite oriental de la zona de estudio. De este modo, se ha podido reconstruir la zona de origen y dispersión de los caballos domésticos en las estepas euroasiáticas. De todos los escenarios planteados, el más plausible propuso un origen para los caballos domésticos en la zona centro-occidental de las estepas euroasiáticas, en concordancia con las evidencias arqueológicas. Además, este proceso habría estado asociado a altos niveles

de introgresión a lo largo de las estepas euroasiáticas desde las poblaciones salvajes hacia las poblaciones domésticas (Warmuth *et al*., 2012). Teniendo en cuenta los niveles tan altos de diversidad matrilineal en los caballos domésticos (Jansen *et al*., 2002), se ha sugerido que estos niveles de introgresión tuvieron como protagonistas principalmente a yeguas salvajes (Warmuth *et al*., 2012).

Además, un reciente trabajo ha analizado genomas de caballos de Botai, y los ha comparado con caballos antiguos y modernos de otras partes de Eurasia. Como se ha comentado en el apartado *2.4. Los caballos de Przewalski*, Gaunitz *et al*. (2018) secuenciaron 42 genomas de caballos de los últimos 5000 años (20 de Botai y 22 de caballos de otras partes de Eurasia), y los compararon con 46 genomas de caballos previamente publicados (18 antiguos y 28 de caballos modernos de 18 razas) (Schubert *et al*., 2014; Der Sarkissian *et al*., 2015b; Librado *et al*., 2017).

El trabajo de Gaunitz *et al*. (2018) ha diferenciado dos grupos genéticos entre los caballos domésticos antiguos, pero solamente uno de ellos ha llegado hasta la actualidad con efectivos domésticos. El resultado más significativo de este estudio fue que el grupo doméstico de los caballos de Botai no presentaba descendientes domésticos actuales, sino a los caballos de Przewalski. Como se ha comentado anteriormente, ahora se considera a los caballos de Przewalski animales asilvestrados procedentes de las poblaciones que se domesticaron en Botai.

El nuevo panorama genómico que propone el trabajo de Gaunitz *et al*. (2018) considera que los caballos domésticos se originaron al menos de dos poblaciones. La primera población señala a los caballos domésticos de Botai de hace ~5500 años y de la que, su señal genética quedaría borrada en momentos posteriores entre las poblaciones domésticas. Sin embargo, hasta hace ~1000 años esta población originaria de Botai habría incorporado de manera esporádica a algunos ejemplares a la otra población doméstica. Este flujo génico ocurrió incorporando hembras y sementales, ya que se han identificado en ella haplotipos mitocondriales y del cromosoma Y que son originarios de la población de Botai. No se ha podido identificar el origen de este hipotético segundo centro de domesticación, aunque diversos análisis han sugerido que este segundo grupo ya se estaba expandiendo por las estepas euroasiáticas y por Europa en la transición durante el tercer y el segundo milenio aC.

La información sobre la aparición de los primeros caballos domésticos en Europa es muy limitada. Por un lado se ha planteado la posibilidad de que los caballos domésticos llegaran a

Europa procedentes del Este. Por otro lado se ha propuesto que la domesticación del caballo hubiese sido un proceso más complejo, donde además del foco primario de domesticación de las estepas euroasiáticas, hubiera otros escenarios geográficos donde tuvieron lugar eventos de domesticación alternativos, localizados en Europa central y occidental (Nobis, 1974; Uerpmann, 1990; Warmuth *et al*., 2011) (Figura 2.11).

Pero el hecho es que, o bien teniendo en cuenta la hipótesis de un único origen o la hipótesis multirregional, poco se sabe sobre el origen de los primeros caballos domésticos europeos. Se ha llegado a proponer un límite cronológico en torno al 3000 aC para la presencia de caballos domésticos en Europa, en el que todos los restos europeos anteriores se considerarían salvajes y los posteriores a esta fecha se clasificarían como domésticos (Uerpmann, 1990). También se ha asociado el origen de los caballos domésticos en Europa con la expansión del vaso Campaniforme durante el Calcolítico (Schule, 1969; Uerpmann, 1990). A partir de las evidencia del yacimiento del Cerro de la Virgen (Orce, Granada), Schule (1969) propuso que el caballo doméstico habría aparecido en la península ibérica con la cultura del vaso Campaniforme, y sugirió la hipótesis de que el uso del caballo habría permitido la rápida distribución del vaso campaniforme por toda Europa (Schule, 1969).

Durante mucho tiempo se ha considerado que uno de los factores discriminantes para poder reconocer animales domésticos está relacionado con la variación del tamaño corporal. Bajo esta premisa los animales domésticos presentarían unos tamaños más pequeños que sus parientes salvajes. Este criterio ha recibido críticas al ser aplicado sobre poblaciones de caprinos del Creciente Fértil (Zeder y Hesse, 2000). No obstante, los estudios sobre la determinación de caballos domésticos han trabajado sobre este criterio de disminución del tamaño corporal asociado a un aumento del grado de variación de esta variable en la muestra. De este modo, se ha considerado que los caballos domésticos podrían reconocerse por presentar en promedio unos tamaños corporales inferiores y por tener las muestras de caballos de los yacimientos analizados un rango de variación de tamaño mayor que el rango de variación observado en poblaciones salvajes (Uerpmann, 1990). Asimismo, se ha propuesto que este aumento en el rango de variación del tamaño de las poblaciones domésticas sería una consecuencia de la presión de selección de los grupos humanos sobre estos animales (Uerpmann, 1990).

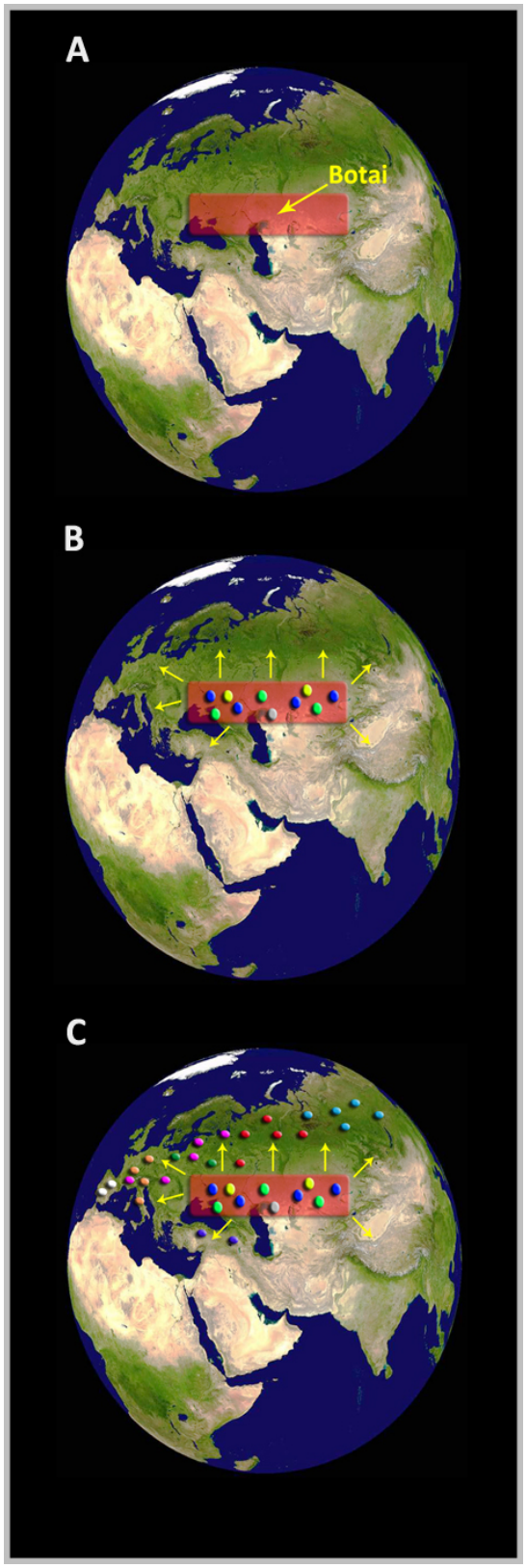


Figura 2.11. ***Hipótesis sobre la domesticación del caballo***. **A)** Distribución esquemática de las estepas euroasiáticas y la localización del yacimiento de Botai señalada por la punta de la flecha., **B)** Hipótesis de un único origen de domesticación del caballo. Los círculos representan variabilidad. **C)** hipótesis de múltiples orígenes. Los círculos representan variabilidad. Esta hipótesis contempla el foco principal de domesticación, y además, otras poblaciones con caballos de otros linajes.

Los estudios sobre posibles eventos de domesticación independiente en Europa se han centrado en cuantificar el grado de variación de tamaño de los individuos de distintas poblaciones salvajes a lo largo del continente, y su relación con el grado de variación del

tamaño corporal en las poblaciones domésticas de los mismos territorios a los que pertenecerían los caballos salvajes (Uerpmann, 1990). Aunque los restos neolíticos de caballos salvajes del centro y occidente de Europa utilizados en este estudio no eran abundantes (Uerpmann, 1990), al compararlos con los caballos supuestamente domésticos de Dereivka (Ucrania) se comprobó que la distribución de los valores del tamaño corporal seguía un gradiente de variación en dirección Noreste - Suroeste. Los caballos de mayor tamaño se han encontrado en el este de Europa y sur de Rusia, caballos con tamaños intermedios se ha documentado en el centro de Europa, y los caballos con tamaños más pequeños han sido descritos en el suroeste de Europa (Uerpmann, 1990).

Teniendo en cuenta el tamaño corporal, en Europa se han diferenciado 3 tipos o *formas* regionales de caballos salvajes asociados al Holoceno: el caballo de tipo pequeño, de tipo mediano y de tipo grande. El tipo más pequeño se ha localizado en la península ibérica, mientras que el tipo más grande se ha ubicado en las estepas del este de Europa. Por su parte, en el territorio comprendido entre los Pirineos y Europa central se ha diferenciado el tercer tipo restante, que presentaría un tamaño intermedio (Uerpmann, 1990). Además, se ha propuesto un cuarto tipo, que estaría localizado en el sureste de Europa y Asia Menor, con un tamaño similar a la forma del este de Europa o incluso mayor (Uerpmann, 1990).

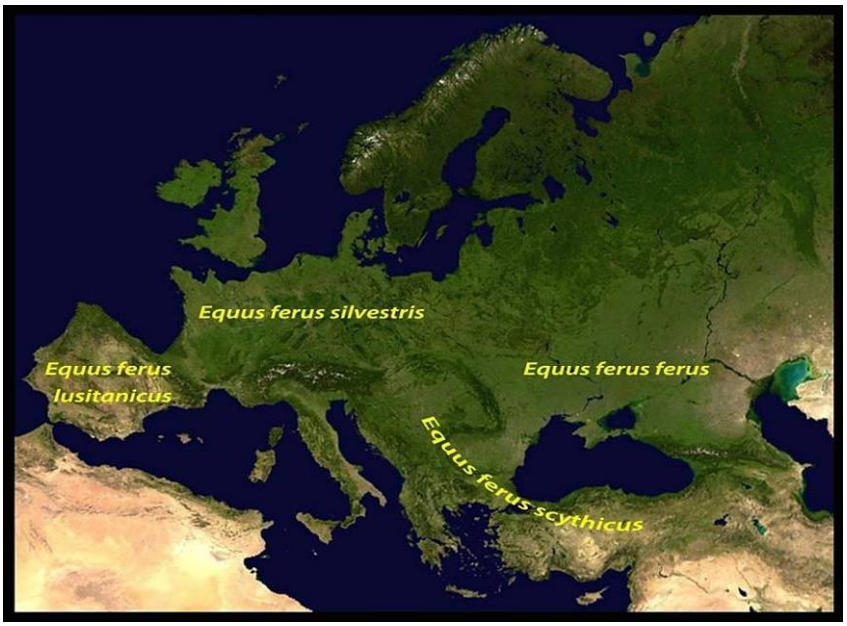


Figura 2.12. ***Tipos regionales de caballos salvajes asociados al Holoceno*** (Modificado a partir de Uerpmann, 1990).

Se han sugerido nombres provisionales para la denominación de estas formas salvajes equinas del Holoceno, que no están basados en una revisión taxonómica completa de los caballos salvajes del Holoceno (Uerpmann, 1990) (Figura 2.12). Estos nombres provisionales

consideran a las formas regionales como subespecies del caballo salvaje, taxonómicamente denominado *Equus ferus* (Boddaert, 1785). Para tal fin se utilizaron, en la medida de lo posible, nombres propuestos con anterioridad. Con respecto la forma regional más grande, Uerpmann (1990) propuso para estos caballos del este de Europa la denominación provisional de *Equus ferus ferus* (Boddaert, 1785). De haber existido la forma regional del sureste de Europa y Asia Menor, se propuso el nombre *Equus ferus scythicus* (Radulesco y Samson, 1962). Para la forma regional intermedia de caballo salvaje del Holoceno de la Europa occidental que se encuentra bajo influencia del Atlántico (excepto la península ibérica), se propuso el nombre de *Equus ferus silvestris* (v. Brincken, 1828), por ser la denominación más antigua conocida para los caballos de esa parte de Europa. Para la forma regional más pequeña de todas las analizadas, localizada en los caballos salvajes holocenos de la península ibérica, se propuso el nombre *Equus ferus lusitanicus*, considerándose como holotipo el material recuperado en la cueva de La Carihuela (Piñar, Granada) cronológicamente asociado al Neolítico y descrito en 1976 (Uerpmann, 1976).

2.11. Los cambios genéticos de los primeros caballos domésticos

Un reciente estudio genómico realizados sobre caballos asiáticos de la Edad del Bronce y de la Edad del Hierro ha permitido conocer los cambios que ocurrieron durante las primeras generaciones de caballos asociados al proceso de domesticación (Librado *et al*., 2017). Se analizaron 16 caballos y se realizó una secuenciación a gran escala de 14 genomas de caballos mayoritariamente asociados a los escitas.

Se ha podido confirmar que los escitas utilizaron en los funerales de los miembros distinguidos, caballos con distintos patrones de coloración de capa. Además, evaluando el grado de parentesco y endogamia de los caballos escitas, observaron entre la mayoría de estos caballos una ausencia de parentesco. Esta evidencia ha permitido proponer que los escitas criaron a sus caballos sin alterar las estructuras naturales de las yeguadas, situación totalmente diferente a las prácticas de cría actuales (Librado *et al*., 2017).

Aparte, entre la identificación de genes seleccionados por los escitas, destacaron genes asociados al desarrollo del esqueleto axial y los huesos del carpo, y concordantes con el aumento de la robustez entre los metacarpos de los caballos de Berel, yacimiento del que se habían seleccionado 11 ejemplares para este estudio. Los caballos de Berel son más robustos

que los caballos mongoles y esta circunstancia está relacionada con los genes seleccionados por los criadores escitas. Además, se observó una sobrerrepresentación de genes vinculados a la producción de oxitocina y vasopresina, relacionados con la lactancia, la contracción uterina y la retención del agua por parte del cuerpo. Su interpretación ha sugerido que los escitas favorecieron variantes génicas asociadas a la producción de leche de yegua y a minimizar la pérdida de agua, lo que supondría una ventaja en áreas esteparias áridas donde los recursos hídricos son escasos (Librado *et al*., 2017).

Por otro lado, un aspecto importante en comparación con los caballos actuales ha sido la cuantificación de la carga de mutaciones deletéreas de estos nuevos genomas. Se ha observado que esta carga es menor que en los genomas actuales, lo que ha permitido considerar que el exceso de mutaciones deletéreas que presentan los caballos modernos no está relacionado con los primeros momentos de domesticación hace ~5500 años, sino que es el resultado de los últimos 2000 años de cría selectiva (Librado *et al*., 2017).

Además, el análisis de cromosoma Y ha puesto de manifiesto una gran diversidad entre los caballos escitas, relacionada con la utilización de un elevado número de sementales fundadores y, totalmente distinto a lo que encontramos entre los caballos domésticos actuales (Lindgren *et al*., 2004; Wallner *et al*., 2013). El primer estudio sobre la variabilidad del cromosoma Y con ADN antiguo ya puso de manifiesto esta alta diversidad de haplotipos en el cromosoma Y de las poblaciones naturales, sugiriéndose la posibilidad de que esta pérdida de diversidad hubiese ocurrido durante las fases iniciales de domesticación (Lippold *et al*., 2011a). Sin embargo, los resultados ofrecidos por Librado *et al*. (2017) permiten rechazar la hipótesis que explica la pérdida de diversidad genética entre los caballos domésticos como consecuencia de la selección de un número extremadamente bajo de sementales al comienzo del proceso de domesticación. La alta diversidad reflejada por el cromosoma Y de los caballos escitas sugiere que la pérdida de diversidad observada entre los machos actuales se debe a las prácticas de cría de los últimos 2000 años (Librado *et al*., 2017).

Por otro lado, analizando los caballos de Berel que tenían una mejor cobertura genómica, también han encontrado cambios genéticos que apoyan la *hipótesis de las células de la cresta neural*. Esta hipótesis está relacionada con la naturaleza y origen del "Síndrome de domesticación" animal (Wilkins *et al*., 2014). El término de "Síndrome de domesticación" hace referencia a una combinación de rasgos etológicos, morfológicos y fisiológicos que no se observan entre los ancestros salvajes de las especies domésticas pero que, en cambio, son característicos de los animales domésticos (Wilkins *et al*., 2014). Entre estos rasgos podemos

destacar los cambios en el color de las capas, reducción del tamaño de las orejas y de los dientes, cambios en la morfología craneofacial, aumento de la docilidad, o alteraciones en la forma de las orejas y las colas (Wilkins *et al*., 2014).

Las células de la cresta neural son una clase de células madre multipotentes específicas de vertebrados, que aparecen en las fases iniciales de la embriogénesis en el filo dorsal (la "cresta") del tubo neural, y posteriormente migran hacia la zona ventral por todo el cuerpo, dando lugar a los precursores celulares de muchos tipos celulares y tejidos (Wilkins *et al*., 2014).

La hipótesis de las *células de la cresta neural* sugiere que la presión de selección sobre determinados genes actuaría directamente sobre las células de la cresta neural, alterando su desarrollo, migración o interacción postmigratoria, y produciendo un déficit de este tipo de células. Esta disminución se podría deber a tres causas distintas: reducción del número original de células de la cresta neural, disminución de las capacidades migratorias de estas células, o disminución en la proliferación de estas células en sus lugares de destino. Esta disminución tendría su efecto sobre una serie de rasgos, provocando un cambio en la diversidad de los mismos y, las nuevas variantes se manifestarían reunidas bajo el término de "Síndrome de domesticación" (Wilkins *et al*., 2014).

CAPÍTULO 3

-Me parece que no dedica usted gran atención al asunto que tiene entre manos –le dije, por fin, cortando las disquisiciones musicales de Holmes.

-No dispongo todavía de datos – me contestó -. Es una equivocación garrafal el sentar teorías antes de disponer de todos los elementos de juicio, porque así es como éste se tuerce en un determinado sentido.

Arthur Conan Doyle. *Estudio en Escarlata*.

3. EL CABALLO EN LA PENÍNSULA IBÉRICA DURANTE EL PLEISTOCENO SUPERIOR

3.1. El registro paleontológico

Los siguientes apartados no prentenden ofrecer un listado detallado de todos los yacimientos ibéricos con restos de caballos salvajes. En su lugar, intentan mostrar el modo en el que los caballos salvajes fueron un componente más del espectro fanístico de distintas partes de Iberia a finales del Pleistoceno.

3.1.1. Cordillera y litoral cantábrico

Hasta hace pocos años se había considerado al caballo como una de las especies con menor representación en los yacimientos pleistocenos de la península ibérica asociados al Würm, característica que también se había mantenido durante el Holoceno (Castaños, 1997). El análisis de los restos faunísticos asociados a los últimos momentos del Pleistoceno superior, había puesto de manifiesto que ni siquiera había sido un taxón abundante en la zona de la Cordillera Cantábrica (Altuna, 1980). Además, se había argumentado que desde finales del Pleistoceno la escasez de restos de caballos había sido un factor constante en los yacimientos ibéricos estudiados. En el caso de la Cordillera Cantábrica el caballo había estado presente durante el Paleolítico Superior y el Mesolítico inicial, pero su ausencia en niveles posteriores vinculados al resto del Mesolítico y al Neolítico, se había utilizado para argumentar su desaparición (Altuna, 1980; Castaños, 1991a). De esta manera, la reaparición del caballo en la península ibérica durante el Calcolítico, se había asociado a animales presumiblemente ya domesticados. Sin embargo, esta presencia en la mayoría de los yacimientos se caracterizaría por ser minoritaria, lo cual no cambiaría hasta registros de época histórica (Altuna, 1980; Castaños, 1991a).

Actualmente, los resultados de investigaciones más modernas han modificado esta visión. Para el caso de la cornisa cantábrica, algunos trabajos proponen que el caballo fue un taxón abundante durante la mayor parte de Würm, y empezó a disminuir a partir del periodo asociado al tecnocomplejo Solutrense, siendo todavía más escasa su presencia durante el tecnocomplejo Magdaleniense (Altuna y Mariezkurrena,

www.pottoka.info/lapottoka/libro.php?id=es; Altuna, 1998). Esta baja representatividad de caballos durante el Magdaleniense también se ha constatado en otros análisis faunísticos llevados a cabo en una veintena de yacimientos localizados principalmente en la Cordillera Cantábrica, con niveles asociados al Magdaleniense (inferior, medio y superior - final) y al tecnocomplejo holoceno Aziliense (Altuna, 1995). A partir del número de restos se ha podido comprobar que el caballo no fue la principal especie objeto de caza. Se ha observado una especialización cinegética durante estos periodos, donde las especies que componen la práctica totalidad de la muestra faunística son el ciervo y la cabra montés (Altuna, 1995). El caballo nunca es el taxón dominante, y su representación oscila en la mayoría de las ocasiones entre 0 – 25,5% del total del número de restos en cada yacimiento (Altuna, 1995). El análisis de la fauna asociada a los niveles del Magdaleniense inferior en 11 de estos yacimientos ha ofrecido para el caballo unos valores comprendidos entre 0,03 – 25,5 % de representatividad. Los valores máximos se han obtenido en los yacimientos del Cueto de la Mina (nivel D) en Asturias, en Bolinkoba (nivel III) en Vizcaya, en Santimamiñe (nivel VII) en Vizcaya y Abauntz (nivel c) en Navarra (Figura 3.1). Durante el Magdaleniense Medio la representación del caballo disminuye con respecto a los valores obtenidos para el Magdaleniense Inferior. A partir del estudio de la fauna de 5 de estos yacimientos, se ha observado unos valores entre 0,4 – 4,7 %, perteneciendo los valores más altos a los caballos del nivel E de Urtiaga (Guipúzcoa) (Figura 3.1). Por otro lado en los niveles asociados al Magdaleniense superior - final de 14 de estos yacimientos, el caballo está ausente en algunos yacimientos como Ekain (Guipúzcoa), mientras que los valores máximos se recogen en los niveles 1b - 1a de Tito Bustillo en Asturias (con un 4,7% de representatividad) (Figura 3.1) y en el nivel VI de Santimamiñe (con un 9,4% de representatividad).

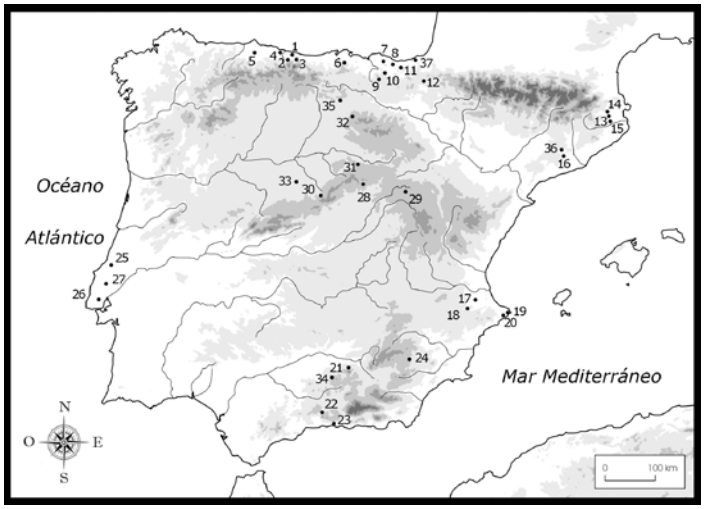


Figura 3.1. Localización de los yacimientos pleistocenos con restos de caballos salvajes. **Norte de la península ibérica:** 1) Cueto de la Mina; 2) Cueva del Gijal; 3) Cueva de Bricia; 4) Tito Bustillo; 5) Cueva de las Caldas; 6) El Rascaño; 7) Santimamiñe; 8) Urtiaga; 9) Arrillor; 10) Bolinkoba; 11) Ekain; 12) Abauntz. **Zona Noreste**: 13) L'Arbreda; 14) Bora Gran; 15) Banyoles; 16) Mediona I. **Zona Este**: 17) Cova Negra; 18) Cova Beneito; 19) Cova Foradada; 20) Cova de Les Cendres. **Zona Sur**: 21) La Carihuela; 22) Boquete de Zafarraya; 23) Cueva de Nerja; 24) Cueva de Ambrosio. **Zona Oeste:** 25) Algar de João Ramos; 26) Pedreira das Salemas; 27) Gruta de Fontainhas. **Interior de la península ibérica**: 28) Cueva de los Torrejones; 29) Cueva de los Casares; 30) Cuevas del Búho y de la Zarzamora; 31) Peña de Estebanvela. **Otros yacimientos mencionados en el texto**: 32) Sierra de Atapuerca; 33) Villacastín; 34) Las Yedras; 35) Valdegoba; 36) Abric Romaní; 37) Aitzbitarte.

Un estudio realizado sobre las colecciones de fauna depositadas en el Museo Nacional de Ciencias Naturales (MNCN) ha corroborado los resultados obtenidos por Altuna (1995), que ponían de manifiesto una clara diferencia en la abundancia de restos de caballo entre los yacimientos estudiados (Domingo *et al*., 2005). Esta abundancia variaba desde los 240 restos procedentes del Cueto de la Mina (Asturias) los cuales conforman un Número Mínimo de Individuos (NMI) = 18, hasta un único resto recuperado en la Cueva del Gijal (Asturias) o la Cueva de El Rascaño en Cantabria (Figura 3.1), entre otros (Domingo *et al*., 2005). Este estudio también puso de manifiesto que en ningún caso el caballo salvaje era el taxón predominante, ocupando este lugar el ciervo en los yacimientos asturianos, o la cabra montés en los yacimientos cántabros (Domingo *et al*., 2005). De hecho, se ha podido constatar una especialización en la caza más patente en los yacimientos del sector occidental de la cornisa cantábrica que en los ubicados en la zona oriental (Altuna, 1995), especialmente durante el Magdaleniense superior-final (Altuna, 1994).

Pero aunque el caballo no sea la especia más representada en los niveles arqueopaleontológicos durante el Pleistoceno superior, su presencia en esta región del norte de la península ibérica también se reafirma en otros yacimientos no mencionados hasta ahora, pudiendo destacar la Cueva de Bricia en Asturias (de Fraga, 1958), la Cueva de Las Caldas en Asturias (Soto y Meléndez, 1981) o la cavidad de Arrillor en Álava (Castaños, 2005a) entre otros.

Entre los materiales que hemos podido estudiar procedentes de yacimientos del norte peninsular, destacan los restos de Las Caldas. Las características de este yacimiento las comentaremos en Capítulo 7 *Material y Métodos*.

3.1.2. El noreste y el prepirineo

Son varios los yacimientos donde se ha documentado la presencia de caballo salvaje en la zona noreste de la península ibérica. A continuación, se comentarán algunos yacimientos de esta zona. En la comarca del Pla de l'Estany (Girona), han aparecido restos de caballo salvaje en el yacimiento de la Cueva de L'Arbreda, en los niveles que abarcan desde el Musteriense reciente hasta el Solutrense; así como en niveles magdalenienses de Bora Gran d'en Carreras en Banyoles, y en niveles del Pleistoceno superior de Banyoles (Galobart *et al*., 1996; Nadal *et al*., 1997) (Figura 3.1). No obstante, otros estudios llevados a cabo sobre la fauna del

yacimiento de Bora Gran han puesto de manifiesto la posibilidad de que estas colecciones estén formadas por una mezcla de material paleolítico y postpaleolítico (Uerpmann, 2005). Por otro lado, también se han recuperado restos de caballo salvaje en el yacimiento de Mediona I, situado en la zona de San Quintín de Mediona, en la región del Alto Penedés (Barcelona) (Figura 3.1). Las dataciones por Termoluminiscencia realizadas sobre lascas de sílex de este yacimiento, le han otorgado una antigüedad comprendida entre 98.000 – 50.000 años (Uerpmann, 2005).

Para la elaboración de esta investigación hemos podido acceder a los materiales del yacimiento de Bora Gran. Comentaremos con más detalles las características de este yacimiento y de la fauna recuperada en el Capítulo 7 *Material y Métodos*.

3.1.3. La cuenca Mediterránea

En el levante peninsular también se ha documentado la presencia de caballo salvaje durante el Pleistoceno superior. Entre los yacimientos donde se ha documentado su presencia, podemos destacar el yacimiento de Cova Negra (Xàtiva, Valencia) (Figura 3.1). En la secuencia estratigráfica de Cova Negra se han diferenciado hasta 15 niveles estratigráficos de base a techo, donde se han reconocido seis fases de sedimentación (Villaverde, 2001a). Estos niveles estratigráficos comprenden desde el interglaciar Riss - Würm hasta comienzos del Würm III (Villaverde, 2001a). Los restos de caballo salvaje recuperados en este yacimiento están representados principalmente por piezas dentarias (Pérez Ripoll, 1977). La mayor parte de los restos de équidos recuperados de Cova Negra se han asociado a la subespecie *Equus caballus germanicus* (Nehring, 1884).

En el yacimiento de Cova Beneito (Muro, Alicante) (Figura 3.1), el caballo es uno de los taxones mejor representados junto a la cabra montés y el ciervo. Estas especies han presentado variaciones en su presencia a lo largo de la secuencia estratigráfica, que se han asociado a oscilaciones climáticas o a cambios en los modelos de explotación de recursos (Iturbe *et al*., 1993). Los restos de caballo son especialmente importantes en el nivel Musteriense final evolucionado. Aunque su abundancia disminuye en los niveles posteriores, los restos de caballo salvaje se han identificado en todos los niveles del Paleolítico Superior de Cova Beneito (asociados a los tecnocomplejos Auriñaciense, Gravetiense, Solutrense y Solutreogravetiense) (Iturbe *et al*., 1993).

Entre otros yacimientos de levante peninsular donde también se han recuperado restos de caballo de cronologías asociadas al Paleolítico Superior destacan Cova Foradada (Xàbia, Valencia) (Figura 3.1), con restos asociados a niveles auriñacienses (Casabó i Bernad, 1997), así como Cova Les Cendres (Teulada-Moraira, Alicante) (Figura 3.1) con restos asociados a los tecnocomplejos Solutrense evolucionado, Magdaleniense medio y superior (Villaverde *et al*., 1999; Villaverde, 2001b).

Hemos tenido la oportunidad de estudiar material de Cova Foradada, Cova Negra, Cova Beneito y Cova de Les Cendres. Las características del yacimiento de Cova Foradada y de la fauna asociada las trataremos con más detalle en el Capítulo 7 *Material y Métodos*. Los materiales procedentes de Cova Negra, Cova Beneito y Cova de Les Cendres los comentaremos en el Capítulo 8 *Resultados*.

3.1.4. El sur de la península ibérica

El caballo salvaje también se ha identificado en el sur peninsular. Entre los yacimientos donde han aparecido se pueden destacar los restos asociados a los depósitos pleistocenos de la Cueva de La Carihuela (Piñar, Granada) (Figura 3.1) recuperados del Corte Spahni de la Cámara III, del Muro Sur y de la Unidad D del Área exterior (Samper, 2010). También han aparecido restos de caballos salvajes en los niveles musterienses del Boquete de Zafarraya (Málaga) (Barroso *et al*., 2003a; Barroso *et al*., 2003b) (Figura 3.1), o los de la Cueva de Nerja (Málaga) (Figura 3.1), donde la mayor concentración de restos de caballos salvajes en esta última cueva se ha localizado en momentos anteriores al Último Máximo Glaciar, en niveles estratigráficos con una cronología comprendida entre *ca*. 24.000 – 17.500 años BP (Jordá Pardo *et al*., 2003).

Otro yacimiento situado en el sur de la península ibérica donde se han recuperado restos de caballos es el abrigo de la Cueva de Ambrosio (Vélez Blanco, Almería) (Figura 3.1). Sus restos han aparecido en niveles asociados al Solutrense medio y superior, siendo el caballo un taxón predominante entre los macromamíferos de estos niveles junto al ciervo y la cabra montés (Yravedra, 2007).

De los yacimientos mencionados, hemos tenido la oportunidad de analizar materiales de la Cueva de La Carihuela, que comentaremos en el Capítulo 8 *Resultados*.

3.1.5. La fachada atlántica

En territorio portugués hay tres yacimientos importantes cuyos restos de caballos salvaje han permitido definir la subespecie *Equus caballus antunesi* (Cardoso y Eisenmann, 1989). Los tres yacimientos se encuentran situados al norte del río Tajo. El más septentrional es Algar de João Ramos, situado en las cercanías de la Serra dos Candeeiros (Figura 3.1). El más meridional es el yacimiento de Pedreira das Salemas, cercano a la desembocadura del río Tajo (Figura 3.1). Entre los yacimientos antes mencionados se encuentra el yacimiento de la Gruta de Fontainhas, localizado en la Serra de Montejunto (Figura 3.1). La subespecie *Equus caballus antunesi* se ha definido utilizando como holotipo el cráneo de équido recuperado en la Gruta de Fontainhas. Junto al resto del material fósil, presenta una cronología comprendida entre 29.900 – 14.000 años de antigüedad (Cardoso y Eisenmann, 1989). Este équido se ha descrito como un caballo pequeño y esbelto, que podría estar relacionado con la subespecie del Pleistoceno medio ibérico *Equus caballus torralbae* Prat (Cardoso y Eisenmann, 1989).

3.1.6. La Meseta Central

En el interior peninsular podemos destacar la presencia de caballo en niveles del Pleistoceno superior de la cueva de los Torrejones (Tamajón, Guadalajara) (Arribas Herrera *et al*., 1995) (Figura 3.1), enmarcados cronológicamente mediante asociaciones faunísticas en la primera mitad del Pleistoceno superior (*Marine Isotope Stage* – MIS 5 a 3, entre 128.000 – 35.000 años BP) (Arribas Herrera *et al*., 1997; Díez *et al.,* 1998). También podemos destacar los restos recuperado en la Cueva de los Casares A y B (Riba de Saelices, Guadalajara) (Figura 3.1), los cuales se han adscrito a la subespecie *Equus caballus casarensis* Altuna, en base a la gracilidad de sus miembros (Altuna, 1973), y se ha asociado a cronología musteriense del interglaciar Riss / Würm o de las primeras fases de la glaciación Würm (Altuna, 1973; Arribas Herrera y Jordá Pardo, 1999).

Otros yacimientos de la zona de la Meseta donde se han documentado la presencia de caballo durante el Pleistoceno superior han sido la cueva del Búho y la cueva de la Zarzamora (ambas en Perogordo, Segovia) (Figura 3.1). Como resultado de la asociación faunística, la fauna de la cueva del Búho se ha situado cronológicamente a comienzos de la última glaciación (Würm I - II) (Molero *et al*., 1989; Iñigo *et al*., 1998). El caballo ha resultado ser la especie más abundante (~ 74% de la muestra de macromamíferos), y además se ha adscrito a la subespecie

Equus caballus antunesi (Iñigo *et al*., 1998; Maldonado, 1996). Para la cueva de la Zarzamora se ha destacado la abundancia de équidos (*Equus ferus* y *Equus hydruntinus*) que, junto al resto de la fauna recuperada, se han enmarcado en el Pleistoceno superior (Sala *et al*., 2011).

Por su parte, en el yacimiento del abrigo de la Peña de Estebanvela (Ayllón, Segovia) (Figura 3.1), se han recuperado restos de caballo mucho más modernos, asociados a finales del Pleistoceno superior. Los niveles estratigráficos donde se han recuperado los restos se han adscrito al Magdaleniense superior - final (Cacho Quesada *et al.,* 2003). De los 5 niveles diferenciados, los restos de caballo se han recuperado de los niveles I – III, de los cuales en los niveles I y II el caballo ha resultado ser un taxón abundante, alcanzando el 25% del NMI total del nivel I y el 33% del NMI total del nivel II (Cacho Quesada *et al.,* 2003). Se ha considerado que los niveles I y II se sedimentaron de manera continua, análisis que se ha visto corroborado por un lado, con el estudio tecnocultural de ambos niveles que se han atribuido al tecnocomplejo Magdaleniense final, y por otro lado por la dataciones de radiocarbono obtenidas, que se solapan y ofrecen una horquilla temporal comprendida entre 13.810 años cal. BP (nivel II, Beta-155116, 11.400 ± 120 BP) y 12.890 años cal. BP. (nivel I, Beta-155114, 11.060 ± 50 BP). El nivel III se ha asociado al tecnocomplejo Magdaleniense superior, y su sedimentación se ha situado en un intervalo comprendido entre 15.390 años cal. BP (Beta-155118, 12.360 ± 50 BP) y 14.100 años cal. BP (Beta-155710, 12.270 ± 40 BP) (Cacho Quesada *et al.,* 2003).

De los yacimientos que hemos comentado, hemos tenido la oportunidad de estudiar materiales procedentes del abrigo de la Peña de Estebanvela, que comentaremos en el Capítulo 8 *Resultados*.

3.1.7. Las subespecies de caballo en la península ibérica

Como hemos comentado en el *Capítulo 2. La domesticación del caballo*, en la actualidad existe una gran controversia con respecto a la sistemática del género *Equus*. Solamente para el Pleistoceno europeo se han reconocido alrededor de una veintena de taxones entre especies y subespecies de este género, número que se ve modificado en función de los estudios de diversos especialistas (Altuna y Apellániz, 1976; Castaños, 1985-1986; Maldonado, 1996). Esto ha provocado que la nomenclatura de los taxones del Pleistoceno europeo sea muy confusa (Uerpmann, 2005).

Frente a esta disparidad, algunos investigadores consideran que las formas equinas caballinas de Europa central y occidental pertenecen a una única especie biológica, que actualmente tendría sus representantes principales en el caballo doméstico (*Equus caballus*) y de manera residual, en el caballo de Przewalski. Conforme al acuerdo de la Comisión Internacional de Nomenclatura de 2002, el nombre válido para esta especie es *Equus ferus* (Boddaert, 1785) (Uerpmann, 2005). De este modo, y según algunos autores, las formas de caballo salvaje del Pleistoceno medio y superior que reciben distintos nombres deberían considerarse *ecotipos* o subunidades cronológicas de *Equus ferus* (Cramer, 2002 en Uerpmann, 2005).

En una revisión de los équidos de la península ibérica del Pleistoceno medio y superior se han identificado entre las formas caballinas de Iberia dos subespecies para las que se ha propuesto una línea evolutiva independiente dentro de la península ibérica, y que tendrían un origen en el Pleistoceno medio (Maldonado, 1996). Se ha considerado a *Equus caballus torralbae* Prat como la subespecie más antigua de esta línea evolutiva asociada el Pleistoceno medio, y a *Equus caballus antunesi* Cardoso y Eisenmann, como el representante de esta misma línea evolutiva durante el Pleistoceno superior (Maldonado, 1996). Esta línea evolutiva se ha caracterizado por desarrollar un modelo caballino cada vez más esbelto y grácil, en contraposición a los caballos centroeuropeos que se muestran cada vez más robustos y de menor alzada (Maldonado, 1996).

Esta revisión ha sugerido que las formas previamente identificadas como *Equus caballus* cf. *steinheimensis* y *Equus caballus* cf. *germanicus* de los yacimientos de la Gran Dolina y Galería de la sierra de Atapuerca (Burgos) (Figura 3.1), así como *Equus caballus* cf. *germanicus* de Villacastín (Segovia) (Figura 3.1), Cova Negra (Valencia) y Las Yedras (Granada) (Figura 3.1), pertenecerían en realidad a la subespecie *Equus caballus torralbae* (Maldonado, 1996). Por su parte, *Equus caballus antunesi* sería la especie característica del Pleistoceno superior Ibérico la cual, además de reconocerse en los yacimientos de Salemas, Fontainhas y João Ramos, también estaría representada en la Cueva del Búho (Segovia), Valdegoba (Burgos), Abric Romaní (Barcelona) y La Carihuela (Piñar, Granada) (Maldonado, 1996) (Figura 3.1).

No obstante también se ha reconocido en Iberia la presencia de individuos característicos de Europa central asociados a la línea evolutiva *Equus caballus germanicus* Nehring – *Equus caballus gallicus* Prat (Castaños, 1985 - 1986; Maldonado, 1996). Por una parte, se ha propuesto la presencia *Equus caballus gallicus* en los yacimientos de la cornisa cantábrica de Urtiaga y Aitzbitarte (Figura 3.1) durante el final del Pleistoceno superior (Altuna,

1972; Maldonado, 1996). Además, a partir de material dentario procedente de 22 yacimientos distribuidos por la cornisa cantábrica con una cronología también asociada al Pleistoceno superior, se ha propuesto que las muestras analizadas estarían asociadas con *Equus caballus germanicus* y *Equus caballus gallicus*; aunque también compartiría características dentarias con los taxones *Equus remagensis* y *Equus ferus solutrensis* Nobis, que formarían una línea evolutiva diferente (según Nobis, 1971 en Castaños, 1985-1986). Mientras que *Equus remagensis* coincidiría con *Equus caballus germanicus*, el taxón *Equus ferus solutrensis* sería sinónimo de *Equus caballus gallicus* (Altuna y Mariezkurrena, www.pottoka.info/lapottoka/libro.php?id=es).

3.2. Representaciones del arte rupestre

El caballo salvaje es una especie que se encuentra bien representada en el arte parietal ibérico. Tras el análisis de más de más de 2000 figuras reconocidas en 101 localizaciones de toda la Península (entre cuevas, abrigos y estaciones al aire libre), se determinó que el caballo era, después del ciervo, la segunda especie más representada en el arte rupestre peninsular, superando en frecuencia a la cabra montés, al bisonte y al uro (Altuna, 2002).

Son muchas las localizaciones peninsulares con figuras rupestres de équidos. No pretendemos ofrecer aquí una lista completa de las mismas, únicamente información de algunas para ofrecer una visión de la importancia que podía tener el caballo en las representaciones rupestres. Destacamos el yacimiento de Ekain (Figura 3.2), donde las figuras de caballo asociadas al Magdaleniense alcanzan el 57% de la totalidad de la muestra de animales del arte parietal, mientras que su representatividad arqueopaleontológica en los niveles asociados al Magdaleniense es muy baja. Los restos de caballo en el nivel VII, asociado al Magdaleniense inferior cantábrico, constituyen el 0,8% en cuanto al número de restos de la macrofauna recuperada, y en el nivel IV (Magdaleniense superior - final) no superan el 1,1 % (Altuna, 1994). La misma situación se repite en los niveles arqueopaleontológicos y con las figuras parietales asociadas al Magdaleniense del yacimiento de Tito Bustillo (Figura 3.2), en el cual el caballo es la especie más representada en el arte parietal (con una 37,5% del total de figuras de animales), mientras que en el yacimiento no llega a alcanzar el 6% de los restos de macrofauna en ninguno de los niveles asociados al Magdaleniense (Altuna, 1994). En otros yacimientos cantábricos de los que se disponía de representaciones de arte parietal y

yacimientos arqueopaleontológicos también se obtuvieron, para otros taxones como el rebeco, resultados contradictorios (Altuna, 1994).

Mientras que en el tecnocomplejo Solutrense, la especialización en la caza estaba centrada en el ciervo, la cabra montés, el caballo, el sarrio o rebeco y, en menor medida, los bovinos; durante el Magdaleniense la caza de animales se focalizó fundamentalmente en la cabra y el ciervo, en función de la localización de los yacimientos (Altuna, 1994). De este modo, numerosos yacimientos de la cornisa cantábrica han ofrecido en sus niveles magdalenienses unos valores de ciervo o de cabra que pueden superar el 80% de los restos de animales ungulados, quedando desplazada la importancia de los caballos, los bovinos y los sarrios como presas de caza (Altuna, 1994).

Por lo tanto, la comparación entre la fauna recuperada y la fauna representada en el arte parietal ha puesto de manifiesto una proporción inversa o una ausencia de correspondencia entre la abundancia de caballos que aparecen en los niveles arqueopaleontológicos y la representada en las figuras parietales de los yacimientos cantábricos (Altuna, 1994).

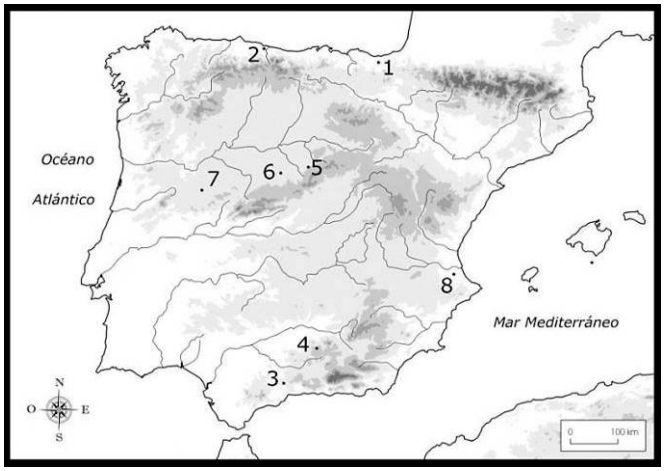


Figura 3.2. Localización de los yacimientos y estaciones pleistocenas mencionadas en el texto con representaciones rupestres. 1) Ekain; 2) Tito Bustillo; 3) La Pileta; 4) Malalmuerzo; 5) La Griega; 6) Domingo García; 7) Siega Verde; 8) Cueva del Parpalló.

En cuanto al análisis de la distribución conjunta de las figuras de caballo, se ha observado que esta distribución variaba si se analizaba la península ibérica por sectores. Mientras que el caballo ocupaba la segunda posición después del ciervo en la región cantábrica, en el resto de la península ibérica el caballo resultaba el animal más representado (Altuna, 2002). Sin embargo, los estudios de las frecuencias de representaciones zoomorfas localizadas en 14 yacimientos paleolíticos situados en Andalucía, pusieron de manifiesto que los équidos presentaban una frecuencia menor a la obtenida para los uros, ciervas y representaciones pisciformes (Sanchidrián, 1994). Las representaciones de équidos de esta

zona de la península ibérica se han asociado culturalmente al Solutrense antiguo y reciente, así como al Magdaleniense reciente [como en el caso de las representaciones de la cueva de La Pileta (Benaoján, Málaga) para los Horizontes A, B, E y H, (Figura 3.2) o las representaciones del Solutrense reciente de la cueva de Malalmuerzo (Moclín, Granada) (Figura 3.2) (Sanchidrián, 1994).

Entre los yacimientos paleolíticos con representaciones de caballos localizados en la Meseta destacan, entre otros, los grabados de la cueva de La Griega (Pedraza de la Sierra, Segovia), situada al sur de la cuenca hidrográfica del río Duero (Figura 3.2). De las 90 representaciones de figuras reconocidas, los caballos suponen el 71% de los temas figurativos, y son los animales que más aparecen representados en todas las fases de ejecución (Corchón *et al*., 1997). Se han propuesto 4 fases de ejecución para estos grabados, con estilos comprendidos entre el Magdaleniense inicial tipo cantábrico o el Solútreo - gravetiense II y III mediterráneos para los grabados más antiguos, y finales del Magdaleniense medio – transición Magdaleniense superior para los más modernas. Los grabados más antiguos se habrían ejecutado en fechas posteriores a la Oscilación Lascaux (17.800 – 16.500 años BP) y los más modernos a partir del interestadial Bölling (*ca.* 12.800 años BP) (Corchón *et al*., 1997)

Otra localización dentro de la provincia de Segovia con una alta frecuencia de grabados de caballos paleolíticos es el conjunto de arte rupestre de Domingo García (Figura 3.2). Se encuentra situado en la comarca de Santa María la Real de Nieva, al sur de la cuenca hidrográfica del río Duero, y se caracteriza por presentar un total de 115 de figuras grabadas al aire libre (Ripoll López *et al*., 1999). Entre estas figuras, los équidos tienen una clara predominancia (componen el 37,39 % de la muestra), seguidos en orden de importancia por animales indeterminados, cérvidos, caprinos y bovinos. A partir de criterios estilísticos, la mayoría de los grabados se han asociado a finales del Solutrense, mientras que otro grupo de grabados se han asociado a comienzos del Magdaleniense (Ripoll López *et al*., 1999) (Figura 3.3).

Los caballos son también los animales predominantes entre las figuras grabadas en el conjunto rupestre al aire libre de Siega Verde (Alcolea y de Balbín, 2006). El yacimiento está situado en el curso medio - alto del río Águeda a su paso por los términos municipales de Villar del Ciervo y Villar de Argañán, en la provincia de Salamanca y cerca de la frontera con Portugal (Figura 3.2). En el inventario de figuras de Siega Verde se han contabilizado entre otras, 241 representaciones de animales. Los équidos aparecen en 124 representaciones, de las que solamente 11 no se han podido adscribir con seguridad a este taxón. El análisis estilístico ha

situado las figuras entre los estilos III avanzado y IV antiguo de la serie de A. Leroi-Gourhan (Alcolea y de Balbín, 2006). Además, se ha propuesto que las figuras de Siega Verde serían similares a otras, localizadas en las cuevas de Los Casares, La Hoz y el Reno, todas en el interior peninsular (Alcolea y de Balbín, 2006). Se ha considerado que las figuras de Siega Verde se habrían realizado en un intervalo de tiempo que, en su equivalente en la cornisa cantábrica, correspondería con las últimas fases del Solutrense o con las primeras del Magdaleniense llegando posiblemente hasta el Magdaleniense medio, y presentando unas cronologías comprendidas entre 18.000 – 15.000 / 14.000 años BP (Alcolea y de Balbín, 2006).



Figura 3.3. Representación de uno de los caballos de Domingo García. Figura conocida como el *gran caballo*. Figura realizada mediante piqueteado (medidas 106 cm de longitud por 56,4 cm de altura). Localizada en el Cerro de San Isidro, Roca 12, Panel B, Figura 5 según nomenclatura de Ripoll López *et al*. (1999).

Otro yacimiento donde destacan las representaciones rupestres de équidos es la Cueva del Parpalló (Gandía, Valencia) (Figura 3.2). En este yacimiento se ha recuperado una colección de plaquetas grabadas y pintadas que alcanza un total de 5612 piezas, que abarcan varios periodos culturales entre el Gravetiense y el Magdaleniense superior (Villaverde, 1994). Los équidos aparecen representados en diversas plaquetas a lo largo de estos periodos y, junto a los bovinos, los cérvidos y los caprinos son los animales que concentran la mayor cantidad de las representaciones. En concreto los équidos se han representado en 128 ocasiones, presentando las frecuencias más altas en los periodos Solutrense medio antiguo, Solútreo-gravetiense I y Magdaleniense superior (Villaverde, 1994). Es de destacar que los équidos

presentan la máxima frecuencia de sus representaciones durante el Solútreo - gravetiense I, periodo durante el cual sus restos faunísticos tienen una representación mínima en el yacimiento (Villaverde, 1994).

Una de las labores llevadas a cabo en el análisis de la iconografía paleolítica ha buscado la asociación de los diferentes tipos de caballos del arte parietal con las razas actuales. Tras un examen de las representaciones de caballos de diversos yacimientos españoles y franceses, el profesor E. Hernández Pacheco agrupó las representaciones de caballo en dos tipos morfológicos que no denominó de ninguna manera especial, a la espera de futuras investigaciones paleontológicas (Hernández Pacheco, 1917; 1919). Simplemente los definió como "tipo primero" y "tipo segundo". Para el profesor E. Hernández Pacheco, los de "tipo primero" presentaban semejanzas con la razas tipo poni, mientras que los de "tipo segundo" se asemejaban más a los caballos árabes y, en general, a los caballos corredores. No obstante, este tipo de trabajos no ha estado exento de problemas a la hora de diferenciar especies o subespecies de caballos a partir de las representaciones artísticas (Ucko y Rosenfeld, 1967; Altuna, 1972), por lo que se ha aconsejado no utilizar este tipo de asociaciones (Alcolea y de Balbín, 2006).

CAPÍTULO 4

En Iberia hay muchos corzos y caballos salvajes.

Estrabón. *Geografía*, Libro III, 15

4.1. EL CABALLO EN LA PENÍNSULA IBÉRICA DURANTE EL HOLOCENO

4.1.1. El caballo durante el Epipaleolítico, Mesolítico y Neolítico

4.1.1.1. El Epipaleolítico y el Mesolítico

Como se ha comentado en el apartado anterior, la disminución de la presencia de restos de caballo en niveles estratigráficos asociados al inicio del Holoceno, sirvió para sugerir la extinción de este animal, al menos en el área de la Cordillera Cantábrica (Altuna, 1980; Castaños, 1991a). De hecho, aunque durante el tecnocomplejo Aziliense el caballo está ausente en yacimientos como Urtiaga, Ekain o Ermittia (todos en Guipúzcoa), en otros yacimientos en cambio se ha documentado su presencia, refutándose de este modo la hipótesis de su extinción. El caballo se ha identificado en el nivel 1 del yacimiento cántabro de Morín [donde el número de restos (NR) de caballos alcanza un 4,5% respecto del total para este nivel] (Figura 4.1) así como en el nivel I del yacimiento guipuzcoano de Aitzbitarte IV (con un 3,9% respecto del total en este nivel) (Figura 4.1) (Altuna, 1995).

Además, también han puesto de manifiesto la presencia de este taxón en el nivel 2 de La Paloma (Asturias), los niveles 27-28 de La Riera (Asturias), el nivel 1 de Rascaño (Cantabria), el nivel 1 de El Pendo (Cantabria) o los niveles III-IV de Arenaza (Vizcaya) (Figura 4.1) (Altuna, 1998), así como en las excavaciones realizadas en la Zatoya (Abaurrea Alta, Navarra) y en el abrigo de Mendandia (Condado de Treviño, Burgos) (Altuna y Mariezkurrena www.pottoka.info/lapottoka/libro.php?id=es), siempre con unas proporciones bastantes bajas respecto al número de restos recuperados.

4.1.1.2. El Neolítico

La presencia de caballo en los registros faunísticos durante el Neolítico es muy marginal. Muchos yacimientos asociados a esta época se caracterizan, entre otras, por una ausencia

total de restos de caballos salvajes. No obstante, y salvo excepciones que se comentarán a continuación, en los yacimientos ibéricos donde se ha constatado su presencia, siempre ha estado asociada a un porcentaje de restos muy bajos.

Se ha comprobado la presencia de caballo salvaje en el norte de la península ibérica a partir de diversos estudios realizados sobre la fauna de los yacimientos de la Zatoya (Abaurrea Alta, Navarra), Fuente Hoz (Álava) (Mariezkurreta, 1990), La Renke (Álava) (Altuna y Mariezkurrena, 2001), completados con los resultados obtenidos, entre otros, en los yacimientos de Mendandia (Condado de Treviño, Burgos), Kobaederra (Oma, Vizcaya), Peña Larga (Álava) (Altuna y Mariezkurrena, www.pottoka.info/lapottoka/libro.php?id=es) o la Cueva del Moro (Olvena, Huesca) (Altuna, 1998; Castaños, 1991a) (Figura 4.1).

El caballo salvaje es uno de los 20 taxones de mamíferos representados en los niveles neolíticos de la Cueva de Chaves (Figura 4.1), situada en el antiguo término de Bastarás (integrado actualmente en Casbas de Huesca, Aragón) (Castaños, 2004), uno de los principales yacimientos para el estudio del Neolítico en el Alto Aragón (Hernández Pérez y Martí, 2000 - 2001). La fauna neolítica de Chaves procede de los niveles NIb – NIa, para los que se dispone de varias dataciones de radiocarbono. Los extremos del marco temporal lo presentan las dataciones 6770 ± 70 BP (GNR12685) y 6120 ± 70 BP (CSIC-381)[1] (Baldellou y Utrilla, 1985). De estos niveles se han identificado 12.754 restos faunísticos, y 12 de estos restos se han atribuido a tres caballos salvajes (Número Mínimo de Individuos, NMI = 3) (Castaños, 2004).

En la zona este de la península ibérica, se ha documentado la presencia de caballos salvajes en Cova Freda (Collbató, Barcelona) (Figura 4.1), así como en Cova de la Sarsa (Bocairent) y en los niveles meso-neolíticos de Cova del Barranc Fondo (Xàtiva) ambos en Valencia (Figura 4.1) (Uerpmann, 1976).

También se han recuperado restos de caballo en la Cueva de l'Or (Beniarrés, Alicante) (Figura 4.1), uno de los yacimientos más importantes para el estudio del desarrollo del Neolítico en la vertiente mediterránea de la península ibérica (Zilhao, 2001). La secuencia estratigráfica de la Cueva de l'Or comprende todo el Neolítico. Los niveles más antiguos se corresponden con el Neolítico inicial y se encuentran cronológicamente enmarcados a mediados del VI milenio aC., mientras que los niveles del Neolítico final se han asociado a algún momento indeterminado del IV milenio aC. (Martí *et al.,* 2001). Las dataciones obtenidas

[1] Calibración a 2 σ realizada con la curva de calibración IntCal13 y el programa OxCal 4.2; 6770 ± 70 BP (GNR12685): 7752 – 7500 años cal. BP; 5803 – 5551 años cal aC; 6120 ± 70 BP (CSIC-381): 7230 – 6795 cal. BP; 5281 – 4846 cal. aC.

se distribuyen en una horquilla temporal entre 6720 ± 380 BP y 5980 ± 260 BP[2] (Gallart y Martí, 1980). En este yacimiento se han recuperado 3 restos de caballo, que se han asociado a 3 individuos diferentes (Pérez Ripoll, 1980).

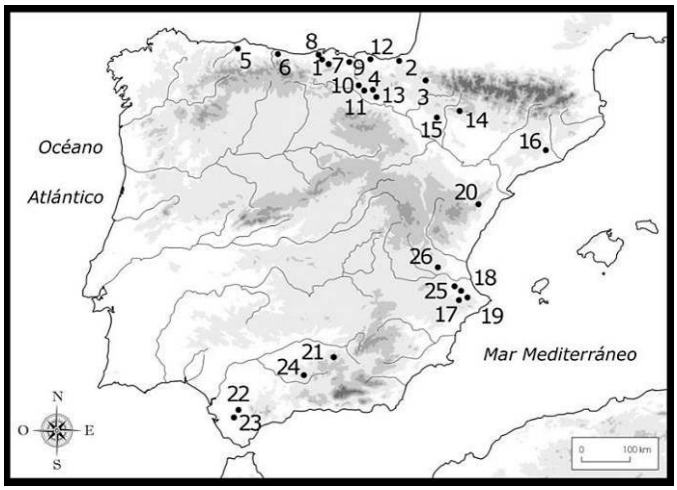


***Figura 4.1. Localización de los yacimientos mencionados en el texto con restos de caballo*. Epipaleolítico y Mesolítico**: 1) Morín; 2) Aitzbitarte; 3) Zatoya; 4) Mendandia; 5) La Paloma; 6) La Riera, 7) Rascaño; 8) El Pendo; 9) Arenaza. **Neolítico**: 10) Fuente Hoz; 11) La Renke; 12) Kobaederra; 13) Peña Larga; 14) Chaves; 15) Cueva del Moro; 16) Cova Freda; 17) Cova de la Sarsa; 18) Barranc Fondo; 19) Cueva de l'Or; 20) Cova Fosca; 21) La Carihuela; 22) La Dehesilla; 23) El Parralejo; 24) Los "Castillejos" de las Peñas de los Gitanos de Montefrío; 25) La Ereta del Pedregal; 26) Fuente Flores.

Asimismo, También se han documentado restos de caballo en el yacimiento de Cova Fosca (Ares del Maestre, Castellón) (Figura 4.1), otro yacimiento de gran importancia en el desarrollo del Neolítico en el levante peninsular (Hernando, 1999). En este yacimiento se han diferenciado 6 niveles estratigráficos con una horquilla temporal comprendida entre 9460 ± 160 BP y 5715 ± 80 BP[3] distribuidos, a su vez, en 3 fases de ocupación. La fase más antigua (Fase III) se ha asociado al Epipaleolítico tardío y las dos restantes (Fases II y I) al Neolítico (Olària, 1988b), aunque se ha sugerido que una parte de la Fase II perteneciera también al Epipaleolítico (Zilhao, 1993). Independientemente de la adscripción cultural de la Fase II, se han recuperado restos de caballos salvajes en ambos momentos culturales (Epipaleolítico y Neolítico), aunque no ha sido posible establecer si en alguno de los niveles el caballo podría ser ya un taxón doméstico (Estévez, 1988).

En el sur de la península ibérica podemos destacar los restos de équidos descritos en la Cueva de La Carihuela (Piñar, Granada) (Figura 4.1), que aparecieron junto a cerámicas impresas (Uerpmann, 1976), así como los documentados en las cuevas de La Dehesilla y El Parralejo (Figura 4.1), ambas localizadas en Cádiz (Boessneck y Driesch, 1980), en las cuales se recuperó un resto en cada yacimiento.

[2] Calibraciones a 2σ utilizando el programa OxCal 4.2 con el modelo de calibración IntCal13. Calibración de 6720 ± 380 BP (8365 – 6798 años cal. BP; 6416 – 4849 años cal. aC). Calibración de 5980 ± 260 BP (7416 – 6310 años cal. BP; 5467 – 4361 años cal. aC)

[3] Calibraciones a 2σ utilizando el programa OxCal 4.2 con el modelo de calibración IntCal13. Calibración de 9460 ± 160 BP (11 190 – 10 298 años cal. BP; 9241 – 8349 años cal. aC). Calibración de 5715 ± 80 BP (6673 – 6317 años cal. BP; 4724 – 4368 años cal aC).

Para esta investigación hemos tenido la oportunidad de analizar materiales procedentes de Cova Fosca. Se ofrecerá una visión más detallada de este yacimiento y de sus restos faunísticos en el capítulo de *Material y Métodos*.

4.1.1.3. Transición Neolítico final – Calcolítico

Han aparecido restos de caballo también en niveles estratigráficos asociados a momentos culturales de la transición entre el Neolítico final y el Calcolítico. De los tres yacimientos que se van a presentar, dos de ellos (la Ereta del Pedregal y Fuente Flores, ambos en Valencia) han permitido documentar una cantidad abundante de restos de caballo que han sugerido, sin resultados concluyentes, la posibilidad de una temprana domesticación del caballo (Pérez Ripoll, 1990; Juan-Cabanilles y Martínez Valle, 1988).

4.1.1.3.1. El Poblado de "Los Castillejos" en Las Peñas de los Gitanos (Montefrío, Granada)

Del poblado de Los Castillejos en Las Peñas de los Gitanos (Montefrío, Granada) (Figura 4.1) se ha estudiado un conjunto muy reducido de restos de caballo (Uerpmann, 1978). En este yacimiento se han diferenciado 6 niveles estratigráficos agrupados en 3 fases diferentes: Fase I asociada al Neolítico final, Fase II asociada al Calcolítico y Fase III asociada al Calcolítico final / posible Bronce inicial (Uerpmann, 1978). La fauna estudiada procede del corte estratigráfico 1c que se ha asociado con desechos de cocina. Se recuperaron un total de 1197 restos, contabilizando identificables y no identificables. Estos restos se han atribuido a 14 especies de mamíferos y, el 80 % de estos restos se han asociado a animales domésticos. Los restos de caballo que se han recuperado proceden del estrato V, definido como un estrato de transición entre el Neolítico final - Calcolítico precampaniforme, y su parte superior se ha identificado con momentos iniciales del Calcolítico. Sólo se recuperaron 5 restos atribuidos a caballo, no pudiéndose determinar el estatus salvaje o doméstico de los mismos (Uerpmann, 1978).

4.1.1.3.2. El yacimiento de la Ereta del Pedregal (Valencia)

En el yacimiento de la Ereta del Pedregal (Navarrés, Valencia) (Figura 4.1) se han documentado restos de caballo a los que se les ha atribuido un estatus doméstico. Se han

diferenciado 4 niveles comprendidos entre el Neolítico final / Calcolítico pleno - Calcolítico final / comienzos de la Edad del Bronce. Estos niveles se han enmarcado entre la primera mitad del III milenio aC. hasta comienzos del II milenio aC. (Pérez Ripoll, 1990). Se han recuperado 2519 restos faunísticos, correspondiendo en su mayoría a un total de 18 taxones de mamíferos. Entre los animales domésticos, los caprinos han sido los animales que más restos han presentado. Con respecto al caballo, se han recuperado hasta 35 restos, asociados a un NMI = 13. Se ha propuesto que el caballo sería un taxón doméstico ya desde Neolítico final, a partir de los restos del nivel I. Esta propuesta se ha sustentado principalmente en la presencia constante de caballo en todos los niveles del yacimiento, aunque sea en una proporción baja y en las propuestas sugeridas por otros investigadores sobre la presencia de caballos domésticos en la península ibérica desde, por lo menos, niveles asociados al Calcolítico precampaniforme (Uerpmann, 1978; Pérez Ripoll, 1990).

4.1.1.3.3. El yacimiento de Fuente Flores (Valencia)

Este yacimiento se encuentra localizado en la vega del río Magro a su paso por el término municipal de Requena (Valencia) (Figura 4.1). A partir de los materiales arqueológicos (cerámica, piedra tallada, piedra pulida, hueso y madera trabajados, barro cocido y restos de materia vegetal), restos faunísticos y elementos constructivos recuperados, se ha considerado Fuente Flores como los restos de un poblado que estuvo en activo en un momento cultural entre el Neolítico final y el Calcolítico valenciano. La cronología propuesta comprende 2707 ± 116 años cal. aC (Martínez Valle *et al*., 2016).

De este yacimiento se han recuperado un total de 1123 restos óseos, de los cuales se han identificado 588 restos (52,5% del total) pertenecientes a, por lo menos, 16 taxones diferentes. Entre estos taxones se han diferenciado animales domésticos (*Ovis aries*, *Capra hircus*, *Bos taurus*, *Sus domesticus* y *Canis familiaris*) y animales salvajes (entre los que podemos destacar *Cervus elaphus*, *Bos primigenius*, *Sus scrofa* o *Capreolus capreolus*). A diferencia de otros yacimientos de la misma época en los que los restos de caballo presentan una frecuencia mínima, en este yacimiento la proporción de restos de caballo ha alcanzado valores altamente significativos, que también se han mantenido cuando se utilizan otras variables para medir la relevancia de este taxón, como el NMI o la cantidad de biomasa proporcionada para el consumo humano (Juan-Cabanilles y Martínez Valle, 1988).

Los restos de caballo en Fuente Flores han arrojado una cifra de NR=195 (33,1% del total de restos identificados), superando al valor obtenido para todos los animales silvestres en su conjunto (NR= 168; 26,5% del total identificado) y casi equiparándose al obtenido para todos los animales domésticos en su conjunto (NR=226; 38,1% del total identificado). El análisis de la cantidad de individuos de esta especie ha presentado un valor de NMI=7, siendo el taxón que más individuos tiene representados, superado únicamente por el valor obtenido para caprinos indeterminados (NMI=8). A su vez, el caballo es el taxón que más biomasa ha aportado para el consumo humano, proporcionando casi el 50% de biomasa procedente de todo el conjunto faunístico (Juan-Cabanilles y Martínez Valle, 1988).

Todas las unidades anatómicas están representadas. Las marcas de corte identificadas en el 9,7% de los restos de caballos analizados sugirieron que fueron utilizados para el consumo humano. Además, el análisis de los perfiles demográficos puso de manifiesto que la muestra estuvo constituida por cuatro individuos subadultos y seis adultos (Martínez Valle *et al*., 2016).

Además, en un reciente estudio centrado en los caballos de este yacimiento, se han identificado posibles marcas de bocado en un P2 inferior (Martínez Valle *et al*., 2016).

El elevado NR de caballos podría apoyar la hipótesis de considerarlo un taxón doméstico y, la presencia de individuos adultos en la muestra ha permitido sugerir que además de un uso para el consumo humano, el caballo podría haberse explotado para otros fines. No obstante, la cronología de los caballos de Fuente Flores, anterior a la de cualquier conjunto ibérico clasificado inequívocamente como doméstico, y el hecho de que en otros yacimientos ibéricos contemporáneos no se haya encontrado la misma abundancia de restos de caballos, no han permitido considerar definitivamente a estos caballos como animales domésticos (Juan-Cabanilles y Martínez Valle, 1988), aunque se considera que podría tratarse de animales, al menos, controlados de alguna manera por el hombre (Martínez Valle *et al*., 2016).

4.1.2. El caballo durante el Calcolítico

Durante este periodo se va a documentar en los yacimientos una modificación en el patrón de representatividad del caballo. Algunos yacimientos peninsulares de esta época van a presentar una proporción de restos de caballo no conocida hasta la fecha para ningún yacimiento holoceno de la península ibérica. Los hallazgos llevados a cabo en el yacimiento del

Cerro de la Virgen de la Cabeza (Granada) (Driesch, 1972; Uerpmann, 1990) (Figura 4.2), en el Cerro I de "Los Castillejos" de Fuente de Cantos en Badajoz (Extremadura) (Castaños, 1991b; Castaños, 1997) (Figura 4.2), o el estudio de la fauna del poblado del Cerro de la Horca (Extremadura) (Castaños, 1992) (Figura 4.2), van a servir como base para proponer que el caballo ya se encontraba doméstico o en fase de domesticación inicial durante el Calcolítico en la península ibérica. Concretamente, las muestras de caballo de los yacimientos del Cerro I de "Los Castillejos" y las del Cerro de la Horca se van a caracterizar por presentar unos valores significativamente altos en la proporción de restos de caballo (Castaños, 1992).

En relación a los estudios sobre la domesticación del caballo es interesante resaltar que ninguno de los caracteres anatómicos de uso tradicional en el estudio de los orígenes de domesticación de otros animales son aplicables al estudio de la domesticación del caballo (Zeder, 2012). No hay caracteres morfológicos aparentes que se puedan usar para diferenciar caballos domésticos de caballos salvajes. Tampoco hay perfiles demográficos diferenciales que permitan distinguir patrones de gestión de caballos domésticos en relación a los patrones en caballos salvajes (Zeder, 2012). Por estos motivos, la determinación de caballos domésticos se ha llevado a cabo estudiando la mayor cantidad de evidencias indirectas posibles especialmente para restos calcolíticos y, en general, para épocas posteriores (Morales y Liesau, 1995; Liesau, 1998). Se analiza la abundancia de restos, la abundancia porcentual del peso de este taxón comparado con otros taxones domésticos presentes en la muestra y su relación con el patrón de aprovechamiento. Estos análisis se complementan con estudios de los perfiles demográficos y de la distribución de sexos, y se estudian determinadas patologías que pueden estar relacionadas con el uso de bocados o con el uso de estos animales como bestias de carga (Morales y Liesau, 1995; Liesau, 1998; Galindo-Pellicena *et al*., 2017b).

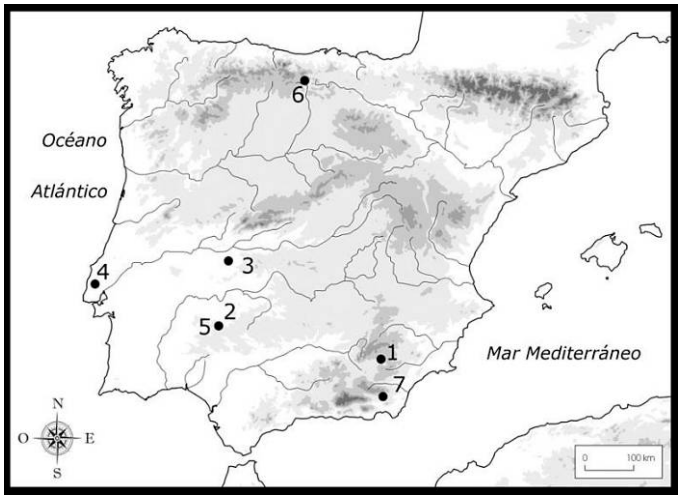


Figura 4.2. Localización de los yacimientos calcolíticos mencionados con restos de caballo. 1) Cerro de la Virgen; 2) Cerro I de "Los Castillejos"; 3) Cerro de la Horca; 4) Castro de Zambujal; 5) Cerro II de "Los Castillejos"; 6) Cueva Rubia; 7) Terrera Ventura.

4.1.2.1. El Cerro de la Virgen de la Cabeza (Orce, Granada)

El yacimiento del Cerro de la Virgen de la Cabeza se encuentra localizado en el término municipal de Orce (Figura 4.2), en la orilla izquierda del río Orce y casi en el límite entre los términos municipales de Orce y Galera (Granada) (Schüle y Pellicer, 1963). En un principio se diferenciaron en este yacimiento 4 niveles estratigráficos principales, para los que se propuso una ocupación comprendida entre el final de la Edad del Bronce inicial y el final de la cultura de El Argar, con una reocupación posterior durante época árabe (Schüle y Pellicer, 1963). Posteriormente se han reasignado estos 4 niveles estratigráficos con las siguientes etapas culturales: Calcolítico precampaniforme (nivel I), Campaniforme (nivel II), cultura de El Argar (nivel III) y época árabe (nivel IV) (Driesch, 1972). En total se han recuperado 51.417 restos faunísticos, y se ha determinado que alrededor del 84% pertenecían a animales domésticos (Driesch, 1972). A partir del análisis de los restos de caballo de los niveles I y II, se ha propuesto la posibilidad de que los caballos del nivel I fueran salvajes, y que a partir del nivel campaniforme empezaran a aparecer los caballos domésticos. Esta propuesta se ha sustentado en la variación significativa de restos de este animal entre un nivel y otro. Mientras que para el nivel I se recuperaron 6778 restos de fauna, únicamente 14 restos (NMI= 1) se asociaron a caballo. En el nivel I/II se observó un aumento en el número de restos de caballo (NR = 73, NMI = 2) en relación a un total de 5495 restos recuperados en este nivel. Por su parte, el número de restos de caballo recuperados en el nivel II ha sido significativamente alto (NR = 1061, NMI=12, de un total de 24.608 restos faunísticos), siendo además el nivel que mayor cantidad de restos de caballo ha presentado en el yacimiento (Driesch, 1972). Con respecto a la escasa muestra de caballo del nivel I, el análisis de los restos ha sugerido la posibilidad de que alguno de estos restos pudieran pertenecer a otra especie equina diferente, así como que hubiera restos que pudieran proceder de otros niveles estratigráficos (Driesch, 1972).

Estudios posteriores donde se comparaban por separado los caballos calcolíticos y de la Edad del Bronce del Cerro de la Virgen con otros caballos salvajes y domésticos ibéricos, concluyeron que los caballos de época campaniforme del Cerro de la Virgen probablemente ya eran caballos domésticos y que, además, se domesticaron a partir de caballos silvestres locales (Uerpmann, 1990). Estas conclusiones se obtuvieron comparando valores de LSI (*Logarithmic Size Index*) de caballos salvajes neolíticos y calcolíticos con los del Cerro de la Virgen entre otros, y comprobando que los caballos de época campaniforme del Cerro de la Virgen eran, en promedio, más pequeños y con una mayor variabilidad de tamaño que los de las poblaciones salvajes (Uerpmann, 1990).

Por otro lado, el hallazgo de los restos de caballos del Cerro de la Virgen fue utilizado en su día por W. Schüle para proponer una asociación entre el caballo doméstico y el vaso campaniforme. El Profesor W. Schüle publicó que en los niveles precampaniformes de Cerro de la Virgen no se habían recuperado restos de caballo (Schüle, 1969), observación posteriormente refutada por los estudios de Driesch (1972). El razonamiento del profesor W. Schüle partía de la premisa de la ausencia de restos de caballo en los niveles precampaniformes, y de que su frecuencia aumentaba a la vez que aparecía el vaso campaniforme (Schüle, 1969). Además, a partir de las evidencias zoogeográficas que en aquel momento sugerían una presencia nula o residual del caballo salvaje en el occidente europeo, Schüle (1969) propuso que era poco probable que los restos óseos pertenecieran a caballos salvajes, por lo que los caballos del Cerro de la Virgen debían ser individuos domésticos importados de otras regiones.

En cuanto a la relación entre la presencia del caballo doméstico y el vaso campaniforme para el yacimiento de El Cerro de la Virgen de la Cabeza, Schüle (1969) planteó tres posibles hipótesis (asumiendo el concepto de *cultura campaniforme* imperante en la época): 1) la asociación de la cultura Campaniforme con los restos de caballo en el Cerro de la Virgen era casual, 2) la cultura Campaniforme procedía del sureste de Europa, y las gentes de esta cultura habían traído el caballo doméstico al sur de la península ibérica, y 3) que la cultura Campaniforme tuviese su origen en el sur de la península ibérica, y hubiera adoptado al caballo doméstico con posterioridad durante su expansión hacia el Este, distribuyéndolo con rapidez por todo el área de influencia Campaniforme.

El vaso campaniforme apareció en prácticamente toda Europa en la primera mitad del III milenio aC. y perduró hasta los primeros siglos del II milenio aC. (Fernández Vega y Hernando, 2010a). Comúnmente se había propuesto que el vaso campaniforme había sido el movimiento difusor de la metalurgia del cobre en Europa, debido a que la generalización de la metalurgia coincidía con la cerámica campaniforme (del Rincón, 2002). Además, la explicación sobre la rápida expansión del Campaniforme por territorio europeo se había asociado a caballos ya domesticados, que habrían distribuido este material con rapidez. No obstante, todavía no hay evidencias directas de caballos domésticos durante el Calcolítico europeo. Además, se ha confirmado: 1) la aparición del cobre en Europa en fechas del IV milenio aC., anterior al vaso campaniforme, 2) la manifestación del vaso campaniforme no fue un fenómeno unitario y 3) todavía no hay un consenso sobre su papel en la difusión de la metalurgia del cobre (Fernández Vega y Hernando, 2010a; Fernández Vega y Hernando, 2010b).

4.1.2.2. El castro de Zambujal (Torres Vedras, Portugal)

Es importante señalar que el patrón de aumento progresivo en el número de restos de caballos desde niveles calcolíticos en adelante no se cumple de manera general en los yacimientos ibéricos. Concretamente, en el yacimiento portugués del castro de Zambujal (Torres Vedras, Portugal) (Figura 4.2) se ha observado un patrón inverso. En este yacimiento, la mayor cantidad de restos de caballo se ha recuperado en los niveles calcolíticos precampaniformes (niveles 1+2, NR = 223). Se ha documentado una disminución en el número de restos de caballo en los niveles campaniformes (nivel 3 NR = 92 y nivel 4 NR = 33), y el nivel asociado a la Edad del Bronce (nivel 5) ha proporcionado una cantidad muy pequeña de restos de este animal (Driesch y Boessneck, 1976; Uerpmann, 1990).

Las marcas de corte y el grado de fragmentación de los restos de caballo del castro de Zambujal se interpretaron como una evidencia de su consumo con fines alimenticios. Sin embargo, no se pudo concluir que se tratara de caballos domésticos, debido principalmente a que la proporción de restos disminuía de los estratos más antiguos a los más recientes, y por presentar estos restos para la variable tamaño una variación intramuestral pequeña en comparación con los restos del Cerro de la Virgen (Driesch y Boessneck, 1976).

Por otro lado, aunque no se han ofrecido evidencias concluyentes de la presencia de caballos domésticos en los niveles del Calcolítico campaniforme del castro de Zambujal, posteriores análisis realizados sobre este material junto a nuevos restos procedentes de otras zonas de este mismo yacimiento, han sugerido que los caballos de época campaniforme de este castro podrían estar pasando por una fase inicial de domesticación (Uerpmann, 1990). Además se ha propuesto que estos caballos presumiblemente domésticos también podrían tener su origen en poblaciones salvajes locales (Uerpmann, 1990).

4.1.2.3. Los Cerros de "Los Castillejos" de Fuente de Cantos y el Cerro de la Horca (Extremadura)

El análisis de la abundancia en el número de restos y del peso porcentual de caballo de los yacimientos del Cerro I de Fuente de Cantos y del poblado del Cerro de la Horca (Figura 4.2), han arrojado unas cifras que han colocado al caballo en una categoría de importancia similar a la de otros taxones domésticos presentes en ambos yacimientos. Los análisis

realizados sobre los restos faunísticos han sugerido que el caballo estaría pasando por una domesticación incipiente en esta región.

El Cerro I de "Los Castillejos" (Fuente de Cantos, Badajoz, Extremadura) es un poblado de época calcolítica donde se ha diferenciado una única fase de ocupación, cronológicamente situada ~ 2000 aC. En este poblado se han reconocido 629 restos de caballo (NMI = 9), de un total de 2485 restos distribuidos entre 15 taxones de mamíferos salvajes y domésticos (Castaños, 1991b; 1997). En los restos de caballo del Cerro I se ha observado un patrón de descuartizamiento similar al presentado por el ganado bovino, ovicaprino y porcino. La homogeneidad en el patrón de consumo ha permitido sugerir que el caballo tuviera un estatus similar a las otras especies domésticas (Castaños, 1991b; 1997).

El Poblado del Cerro de la Horca (Plasenzuela, Extremadura) es un asentamiento con ocupación del Calcolítico final. En este yacimiento se han identificado 135 restos de caballo (NMI = 10), de un total de 853 restos asociados a 13 taxones diferentes, salvajes y domésticos (Castaños, 1992). La propuesta de una domesticación incipiente del caballo se ha sustentado, en parte, en las conclusiones obtenidas para los restos de caballo de la Ereta del Pedregal (Navarrés, Valencia), comentada en el apartado anterior, para los que también se había otorgado un estatus de animales domésticos (Castaños, 1992).

La distribución demográfica de la fauna del Cerro I y del poblado del Cerro de la Horca ha puesto de manifiesto la presencia de individuos sacrificados con diferentes categorías de edad: juveniles, subadultos, adultos e incluso individuos de edad avanzada. La presencia de estos últimos se ha asociado con fines diferentes a los gastronómicos, al menos en el Cerro I. Este resultado también ha permitido apoyar la hipótesis del estado doméstico del caballo, sin descartar que su presencia en el yacimiento se pudiera deber a la caza de individuos salvajes seniles y vulnerables. (Castaños, 1992; 1997).

También se ha documentado la presencia de caballos asociados a cronologías calcolíticas en el yacimiento del Cerro II de "Los Castillejos" (localizado junto al Cerro I, Badajoz, Extremadura) (Castaños, 1991b) (Figura 4.2). La fauna recuperada del Cerro II procedía de niveles de la Segunda Edad del Hierro y calcolíticos. Sin embargo, la escasez de la muestra de caballos y de otros taxones obligó a describir la muestra por especies y no por niveles (Castaños, 1991b), por lo que la determinación de caballo en niveles calcolíticos es dudosa. En este yacimiento se han identificado un total de 630 restos atribuidos a 10 especies distintas. Se han identificado 13 restos de caballo que han conformado un NMI = 2 (Castaños, 1991b).

4.1.2.4. El abrigo de Cueva Rubia (Palencia)

Otro de los escasos yacimientos peninsulares donde se ha documentado una abundancia significativa de restos de caballo es el abrigo de Cueva Rubia (Villaescusa de las Torres, Palencia) (Figura 4.2). En este yacimiento se han diferenciado 4 niveles (I, II, III y IV) y se ha documentado la presencia de restos de caballo en dos de ellos: el nivel IV asociado al Calcolítico y el nivel III perteneciente a la Edad del Bronce (Morales *et al*., 1992).

El nivel calcolítico de Cueva Rubia (nivel IV) ha proporcionado las fechas de radiocarbono 3005 ± 45 aC y 2600 ± 60 aC las cuales, según los investigadores se han tratado con reserva debido a su relativa antigüedad (Morales *et al*., 1992). A diferencia del nivel de la Edad del Bronce (que se detallará en el siguiente apartado), los materiales del nivel calcolítico no se han asociado a un verdadero nivel de ocupación, sugiriéndose que podrían haber llegado al abrigo debido a la erosión de zonas más altas. De este nivel se han recuperado un total de 388 restos faunísticos correspondientes a, por lo menos, 11 taxones de mamíferos. Los taxones que más restos han proporcionado han sido, en orden decreciente, los caprinos, el ganado vacuno, el caballo, y el ciervo. El caballo ha presentado un NR= 64 (16,49% del total de restos recuperados en este nivel), con el que se ha establecido un NMI = 8. Además, el análisis de los perfiles demográficos ha determinado que 6 de estos 8 individuos son adultos o subadultos. No obstante, no se ha podido concretar un estatus doméstico para este taxón (Morales, *et al*., 1992).

4.1.2.5. Terrera Ventura (Tabernas, Almería)

Otros yacimientos ibéricos siguen presentando frecuencias muy bajas de los restos de caballo. Es el caso del yacimiento de Terrera Ventura (Tabernas, Almería) (Figura 4.2). En este yacimiento se han diferenciado 4 fases que comprenden desde posiblemente el Neolítico final (Fase I) hasta el Calcolítico tipo Los Millares (Fase IV). Los restos de caballo proceden de la Fase III, asociada al Calcolítico precampaniforme. Sin embargo, con solamente un NR = 4 y un NMI =1, no se ha podido concluir su estatus doméstico (Driesch y Morales, 1977).

4.1.3. El caballo durante la Edad del Bronce

La Edad del Bronce va a presentar una importancia relevante en lo concerniente a la domesticación del caballo en Iberia, ya que se considera que su domesticación en la península ibérica tuvo lugar durante este periodo (Vega Toscano, *et al*. 2003).

Del mismo modo que se había descrito para el Calcolítico, durante la Edad del Bronce algunos yacimientos peninsulares se caracterizan por presentar una elevada cantidad de restos de caballo, que igualan o superan a los de otros taxones domésticos. En la Meseta Sur esta característica se ha podido observar en los niveles del Bronce medio del yacimiento del Cerro de la Encina (Monachil, Granada) (Lauk, 1976) (Figura 4.3) y en la fortificación del poblado de Peñalosa (Jaén) (Sanz y Morales, 2000) (Figura 4.3) asociada al Bronce pleno y vinculada junto al Cerro de la Encina, al Bronce argárico. Por otro lado en la Meseta Norte, hay que destacar el nivel de la Edad del Bronce del yacimiento de Cueva Rubia (Palencia), (Morales, *et al*., 1992) (Figura 4.3), así como los niveles de la Edad del Bronce del yacimiento de El Moncín (Muela de Borja, Zaragoza) (Moreno, 1987) (Figura 4.3), o los niveles de la Edad del Bronce del yacimiento de El Portalón de Cueva Mayor de la sierra de Atapuerca (Burgos) (Castaños, 2005b; Galindo-Pellicena, *et al*., 2017b) (Figura 4.3).

Además, en niveles del Bronce tardío (1550-1350 aC.) del yacimiento de Fuente Álamo (Cuevas de Almanzora, Almería) (Manhart, *et al*., 2000) (Figura 4.3), se han recuperado objetos que se han interpretado como bocados de caballos (Arteaga, y Schubart, 1980). Lo mismo ha ocurrido en Cabezo Rendondo en Alicante (Driesch y Boessneck, 1969). Estos objetos han permitido sugerir que el caballo ya se usaría durante la Edad del Bronce como animal de carga o montura. Sin embargo, la asociación de estos objetos a bocados de caballos no está aceptada de manera general (Soler, 1987; Jiménez, 2002).

4.1.3.1. El Cerro de la Virgen de la Cabeza (Orce, Granada)

Aunque la muestra de caballos del Cerro de la Virgen de la Cabeza (Orce, Granada) (Figura 4.3) para esta época no es tan numerosa como la descrita para el Calcolítico, el análisis comparativo de los valores de LSI (*Logarithmic Size Index*) de los restos de la Edad del Bronce ha propuesto que estos caballos serían domésticos y procedentes de caballos salvajes locales, como ya se había sugerido para los de época calcolítica campaniforme (Uerpmann, 1990). Sin

embargo, también se ha sugerido que durante esta época habrían llegado al sur de la península ibérica caballos más grandes procedentes de otras regiones. Esta propuesta se sustenta en el análisis comparativo de los valores de LSI de caballos salvajes ibéricos con los caballos del Cerro de la Virgen de época calcolítica y de la Edad del Bronce, junto a caballos de otros poblados de la Edad del Bronce (Uerpmann, 1990).

4.1.3.2. El Cerro de la Encina (Monachil, Granada)

El yacimiento del Cerro de la Encina en Monachil (Figura 4.3), se encuentra situado en una zona denominada como la vega de Granada. La fauna de este yacimiento se ha asociado a dos momentos culturales diferentes: la cultura de El Argar, y el Bronce final del Sureste (Arribas Palau *et al*., 1974; Aranda y Molina, 2005; Aranda *et al*., 2008).

Los trabajos de investigación llevados a cabo durante la década de los años 70 del siglo XX definieron 3 fases principales de ocupación del yacimiento (fase I, fase II y fase III) que, a su vez, se organizaron en 3 periodos diferentes. La fase I se asoció a un momento antiguo de El Argar B, la fase IIa se asignó a El Argar B pleno, la fase IIb se relacionó con el Bronce tardío y la fase III al Bronce final del Sureste (Arribas Palau *et al*., 1974; Aranda y Molina, 2005; Aranda *et al*. ,2008).

Trabajos posteriores en otros sectores del yacimiento han permitido completar la secuencia de fases de ocupación, llegándose a diferenciar hasta 8 fases constructivas (cinco asociadas a El Argar y tres vinculadas con el Bronce final del Sureste) (Aranda y Molina, 2005; Aranda *et al*., 2008).

Respecto a las cinco fases de El Argar, las tres primeras se han asociado al final del Bronce antiguo y fundamentalmente al Bronce pleno (o Bronce medio), y las dos fases restantes se han vinculado al Bronce tardío. Las dataciones de radiocarbono han permitido definir una ocupación ininterrumpida de estas fases argáricas enmarcadas entre el 2000 – 1450 cal. aC (Aranda y Molina, 2006). Además, se ha propuesto que el final del Bronce tardío y también de la ocupación argárica en este yacimiento podría delimitarse con los resultados de radiocarbono obtenidos de los restos humanos de la sepultura 15, ubicada en el sector central

de la zona B (Aranda *et al*., 2008). Los análisis de radiocarbono de la sepultura 15 han arrojado un resultado de 3140 ± 40 BP (Beta-230010) [4] .

Por su parte, las tres fases del Bronce final del Sureste se han estructurado diferenciándose la primera en momentos avanzados del Bronce final antiguo, y las dos restantes en el Bronce final pleno (Aranda y Molina, 2005; Aranda *et al*., 2008).

La muestra de los restos de caballo del Cerro de la Encina se caracteriza por ser una de las muestras más numerosas en comparación con la de otros yacimientos de la misma época. De hecho, el Cerro de la Encina va a sobrepasar en cantidad de restos de caballo a otros yacimientos argáricos, como la Cuesta del Negro en Purullena, Castellón Alto en Galera y Terrera del Reloj en Dehesas de Guadix, todos ellos localizados en Granada. (Riquelme, 1994).

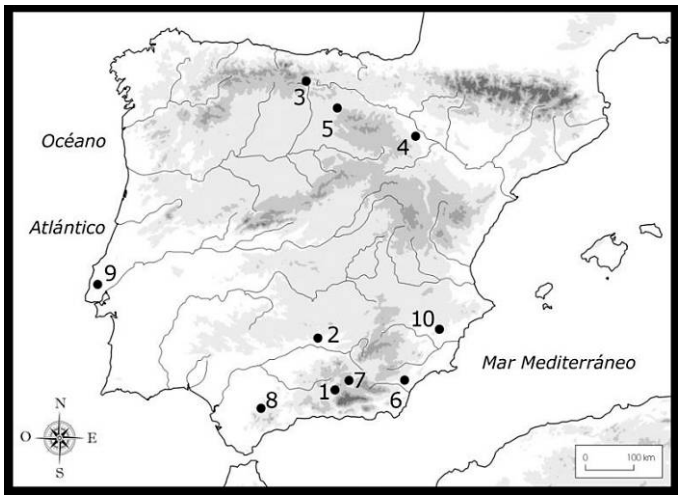


Figura 4.3. Localización de los yacimientos mencionados de la Edad del Bronce con restos de caballo. 1) Cerro de la Encina; 2) Peñalosa; 3) Cueva Rubia; 4) El Moncín; 5) El Portalón de la sierra de Atapuerca; 6) Fuente Álamo; 7) Cuesta del Negro; 8) Mesa de Ronda la Vieja de Acinipo; 9) Castro de Zambujal; 10) Cabezo Redondo.

En el del Cerro de la Encina, Lauk (1976) documentó alrededor de 2200 restos de caballo, de los cuales cerca de 2000 procedían de las distintas fases reconocidas como argáricas. La mayor cantidad de restos de caballo documentados provenían de la Fase IIb (NR = 1697) (Lauk, 1976), definida como Bronce tardío (Aranda *et al*., 2008). Los patrones de fracturación de los huesos largos y las marcas de corte de los restos de caballo del Cerro de la Encina, sugirieron que fueron utilizados con fines alimenticios (Driesch, 1974; Lauk, 1976).

El estudio de las distribuciones de edades de 38 individuos de El Argar y del Bronce final ha puesto de manifiesto la presencia de animales jóvenes, aunque la mayoría de la población viviría hasta la edad adulta, concluyendo que 15 individuos murieron con unas edades comprendidas entre 10 - 15 años e incluso con edades mayores de 15 años (Lauk, 1976).

[4] Calibraciones a 2σ utilizando el programa OxCal 4.2 con el modelo de calibración IntCal13. Calibración de (Beta-230010) 3140 ±40 BP: 3450 – 3246 años cal. BP; 1501 – 1297 años cal. aC.

Se ha considerado que los caballos del Cerro de la Encina fueron animales aparentemente domésticos y criados en los alrededores de la vega de Granada. Se han interpretado como fuente de alimento, aunque la presencia de individuos adultos en la muestra estudiada permitió descartar que ésta fuera su utilización prioritaria (Lauk, 1976). También se ha sugerido que se habrían utilizado como caballos de monta y, suponiendo que se criaron más caballos de los necesarios para su uso, se ha propuesto que los caballos habrían sido objeto de una explotación con fines comerciales, así como símbolo de riqueza (Lauk, 1976). La importancia económica del caballo durante la época argárica habría desplazado a la ofrecida por los caprinos, que habrían ganado importancia durante la época del Bronce final, coincidiendo con una disminución de cabezas de caballo. Además, durante el Bronce final el ganado vacuno fue la principal fuente de alimento, desempeñando el caballo un papel secundario (Lauk, 1976).

4.1.3.3. La Cuesta del Negro (Purullena, Granada)

En el yacimiento de la Cuesta del Negro de Purullena (Figura 4.3) se han podido diferenciar distintas fases de ocupación asociadas a la cultura de El Argar y al Bronce final (Lauk, 1976). Se han podido recuperar alrededor de 350 restos de caballo, de los cuales 303 restos proceden de los niveles del Bronce final (Lauk, 1976). Del mismo modo que se observó para el Cerro de la Encina, los restos de caballos de la Cuesta del Negro presentan marcas de corte que indican que fueron utilizados con fines alimenticios.

El análisis de las edades de muerte de al menos 11 animales identificados (4 de época argárica y 7 del Bronce final), ha puesto de manifiesto que la mayoría de los individuos habría alcanzado la edad adulta cuando murieron (3 en época argárica y 5 en el Bronce final) (Lauk, 1976).

Los animales domésticos más abundantes en el yacimiento de la Cuesta del Negro han sido las cabras y las ovejas. Sin embargo, la fuente principal de proteínas habría sido el ganado vacuno, mientras que el caballo habría desempeñado un papel secundario (Lauk, 1976).

4.1.3.4. El poblado de Peñalosa (Baños de la Encina, Jaén)

El poblado de Peñalosa se encuentra localizado en el municipio de Baños de la Encina de la provincia de Jaén, en la Meseta Sur (Figura 4.3). Se encuentra ubicado sobre un espolón a orillas del embalse del Rumblar (Contreras, *et al.*, 2000) y, entre las zonas excavadas, se han podido delimitar niveles de la Edad del Bronce pleno, asociado al Bronce argárico (Contreras y Cámara, 2000).

El análisis de los restos faunísticos puso de manifiesto la importancia de los animales domésticos sobre los taxones salvajes. Tanto por el número de restos como por el NMI o por el peso, la muestra doméstica representa alrededor del 70 % del material recuperado (Sanz y Morales, 2000). La muestra de caballos procede de uno de los niveles asociados al Bronce pleno, localizado en la cima del cerro, en el Grupo Estructural (GE) X de una zona delimitada como "la fortificación". El análisis de esta muestra puso de manifiesto una abundancia diferencial de restos de caballo en el yacimiento. Aunque en la zona de "la fortificación" están presentes los valores más elevados en número de restos (el 78% de la muestra de caballos procedía de esta zona), su presencia disminuye considerablemente en otras áreas del yacimiento. Combinando estos análisis con los relativos al peso porcentual y al NMI, se llegó a la conclusión que el caballo no fue una especie abundante en el poblado de Peñalosa (Sanz y Morales, 2000).

Por otro lado, el análisis de los patrones de corte puso de manifiesto que los caballos de Peñalosa se utilizaron como fuente de alimento del mismo modo que el ganado vacuno y los caprinos y, además, se propuso el uso de los caballos para la tracción de grandes pesos. Esta sugerencia está basada en la predominancia en la muestra de individuos adultos y en el estudio de una falange I que presentaba una patología denominada "anillo óseo alto", osteopatía que afecta a las articulaciones interfalángicas de los caballos y del ganado vacuno utilizados de forma continuada como animales de carga (Sanz y Morales, 2000).

4.1.3.5. Mesa de Ronda la Vieja (Acinipo, Málaga)

El yacimiento de la Mesa de Ronda la Vieja de Acinipo se encuentra ubicado en la provincia de Málaga (Figura 4.3). En base a la cultura material, la fauna de este yacimiento se ha asociado a la primera mitad del II milenio aC., concretamente al Bronce pleno (Riquelme,

1994). La fauna procede de dos sectores del yacimiento denominados: *parte inferior de la cabaña* y *zona circundante*. El 96% de la fauna recuperada se ha asignado a taxones domésticos. Respecto a la presencia de caballo, solamente se han recuperado 2 restos que han conformado un NMI = 1 y proceden de la zona circundante denominada "zona de vertedero" (Riquelme, 1994). Las medidas obtenidas de estos restos han resultado ser similares a los de caballos salvajes paleolíticos y a los aparentemente domésticos del Cerro de la Encina (Riquelme, 1994). Dada la escasez de la muestra, no ha sido posible obtener resultados concluyentes de los caballos de Acinipo (Riquelme, 1994).

Se ha sugerido que las condiciones ambientales que rodeaban a los lugares donde se encuentran hoy los yacimientos habrían influido notablemente en la cría de caballos (Riquelme, 1994). Bajo esta hipótesis, se ha propuesto que la zona esteparia donde está situado el Cerro de la Virgen (Orce) presentaría unas condiciones adecuadas para la cría de estos animales. De mismo modo ocurriría con la vega de Granada, extensa llanura con abundante vegetación donde se encuentra localizado el Cerro de la Encina. Por su parte, el yacimiento de Mesa de Ronda la Vieja se encuentra situado en una zona de orografía montañosa con profundos barrancos, que no permitirían criar de manera adecuada manadas de caballos (Riquelme, 1994). De manera similar ocurriría con otros yacimientos del sureste peninsular de época argárica que han presentado restos escasos de caballos, como son Cuesta del Negro de Purullena (Granada), Castellón Alto en Galera, así como en Terrera del Reloj y Dehesas de Guadix (todos situados en Granada) (Riquelme, 1994), o las zonas pobres en alimentos de Gatas (Almería), donde la cría de este animal habría sido difícil (Riquelme, 1995).

Por otro lado, en la Meseta Norte podemos diferenciar tres yacimientos donde se ha recuperado una cantidad significativamente alta de restos de caballo asociados a la Edad del Bronce: El Portalón de Cueva Mayor (sierra de Atapuerca, Burgos), El Moncín (Muela de Borja, Zaragoza) y el abrigo de Cueva Rubia (Palencia) (Castaños, 2005b; Legge, 1994; Morales *et al*., 1992) (Figura 4.3).

4.1.3.6. El Portalón de la sierra de Atapuerca (Burgos)

Para la elaboración de la presente investigación hemos tenido la oportunidad de trabajar con abundante material procedente del yacimiento de El Portalón. Por ese motivo, en

el capítulo de *Material y Métodos* se ofrecerán más detalles relativos a este yacimiento y a las muestras analizadas.

El yacimiento de El Portalón presenta una secuencia estratigráfica con una cronología que comprende, de momento, desde el Pleistoceno superior hasta época histórica (en el apartado de *Material y Métodos* asociado a este yacimiento se presenta una tabla con las dataciones publicadas y sus calibraciones actualizadas). En su secuencia estratigráfica se han podido diferenciar niveles asociados al Pleistoceno superior, Neolítico, Calcolítico, Edad del Bronce, Edad del Hierro, época romana y época medieval (Carretero *et al.,* 2008, Pérez Romero *et al*., 2015). El primer estudio zooarqueológico publicado presentó datos relativos a los niveles de la Edad del Bronce (inicial, medio, final), nivel romano y nivel de revuelto (Castaños, 2005b) diferenciados durante las campañas dirigidas por J.M. Apellániz. Este estudio destacó la elevada proporción de restos de caballo que apareció en todos los niveles de la Edad del Bronce (NR=800). Además, los restos de caballo asociados al Bronce medio presentaron valores más altos que los recuperados para cualquier otro taxón (Castaños, 2005b). Sin embargo, a pesar de la abundancia de restos de caballos de los niveles de la Edad del Bronce, no se pudo concluir de manera inequívoca si ya eran animales domésticos.

Un segundo estudio más reciente llevado a cabo sobre restos de caballo de los niveles del Bronce inicial y el Bronce medio, ha puesto de manifiesto que las marcas de corte, patrones de fracturación, daños producidos por percusión y patrones de alteración térmica concuerdan con un patrón de fracturación antrópica intensa (Galindo-Pellicena *et al*., 2017b). Aunque también se ha sugerido un estado doméstico para los caballos domésticos, los resultados no son concluyentes (Galindo-Pellicena *et al*., 2017b).

4.1.3.7. El Moncín (Muela de Borja, Zaragoza)

El yacimiento de El Moncín (Muela de Borja, Zaragoza) (Figura 4.3) es un poblado donde se han diferenciado unos niveles de ocupación que comprenden desde el Calcolítico tardío (~ 2500 aC.) hasta el final de la Edad del Bronce (~1300 aC.) (Moreno, 1987; Harrison y Moreno, 1990). Este poblado se ocupó de manera continuada, no observándose en la estratigrafía periodos de abandono notables (Moreno, 1987). Además, se han diferenciado en El Moncín diversos cambios económicos durante la Edad del Bronce, entre los que se han destacado un incremento notable de la producción de cereal ~ 1700 aC., y un aumento en el número de

cabezas de ganado caballar ~ 1300 aC. (Moreno, 1987). En relación a la fauna estudiada del yacimiento de El Moncín, se ha propuesto que los caballos de este yacimiento ya estarían domesticados y, además de destinarlos para el consumo cárnico, también serían utilizados como animales de montura (Legge, 1994). Sin embargo, aunque el análisis de posibles desgastes de los segundos premolares inferiores por el uso de bocados no permitió constatar que los caballos de El Moncín fueran embocados (Legge, 1994), se ha considerado la posibilidad de que los sometieran con algún tipo de bocado orgánico que no dejara señal en la dentición. Además, A.J. Legge (1994) ha asociado la domesticación del caballo con la gran cantidad de restos de ciervos anatómicamente muy completos, y que se han recuperado en el yacimiento a lo largo de toda la secuencia estratigráfica de la Edad del Bronce. Se ha propuesto que el uso de estos caballos domésticos habría permitido transportar a los ciervos cazados. Se ha sugerido que la zona de caza de los ciervos fuera probablemente las cercanías de la Sierra del Moncayo, a unos 20 - 40 km respecto al yacimiento. De esta manera, el caballo justificaría un vehículo de transporte de ciervos completos al yacimiento (Legge, 1994).

4.1.3.8. El abrigo de Cueva Rubia (Palencia)

En este yacimiento situado en la Meseta Norte (Figura 4.3) la Edad del Bronce se ha definido en el nivel III, suprayacente al nivel calcolítico comentado anteriormente (Morales *et al*., 1992). Se ha documentado como un nivel de ocupación con "silos" de almacenamiento, del que además se han obtenido dos fechas de radiocarbono enmarcadas entre los siglos XVI y XIV aC. Los restos faunísticos recuperados en este nivel (NR=1130) han resultado ser más abundantes que los documentados para el nivel calcolítico. Lo mismo sucede con los restos de caballo recuperados (NR = 265) que representan el 23,45% respecto al total, y con los que se ha podido determinar un NMI = 14. El análisis de las regiones esqueléticas ha puesto de manifiesto que está relativamente equilibrado y con todas las partes anatómicas representadas, lo que ha permitido sugerir que al yacimiento se incorporaron los individuos completos. Además, el análisis de los perfiles demográficos de esta muestra ha determinado la presencia de, al menos, 8 individuos adultos o subadultos. Aunque se ha sugerido que estos animales podrían haber sido utilizados de manera prolongada por parte de algún grupo humano, no se ha podido concretar su estatus doméstico (Morales *et al*., 1992).

4.1.3.9. El castro de Zambujal (Torres Vedras, Portugal)

Aunque en el yacimiento del castro de Zambujal en Torres Vedras (Portugal) (Figura 4.3) también se ha diferenciado un nivel de la Edad del Bronce, éste ha resultado ser un horizonte superficial, fino y deteriorado (Uerpmann, 1990). El análisis de los caballos de esta época ofreció unos valores de tamaño más pequeños y con un rango de variabilidad del tamaño corporal mayor que el obtenido para los caballos de los niveles calcolíticos precampaniformes y campaniformes. No obstante, la reducida muestra asociada a la Edad del Bronce no ha permitido asegurar la presencia de caballos domésticos de manera concluyente (Uerpmann, 1990).

4.1.3.10. Los bocados de Fuente Álamo (Cuevas de Almanzora, Almería)

Con respecto al uso de bocados durante la Edad del Bronce, se ha sugerido la posibilidad de que los caballos del Bronce tardío de Fuente Álamo ya fueran embridados (Artega y Schubart, 1980). Esta propuesta se realizó a partir de unos objetos interpretados como camas de bocados de caballo recuperadas en las excavaciones de 1977, así como en las excavaciones de L. Siret (Artega y Schubart, 1980). No obstante, esta interpretación no está aceptada de manera general, ya que estas piezas presentan algunas diferencias con respecto a los bocados de hueso y asta de ciervo aparecidos en otros yacimientos europeos (Jiménez, 2002).

Por otro lado, el primer estudio zooarqueológico destacó que los restos de caballo de Fuente Álamo no eran abundantes y que se encontraban en mal estado de conservación, por tratarse de desperdicios domésticos (Driesch *et al.*, 1985). El análisis de dientes aislados puso de manifiesto que presentaban un elevado desgaste, lo cual permitió inferir que los caballos se sacrificaron a edades avanzadas, después de aprovecharlos supuestamente para la agricultura y transporte de personas (Driesch *et al*., 1985). Un estudio posterior incidió otra vez en el escaso número de restos de caballo recuperados en el yacimiento (Manhart *et al*., 2000). Aun así, se han recuperado más restos asociados al Bronce tardío que en los niveles anteriores asociados al Bronce argárico (Manhart *et al*., 2000). Además, Manhart *et al.* (2000) han considerado al caballo como un taxón doméstico, destinado al consumo alimenticio e incluido entre los productores de carne más importantes junto a la vaca, la oveja, la cabra, el cerdo y el ciervo.

Ninguno de los trabajos comentados detalla si entre la muestra dental de caballo han reconocido patrones de desgaste asociados al uso de bocados.

4.1.3.11. Los bocados de Cabezo Redondo (Villena, Alicante)

También se ha sugerido la presencia de bocados en el poblado de Cabezo Redondo de Villena (Alicante). Las dataciones de radiocarbono obtenidas en este yacimiento oscilan entre 3550 ± 55 BP (H-2277) y 3080 ± 60 BP (Beta-181404)[5] (Jover *et al*., 2014). Se recuperaron unos elementos fabricados en asta de ciervo que se asociaron con piezas de bocados de caballo, y se vincularon por tanto con caballos domésticos (Driesch y Boessneck, 1969). Estudios posteriores sobre estos elementos fabricados en asta no han mantenido su asociación a piezas de bocado (Soler, 1987). Además, cabe destacar que el estudio de la fauna de este poblado arrojó para los caballos un NR = 550 de un total de 33.550 huesos estudiados. La representación del caballo en este yacimiento se encuentra por detrás de cabras, ovejas, ganado bovino, ganado porcino y conejos (Soler, 1987).

4.1.4. El caballo durante la Edad del Hierro

En la península ibérica, el cambio del segundo al primer milenio aC tuvo lugar la Edad del Bronce final. En función del comienzo de esta fase (algunos autores encuadran su inicio *ca*. 1625 aC y otros entre el 1300 - 1200 aC, ver Mederos, 2008) el Bronce final abarcó un rango cronológico de entre 725 – 300 años aproximadamente, durante los cuales los pueblos de la península ibérica recibieron influencias procedentes de la fachada atlántica, de Europa central y del Mediterráneo oriental (Mederos, 2008). Durante esta etapa se generalizó el uso del bronce, que estuvo acompañado de un mayor uso de la metalurgia atlántica. Algunos pueblos de Iberia modificaron sus prácticas funerarias, apareciendo los ritos de incineración asociados a la cultura de los Campos de Urnas procedentes de Centroeuropa y Sur de Francia. Además, durante esta fase tuvieron lugar contactos comerciales con marinos micénicos, chipriotas, filisteos y fenicios (Mederos, 2008; Delgado, 2008). Estos contactos dieron lugar al asentamiento de colonos en tierras del litoral ibérico y la fundación de colonias como es el

[5] Dataciones calibradas a 2σ con el software OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13. (H-2277) 3981 – 3654 años cal. BP; 2032 – 1705 años cal. aC y (Beta-181404) 3445 – 3081 años cal. BP; 1496 – 1132 cal. aC.

caso de Gadir (Cádiz) al sur de Iberia, fundada según autores *ca*. 1106 aC (Mederos, 2008) o entre los siglos IX - VIII aC (Delgado, 2008, Celestino y Rodríguez, 2017).

Este comercio con los fenicios aumentó durante los primeros siglos del primer milenio aC. En el sur de Iberia, en el siglo IX aC la ciudad de Huelva presentaba a una activa comunidad mercantil compuesta por gentes locales y otras procedentes de distintos puntos del Mediterráneo, en especial fenicios. A partir de desechos industriales y de instrumentos localizados en la ciudad de Huelva asociados al siglo IX aC, se ha sugerido la presencia en esta ciudad de talleres dedicados, entre otros trabajos, a la elaboración de objetos fabricados en hierro (Delgado, 2008). El uso de la metalurgia del hierro sentó las bases del nuevo periodo conocido como la Edad del Hierro. En la península ibérica, este periodo está documentado a partir del siglo IX aC (según Mederos, 2008) o de los siglos VIII – VII aC, tanto en las zonas del interior como en el levante peninsular respectivamente (Bonet y Mata, 2001; Blasco, 2001). Este periodo a su vez está dividido en dos etapas: Primera Edad del Hierro o Hierro I, y Segunda Edad del Hierro o Hierro II. En la península ibérica la división entre una etapa y la siguiente tuvo lugar en torno al siglo V aC (Romero *et al*., 2008; Jordá Pardo *et al*., 2009). Durante la transición entre la Primera y la Segunda Edad del Hierro en el territorio peninsular, tuvo lugar el ocaso de varias culturas así como la aparición de otras nuevas.

Entre las nuevas culturas que surgieron en la península ibérica durante la Primera Edad del Hierro se puede destacar la cultura de Tartessos, la cual se desarrolló en el suroeste de Iberia entre los siglos VIII – VI aC, como fruto del aporte demográfico y cultural realizado por los fenicios y su interrelación con las culturas locales de esta zona (Celestino, 2008). Por su parte, en la Meseta Norte durante los siglos IX aC y finales del V - principios del IV aC, se desarrolló la Cultura del Soto. Entre otras características novedosas, la Cultura del Soto ha presentado un grado de sedentarismo absoluto en esta región, reflejándose a partir de los primeros poblados del valle medio del río Duero construidos con materiales duraderos (Delibes de Castro *et al*., 1995).

Se ha postulado que durante la Primera Edad del Hierro hubo un contacto fluido entre la cultura de Tartessos y los pueblos de la Cultura del Soto, hasta la desintegración de Tartessos (Delibes de Castro *et al*., 1995). Se ha sugerido que este acontecimiento habría provocado una paralización de las rutas comerciales entre Tartessos y los pueblos de la Cultura del Soto desde finales del siglo VI aC hasta mediados del siglo V aC. De este modo, los pueblos de la Meseta Norte habrían sufrido un aislamiento que habría contribuido a la desaparición de la Cultura del Soto, así como a la aparición de otras nuevas. Estos nuevos grupos culturales se desarrollaron

durante la Segunda Edad del Hierro, y disponemos de testimonios más detallados de ellos gracias a las fuentes literarias grecolatinas.

Durante estas etapas de la Edad del Hierro los diferentes pueblos de la península ibérica explotaron al caballo para una gran variedad de funciones, desde fines gastronómicos, transporte, con fines bélicos e, incluso, como símbolo de prestigio social. De hecho, algunos autores han definido al caballo como el animal protagonista de la Edad del Hierro debido a su presencia y sus implicaciones en distintas zonas del Mediterráneo antiguo, incluida la península ibérica (Sánchez Moreno, 2005). La importancia de este animal fue tal, que se ha propuesto al caballo como el mejor indicador para conocer la evolución de los cambios socioeconómicos ocurridos desde la Edad del Bronce hasta la época romana (Sánchez Moreno, 2005).

En situaciones de ausencia de elementos diagnósticos de la presencia de caballos domésticos, como los bocados o las espuelas, los estudios zooarqueológicos van a ser similares a los efectuados sobre restos de caballos de etapas anteriores. El análisis de las marcas de corte, la cuantificación de las muestras, su comparación con el espectro faunístico de otros animales domésticos y salvajes, el análisis de los perfiles demográficos de los animales consumidos así como el análisis diferencial de determinadas patologías orales y post-craneales, se van a usar para poner de manifiesto el tipo de uso de este animal.

Además, el uso del caballo como animal de montura también se va a reflejar en diversas manifestaciones artísticas. Estas evidencias se han detectado en grabados rupestres asociados a hábitats castreños, en insculturas en sillares de murallas, en elementos cerámicos y numismáticos o en exvotos y esculturas, entre otros (Arévalo, 2003; Sánchez Moreno, 2005; Quesada, 1997b; 2005a), y se comentarán en los siguientes párrafos.

Sobre todo a lo largo de la Segunda Edad del Hierro, la presencia del caballo va a ser un elemento utilizado para reforzar el nivel de prestigio y estatus social. Se ha considerado que este papel tendría una alta importancia durante los siglos VI – III aC, y que es probable que hubiese una divinidad relacionada con los caballos, y exclusiva de las clases sociales más altas (Quesada, 1997b; Quesada y Gabaldón, 2008). Aunque el caballo adquirió connotaciones simbólicas y religiosas, ni en el ámbito ibérico ni en el celtibérico se ha podido identificar una divinidad equina. Por ese motivo, se ha considerado que no tiene sentido hablar de culto a una divinidad equina por su propia naturaleza. En su lugar, se ha planteado la existencia de una divinidad que entre sus manifestaciones iconográficas mostraría representaciones de équidos,

y que estaría asociada al ámbito económico, ideológico y de la guerra (Quesada y Gabaldón, 2008).

Sobre su asociación con el ámbito religioso, hay que destacar los estudios llevados a cabo en el complejo arquitectónico de Cancho Roano "A". Este complejo está vinculado al área de influencia del Tartessos, y se ha interpretado como un santuario construido durante la primera mitad del siglo V aC., y que habría estado en activo hasta finales de ese siglo o principios del siglo IV aC. (Celestino, 2001). Debido al elevado número de arreos de caballos que se han recuperado, se ha sugerido que el caballo hubiese sido la divinidad de este santuario, o que hubiese estado relacionado de algún modo con ella (Celestino, 2001; Quesada, 2005a).

El edificio de El Cigarralejo (Mula, Murcia), también fue considerado como un auténtico santuario asociado al caballo (Quesada, 1997b), o al menos se propuso que albergase a una deidad destinada a la protección de caballos y otros equinos (Cuadrado, 1956). No obstante, en recientes investigaciones ha cambiado esta interpretación. Ya no se asocia a este santuario con una faceta religiosa vinculada a los équidos, sino que se explica su utilidad funcional en relación a la economía, formas de vida, y organización territorial y política de los iberos (Blánquez y Quesada, 1999; Lillo *et al*., 2004).

El uso del caballo como símbolo de estatus individual se mantiene hasta el siglo IV aC y, a partir de los siglos III - I aC, se originan las élites ecuestres urbanas, conjuntos de personas con un alto nivel jerárquico que hacen uso de los caballos (Sánchez Moreno, 2005).

4.1.4.1. Evidencias zooarqueológicas

El caballo está presente en el espectro faunístico de los poblados de la Meseta Norte y el valle del Ebro durante la Edad del Hierro, pero no es el taxón dominante (Morales y Liesau, 1995; Liesau, 1998). Incluso una vez domesticado, la abundancia de restos de caballo en estos yacimientos se ha situado en torno a un 5 % del total de la representación faunística (Liesau, 2005). No obstante, su presencia sí se ha considerado significativa en algunos poblados de la Meseta Norte en niveles de la Primera Edad del Hierro, como es el caso del poblado del Soto de Medinilla (Valladolid) (Figura 4.4). El número de restos recuperados en este poblado supera significativamente al obtenido en otros poblados de la Primera Edad del Hierro localizados en el valle del Duero, como es el caso de los poblados del Cerro del Castillo y la Era Alta

(Valladolid) (Morales y Liesau, 1995), el castro de Sacaojos (León) o, el castro de "Los Baraones" (Palencia) (Liesau, 1998), y el castro de Roa (Burgos) (Sacristán, 1986) (Figura 4.4). Cuando el parámetro de importancia considerado fue el peso porcentual, los restos del Soto de Medinilla fueron equiparables a los recuperados en el Cerro del Castillo y en Roa y, además, fueron superiores a los que presentaron los restantes yacimientos antes mencionados (Liesau, 1998).

No está claro el estado salvaje o doméstico de la muestra de caballos estudiada de la Primera Edad del Hierro del Soto de Medinilla (Liesau, 1998). Sin embargo, su análisis ha sugerido que el aprovechamiento podría estar relacionado con una explotación controlada de animales, en lugar de con la caza de animales salvajes (Morales y Liesau, 1995; Liesau, 1998). El carácter doméstico se sustentaría en dos evidencias: 1) perfiles demográficos con un componente importante de machos adultos jóvenes (Morales y Liesau, 1995), evidencia que se ha interpretado como animales destinados al aprovechamiento cárnico (Liesau, 1998); y 2) la aparición de patologías asociadas posiblemente al uso de bocados en los premolares inferiores (Morales y Liesau, 1995; Liesau, 1998).

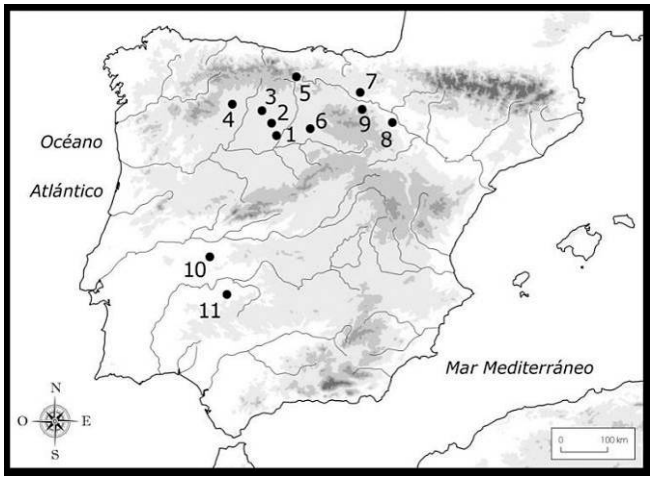


Figura 4.4. Localización de los yacimientos mencionados de la Edad del Hierro con restos de caballo. 1) Soto de Medinilla; 2) Cerro del Castillo; 3) Era Alta; 4) Castro de Sacaojos; 5) Castro de "Los Baraones"; 6) Castro de Roa; 7) La Hoya (Álava); 8) Alto de la Cruz; 9) Cerro de Santa Ana; 10) Villasviejas del Tamuja; 11) Cancho Roano.

Curiosamente se ha documentado una disminución sustancial en el número de restos de caballo en este mismo poblado durante la Segunda Edad del Hierro: de NR = 424 durante la Primera Edad del Hierro, a NR = 61 durante la Segunda Edad del Hierro (Liesau, 1998), alcanzando a partir de este momento unos valores similares a los de otros poblados protohistóricos contemporáneos de la Meseta (Liesau, 1998).

En otros yacimientos del valle del Duero donde se ha analizado la explotación del caballo como fuente de alimento, se han obtenido resultados diferentes a los propuestos para el Soto de Medinilla. En la excavación del castro de Roa (Burgos) de los niveles pertenecientes a la

Primera Edad del Hierro, se recuperaron un total de 500 restos óseos asociados a 8 taxones de mamíferos junto a avifauna no determinada, que se interpretaron como restos de desperdicios (Sacristán, 1986). De este conjunto, un NR = 33 se adscribieron a caballo, representando el 22% del peso total. Utilizando el peso porcentual como indicador de importancia, el ganado bovino resultó ser la especie de mayor importancia económica (NR= 97, peso = 33% respecto del total), seguida del caballo. El análisis de la representación esquelética y el grado de fracturación del ganado bovino y caballar resultó ser diferente. Mientras que para el ganado vacuno se dedujo un aprovechamiento con fines alimenticios, la mayoría de los restos de caballos estudiados no dieron lugar a la misma interpretación (Sacristán, 1986).

El análisis de los restos faunísticos de la Segunda Edad del Hierro de Roa puso de manifiesto que el caballo era el tercer taxón en importancia, superado por el ganado vacuno y el ciervo/caprino (según análisis) respectivamente. Las diferencias en la representación esquelética de los restos de caballo con respecto al ganado vacuno sugirieron un aprovechamiento diferente para ambas especies, como ya se había propuesto para los restos de la Primera Edad del Hierro (Estévez, J., 1986).

Como se ha comentado anteriormente, el caballo también se ha documentado en diferentes poblados del valle del Ebro durante la Primera Edad del Hierro, como son el poblado de La Hoya (Álava), el del Alto de la Cruz (Cortes, Navarra), o el de Cerro de Santa Ana (Logroño) (Liesau, 1998) (Figura 4.4). El único de estos yacimientos que ha presentado unos valores altos de restos de caballo y un porcentaje de peso relativo elevado, ha sido el foso de ofrendas 1/2 del poblado de Santa Ana. Además, esta característica también se ha mantenido en las muestras de la Segunda Edad del Hierro (Liesau, 1998).

En la Meseta Sur también es posible documentar la presencia del caballo durante la Edad del Hierro. Es el caso de los escasos restos de este animal recuperados en el yacimiento de Villasviejas del Tamuja (Botija, Extremadura) (Figura 4.4), para los cuales se ha determinado una horquilla temporal que comprende la Edad del Hierro y época romana (Castaños, 1991b). El estudio conjunto de los caballos de este yacimiento con los de otros yacimientos extremeños de diferentes cronologías, ha permitido sugerir la presencia constante del caballo doméstico desde momentos calcolíticos hasta época romana en esta zona (Castaños, 1991b).

Uno de los yacimientos de la Meseta Sur donde el caballo ha mostrado una representación significativa es el complejo arquitectónico de Cancho Roano (Zalamea de la Serena, Badajoz) (Figura 4.4). Como ya hemos comentado, Cancho Roano se ha interpretado

como un santuario que podría haber estado dedicado al caballo, o donde los caballos habrían tenido un papel destacado (Celestino, 2001). Esta hipótesis está sustentada en los restos de caballo y en los elementos de atalaje recuperados en el complejo arquitectónico. Los restos de équidos están asociados cronológicamente a finales del siglo V aC (Celestino, 2008) o principios del siglo IV aC. (Celestino, 2001), y se corresponden con el final de la Primera Edad del Hierro en la cuenca del río Guadiana a su paso por Extremadura (Jiménez, 2005). La mayoría de los restos de équidos se recuperaron del foso que rodea al complejo arquitectónico, y aparecieron junto a otros restos faunísticos. Se pudo diferenciar un NMI = 17 équidos, seis clasificados en un principio como *Equus asinus* y los 11 restantes como *Equus caballus*, siendo el caballo el taxón más numeroso después de los corderos (*Ovis* sp.) (Celestino, 2008).

Hemos tenido la oportunidad de analizar restos procedentes de este complejo arquitectónico. Ofreceremos una información más detallada de Cancho Roano y de las muestras analizadas en su apartado de *Material y Métodos* correspondiente.

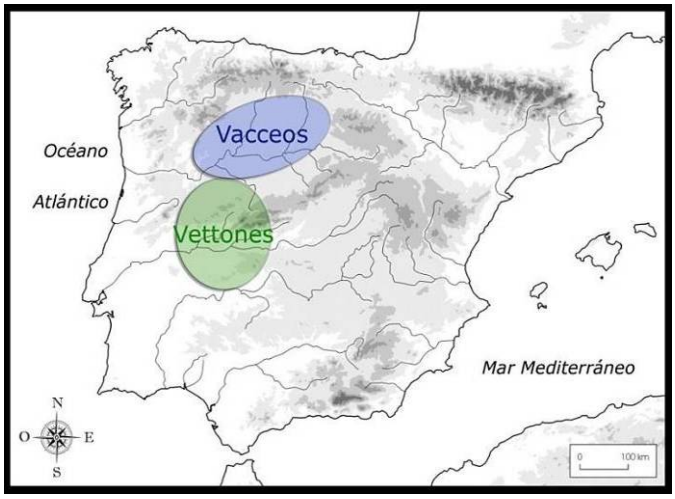


Figura 4.5. Área de distribución esquemática de: **1)** verde: vettones; **2)** azul: vacceos (Área de distribución de la región vaccea definida a partir de Sánchez Moreno, 2010. Área de distribución de los vettones definida a partir de Álvarez Sanchís, 2008).

Durante la Segunda Edad del Hierro en la Meseta Norte, el caballo también se documenta en los análisis faunísticos de los yacimientos asociados a pueblos prerromanos. No obstante, su número es menor al que han presentado otros taxones directamente asociados al consumo alimenticio. En el área territorial de los vettones (Figura 4.5), el taxón doméstico más representado es el ganado ovicaprino (con preferencia de cabras sobre ovejas), mientras que en el área de los vacceos (Figura 4.5) los taxones más representados son el ganado vacuno y el porcino (Sánchez Moreno, 1995-1996).

Los restos de caballo son cada vez más escasos a medida que se desarrolla la Edad del Hierro (Liesau, 2005), y esta característica se evidencia tanto en los yacimientos

correspondientes a poblados como en las necrópolis. En el caso de la necrópolis vaccea de "Las Ruedas" de Padilla del Duero (Valladolid), donde se documentaron 22 tumbas no expoliadas, únicamente dos presentaban restos de équidos (Bellver, 1995). Por el contrario, los restos de caballo eran más comunes en el conjunto de tumbas violadas, pero sus materiales descontextualizados no permitieron obtener resultados concluyentes (Bellver, 1995).

4.1.4.2. Evidencias de elementos de metal para la monta y el control de los caballos

Los elementos de metal que van a facilitar la monta y el control del caballo mejorando la estabilidad del jinete se han divido en cuatro grupos principales: 1) elementos aplicados directamente sobre la boca y la cabeza del caballo (bocados, cabezadas metálicas, serretas y frenteras), 2) elementos usados por el jinete como estímulos puntuales (espuelas y fustas), 3) elementos que mejoran la estabilidad del jinete (sillas de montar y estribos), 4) elementos que protegen los cascos del caballo (hiposandalias y herraduras) (Quesada, 2005a).

Entre los elementos que se aplican directamente sobre la boca y la cabeza del caballo, uno de los bocados metálicos más antiguos de la península ibérica podría ser el que presuntamente procede del Castro de Sansueña, en el valle de Vidriales (Zamora) (Delibes de Castro, 1980) (Figura 4.6). El depósito de Sansueña es un conjunto de piezas bastante heterogéneo. Se adquirió en 1975 en el mercado de antigüedades, por lo que se desconoce su contexto seguro, e incluso si son piezas coetáneas. Entre los objetos se ha reconocido un bocado de caballo realizado en bronce, que responde inequívocamente a un modelo del noroeste iraní correspondiente a los siglos IX - VIII aC, y cuya difusión se había considerado limitada a las tierras al sur del Cáucaso y a Azerbaiyán. No obstante, se ha considerado poco probable que este bocado haya aparecido en el castro de Sansueña por los siguientes motivos: 1) la escasez de materiales parecidos en la ruta europea continental donde no hay evidencias de modelos similares (tampoco en la zona del Mediterráneo); y 2) la escasa tradición de bocados en la zona del Noroeste peninsular, incluso durante la Segunda Edad del Hierro (Delibes de Castro, 1980).

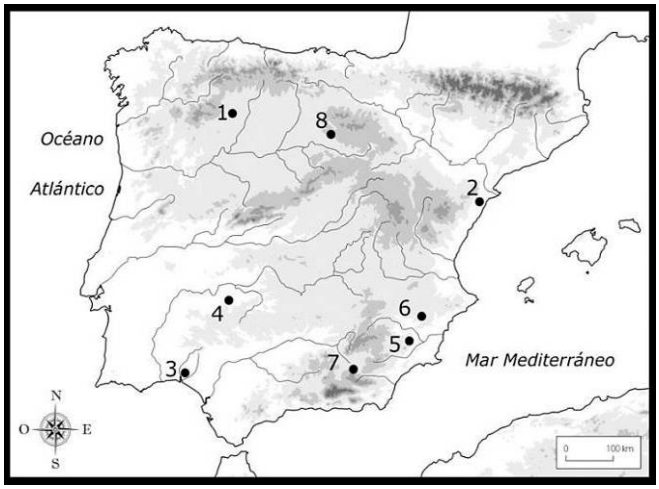


Figura 4.6. Localización de los yacimientos mencionados de la Edad del Hierro con elementos asociados al control de caballos: 1) Castro de Sansueña; 2) La Ferradura; 3) La Joya; 4) Cancho Roano; 5) Cigarralejo; 6) Poblado de Coimbra del Barranco Ancho; 7) Necrópolis del Cerro del Santuario de Baza; 8) Clunia.

Los elementos más antiguos de aplicación directa sobre la boca y la cabeza del caballo recuperados en la península ibérica están fechados entre los siglos VII – VI aC. Entre ellos cabe destacar el bocado de filete rígido fabricado en hierro y recuperado en el poblado de La Ferradura (Ulldecona, Tarragona) (Figura 4.6). Procede de contextos de la Primera Edad del Hierro, datados en torno al 625 – 550 aC (Quesada, 2005a). En el sur de la península ibérica, en la necrópolis de La Joya (Huelva) (Figura 4.6) se han recuperado un par de bocados también fechados en torno al siglo VII aC y considerados en un contexto Orientalizante. Estos bocados están elaborados en bronce y latón, y han aparecido asociados a un carro de tipología probablemente chipriota fechado entre el 700 – 650 aC (Quesada, 2005a). Junto a este material, también destaca el conjunto de bocados articulados, con cañones y camas de bronce, recuperados en el complejo arquitectónico de Cancho Roano (Zalamaea de la Serena, Badajoz) (Figura 4.6) y datados en el siglo V aC (Maluquer, 1981).

Otros elementos metálicos aplicados sobre la cabeza para facilitar el control de los caballos como bozales metálicos y las argollas para ronzales son cronológicamente posteriores. Las evidencias más antiguas de cada uno de estos tipos se datan con seguridad a partir del siglo IV aC (Garcés, 2007; Garcés y Graells, 2011).

Mención especial reciben los alamares, unos objetos metálicos que tradicionalmente se han considerado como camas laterales de bocados de caballos debido a su similitud con estos elementos. Nuevos estudios sobre estos objetos han llevado a algunos autores a desvincularlos de los frenos del caballo, y proponer que en realidad son elementos del atalaje ecuestre, sirviendo de cierre a los correajes de los arneses (Jiménez, 2015). De resultar cierta esta interpretación, los alamares representarían a unos objetos con amplia distribución peninsular. Respecto a su cronología, los elementos más antiguos serían los de la tumba 17 de

la necrópolis de la Joya (Huelva) y asociados a finales del siglo VIII aC o la primera mitad del siglo VII aC, mientras que los más recientes serían del siglo IV aC o posteriores (Jiménez, 2015).

Respecto a los elementos que usa el jinete como estímulos puntuales, se han contabilizado más de un centenar de espuelas hispanas prerromanas o de época de la conquista romana, las cuales se han diferenciado en varias categorías en función de su estructura, frecuencia o antigüedad (Quesada, 2005a). Entre las más antiguas recuperadas hasta la fecha, cabe destacar las cinco espuelas procedentes de la necrópolis de El Cigarralejo (Mula, Murcia) (Figura 4.6), de las cuales cuatro se han fechado a principios del siglo IV aC, la espuela de la necrópolis del poblado de Coimbra del Barranco Ancho (Jumilla, Murcia) (Figura 4.6) asociada a un marco cronológico entre el 350 - 325 aC, o las dos espuelas de la necrópolis del Cerro del Santuario de Baza (Granada) (Figura 4.6) que, aunque están fuera de contexto, se han asociado también al siglo IV aC posiblemente entre el 375 - 325 aC (Quesada, 2001-2002; Quesada, 2005a).

Con respecto a la presencia de sillas de montar, para la península ibérica no hay evidencias, ni directas ni indirectas, del uso de ningún tipo de elementos (Quesada, 2005a). Basándose en el registro iconográfico (como por ejemplo los exvotos del santuario ibérico del Cigarralejo, Murcia), y exclusivo además de la zona de influencia ibérica, se puede observar que los jinetes ibéricos utilizaban una manta o gualdrapa sujeta al caballo con una cincha, sistema de montura conocido en el mundo helénico bajo el nombre de *ephippion* (Quesada y Tortajada, 1999; Quesada, 2005a).

Por su parte, tampoco hay evidencias de estribos, al ser un elemento que en Europa occidental se menciona por primera vez en el tratado militar bizantino *Strategikon* atribuido a Mauricio, emperador del Imperio Romano de Oriente entre 582 – 602 (Quesada, 2005a, Magaña *et al*., 2014). Esta obra literaria se escribió a finales del siglo VI o principios del siglo VII. Como los bizantinos no tenían un término concreto para denominar al estribo, en este tratado militar utilizan la palabra griega que hace mención a “peldaño” o “escalera” (Quesada, 2005a, Magaña *et al*., 2014).

Con respecto a los elementos de protección de los cascos de los caballos, los hallazgos que se han documentado hasta el momento de *hiposandalias* son escasos, constituyendo el mejor ejemplo de este tipo de elementos de protección la *hiposandalia* encontrada en Clunia y, fechada en la segunda mitad del siglo IV o primera mitad del siglo V AD (de Palol, 1983) (Figura 4.6). Por su parte, los estudios referidos a las herraduras con clavos han proporcionado

resultados poco concluyentes. No hay referencias sobre ellas en la literatura grecolatina y su empleo se documenta con seguridad a partir del siglo IX (Álvarez Rico, 2003, Quesada, 2005a). A estos resultados se suman las evidencias arqueológicas, donde las primeras piezas conocidas y bien datadas proceden del lago Panadrú (Francia) y fechadas en torno al siglo X (Álvarez Rico, 2003). Además, en la iconografía empiezan a abundar a partir del siglo X (Álvarez Rico, 2003). No obstante, se ha planteado la posibilidad de que se usaran en época romana e, incluso, en época celtibérica prerromana. En diversas excavaciones realizadas entre finales del siglo XIX y principios del siglo XX, se ha documentado el hallazgo de herraduras asociadas en su mayoría a contextos celtibéricos. Sin embargo, cronologías tan antiguas no han sido definitivamente admitidas para estas piezas, por lo que todavía no se ha llegado a un consenso que permita afirmar el uso de este elemento durante época romana o celtibérica (Álvarez Rico, 2003, Quesada, 2005a).

4.1.4.3. Evidencias de manifestaciones artísticas

Los pueblos prerromanos de la Segunda Edad del Hierro mostraron una relación especial con el caballo, cuya evidencia más significativa es el extenso muestrario iconográfico. Se ha considerado que la representación del caballo es una de las manifestaciones más claras del estatus social y del nivel económico, por lo que se ha propuesto que su figura estuvo asociada a los individuos más destacados de las sociedades prerromanas (Blanco, 2003; Sánchez Moreno, 2005). Entre los pueblos prerromanos del centro de la península ibérica, los caballos aparecen representados en una gran variedad de ámbitos, económico, social, jurídico - político, representaciones de carácter religioso, ámbitos funerarios o escenarios bélicos, entre otros. Por otro lado, estos pueblos prerromanos realizaron las representaciones de caballos sobre varios soportes, pudiéndose clasificar en dos grandes grupos principales: caballos realizados sobre arcilla y sobre soporte metálico (Quesada y Tortajada, 1999; Blanco, 2003).

Entre las representaciones realizadas sobre arcilla destacan sobre todo las imágenes pintadas sobre cerámica (Blanco, 2003). Desde una perspectiva general, los pueblos de la Segunda Edad del Hierro representaron a los équidos sobre las cerámicas en una gran variedad de formas, con o sin jinetes, como las figuras que aparecen en los vasos pintados con prótomos de caballo (Sánchez Moreno, 2005), o representando monturas de guerreros, como en el caso de las escenas figuradas en la cerámica del estilo de Liria (Quesada, 1997b). Por otro lado, las figuras modeladas en arcilla presentan diversas tipologías (Quesada y Tortajada,

1999), incluso modelándose para formar parte de apliques de tapaderas de algunos recipientes, picos vertedores de jarros, de exvotos (Quesada y Tortajada, 1999; Sánchez Moreno, 2005) o representaciones que se han interpretado como pesas de telar (Blanco, 2003).

Las representaciones sobre soporte metálico se caracterizan por presentar también una gran diversidad de formas, que a su vez estaban destinadas a funciones específicas. Dejando al margen las representaciones numismáticas, la iconografía de équidos en metal se puede clasificar en dos grandes grupos: en metales aplicados a la vestimenta y en metales asociados al ámbito bélico (Quesada, 1992; Blanco, 2003).

Entre la iconografía ecuestre aplicada sobre la vestimenta y los adornos personales, destacan, por su alta frecuencia en numerosos yacimientos, los prendedores o fíbulas con representaciones de caballos. Los caballos aparecen también representados en otros soportes, como anillos, colgantes, prendedores de pelo, broches, placas o brazaletes (Blanco, 2003). Las representaciones equinas con carácter decorativo y funcional sobre piezas armamentísticas, aparecen principalmente en empuñaduras de espadas (Quesada, 1992), mangos de cuchillos (Blanco, 2003) y piezas que se han identificado como remates metálicos de estandartes, *signa equitum* o "báculos de distinción" (Blanco, 2003; Sánchez Moreno, 2005).

Otro factor que se ha considerado significativo para destacar la importancia que tuvo el caballo entre los pueblos prerromanos de la Segunda Edad del Hierro, está presente en el acuñado de las monedas hispánicas. En el campo de la numismática los caballos ocupan una posición distinguida en el reverso de las monedas, con las representaciones de los "jinetes ibéricos". Algunos investigadores han propuesto que esta imagen fue una imposición de Roma, mientras otros han considerado que fue una creación autóctona (Arévalo, 2003). Estas representaciones se han asociado por su gran similitud con las acuñaciones de Hierón II de Siracusa (*ca*. 274 - 246 aC), y se ha considerado que su iconografía podría haber influido en las acuñaciones del "jinete ibérico". Algunos investigadores proponen que las acuñaciones del "jinete ibérico" comienzan a aparecer en la península ibérica antes del 211 aC, durante la Segunda Guerra Púnica (218 – 201 aC), aunque otros investigadores proponen cronologías anteriores al desembarco romano en Iberia (218 aC) o cronologías un poco posteriores (principios del siglo II aC) (Arévalo, 2003). La iconografía del "jinete ibérico" ocupa el reverso de las monedas de manera general hasta la primera mitad del siglo I aC y, de manera excepcional, en algunas ciudades se prolonga su uso hasta el siglo I AD (Arévalo, 2003).

La imagen del caballo también se representa sobre las murallas de algunos poblados, como los grabados de los sillares de la muralla del castro de Yecla de Yeltes (Salamanca) (Sánchez Moreno, 1995-1996; 2005), así como en representaciones rupestres de temática ecuestre asociados a hábitats castreños, como el del yacimiento del puntal del Tío Garrillas en Pozondón (Teruel) (Sánchez Moreno, 2005), que detallaremos en el apartado de *La domesticación del caballo en el arte rupestre postpaleolítico*.

4.1.4.4. Evidencias literarias

Durante la Segunda Edad del Hierro empiezan a aparecer numerosas referencias literarias a los caballos y a los jinetes iberos (Salinas de Frías, 2010). La mayoría de estas referencias se van a concentrar en un intervalo cronológico de 400 años, que aproximadamente comprende desde el 200 aC hasta el 200 AD (Seco Serra y de la Villa, 2003). Numerosos autores grecolatinos como Polibio (*ca*. 209 - *ca*. 127 aC), Diodoro Sículo (*ca*. 90 - *ca*. 30 aC), Varrón (116 – 27 aC), Estrabón (*ca* 63 aC – *ca*. 23 AD), Virgilio (70 - 19 aC), Tito Livio (59 aC – 17 AD), Columela (4 AD – 70 AD), Plinio el Viejo (23 AD – 79 AD), Tácito (*ca*. 56 AD – *ca*. 115 AD), Plutarco (*ca*. 46 AD – *ca*. 120 AD) o Apiano (*ca*. 95 AD– *ca.* 165 AD) entre otros, hacen alusión a los caballos hispanos en referencias de carácter general, o en referencias históricas asociadas a la Segunda Guerra Púnica (218 - 201 aC), a las Guerras Celtibéricas (181 - 133 aC) o a las Guerras Sertorianas (82 - 72 aC), entre otras (Seco Serra y de la Villa, 2003).

Entre las características comentadas por estos autores, los caballos de la península ibérica se utilizaron como botín de guerra o elemento de cambio en diversas transacciones, se ha destacado una vez más su utilización como animal de montura, o su distinción como animal de prestigio, otorgando un status social relevante a su dueño (Sánchez Moreno, 1995-1996; Quesada, 1998). También se ha señalado su utilización en sacrificios asociados al mundo religioso (caso de Estrabón III, 3, 7, donde se narra que los pueblos montañeses del norte de Iberia realizaban sacrificios de machos cabríos, caballos y prisioneros en honor a Ares):

> "Todos los montañeses son austeros, beben normalmente agua, duermen en el suelo y dejan que el cabello les llegue muy abajo, como mujeres, pero luchan ciñéndose la frente con una banda. Comen principalmente chivos, y sacrifican a Ares un chivo, cautivos de guerra y caballos. Hacen también hecatombes de cada

especie al modo griego, como dice Píndaro: *de todo sacrifican cien*."(Estrabón, Libro III, 3, 7)

No obstante, las fuentes literarias romanas no describen las cualidades de los caballos de Hispania hasta la época de Augusto (63 aC – 14 AD), coincidiendo con el final de las luchas con los pueblos de la península ibérica y con el cambio de Era (Quesada, 1997b).

4.1.4.5. La caballería

Las primeras evidencias de jinetes montando équidos de manera ocasional proceden de Mesopotamia y Egipto. De la zona de la antigua Mesopotamia, se ha descrito un sello que representa a un jinete montando un équido que parece un caballo (Olsen, 1996). El sello está asociado al periodo de Ur III, y está datado ~ 1900 aC (Olsen, 1996; Quesada, 2005b). El jinete aparece aparentemente desarmado y se ha interpretado como un posible mensajero (Olsen, 1996). Por su parte, las representaciones egipcias son relieves del Imperio Nuevo (Quesada, 1997b). Pertenecen a momentos de la Edad del Bronce y representan a jinetes desarmados que se han asociado con mensajeros o exploradores. A pesar de estas evidencias, se ha sugerido que la aparición de una caballería primigenia no tuvo lugar hasta comienzos del I milenio aC. Las primeras evidencias proceden de Próximo Oriente, y están relacionadas con los cuerpos transicionales entre el uso de carros de guerra y una verdadera caballería que crearon los asirios en el siglo IX aC, en época de Assurnasirpal II y Salmanasar III (Quesada, 1997b; 2008). En los relieves del palacio de Nínive de Assurnasirpal II y los de las puertas de Balawat de Salmanasar III aparecen escenas de jinetes distribuidos por parejas, donde uno dispara su arco mientras que el otro le sujeta las riendas al arquero y a la vez guía su propia montura (Quesada, 2008). Posteriormente, a finales del siglo VIII a C y durante el siglo VII aC y bajo los mandatos de Senaquerib y Assurbanipal, aparecerían las primeras unidades organizadas de caballería (Quesada, 2008).

En la península ibérica, el uso del caballo como animal de montura aparece a partir de la Primera Edad del Hierro. Se ha propuesto que durante esta etapa, el caballo fue un animal de uso exclusivo, que estuvo vinculado únicamente con las elites de los pueblos prerromanos (Sánchez Moreno, 2005). El análisis de los materiales recuperados en las necrópolis de la Meseta, ha documentado la presencia en sepulturas de los siglos V – IV aC, de elementos asociados al uso de caballos, como bocados, arreos, espuelas y diversos adornos donde el

caballo aparece como tema principal (Sánchez Moreno, 2005). Por su parte, en el área de distribución de la cultura ibera, la presencia en las sepulturas de elementos para la monta y control de caballos aumenta de manera significativa entre finales del siglo V y mediados del siglo III aC (Quesada, 1998). Sin embargo, se ha intentado diferenciar el momento de aparición de una verdadera caballería, entendida en sentido militar como la presencia de tropas a caballo con un sistema organizativo, utilización de armas con una funcionalidad homogénea y unas tácticas de combate coordinadas y similares (Quesada, 1998; 2005c). En el área de distribución de la cultura ibera, el uso del caballo en el ámbito militar empezó a extenderse a partir de mediados del siglo III aC (Quesada, 1997b; 1998; 2005c), contando los pueblos iberos con una verdadera caballería a partir del siglo II aC (Quesada, 1998; 2005c). Por su parte, se ha considerado que los pueblos celtibéricos ya disponían de una caballería irregular por lo menos desde el siglo IV aC (Quesada, 1998), presentando una verdadera caballería desde el siglo II aC (Quesada, 2005c). Estas consideraciones se han obtenido analizando las evidencias iconográficas, los arreos y otros elementos asociados al control de los caballos recuperados en sepulturas y, sobre todo, en el estudio de las fuentes literarias (Quesada, 1998; 2005c). Entre otras, cabe destacar la referencia de Tito Livio sobre los 1400 jinetes conseguidos por Escipión de la mano del caudillo celtíbero Allucius, o las referencias de Polibio y Tito Livio sobre los 2500 jinetes reunidos por Indíbil en el noreste de la península ibérica para luchar contra los romanos (Quesada, 1998).

4.2. LA DOMESTICACIÓN DEL CABALLO EN EL ARTE RUPESTRE POSTPALEOLÍTICO

4.2.1. El arte rupestre postpaleolítico

El arte prehistórico postpaleolítico más abundante y diverso de la península ibérica se encuentra emplazado en el este peninsular. Está constituido por manifestaciones rupestres que se encuentran principalmente localizadas en abrigos y forman el conjunto del denominado Arte Rupestre del Arco Mediterráneo de la península ibérica, declarado Patrimonio de la Humanidad por la UNESCO el 2 de Diciembre de 1998 (Sánchez Chiquito de la Rosa, 1999). Estas estaciones con arte rupestre postpaleolítico se distribuyen a lo largo de ~800 km desde el Prepirineo de Huesca hasta las sierras del sudeste de la Bética (Sánchez Chiquito de la Rosa, 1999), abarcando las Comunidades Autónomas de Andalucía, Aragón, Castilla-La Mancha, Cataluña, Murcia y la Comunidad Valenciana (Figura 4.7). Sin embargo, descubrimientos posteriores en provincias costeras de Andalucía y en zonas del interior peninsular, han puesto de manifiesto la necesidad de modificar la extensión del territorio inicialmente propuesto a la UNESCO (Hernández Pérez, 2009).

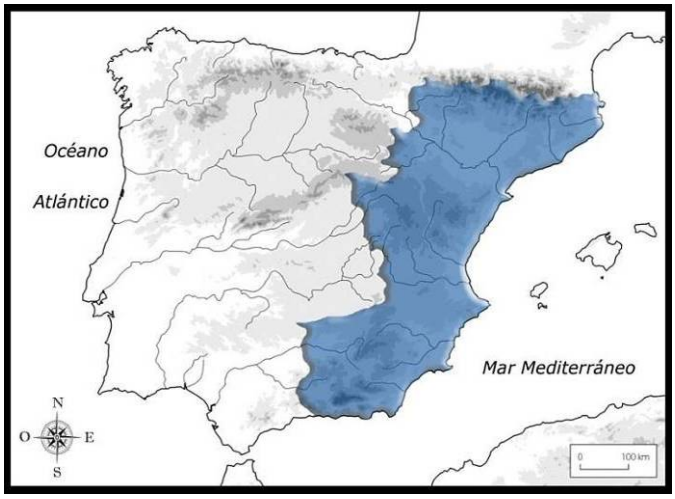


Figura 4.7. Distribución del arte rupestre postpaleolítico en la península ibérica. (Modificado a partir de Sánchez Chiquito de la Rosa, 1999).

En el Arte Rupestre del Arco Mediterráneo se han distinguido tres estilos pictóricos diferentes y principales, que tradicionalemente se han denominado arte levantino, arte esquemático y arte macroesquemático (Ripoll Perelló, 2001; Hernández Pérez, 2006; 2009). No

obstante, hay autores que en lugar de denominar estos estilos pictóricos con el término de "arte", prefieren denominarlos como "facies" (Ripoll Perelló, 1990; 2001).

Mientras que la distribución del arte macroesquemático se encuentra concentrada en un reducido territorio de la Comunidad Valenciana delimitado por el mar y las sierras de Mariola, Benicadell y Aitana (aunque se ha sugerido su presencia fuera de este área, ver Hernández Pérez y Martí, 2000-2001; Hernández Pérez, 2009), la distribución del arte levantino abarca toda la región del Arte Rupestre del Arco Mediterráneo (Ripoll Perelló, 2001), extendiéndose en un principio desde las provincias de Huesca y Lérida hasta Almería, e internándose en las serranías de Cuenca y Teruel y la provincia de Albacete (Ripoll Perelló, 1990). Posteriormente, según la distribución del arte levantino por las cuencas de los ríos Segura, Júcar, Turia y Ebro, se ha propuesto al distribución jerarquizada de estas pinturas en cuatro categorías (Hernández Pérez, 2009). La Categoría 1 comprendería a los núcleos del Maestrazgo (Castellón y sur de Aragón) y de la cuenca media-alta del río Segura (Murcia, Albacete y Jaén). La Categoría 2 estaría constituida por los núcleos de Albarracín, cuenca alta del río Júcar, zona central valenciana y norte de Alicante. La Categoría 3 abarcaría a las pinturas localizadas en las periferias del área de distribución: zona norte (conjuntos catalanes y del río Vero) y zona sur (comarca de los Vélez y Quesada). Por último, la Categoría 4 estaría constituida por los abrigos intermedios entre los distribuidos en las categorías anteriores, aislados y que podrían asociarse a vacíos en la investigación (Hernández Pérez, 2009). Por su parte, la distribución del arte esquemático es general al conjuto de la península iberica, y en el área considerada se extiende por las seis comunidades autónoma. Las representaciones de arte esquemático se han documentado en conjuntos aislados o compartiendo territorios e incluso abrigos con el arte levantino, y en la Comunidad Valenciana, además, con el arte macroesquemático (Hernández Pérez, 2006; 2009).

También se ha propuesto un cuarto estilo pictórico denominado arte lineal geométrico, (Fortea, 1975) con una distribución más reducida, y que ha planteado problemas relativos a su identificación (Hernández Pérez y Martí, 2000-2001).

En líneas generales el arte levantino se caracteriza por su estilo naturalista, realizado con trazo fino y perfilado, donde aparecen representados una gran diversidad de animales así como figuras humanas ocupadas en diferentes funciones. Son figuras con mucho dinamismo. Se representan temas de carácter ritual y simbólico, escenas de combate, escenas cotidianas como la recolección de miel y temas cinegéticos, destacando las escenas de caza con figuras de arqueros (Hernández Pérez y Martí, 2000-2001; Viñas, 2014) (Figura 4.8; Figura 4.9). Por su

parte, el arte esquemático se ha caracterizado por presentar bandas verticales y horizontales, motivos en zigzag, ídolos, antropomorfos con forma de Y, doble Y y X, así como figuras ramiformes y soliformes - esteliformes. La técnica de realización documentada son trazos de perfiles irregulares y con una desigual densidad de pinturas (Figura 4.9). No obstante, estas técnicas no se pueden considerar como determinantes, ya que también se han documentado motivos levantinos con una densidad de pinturas desigual y bordes no perfilados, así como representaciones de arte esquemático realizadas con trazos perfilados (Hernández Pérez, 2006).



Figura 4.8. Arte rupestre de la Cova Remigia (Barranco de Gasulla, Ares del Maestrazgo, Castellón). **A)** Vista general de la Mola Remigia, donde se encuentra la Cova Remigia. **B)** Vista general del abrigo de la Cova Remigia. **C)** Detalle de una escena de arqueros cazando.

Por último, nos queda reseñar que la diferencia técnica principal en el conjunto iconográfico del arte macroesquemático con respecto al esquemático, reside en que el arte macroesquemático presenta trazos todavía más gruesos junto a bordes irregulares con una mayor densidad de pintura en el trazo (Hernández Pérez y Martí, 2000-2001). Además, el arte macroesquemático se caracteriza por presentar como referentes principales diversos tipos de

antropomorfos (también en forma de Y, doble X e Y), así como figuras serpentiformes acompañadas de barras y puntos (Hernández Pérez, 2009) (Figura 4.9) y figuras orantes. Cronológicamente se ha asociado con el Neolítico antiguo cardial, debido a la vinculación que se ha realizado de estas representaciones pictóricas con las decoraciones en cerámicas impresas de tipo cardial de yacimientos ubicados en su área de distribución, asociados a los primeros agricultores y ganaderos con cerámica impresa, de tipo preferentemente cardial (Hernández Pérez, 2006).

Aunque se ha propuesto que todas las manifestaciones iconográficas comentadas anteriormente son pictóricas debido a la ausencia de grabados rupestres (Hernández Pérez y Martí, 2000-2001), sin embargo se han documentado algunas figuras de arte levantino con la silueta ligeramente grabada, y en ocasiones pintada posteriormente (Almagro Basch, 1951). También se han documentado siluetas total o parcialmente grabadas, así como figuras del arte esquemático realizadas mediante piqueteado (Ripoll Perelló, 1990) y, se ha producido el hallazgo de arte levantino grabado en varios conjuntos como el Barranco Hondo de Castellote, en Teruel (Utrilla y Villaverde, 2004).

En este contexto, cabe destacar uno de los grabados naturalistas del Barranco de la Fuente del Cabrerizo (Albarracín, Teruel) (Almagro Basch, 1949) (Figura 4.10), el cual representa la figura de un équido (Figura 4.11). Esta figura ha sido reconocida por la mayoría de los investigadores que la han estudiado como un caballo (Hernández Pacheco, 1959; Piñón, 1982), aunque H. Obermaier propuso que se trataba de la representación de un onagro (Obermaier, 1925; Hernández Pacheco, 1959) (Figura 4.11), tratando de argumentar de esta manera una cronología asociada al Pleistoceno para esta figura y, por extensión, para todo el estilo artístico levantino desarrollado en la región oriental de la península ibérica (Obermaier, 1925; Piñón, 1982).

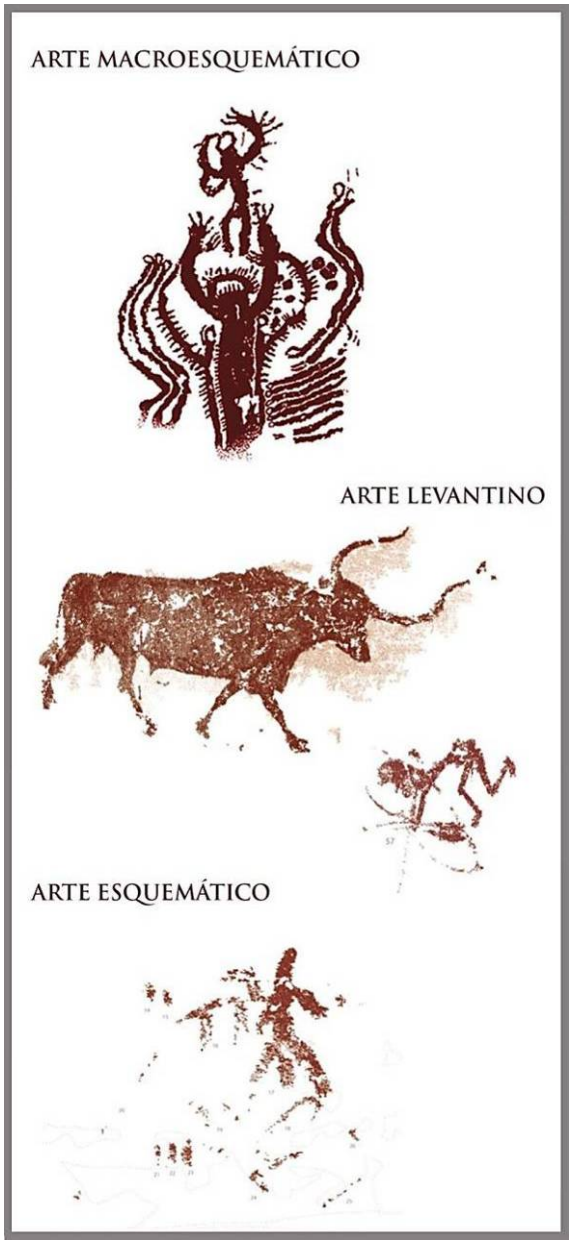


***Figura 4.9. Estilos del Arte Rupestre Postpaleolítico*: Arte Macroesquemático** procedente de Plá de Petracos (Castell de Castell, Alicante). **Arte Levantino**: toro procedente de Selva Pascuala (Villar del Humo, Cuenca) y arquero procedente de Cueva del Tío Modesto (Henarejos, Cuenca). **Arte Esquemático** procedente de Peña del Castellar (Villar del Humo, Cuenca). Las figuras no están a escala. (Figura tomada de Ruiz *et al*., 2012).

Al relacionar esta figura con un onagro, es probable que H. Obermaier quisiera vincularla con el taxón *Equus hydruntinus*, otro tipo de équido que, junto al caballo, fue común en las faunas europeas del Pleistoceno superior. En el siguiente capítulo *Estudios sobre* Equus hydruntinus *ibéricos*, comentaremos con más detalle las características de este taxón.

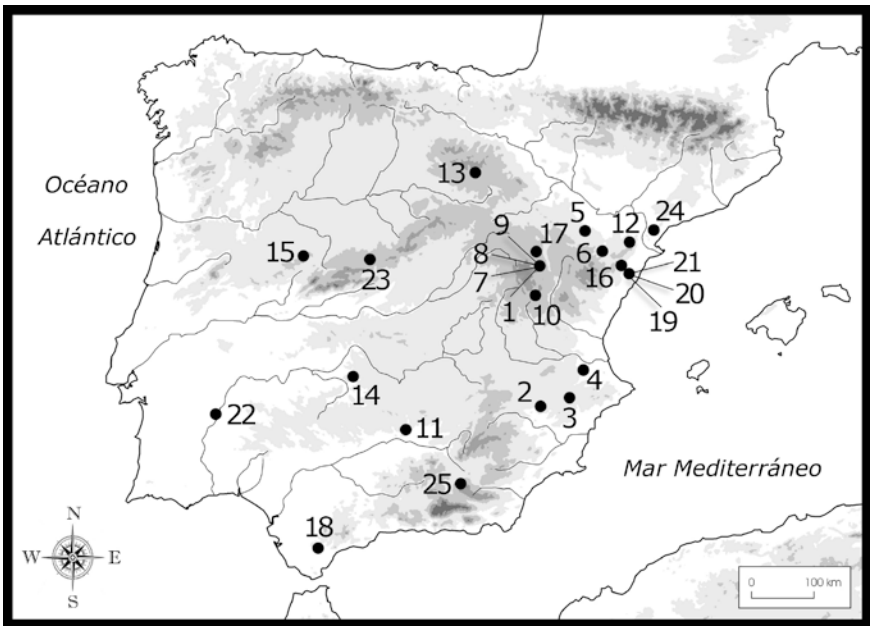


Figura 4.10. Localización de los yacimientos holocenos mencionados con manifestaciones artísticas de équidos**:** 1) Barranco de la Fuente del Cabrerizo; 2) Barranco de la Mortaja de Minateda; 3) Cantos de la Visera; 4) Cueva de la Araña; 5) Los Borriquillos de El Mortero; 6) La Vacada de Santolea; 7) Abrigo del Tío Campano; 8) Dos Caballos; 9) Doña Clotilde; 10) Selva Pascuala; 11) Canforos o Canjorros de Peñarrubia; 12) La Fenellosa; 13) Abrigo del Prado de Santa María; 14) Virgen del Castillo; 15) Risco de los Altares; 16) Gasulla; 17) Puntal del Tío Garrillas; 18) Cueva de Laja Alta; 19) Mas d'en Josep; 20) Barranco de las Vueltas; 21) Mas del Cingle; 22) Molino Manzánez; 23) sierra de Guadarrama; 24) Cova del Pi; 25) Piedra Labrá.

En la actualidad, esta figura se considera perteneciente al arte rupestre levantino (Piñón, 1982) pero no obstante, el propio Hernández Pacheco (1959) propuso que pudiese tratarse de una figura naturalista realizada con posterioridad al periodo de desarrollo del arte levantino.

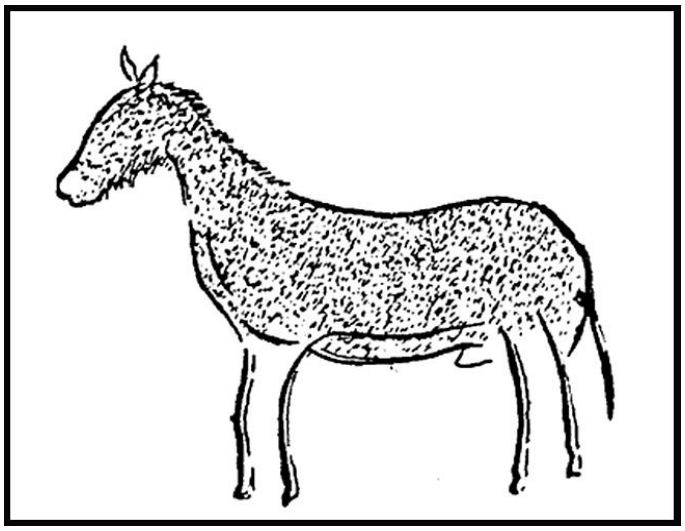


Figura 4.11. Équido de la Fuente del Cabrerizo. Esta figura está grabada en la pared del fondo del abrigo del peñón de la Fuente del Cabrerizo (Albarracín, Teruel). Representación según J. Cabré (Tomada de Hernández Pacheco, 1959).

A pesar de que algunos investigadores encabezados por H. Breuil, habían asociado en un principio el arte levantino con el arte rupestre del Paleolítico Superior (Almagro Basch, 1970), numerosos estudios realizados a lo largo del siglo XX han apoyado su asociación con fechas

holocenas (Almagro Basch, 1951; Jordá-Cerdá, 1966; Ripoll Perelló, 2001; Hernández Pérez y Martí, 2000-2001), destacándose los trabajos de E. Hernández Pacheco y M. Almagro Basch (Ripoll Perelló, 1990).

El Arte Rupestre Postpaleolítico del Arco Mediterráneo básicamente se ha asociado a dos tipos de grupos humanos diferentes, presentes en el "modelo dual" propuesto para el origen del Neolítico en la península ibérica. Este "modelo dual" plantea la coexistencia sincrónica de grupos neolíticos procedentes de Próximo Oriente con grupos de cazadores-recolectores autóctonos epipaleolíticos (Hernández Pérez y Martí, 2000-2001).

Sin embargo, la cuestión sobre las cronologías concretas de cada uno de estos estilos pictóricos todavía no está resuelta. En algunos casos, ha habido intentos para datar estos estilos a partir de comparaciones estilísticas con el arte mueble y la cerámica (Hernández Pérez y Martí, 2000-2001). Respecto a la antigüedad de estas representaciones y su asociación con grupos humanos determinados, el arte levantino se había considerado típico de las sociedades cazadoras-recolectoras del epipaleolítico, o de grupos de tradición epipaleolítica pero desarrollados ya durante momentos neolíticos. Por su parte, el arte macroesquemático se había asociado a los grupos neolíticos. Por último, mientras que una parte del arte esquemático se había vinculado a grupos neolíticos, se había propuesto que otras representaciones esquemáticas guardaban relación con grupos calcolíticos (Hernández Pérez y Martí, 2000-2001).

Diversos estudios posteriores han acotado o incluso propuesto otras cronologías (Hernández Pérez, 2006). Corroborando sugerencias anteriores, se ha propuesto para el arte macroesquemático una cronología neolítica asociado a la cerámica cardial (Hernández Pérez, 2006; Hernández Pérez y Martí, 2000-2001). De hecho, a partir del soporte mueble asociado al Neolítico antiguo, el arte macroesquemático se ha datado entre 6700 BP (5600 años cal. BC) y 5500 BP (4358 – 4332 años cal. BC), aunque este rango cronológico no esté aceptado de manera general (Hernández Pérez, 2009). Para el arte levantino se han propuesto diversos intervalos cronologicos, enfrentados según las propuestas de distintos autores. Teniendo en cuenta estos intervalos en su conjunto, el arte levantino comprendería una posible continuidad con el arte paleolítico, o bien un origen epipaleolítico/mesolítico desarrollándose hasta el Neolítico según autores u originándose a partir del Neolítico según otros investigadores, e incluso propuestas que sugieren una continuidad que llegaría al Calcolítico (Hernández Pérez y Martí, 2000-2001; Hernández Pérez, 2009). Por su parte, el origen del arte esquemático se ha podido asociar con seguridad al Neolítico antiguo, entre otros motivos

gracias al análisis comparativo con cerámicas impresas (Hernández Pérez, 2009) y, además, con más de un centenar de guijarros con diversos motivos geométricos pintados y descubiertos en la cueva de Chaves (Huesca) (Utrilla y Baldellou, 2002; Hernández Pérez, 2009). La distribución temporal del arte esquemático habría llegado hasta el Calcolítico o incluso, con reservas, hasta los comienzos de la Edad del Bronce (Hernández Pérez, 2006; 2009).

Ante las dificultades y limitaciones para contextualizar cronológicamente las pinturas rupestres, se han realizado novedosos trabajos para fechar radiométricamente figuras de la zona de Cuenca. Por un lado, se han analizado figuras de estilo levantino asociadas con figuras en zigzag, y por otro lado figuras de estilo esquemático (Ruiz *et al*., 2009). Estos estudios se han abordado analizando el carbono del oxalato cálcico procedente de las pátinas que se forman sobre las rocas al aire libre y que a veces cubren las pinturas. El oxalato cálcico se fija sobre la superficie de las rocas como resultado de la actividad metabólica de los líquenes, hongos y bacterias. De este modo, en una vía indirecta de datar las pinturas, se ha analizado radiométricamente las pátinas con oxalato cálcico de zonas cercanas a determinadas representaciones (Ruiz *et al*., 2009; 2012). En función de la relación espacial de la pátina con la pintura (por encima o debajo de la misma), los resultados obtenidos pueden ofrecer fechas mínimas o máximas de la elaboración de las representaciones.

De este modo, con las seis muestras que se han analizado (Ruiz *et al*., 2009; 2012), se han obtenido intervalos temporales amplios para explicar la presencia del arte levantino y del arte esquemático en la zona de Cuenca. Estas fechas no determinan el origen de estos estilos en esta región, simplemente constatan su presencia en un intervalo de tiempo variable según el análisis. Los resultados han determinado que las muestras de arte levantino y representaciones en zigzag se asocian a cronologías más antiguas (VI y V milenio aC) que las de arte esquemático (del IV al I milenio aC) (Ruiz *et al*., 2009; 2012).

4.2.2. Las representaciones de caballos y jinetes en el arte postpaleolítico

La fauna representada en las pinturas postpaleolíticas del Arte Rupestre del Arco Mediterráneo de la península ibérica se corresponde con fauna actual. Destaca la presencia de corzos, ciervos, cabras, toros, jabalíes, équidos, cánidos, conejos, aves, abejas, posibles gamos y un posible oso (Jordá-Cerdá, 1966; Ripoll Perelló, 1990; Viñas, 2014). En comparación con

estos taxones, las representaciones de caballos se han considerado minoritarias (Jordá-Cerdá, 1966). Entre los abrigos donde se han reconocido caballos, se pueden destacar el Barranco de la Mortaja de Minateda localizado en la provincia de Albacete (Figura 4.10), donde se han contabilizado representados 22 équidos, 9 de ellos clasificados como caballos (Breuil, 1920). También se han documentado alrededor de 10 caballos entre los dos abrigos de Cantos de la Visera (Arabí, Murcia) (Cabré, 1915; Jordá-Cerdá, 1980) (Figura 4.10) y las figuras de caballos en la Cueva de la Araña (Bicorp, Valencia) (Hernández Pacheco, 1924), entre otras estaciones (Figura 4.10).

Además, hay otras estaciones rupestres donde se han documentado representaciones de équidos asociados a figuras humanas, que se han interpretado como escenas de caza de équidos, o incluso de domesticación. Algunas figuras se han asociado con el arte levantino, otras con el arte esquemático, e incluso se han vinculado con estilos denominados seminaturalistas al no haberlas podido clasificar con seguridad a alguno de los estilos artísticos antes comentados (Beltrán, 1982; López Payer y Soria, 1991). Aunque la mayoría de estas representaciones relativas a la domesticación se han encontrado en el área de distribución de Arte Rupestre del Arco Mediterráneo, otras figuras en cambio se han localizado en otras regiones de la península ibérica. Además, el estudio de estas figuras ha presentado dificultades tanto relativas a la cronología como a la identificación de los équidos.

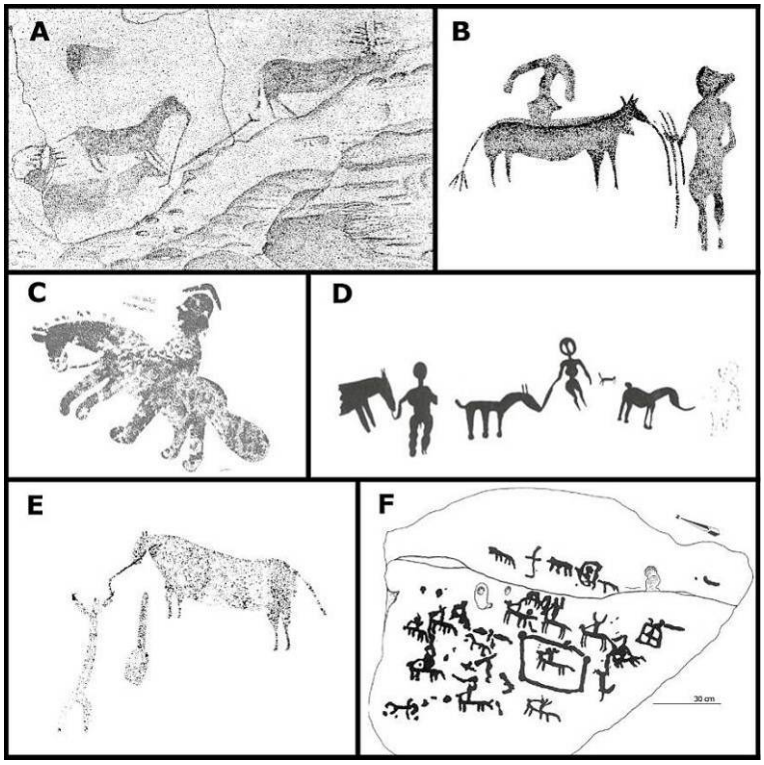


Figura 4.12. Representaciones de: **A) Tío Campano** (según calco de Piñon, 1983); **B)** Fragmento de la composición de **Doña Clotilde** (según Piñon, 1983); **C) Gasulla** (Según Ripoll Perelló, 1962); **D)** Fragmentos de la composición de los **Canjorros de Peñarrubia** (según Breuil y Obermaier, 1914); **E) Selva Pascuala** (según López Payer, y Soria, 1991); **F)** Calco general del **Puntal del Tío Garrillas** (según Royo Guillén, 2004).

Otra de las dificultades asociadas a las representaciones de jinetes se ha relacionado con la imposibilidad de discriminar el tipo de taxón representado [caballos, asnos, o asnos salvajes (Jordá-Cerdá, 1980)]. Este ha sido el caso de las representaciones del abrigo de Los Borriquillos (Alacón, Teruel) (Figura 4.10) donde aparecen asnos y además un jinete cabalgando a un équido no determinado (Jordá-Cerdá, 1980), o la posible representación de un asno salvaje, como se ha propuesto para el abrigo de La Vacada de Santolea (Teruel) (Ripoll Perelló, 1961) (Figura 4.10), figura que podría representar a un *Equus hydruntinus* (sobre este taxón, ver Capítulo 5).

Las representaciones relativas a la domesticación de équidos se han clasificado en cinco agrupaciones temáticas (Lucas y Rubio, 1990): 1) équidos con ataduras y no asociados a figuras humanas, 2) équidos con ataduras y en relación con figuras humanas a pie, 3) figuras humanas superpuestas a équidos realizando acrobacias, 4) jinetes y 5) équidos asociados al transporte de tiro.

En el grupo de los **équidos con ataduras y no asociados a figuras humanas**, se ha destacado el conjunto pictórico del Abrigo del Tío Campano, localizado en el conjunto del Prado del Navazo del Parque Cultural de Albarracín (Teruel) (Figura 4.10; Figura 4.12A). Las representaciones del Abrigo del Tío Campano se han asociado por algunos autores al arte levantino debido a su estilo naturalista (Piñón, 1983), otros las han considerado como estilo "seminaturalista" (López Payer y Soria, 1991). De las cinco figuras que aparecen en el panel del Abrigo del Tío Campano, se han destacado dos équidos (Piñón, 1983) que presentan unas líneas saliendo de la zona rostral (región comúnmente denominada como hocico) que se han interpretado como cuerdas (Lucas y Rubio, 1990).

Se ha propuesto una cronología relativa para estas figuras ocupando una posición relativa intermedia entre las figuras de équido que documentan la última utilización del abrigo de los Dos Caballos (Albarracín), y el grupo de antropomorfo y équido de la Cueva de Doña Clotilde (Albarracín) (Piñón, 1983) (Figura 4.10; Figura 4.12B), figuras que comentamos a continuación.

En el grupo de los **équidos con ataduras y en relación con figuras humanas a pie**, se han destacado en diversos estudios las representaciones de tres estaciones concretas: la Cueva de Doña Clotilde (Almagro Basch, 1949), localizada en el conjunto del Arrastradero del Parque Cultural de Albarracín (Teruel) (Figura 4.10; Figura 4.12B); los Canforos o Canjorros de Peña Rubia (Baños de la Encina, Jaén) (Breuil, 1933; Lucas y Rubio, 1990; López Payer y Soria, 1991)

(Figura 4.10; Figura 4.12D), y el panel de Selva Pascuala (Villar del Humo, Cuenca) (Jordá-Cerdá, 1980) (Figura 4.10; Figura 4.12E).

En la Cueva de Doña Clotilde (Teruel) (Figura 4.12B) se han documentado alrededor de 40 figuras, principalmente antropomorfos y zoomorfos (Almagro Basch, 1949; López Payer y Soria, 1991). Destaca una superposición de cuatro figuras, en la que se ha podido diferenciar, por un lado, una figura de équido asociada a una figura antropomorfa de tipo ancoriforme, y por otro lado dos figuras ejecutadas con posterioridad. Estas figuras representan a un équido asociado a una figura humana en la cual se distinguen, en una de sus manos, varas y una cuerda que se une a la cabeza del équido a modo de sujeción (Piñón, 1983). En un principio, este équido se interpretó como un asno doméstico (Almagro Basch, 1949). Tanto la figura del équido como la del antropomorfo que la sujeta se han considerado de estilo seminaturalista (López Payer y Soria, 1991) o de estilo esquemático (Ripoll Perelló, 1990).

Las pinturas de Doña Clotilde se incluyeron en una fase tardía y última del arte rupestre levantino, y se han asociado a la expansión de las culturas agrícolas y metalúrgicas (Almagro Basch, 1949). Además, estas pinturas se consideraron coetáneas al yacimiento arqueológico excavado a sus pies, del cual se recuperó industria lítica de cronología comprendida desde el Epipaleolítico hasta fechas tardías del Neolítico (Almagro Basch, 1949). Además, también se recuperaron puntas de flecha en forma de gajo de naranja o de media luna, entre las que había ejemplares con muescas en un extremo o escotadura basal, característica de la etapa final de este tipo de piezas, asociadas a la Edad del Bronce (Almagro Basch, 1949).

Los Canforos o Canjorros de Peña Rubia están localizados en la vertiente meridional de la Sierra Morena Oriental, en el núcleo denominado “Los Guindos-El Centenillo” en Baños de la Encina (Jaén) (López Payer y Soria, 1991) (Figura 4.10; Figura 4.12D). En este conjunto se han reconocido figuras de tipología y estilos diferentes, característica que ha permitido sugerir dos fases estilísticas distintas (López Payer y Soria, 1991), donde se han destacado figuras humanas que conducen équidos mediante el uso de ronzales, escena que se repite hasta cinco veces (Beltrán, 1968). Respecto a la adscripción taxonómica de los cuadrúpedos, H. Breuil consideró que debían ser caballos (Beltrán, 1968). En cuanto al estilo pictórico, las figuras antropomorfas se han representado de manera más tosca que las de los équidos, los cuales se han definido con aspecto más estilizado (Piñón, 1983). Otros autores han considerado las asociaciones de antropomorfo y équidos como figuras seminaturalistas (López Payer y Soria, 1991).

En cuanto a la vinculación a un momento cultural determinado, H. Breuil las asoció a momentos de transición entre el Neolítico y el Calcolítico (Ripoll Perelló, 1968). De hecho, en el suelo del abrigo se documentó la presencia de restos cerámicos asociados al Calcolítico (Breuil, 1933). Por su parte, E. Ripoll Perelló consideró todas las figuras de este panel pertenecientes a dos fases estilísticas de su cronología relativa (Ripoll Perelló, 1968). Estas fases eran la fase D, de transición al arte esquemático y asociada al Neolítico Final (Ripoll Perelló, 1990, figura 5); y la fase E, relacionada con el arte esquemático y cronológicamente vinculada con la Edad del Bronce (Ripoll Perelló, 1990, figura 5).

Con respecto al panel de Selva Pascuala (Figura 4.10; Figura 4.12E), ha habido diferencias a la hora de emplazarlo en un determinado término municipal de la provincia de Cuenca. En la nota número 22 de Jordá Cerdá (1966) se comentaba que, a pesar de su frecuente descripción localizándolo en Villar del Humo, este abrigo pertenecía a la Rambla del Anear, cerca de Boniches. Por su parte Beltrán (1968) comenzaba su estudio afirmando que el abrigo se encontraba en el término de Villar. El panel de Selva Pascuala (Cuenca) está localizado cerca del núcleo de Albarracín, y está compuesto por seis figuras (López Payer y Soria, 1991). Entre estas figuras destaca la representación de una figura antropomorfa que sujeta a un équido (Hernández Pacheco, 1959; Beltrán, 1968), interpretado como un caballo por Hernández Pacheco (1959), por Ripoll Perelló (1968) o por Beltrán (1968). Esta representación antropomorfa ha sido considerada de tendencia esquemática por algunos investigadores (Piñón, 1983), mientras otros han sugerido un estilo semiesquemático para el antropomorfo y naturalista para el équido (López Payer y Soria, 1991). Además, este conjunto ha tenido varias interpretaciones: captura mediante caza con lazo (Beltrán, 1968) de un caballo salvaje que forma parte de una manada (Camón, 1954; Ripoll Perelló, 1968), un caballo llevado por un ronzal (Camón, 1954) o una escena del proceso de domesticación (Hernández Pacheco, 1959). En estudios posteriores del conjunto se analizó la morfología del objeto en forma de línea vertical que presenta un extremo ovalado y se encuentra entre el équido y la figura antropomorfa, sugiriéndose que fuese una paleta para fustigar al équido (Lucas, 2004).

El Profesor E. Hernández Pacheco planteó para la escena de caza de caballo o de domesticación de Selva Pascuala una cronología asociada a finales del Mesolítico, considerándola además como el documento gráfico más antiguo de la domesticación del caballo en territorio peninsular (Hernández Pacheco, 1952; 1959). Por su parte, Beltrán (1968) propuso una cronología comprendida entre el Neolítico y comienzos de la Edad del Bronce, y Camón (1954) sugirió su asociación a la Segunda Edad del Hierro. Además, Camón (1954)

también sugirió que las pinturas de Selva Pascuala pudieran pertenecer a la Edad del Bronce debido a la presencia de un grupo de pinturas bastante naturalistas realizadas durante esta época, en las que eran frecuentes las escenas de domesticación. Por otro lado, Ripoll Perelló (1960) asoció estas pinturas a la fase D (de transición a la pintura esquemática) de su cronología relativa para la "facies" levantina, culturalmente asociada al Neolítico Final (Ripoll Perelló, 1990, figura 5).

Además, se ha intentado conocer la antigüedad de esta representación de manera indirecta, realizando análisis de radiocarbono del oxalato cálcico de la pátina formada sobre la roca. El análisis se realizó sobre una muestra cercana a la pintura del équido y arrojó una edad mínima de 3490 ± 160 BP.[6] (Ruiz *et al*., 2009).

En el grupo de los **antropomorfos superpuestos a équidos realizando acrobacias**, se han documentado figuras humanas representadas de pie sobre figuras zoomorfas que se han considerado como équidos. Este tipo de representaciones se han documentado en varios abrigos, destacando los abrigos de Los Borriquillos de El Mortero en Alacón y de la Fenellosa en Beceite (ambos en Teruel), el abrigo del Prado de Santa María localizado en Soria, el de la Virgen del Castillo en Ciudad Real y el Risco de los Altares en Salamanca (Lucas y Rubio, 1990) (Figura 4.10).

El grupo de las representaciones de **jinetes** es uno de los más diversos, tanto por su forma de ejecución como por sus cronologías (Lucas y Rubio, 1990). En cuanto a su ejecución, se distinguen jinetes elaborados mediante diferentes técnicas, incluyendo tanto figuras pintadas como grabadas. A su vez, se diferencian representaciones pertenecientes a distintos momentos cronológicos, desde el Bronce Final (según consideraciones de algunos autores) hasta época histórica.

Uno de los jinetes más estudiado del arte postpaleolítico se encuentra localizado en el abrigo X de El Cingle de la Mola Remigia del barranco de Gasulla (Ares del Maestrazgo, Castellón) (Ripoll Perelló, 1963) (Figura 4.10; Figura 4.12C). El abrigo X es el más oriental de los diez abrigos que se han reconocido en El Cingle (Ripoll Perelló, 1963). En estos abrigos, se han documentado representaciones pertenecientes al estilo levantino y al estilo esquemático

[6] Calibraciones a 2σ utilizando el programa OxCal 4.2 con el modelo de calibración IntCal13. Calibración de la muestra SP-84: 3490 ± 160 BP; 4229 – 3388 años cal. BP; 2280 – 1439 años cal. aC.

(Ripoll Perelló, 1963). La figura nº 58 documentada en el abrigo X de El Cingle es una figura antropomorfa que monta un équido (Ripoll Perelló, 1962; 1963) (Figura 4.13). Esta figura ha presentado problemas relacionados tanto con la cronología como con el estilo (Ripoll Perelló, 1990).



Figura 4.13. Jinete de Gasulla. Esta figura está localizada en el abrigo X de El Cingle de la Mola Remigia del barranco de Gasulla (Ares del Maestrazgo, Castellón).

Diversas investigaciones han sugerido para esta figura diferentes cronologías. Basándose en la suposición de que la caballería aparece en la península ibérica a finales del II milenio aC, se propuso que esta representación no podría ser anterior a este momento. Posteriormente, el estilo de su ejecución se asoció según la cronología relativa elaborada por E. Ripoll Perelló a un momento avanzado del periodo estilizado dinámico de la fase levantina o periodo C, que relacionaba esta figura con el Neolítico (Ripoll Perelló, 1990). Sin embargo, otro estudio centrado en el análisis tipológico del casco del jinete, ha propuesto para esta figura una cronología asociada a principios de I milenio aC. La forma del casco con cimera angular, permitió asociar la figura al Bronce final ibérico, situándola cronológicamente en torno al 900 aC (Almagro Gorbea, 1973).

Sin embargo, otros estudios han considerado a la pintura de El Cingle de la Mola Remigia más moderna y perteneciente a la Segunda Edad del Hierro. Esta conclusión se ha obtenido nuevamente analizando la tipología del casco, el cual se ha considerado como un posible casco hispano-calcídico (Guillem *et al*., 2015).

Con el nombre de cascos hispano-calcídicos se conocen a una treintena de cascos que están geográficamente asociados a yacimientos de la parte oriental de la península ibérica, principalmente al ámbito celtibérico y se distribuyen en cinco grupos crono-tipologicos (Graells *et al*., 2014). El marco temporal para estos grupos está comprendido entre mediados o finales del siglo IV aC hasta el siglo II aC o incluso la primera mitad del siglo I aC (Graells *et al*., 2014). Además, este tipo de cascos también se ha documentado, aunque de manera muy reducida,

en representaciones iconográficas (Graells *et al*., 2014) destacando entre las representaciones rupestres la del guerrero celtibérico de Mosqueruela (Teruel) (Lorrio y Royo Guillén, 2013). Este guerrero se caracteriza por presentar una túnica corta, grebas, espada, vaina, escudo circular y un casco con alas o cuernos laterales (Lorrio y Royo Guillén, 2013).

En el trabajo de Guillem *et al*. (2015) se presenta un estudio en detalle del casco de este jinete de El Cingle de la Mola Remigia del barranco de Gasulla. Se ha sugerido la diferenciación en la parte anterior del protector nasal y en la parte posterior de un guardanucas, características con las que se ha propuesto que este jinete llevaría un casco parecido a los hispano-calcídicos. Además, se ha recordado que estos cascos portarían cimera, la cual está presente en la pintura. De confirmarse esta propuesta, esta pintura se podría enmarcar en la Segunda Edad del Hierro (siglos IV – I aC), opinión por otro lado compartida por otros autores (Royo Guillén, 2005). Por último, algunos autores han considerado que la figura original está alterada en la zona superior, generando un aspecto irreal similar a un casco (Alonso y Grimal, 1994).

Otra representación de marcada antigüedad y asociada a la Primera Edad del Hierro correspondería a la del jinete del abrigo denominado la cueva de Laja Alta (Jimena de la Frontera, Cádiz) (Figura 4.10), cuya composición despertó gran interés por representar barcos con velas y remos (Topper y Topper, 1988; Royo Guillén, 2005). El jinete se encuentra representado en la parte izquierda de la composición y está considerada como una de las figuras más antiguas del abrigo. Se trata de una pintura en color rojo pálido de un jinete que porta un casco triangular y lanza larga y que está montando a un caballo filiforme. La presencia junto a esta figura de varios barcos con velas y remos de tipología considerada como griega o fenicia ha permitido sugerir una fecha para todo el conjunto comprendida entre 1000 – 700 años aC. (Topper y Topper, 1988; Royo Guillén, 2005). De este modo, esta figura y la representación de El Cingle de la Mola Remigia del barranco de Gasulla, asumiendo su cronología asociada en torno al siglo IX aC, se enmarcarían entre las representaciones más antiguas de jinetes en el arte postpaleolítico de la península ibérica.

Volviendo a la zona oriental de la península ibérica, el área de la provincia de Castellón se va a caracterizar por albergar algunas estaciones rupestres con representaciones de jinetes cronológicamente asociadas a la Edad del Hierro, y donde algunas de ellas han despertado dudas sobre su composición o su asociación cultural. Por otro lado, destacamos el jinete grabado en el Abrigo I del Barranco de las Vueltas (Cuevas de Vinromá, Castellón) (Figura 4.10), que se ha asociado con los jinetes lanceros de los vasos iberos, e incluso con los jinetes de las

monedas iberas (Guillem *et al*., 2015) características que asocian a este jinete grabado a la Segunda Edad del Hierro. Por otro lado, en el mismo entorno geográfico del Maestrazgo hay dos abrigos con representaciones de supuestos jinetes sobre los que se han arrojado dudas de su correcta representación como tales (Guillem *et al*., 2015). Estas representaciones son la figura ecuestre pintada del Mas del Cingle (Ares del Maestre, Castellón) (Figura 4.10), asociada a una inscripción ibérica y cronológicamente encuadrada para algunos autores en la Segunda Edad del Hierro y la figura ecuestre pintada de Mas d'en Josep (La Valltorta, Castellón) (Figura 4.10) asociada según algunos autores a época ibérica (Viñas y Conde, 1989; Royo Guillén, 2005). En un reciente trabajo, se propone que la representación de Mas del Cingle se interpreta erróneamente como un jinete y además pertenecería a época histórica, mientras que la representación de Mas d'en Josep es una representación propia del arte esquemático donde la identificación de un jinete es una apreciación muy subjetiva, resultado de fusionar varias figuras entre ellas (Guillem *et al*., 2015).

Además del arte característico del conjunto de Arte Rupestre del Arco Mediterráneo de la península ibérica, se han documentado otras representaciones de jinetes repartidas por territorio peninsular, que pertenecen a un amplio marco cronológico que llega hasta momentos históricos (Royo Guillén, 2004; 2005). En estos casos, la simbología y los repertorios iconográficos han permitido realizar diferencias entre representaciones asociadas a distintas etapas culturales (Royo Guillén, 2004). Son representaciones asociadas a un estilo mayoritariamente esquemático, apareciendo de forma aislada, en parejas o formando parte de grupos más amplios, asociados a escenas con un claro carácter narrativo (Royo Guillén, 2005). El estudio de este tipo de representaciones y el análisis conjunto de su distribución peninsular ya ha sido objeto de estudios previos, a los que remitimos para obtener una mayor información sobre las representaciones rupestres de jinetes de la Edad del Hierro de la península ibérica (Royo Guillén, 2004; 2005). En estas líneas, simplemente queremos destacar representaciones como la de Molino Manzánez (Alconchel – Cheles, Badajoz) (Figura 4.10), en el área de inundación de la presa de Alqueva (Collado, 2007). Dentro del conjunto de grabados de la fase 4 de Molino Manzánez asociada al arte rupestre de la Edad del Hierro, destacamos el de una figura naturalista de un jinete a caballo con lanza. Este jinete se ha identificado en la estación XI "Ñete" y se ha fechado junto a otras representaciones en torno al siglo V aC (Royo Guillén, 2005; Collado, 2007).

Entre las representaciones de tipo esquemático de cronologías asociadas a la Edad del Hierro, destaca el conjunto de jinetes del panel II de la losa del Puntal del Tío Garrillas

localizado en Pozondón, en las estribaciones de la Sierra de San Ginés (Teruel) (Figura 4.10). La losa que presenta estos grabados está localizada a unos 100 m del yacimiento celtibérico que lleva el mismo nombre. En el panel II se han documentado una gran cantidad de escenas ecuestres, que superan el 40% de las figuras representadas en la roca de la losa (Figura 4.12F). Estas escenas se han situado cronológicamente entre finales del siglo V – finales del siglo III aC., y concuerdan con un análisis posterior que se ha realizado sobre un nuevo panel descubierto junto a la losa que contenía el panel II (Royo Guillén, 2004). Este nuevo panel, denominado panel III, se encontraba cubierto por sedimento que contenía restos óseos y cerámicos. Se han reconocido tres figuras realizadas con la misma técnica que las del panel II. Asimismo, una de estas figuras representa a un jinete, de estilo de ejecución muy parecido a las del conjunto ecuestre del panel II. Su antigüedad se concretó a partir de un análisis preliminar de los restos cerámicos, a lo que se atribuyó una cronología celtibérica. Además, las figuras se han asociado a la fase inicial de ocupación del poblado del Puntal del Tío Garrillas, comprendida entre finales del siglo IV o comienzos del siglo III aC (Royo Guillén, 2004).

Otras figuras en cambio, presentan unas cronologías menos definidas, pero aun así enmarcadas en algún momento de la Edad del Hierro. Es el caso de las representaciones de la sierra de Guadarrama, ubicadas entre los ríos Arevalillo y Pirón en Segovia (Figura 4.10), o el panel con pinturas de tendencia esquemática de Cova del Pi en Tivissa (Tarragona) (Figura 4.10) o los paneles grabados con figuras de jinetes a caballo de Piedra Labrá (Chercos Viejo, Almería) (Figura 4.10) (Royo Guillén, 2005).

En cuanto a los **équidos asociados al transporte de tiro**, se ha propuesto diversos orígenes para la aparición de la rueda y el carro. Por un lado se ha sugerido que la rueda y el carro tienen sus orígenes en el V – IV milenio aC en las estepas euroasiáticas, o en la zona de Mesopotamia durante la segunda mitad del IV milenio aC (Quesada, 1997a; Quesada, 2005b, 2006). Estos primeros carros contaban con ruedas macizas de madera y posteriormente en el segundo milenio aC, aparecerían los carros ligeros caracterizados por presentar ruedas con radios (Quesada, 1997a; Quesada, 2005b, 2006).

Uno de los mejores contextos para estudiar los primeros carros pesados proceden de las evidencias estudiadas en la inconografía y los yacimientos relacionados con ciudades – estado sumerias, cronológicamente asociados entre 2500 – 2000 aC (Quesada, 2005b, 2006). Son carros que presentaban dos o cuatro ruedas macizas de madera asociadas a ejes fijos, y que eran tirados generalmente por hemiones, y por asnos en algunas ocasiones (Quesada, 2005b, 2006). Este tipo de vehículos se han recuperado en el Cementerio Real de Ur (Irak) y, además,

ya aparecen documentados en el Estandarte de Ur o en la Estela de los Buitres del rey Eannatum de Lagash, ambos datados hacia mediados del III milenio aC (Quesada 2005b, 2006).

Por otro lado, en varios yacimientos localizados al norte del Mar Caspio entre los ríos Volga y Ural, se han documentado los que se consideran los primeros carros ligeros del Viejo Mundo (Kuznetsov, 2006). Estos carros se han recuperado principalmente en los cementerios de Sintashta, Krivoe Ozero, Utyovka VI y Potapovo. Proceden de sepulturas donde también han aparecido inhumaciones humanas junto a caballos sacrificados (esqueletos completos o parciales) acompañados, además, de distintos elementos de carros o de las impresiones de ruedas con radios, bocados, armamento y adornos (Kuznetsov, 2006). Diversas dataciones de radiocarbono han encuadrado estos yacimientos principalmente entre 1950 – 1750 cal. aC (Kuznetsov, 2006). A mediados del segundo milenio aC el carro ligero con ruedas se extendía por un territorio que comprendía desde Grecia hasta la India (Quesada 2006).

Dentro de la península ibérica, las primeras evidencias inequívocas de carros proceden de las representaciones grabadas de tipo esquemático de las "Estelas del Suroeste" (Quesada, 1997a). Estas estelas son bloques de piedras a los que se les ha otorgado principalmente un significado funerario, las cuales se han asociado al Bronce final y al periodo Orientalizante, enmarcándolas cronológicamente entre los siglos X – VII aC (Quesada, 2005b, 2006). Todos los carros representados son carros ligeros con caja en forma de D y con dos ruedas con radios. Además, otros detalles tipológicos de estos carros han permitido proponer que estos vehículos eran de tipo egeo, y por lo tanto algunos habrían llegado a la Península procedentes del Mediterráneo oriental, descartando un origen chipriota o de Próximo Oriente (Quesada, 2005b, 2006). Cuando se representa, el eje central aparece siempre en el centro de la caja, como en los carros griegos (Quesada, 2008). Además, en aquellas estelas en las que aparecen bien diferenciados los radios de las ruedas, siempre se presentan ruedas con cuatro radios y nunca ruedas con seis u ocho radios, que en cambio eran el tipo común de rueda en el área Mediterránea a comienzos del primer milenio aC, a excepción de los carros de la zona egea (Quesada, 2008). Estos y otros detalles han permitido descartar a los carros próximo-orientales (fenicios por ejemplo), así como los chipriotras y los carros de la zona del Sáhara como posibles influencias para las representaciones más antiguas de carros ibéricos, considerando en cambio una influencia procedente de los carros griegos de la época asociada a la Edad Oscura (*ca*. 1200 – 750 aC) (Quesada, 2006, 2008).

CAPÍTULO 5

Stat rosa pristina nomine, nomina nuda tenemus

(De la rosa no nos queda sino el nombre)

Umberto Eco. *El nombre de la rosa*.

5. ESTUDIOS SOBRE *Equus hydruntinus* IBÉRICOS

Entre los restos que pueden fosilizar, se ha considerado a los cráneos como los mejores indicadores taxonómicos al permitir a los investigadores el poder discriminar entre los taxones actuales del género *Equus* (Eisenmann, 1979; Burke *et al.,* 2003; Orlando *et al.,* 2006). Por su parte, los dientes y los huesos de las extremidades presentan menos poder discriminatorio y, por lo tanto, son menos adecuados para los análisis taxonómicos (Orlando *et al*., 2006). Sin embargo, los dientes yugales y los metápodos pueden ofrecer información muy útil sobre el tipo de alimentación y el tipo de nicho ecológico en el que estos équidos se desenvolvieron (Eisenmann, 1998). Esta característica es importante en los estudios taxonómicos de *Equus hydruntinus*, ya que es un taxón del que se han recuperado muy pocos cráneos, y que está representado en el registro fósil básicamente por restos dentales y restos de las extremidades (Burke *et al.,* 2003). Este sesgo en el registro de *Equus hydruntinus* ha provocado que los análisis filogenéticos no hayan ofrecido resultados concluyentes (Burke *et al*., 2003).

Equus hydrutinus es un équido que se describió por primera vez a principios del siglo XX, a partir de unos restos recuperados de la Grotta di Romanelli (Lecce, Apulia, Italia), asignados a finales del Pleistoceno (Regàlia, 1907). Posteriormente, esta especie se describió con más detalle en el trabajo de Stehlin y Graziosi (1935) analizando muestras de varios yacimientos europeos.

5.1. Distribución geográfica y temporal de *Equus hydruntinus*

La distribución geográfica de *Equus hydruntinus* habría comprendido Europa, Próximo Oriente y el occidente asiático (Regàlia, 1907; Eisenmann y Patou, 1980; Bonifay, 1991; Cardoso, 1995; Arcederillo, 2008; Crees y Turvey, 2014). El límite de su distribución septentrional europea habría alcanzado Alemania y el Mar del Norte (Hoojier, 1985). Por otro lado, en la zona asiática y de Próximo Oriente se ha constatado su presencia en Turquía, Siria, Jordania, Israel e Irán y posiblemente Azerbaiyán (Davis, 1980; Uerpmann, 1987; Eisenmann, 1992; Eisenmann y Mashkour, 1999; Orlando *et al.,* 2006, Crees y Turvey, 2014).

Los restos de *Equus hydruntinus* se han asociado cronológicamente al Pleistoceno medio, Pleistoceno superior, y Holoceno. Los fósiles más antiguos se han recuperado en el complejo de cuevas del yacimiento francés de Lunel-Viel (Herault) (Bonifay, 1991), y presentan una cronología de ~ 350.000 años de antigüedad. Mientras que durante el Pleistoceno *Equus hydruntinus* estuvo ampliamente distribuido por el continente europeo, su presencia durante el Holoceno europeo se ha caracterizado por presentar una distribución más restringida (Crees y Turvey, 2014). En un trabajo de revisión y análisis espacial de *Equus hydruntinus* durante el Holoceno, se constató su presencia en diversos yacimientos de Armenia, Austria, Bulgaria, República Checa, Hungría, Sur de Francia, Italia, Rumanía, Serbia, Ucrania y la península ibérica (Crees y Turvey, 2014). En el caso de la península ibérica, los restos faunísticos procedían de los yacimientos de La Carihuela (Granada), Terrera Ventura (Almería) y la Cueva del Moro (Huesca), estos últimos, considerados como dudosos (Uerpmann, 1976; Driesch, 1972; Castaños, 1991a; Crees y Turvey, 2014).

El análisis comparativo del registro arqueozoológico de este taxón respecto a otros ungulados del Holoceno europeo, ha puesto de manifiesto que *Equus hydruntinus* se convirtió en un taxón minoritario, siendo un componente raro en los registros de fauna europea tras el Último Máximo Glaciar (Crees y Turvey, 2014). Mientras que estos registros estuvieron concentrados en Europa central y en las regiones del Cáucaso, por su parte el sur de la península ibérica, junto al sur de Francia y el sur de Italia presentaron subpoblaciones reducidas. La ausencia de restos entre las áreas que separan estas zonas han sugerido una distribución fragmentada de *Equus hydruntinus* durante el Holoceno.

Por otro lado, no hay un consenso generalizado entre los investigadores con respecto a la determinación de los restos más modernos. Mientras que las evidencias europeas de *Equus hydruntinus* llegan hasta la Edad del Bronce, y hasta la Edad del Hierro en el Cáucaso (Crees y Turvey, 2014), otros autores consideran que hubo un reducto de *Equus hydruntinus* en la península ibérica que no se extinguió hasta los siglos XVI-XVII. Para algunos autores, estas poblaciones ibéricas se habrían conocido en los tiempos históricos con el nombre de *cebros* (Nores y Liesau, 1992; Antunes, 2006). Las evidencias que sustentan la presencia del cebro en la península ibérica se comentarán detalladamente en el apartado *La relación entre* Equus hydruntinus *y el cebro ibérico*.

5.2. Taxonomía de *Equus hydruntinus*

A la especie *Equus hydruntinus* se la ha denominado comúnmente en la literatura como el *asno salvaje europeo*, diferenciándolo de este modo de los *asnos asiáticos* denominados hemiones (el término hemión significa "medio asno") y de los *asnos africanos* (Orlando *et al*., 2006). No obstante, la utilización de la terminología "asnos" para referirse a algunos équidos ha presentado bastantes controversias, ya que este término incluye a un conjunto muy heterogéneo de équidos taxonómicamente diferentes (Forsten, 1990).

Equus hydruntinus es un taxón que se caracteriza por presentar una talla pequeña, extremidades gráciles, dientes yugales superiores con protoconos cortos, y un patrón de esmalte primitivo en la dentición inferior (Eisenmann, 1992; Burke *et al*., 2003). Ninguna de estas características son exclusivas de este taxón (Eisenmann y Mashkour, 1999). Los metápodos son similares a los de los hemiones, la dentición yugal superior muestra afinidad con los asnos y comparte rasgos también con las cebras. En la dentición yugal inferior, el ectofléxido es profundo y llega a contactar con el doble bucle, estado del carácter que recuerda a la dentición de *Equus stenonis* (Forsten y Ziegler, 1995; Burke *et al*., 2003). Por este motivo, los estudios morfológicos sobre los restos fósiles han propuesto hasta cuatro modelos paleontológicos para intentar explicar las relaciones filogenéticas de *Equus hydruntinus*. Estos modelos se sustentan en el análisis de caracteres dentales y del esqueleto postcraneal (Gromova, 1955; Stehlin y Graziosi, 1935; Davis, 1980; Forsten, 1986; Bonifay, 1991; Burke *et al*., 2003; Orlando *et al*., 2006).

Siguiendo la clasificación de modelos presentada por Orlando *et al*. (2006), pasamos a describir cada uno de estos modelos. Por un lado, *Equus hydruntinus* se ha relacionado filogenéticamente con *Equus stenonis* (modelo I, sustentado por Gromova, 1955; Bonifay, 1991; Forsten, 1999), proponiéndose como el último representante del grupo Plio-Pleistoceno de las "formas estenonianas" (Forsten, 1986). Por otro lado, *Equus hydruntinus* se ha emparentado filogenéticamente con la cebra de Burchell (*Equus quagga*), antes denominada *Equus burchelli* (modelo II, propuesto por Davis, 1980; Bonifay, 1991); con el subgénero *Asinus* (modelo III, Stehlin y Graziosi, 1935) y con *Equus hemionus* (modelo IV, Burke *et al.*, 2003). Por último, otros autores han sugerido que los fósiles de *Equus hydruntinus* deberían encuadrarse en un género propio *Hydruntinus* (Radulesco y Samson, 1965).

El modelo IV, de similitud con hemiones, se ha visto sustentado por el estudio de la morfología de dos cráneos recuperados en el yacimiento de Kabazi II (Crimea), asignados al

Pleistoceno superior (Burke *et al*., 2003). El estudio de las proporciones craneales de *Equus hydruntinus* a partir de los cráneos de Kabazi II (Crimea), permitió diferenciar a *Equus hydruntinus* de los asnos y de los hemiones por presentar una escotadura nasoincisiva inusualmente corta. Además, el único cráneo donde se pudieron tomar medidas relativas a la longitud y anchura de la zona rostral, así como de la longitud del paladar, determinó que *Equus hydruntinus* presentaba una zona rostral muy ancha en comparación con su longitud, característica que los alejaba del patrón de asnos, cebras y otras "formas estenonianas y plesipinas" utilizadas como comparativa. Por otro lado, las proporciones de la zona rostral permitieron relacionar este cráneo con *Equus hemionus* (Burke *et al*., 2003). Estos y otros análisis, permitieron considerar a *Equus hydruntinus* como una especie de équido diferente, mucho más relacionada a los hemiones que a cualquier otra especie de équido (Burke *et al.*, 2003).

Por otro lado, estas conclusiones sobre la inclusión de *Equus hydruntinus* en el modelo IV se han visto corroboradas por los análisis de ADN mitocondrial antiguo (Orlando *et al*., 2006), que se comentarán en el capítulo siguiente, en el apartado *Análisis genéticos sobre* Equus hydruntinus *previos a este estudio*.

La dentición de *Equus hydruntinus* se caracteriza por ser de tamaño pequeño, con un protocono corto con forma triangular y ausencia del pliegue caballino en la dentición yugal superior (Davis, 1980). Por su parte, la dentición yugal inferior se caracteriza por presentar un ectofléxido profundo en la mayoría de los molares, sobre todo en el M1 y M2 (Forsten y Ziegler, 1995; Burke *et al*., 2003; Orlando *et al*., 2006, Eisenmann *et al*., 2008; Geigl y Grange, 2012). El desarrollo del ectofléxido suele ser completo, llegando a contactar con el linguafléxido (Davis, 1980).

No obstante, se ha considerado que el análisis de rasgos en los restos dentales aislados presenta un valor taxonómico limitado, debido principalmente a su carácter plesiomorfo. En el caso de la dentición superior, los protoconos cortos se consideran estados primitivos del carácter (plesiomorfías), ya que están presentes en *Plesippus* y en *Equus stenonis*. Aunque es una característica presente en *Equus hydruntinus*, también es posible encontrarla en cebras de llanura o planicie (*Equus quagga*) y en asnos, y se ha asociado con adaptaciones al consumo de comida abrasiva (Orlando *et al*., 2006).

Por otro lado, los ectofléxidos profundos en los dientes yugales inferiores también se consideran estados primitivos del carácter, al encontrarse en ejemplares de *Plesippus* y *Equus*

stenonis, así como en cebras actuales (Orlando *et al*., 2006). Por último, la forma redondeada del doble bucle de los dientes yugales inferiores también se considera un estado primitivo del carácter, al ser una morfología retenida por la mayoría de los équidos actuales, a excepción de los caballinos (Orlando *et al*., 2006).

Por lo tanto, aunque se ha considerado la asociación de *Equus hydruntinus* con *Equus stenonis*, *Equus quagga* (antes *Equus burchelli*), *Equus asinus* o *Equus africanus* en base a la información de los caracteres dentales, esta asociación carecería de solidez al estar basada en caracteres plesiomórficos (Eisenmann, 1992; Orlando *et al*., 2006).

Mientras que la mayoría de las plesiomorfías se han identificado en los caracteres dentales, las apomorfías de *Equus hydruntinus* se han reconocido en el esqueleto postcraneal, y están relacionadas con la gracilidad y las proporciones cursoriales (Geigl y Grange, 2012). En *Equus hydruntinus* el metatarso III es ligeramente más largo que el metacarpo III, entrando dentro del rango de variación observado en *Equus hemionus* (Eisenmann *et al*., 2008). Además, su microdoncia se hace todavía más patente cuando se relaciona el tamaño de los dientes yugales superiores con el tamaño de los metápodos y se comparan estos resultados con los de *Equus hemionus* (Eisenmann *et al*., 2008).

5.3. Inferencia del hábitat de *Equus hydruntinus*

Todavía no hay mucha información sobre la tolerancia climática o ecológica de *Equus hydruntinus*, pero al haberse relacionado como un taxón filogenéticamente próximo a *Equus hemionus*, se ha sugerido que *Equus hydruntinus* podría haber tenido una adaptación similar a esta especie, ocupando espacios abiertos y secos, característicos de condiciones esteparias (Crees y Turvey, 2014). De hecho, al ser las proporciones gráciles de sus extremidades uno de los rasgos que caracterizan a *Equus hydruntinus*, se ha sugerido una adaptación para la carrera, y se ha vinculado por lo tanto a este taxón con paisajes abiertos, secos y de condiciones semiáridas durante el Pleistoceno (Burke *et al*., 2003; Orlando *et al*., 2006, Geigl y Grange, 2012). El análisis de las frecuencias relativas de *Equus hydruntinus* asociado a otras especies de mamíferos ha permitido proponer que *Equus hydruntinus* podría adaptarse a un amplio rango de ambientes, con capacidad para desarrollarse bajo condiciones climáticas suaves hasta en condiciones climáticas más frías y secas, si éstas no eran muy extremas (Bonifay, 1991). A partir del análisis del patrón de extinción de esta especie durante el Holoceno, se concluyó que su distribución geográfica continuó asociada a áreas de paisajes abiertos, donde las

subpoblaciones debieron estar relegadas preferentemente a hábitats abiertos del sur y este de Europa (Crees y Turvey, 2014).

Las áreas geográficas que albergaron a estas subpoblaciones fueron un reflejo de la dinámica de fragmentación por la que pasó *Equus hydruntinus* desde finales del Pleistoceno. A diferencia de otras especies de megafauna de herbívoros euroasiáticos, cuyo patrón espacial predominante sobre su proceso de extinción de finales del Cuaternario fue la contracción de sus hábitats de distribución hacia áreas remanentes o periféricas respecto al hábitat original, el patrón de *Equus hydruntinus* fue diferente. Los análisis sobre el patrón de extinción han puesto de manifiesto que en la dinámica de extinción de *Equus hydruntinus* predominó una fragmentación del hábitat en lugar de la contracción del mismo (Crees y Turvey, 2014).

El patrón de registros procedentes del sur de la península ibérica y sur de Francia e Italia ha sugerido que al final del Pleistoceno la distribución de *Equus hydruntinus* se relegó hacia el Sur, y quedó fragmentada en estas tres áreas refugio, mientras que la población del este de Europa (correspondiente al valle del Danubio) permaneció conectada en un área más amplia (Crees y Turvey, 2014).

Este proceso de fragmentación de hábitat de *Equus hydrutinus* a finales del Pleistoceno ya se había sugerido previamente, a partir del análisis de las variaciones morfológicas y biométricas de los dientes yugales de *Equus hydruntinus* recuperados en doce yacimientos del sureste de Francia, y con una cronología asociada a la segunda mitad del Pleistoceno medio, Pleistoceno superior y comienzos del Holoceneo (MIS 9 -1) (Boulbes, 2009). La tendencia hacia un aumento de talla de las poblaciones asociadas a MIS 3-1 en comparación con las de MIS 9-5, se habían asociado bien a una evolución local, bien a un reemplazamiento poblacional debido a un evento migratorio ocurrido entre finales del MIS 5 – comienzos del MIS 3 (Boulbes, 2009). El hecho de que las poblaciones del sur de Francia de finales del Pleistoceno presentaran en los dientes yugales un protocono alargado, de modo análogo al encontrado en poblaciones de los Balcanes de cronologías similares, fue utilizado para sugerir además, un proceso de fragmentación del área de distribución inicial (Boulbes, 2009).

Frente a estos patrones de extinción, es interesante comentar que algunas de las últimas poblaciones de *Equus hydruntinus* hubieran podido sobrevivir en la península ibérica. Los yacimientos donde se ha documentado la presencia de esta especia durante el Holoceno están localizados mayoritariamente al sur de la Península, en lugares donde los espacios abiertos persistieron durante bastante tiempo (Crees y Turvery, 2014). De este modo, se han

utilizado las características climáticas y ecológicas del sur peninsular para apoyar la supervivencia regional de poblaciones aisladas de *Equus hydruntinus* (Crees y Turvery, 2014).

5.4. La extinción de *Equus hydruntinus* en la península ibérica

La documentación de restos de *Equus hydruntinus* en la península ibérica durante el Holoceno ha resultado ser una tarea bastante complicada. De hecho, para muchos restos holocenos previamente atribuidos a *Equus hydruntinus* (Driesch, 1972; Uerpmann, 1976), posteriores estudios llevados a cabo sobre algunos de estos restos, o han demostrado una asociación errónea, o han arrojado dudas sobre su correcta adscripción (Driesch, 2000). De hecho, algunos autores han sugerido que los restos recuperados en la península ibérica y en Francia desde el Neolítico hasta la Edad del Bronce, probablemente estén mal datados o mal identificados (Spassov y Iliev, 2002).

Las complicaciones en la adscripción taxonómica de *Equus hydruntinus* se han puesto de manifiesto en las opiniones contrapuestas de diversos investigadores, que han asociado erróneamente muestras a *Equus hydruntinus* (Geigl y Grange, 2012). Respecto al análisis taxonómico de *Equus hydruntinus*, Geigl y Grange (2012) hacen una mención significativa a un trabajo en preparación que citan en su artículo. Estos autores comentaron cómo diversos restos fósiles que habían sido previamente atribuidos a *Equus hydruntinus* o al menos de tipo asinino, y por supuesto nunca de tipo caballino, ofrecieron finalmente ADN mitocondrial de *Equus ferus*. De hecho, estos autores han expuesto que en los yacimientos europeos datados entre *ca*. 35.000 – 6000 años BP, hay una marcada tendencia a asociar erróneamente a *Equus hydruntinus* restos que deberían ser caballinos (atendiendo al tipo de ADN mitocondrial que presentan, y en ocasiones incluso al cromosoma Y). Por lo tanto, uno de los resultados que este trabajo ha puesto de manifiesto es la subestimación de manera significativa de la variabilidad morfológica de los équidos caballinos.

Entre las muestras que se han utilizado para argumentar la presencia de *Equus hydruntinus* ibéricos en cronologías holocenas, podemos destacar las procedentes del Cerro de la Virgen y la Carihuela (ambos en Granada), Terrera Ventura (Almería), la Morra del Quintanar (Albacete), la Ereta del Pedregal (Navarrés, Valencia), la cueva del Moro (Huesca) o la cueva de El Mirador en la sierra de Atapuerca (Burgos).

En las excavaciones realizadas en 1965 en el poblado del Cerro de la Virgen (Huéscar, Granada), se encontraron dos falanges proximales, una anterior (F938) y otra posterior (F683) que, por sus proporciones gráciles, se asociaron a *Equus hydruntinus*. En las excavaciones del Cerro de la Virgen se diferenciaron estratos asociados al Calcolítico, a la Edad del Bronce, y al periodo de dominación musulmana (Driesch, 1972). Las muestras adscritas a *Equus hydruntinus* se relacionaron cronológicamente con el periodo Calcolítico (Driesch, 1972; 2000). No obstante, las posteriores dataciones de radiocarbono efectuadas sobre la falange anterior (F938) arrojaron una cronología de 1170 ± 20 BP[7]. Estas dataciones enmarcan a la falange F938 en la Alta Edad Media. De este modo, se descartó a la falange F938 del Cerro de la Virgen como perteneciente a *Equus hydruntinus* atendiendo a su cronología medieval (Driesch, 2000).

Por otro lado, en posteriores estudios se ha comprobado que la falange proximal posterior (F683) presentaba signos de desgaste debido a factores tafonómicos. Se ha propuesto que esta falange F683 pudiese pertenecer a un caballo joven, y por lo tanto que sus proporciones no estuviesen totalmente definidas (Driesch, 2000).

En 1971, Driesch descubrió y midió en el Museo Arqueológico Provincial de Almería una falange proximal anterior procedente del yacimiento de Terrera Ventura en Almería (Driesch, 2000). Esta falange presentaba un grabado asociado a un ídolo característico de la cultura de los Millares, lo cual permitió asociarla culturalmente al Calcolítico. El tamaño de esta falange era similar al de la falange proximal anterior F938 recuperada años antes en el Cerro de la Virgen, por lo que se adscribió a la especie *Equus hydruntinus* (Driesch, 2000). Estudios posteriores determinaron que esta falange presentaba también signos de desgaste tafonómico en su superficie, como los documentados para la falange F683 del cerro de la Virgen (Driesch, 2000). De este modo, su asociación a *Equus hydruntinus* pasaba a ser dudosa.

Por otro lado, en 1976 se publicaron nuevos hallazgos atribuidos a *Equus hydruntinus*, procedentes en esta ocasión de las excavaciones realizadas por el profesor Pellicer en la cueva de la Carihuela (Piñar, Granada) (Uerpmann, 1976). Estos nuevos restos consistían en dientes aislados y un fragmento de astrágalo, que se asociaron al Neolítico medio - Neolítico final y al Calcolítico. No se pudo realizar una datación directa por ^{14}C de los restos debido a su contenido insuficiente de colágeno (Uerpmann, 2005). Sin embargo, el fragmento de astrágalo

[7] Calibrado a 2σ con el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13: 774 – 943 AD.

se recuperó de un nivel datado por radiocarbono en 7010 ± 90 BP[8]. No obstante, al documentarse en la cueva sepulcros de la Edad del Bronce, se ha sugerido la posibilidad de que algunos de estos restos dentales pudieran estar en deposición secundaria (Driesch, 2000). Por otro lado, aunque los dientes se asociaron a *Equus hydruntinus* basándose en la morfología del esmalte (Uerpmann, 1976), en posteriores análisis se ha propuesto que estos resultados no eran totalmente convincentes (Driesch, 2000). Sin embargo, para el fragmento de astrágalo sí se sigue considerando su adscripción a *Equus hydruntinus* (Driesch, 2000).

También se han documentado restos holocenos de *Equus hydruntinus* en la Ereta del Pedregal (Navarrés, Valencia). En las excavaciones realizadas entre 1976 - 1979 en el yacimiento de la Ereta del Pedregal se diferenciaron hasta 4 niveles que correspondían cronológicamente con el Neolítico final y la Edad del Bronce (Pérez Ripoll, 1990). Entre la fauna estudiada, se identificó una falange III anterior que se asoció taxonómicamente con *Equus hydruntinus* (Pérez Ripoll, 1990).

Además, a partir del análisis de dos falanges también se ha sugerido la presencia de *Equus hydruntinus* en los niveles neolíticos de la Cueva del Moro (Huesca). No obstante, la presencia de excavaciones clandestinas en el sector donde aparecieron estos restos no ha permitido asegurar su cronología. Existe la duda de que esos restos se depositaran con posterioridad, y que pudieran pertenecer por tanto a *Equus asinus* (Castaños, 1991a).

Otro yacimiento donde se han descrito restos atribuidos a *Equus hydruntinus* es la Morra del Quintanar, en Albacete (Morales, 1991). El poblado de la Morra del Quintanar (Munera, Albacete) presenta niveles de la Edad del Bronce agrupados en tres fases, y se han datado por radiocarbono la Fase I y Fase II. La horquilla temporal obtenida comprende entre 3610 ± 130 BP[9] (UGRA 101) y 3360 ± 50 BP[10] (CSIC 493). Por su parte, la Fase III se consideró coetánea y se asoció a mediados del II milenio aC. (Morales, 1991). En los sectores denominados “poblado” y “muralla” se recuperaron en total 4 restos de un pequeño équido

[8] Calibrado a 2σ con el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13: 7995 – 7675 años cal. BP; 6046 – 5726 años cal. aC.

[9] Calibrado a 2σ con el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13: 4339 – 3580 años cal. BP; 2390 – 1631 años cal. aC.

[10] Calibrado a 2σ con el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13: 3711 – 3460 años cal. BP; 1762 – 1511 años cal. aC.

que se asociaron a *Equus hydruntinus*. Estos restos eran una segunda falange, una diáfisis de fémur, un fragmento distal de radio y un tercer molar inferior (Morales, 1991). La antigüedad de los mismos fue uno de los argumentos que se esgrimieron para reforzar su adscripción taxonómica a favor de *Equus hydruntinus*, y de eliminar la posibilidad de que fueran restos de *Equus asinus*. Atendiendo a que en el momento de su estudio, los restos de *Equus asinus* ibéricos más antiguos estaban cronológicamente asociados a comienzos del primer milenio aC., las fechas obtenidas por las dataciones de la Morra del Quintanar hacían improbable que los restos recuperados de ese pequeño équido fueran de *Equus asinus* (Morales, 1991). El recurso de utilizar el periodo cultural o una referencia geográfica para realizar la determinación taxonómica definitiva ya se ha empleado en otras ocasiones, y demuestra la dificultad de establecer a partir del análisis morfológico una clasificación congruente de las especies de équidos (Geigl y Grange, 2012). Por otro lado, un reciente análisis genético sobre el tercer molar inferior asociado a *Equus hydruntinus* ha recuperado ADN de caballo, tanto en la mitocondria como en el cromosoma Y (Bennett *et al*., 2017).

Recientemente se ha publicado un estudio sobre los équidos de los niveles Neolíticos y de la Edad del Bronce del yacimiento de El Mirador (sierra de Atapuerca, Burgos), donde se han descrito dos restos asociados a *Equus hydruntinus* (Martín *et al*., 2014). Se trata de dos restos dentales de diferentes cronologías. El resto más antiguo es un M2 superior izquierdo (MIR11-Q21-171), que está asociado al nivel Neolítico MIR 11, y datado entre el 4330 – 4040 años cal. aC. El otro resto (MIR4-P20-251) es un M1/M2 superior izquierdo, que se recuperó en el nivel MIR 4 asociado a la Edad del Bronce, y datado entre 1760 – 1190 años cal. aC (Martín *et al*., 2014).

En algunas investigaciones la separación taxonómica entre *Equus hydruntinus* y *Equus asinus* se ha realizado atendiendo a la cronología de los restos faunísticos. *Equus asinus* es un taxón de origen africano, cuya introducción en la península ibérica se había vinculado hasta hace poco con los fenicios a comienzos del I milenio aC. (Uerpmann y Uerpmann, 1973; Altuna, 1980; Altuna y Mariezkurrena, 1986). Atendiendo a esta propuesta, todos los restos ibéricos de cronologías anteriores al I milenio aC. que no presentaran caracteres diagnósticos de caballo, podían considerarse como pertenecientes a *Equus hydruntinus*.

Sin embargo, un nuevo estudio ha demostrado que este planteamiento no es el adecuado. Recientemente se ha publicado un genoma mitocondrial casi completo de un asinino ibérico con una cronología aproximadamente 1500 años anterior a la propuesta para la llegada del asno doméstico a la península ibérica. La muestra analizada corresponde a un M3

inferior izquierdo, recuperada en niveles Calcolíticos del poblado fortificado de Leceia, en Portugal (Cardoso *et al.*, 2013). Las dataciones de radiocarbono de la muestra arrojaron unas fechas de 3790 ± 40 BP[11], contemporáneas con la Tercera Fase Cultural de Leceia, y por tanto con las últimas ocupaciones calcolíticas del poblado fortificado (Cardoso *et al.*, 2013). Además, el análisis morfológico atribuyó este resto faunístico a un asinino, presentando una serie de rasgos diagnósticos que lo diferenciaban de *Equus hydruntinus.*

Igualmente, el análisis genético apoyaba el resultado morfológico. La mitocondria recuperada podría corresponder con un asno salvaje o con un asno doméstico. Aunque lo más probable es que se trate del resto de un individuo doméstico, estrictamente hablando, el genoma mitocondrial recuperado podría corresponder con el de un asno salvaje nubio (*Equus africanus africanus*), o el de uno de los primeros descendientes de los asnos domésticos (*Equus asinus*), debido a la similitud de las regiones mitocondriales estudiadas en ambos taxones (Cardoso *et al.*, 2013).

Por otro lado, este nuevo hallazgo arroja dudas sobre la determinación taxonómica como *Equus hydruntinus* de algunos restos ibéricos holocenos, sobre todo aquellos de época Calcolítica y de la Edad del Bronce. De este modo, hasta que no se lleven a cabo estudios biométricos más exhaustivos de algunos de los restos anteriormente comentados así como análisis genéticos de los mismos, no se podrán obtener resultados concluyentes.

A lo anteriormente comentado, es necesario añadir los resultados recientemente obtenidos para las diferentes cronologías de extinción de las subpoblaciones holocenas europeas de *Equus hydruntinus* (Crees y Turvey, 2014). Estos resultados han arrojado una fecha global para la extinción de esta especie ~ 580 años aC (95%CI: 963 aC – 635 AD). Cuando el análisis se acotó a la población del Danubio, por ser la que presentaba más registros, la estimación de la fecha de extinción obtenida fue 2708 años aC (95%CI: 2986 - 1780 aC). Estos resultados por tanto, marcan la extinción de *Equus hydruntinus* como tarde, en el segundo milenio aC. (Crees y Turvey, 2014), descartando de este modo la posibilidad de que *Equus hydruntinus* sobreviviera en la península ibérica durante la Edad Media. Este tema se tratará con más detalle en los siguientes apartados relacionados con el cebro ibérico.

[11] Calibrado a 2σ con el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13: 4350 – 3995 años cal. BP; 2401 – 2046 años cal. aC.

5.5. La relación entre *Equus hydruntinus* y el cebro ibérico

5.5.1. Introducción al caso del cebro ibérico

Durante la Edad Media, en la península ibérica se cazó un tipo de équido considerado un animal extraño y olvidado (Terrón, 1983). Según el territorio peninsular donde se hiciera referencia a este équido, su denominación podía variar. Se han documentado las siguientes formas que hacen referencia a este animal: *zevro, zevra, zebro, zebra, ezevra, ezebra, azebra, enzebro, enzebra, ecebra, encebro, encebra, atzebra* y *ezebro* (Castro, 1928; Fernández Galiano, 1957).

En territorios de la Corona de Portugal se lo conocía con el nombre de *zebro*, *zevro/a* y *ezevra*; en los dominios de la Corona de Castilla se le denominó *zevra*, *zebro/a*, *ezebro/a*, *azebra*, *ecebra*, *encebro/a* o *enzebro/a* entre otras, mientras que en tierras catalanas de la Corona de Aragón, a este équido se le llamó *atzebro* en singular y *atzebres* en plural (da Silveira, 1948; Fernández Galiano, 1957; Antunes, 2006).

Siguiendo las opiniones de varios autores, y considerando al cebro como una especie equina diferente al caballo, al asno y a sus híbridos (Terrón, 1983), hay un marcado contraste entre su presencia en diferentes documentos medievales y la ausencia de restos de cebro. Dicha ausencia, no ha permitido hasta la fecha estudiar con fiabilidad ni las características osteológicas, ni los posibles restos de tejidos blandos de un cebro que, como comentaremos más adelante fueron utilizados para diversos fines.

La información sobre este équido proviene de cuatro vías diferentes. Por un lado, las referencias toponímicas alusivas al cebro, que han demostrado ser abundantes en todo el territorio peninsular (Terrón, 1983; Antunes, 2006). Por otro lado, las Cartas Forales establecidas para la administración de las villas (Fernández Galiano, 1957; Terrón, 1983; Nores y Liesau, 1992; Antunes, 2006), donde se regulaba la caza y comercio de este animal. El motivo de su caza eran principalmente la explotación con fines gastronómicos y, el uso de su piel para la elaboración de calzado y para la protección de los escudos de armas (Fernández Galiano, 1957; Terrón, 1983; Nores y Liesau, 1992; Antunes, 2006). Otra vía de documentación la constituyen diversos textos medievales donde se describen sus avistamientos, tratados de

caza, o tratados donde se aconseja su consumo cárnico con fines terapéuticos, entre otros documentos (Asín, 1925; Pascual, 2012). Por último, una cuarta fuente de información sobre la existencia de este animal en tierras ibéricas reside en la evidencia indirecta relacionada con el nombre que usaron los misioneros portugueses que, a finales del siglo XV, empezaron a describir en las áreas del Congo y Angola a unos équidos africanos que presentaban listas transversales en su cuerpo. El nombre utilizado para definirlos fue el de *cebra*, debido a su similitud con los cebros ibéricos y a sus semejanzas en velocidad, fuerza o temperamento (da Silveira, 1948; Terrón, 1983; Antunes, 2006).

5.5.2. La etimología del vocablo *cebro*

El origen de la palabra cebro se ha estudiado desde diferentes perspectivas. Entre otras, a partir de la forma *enxebrar* y del postverbal *enxebre* (asociado a la idea de puro, virgen o salvaje). De ese modo, se ha sugerido una asociación de asno *xebre* o *enxebre* con "asno salvaje", lo que habría permitido posteriormente la sustantivación de *xebre* en el vocablo *zebro* (Agero, 1947; del Pan, 1948)**.** Además, también se propuso el vocablo *zebro* como una derivación de verbos con significación acústica o fonética, dándole un significado de "zumbador" o "zumbón" refiriéndose al rebuzno del animal (Agero, 1947; del Pan, 1948). Por otro lado, el vocablo *zevro* se ha vinculado con el vocablo *cervo,* aplicándose por tanto a algún tipo de cérvido (Nunes, 1921-1922).

Pero el estudio etimológico de la forma romance de la palabra *cebro* que se considera más sólido, fue el llevado a cabo con detalle por da Silveira (1948). En su trabajo, J. da Silveira determinó la procedencia de la palabra *cebro* a partir del latín *equiferus*, denominación que se encuentra en el libro XXVIII de la *Historia Natural* de Plinio el Viejo (23 – 79 AD), y que fue usada posteriormente por varios escritores medievales (da Silveira, 1948). En el libro XXVIII, Plinio menciona hasta 42 remedios conseguidos a partir del caballo, y presenta solo una referencia explícita a un remedio procedente del caballo salvaje (Pascual, 2012):

> "Los dolores del hígado mejoran con hígado seco de lobo en vino con miel, hígado seco de burro con dos partes de perejil, machacado con tres nueces en miel y tomado como alimento, y sangre de macho cabrío preparada como comida. Para los asmáticos lo más eficaz es beber sangre de caballo salvaje, después leche de burra templada, …" (Plinio, *Historia Natural*, XXVIII, 197).

Hemos analizado esta misma referencia en la reproducción de una versión de 1481 escrita en latín, donde puede leerse "*Suspiriosis ante omnia efficax est potus* ***equiferorum sanguis***" (Figura 5.1):

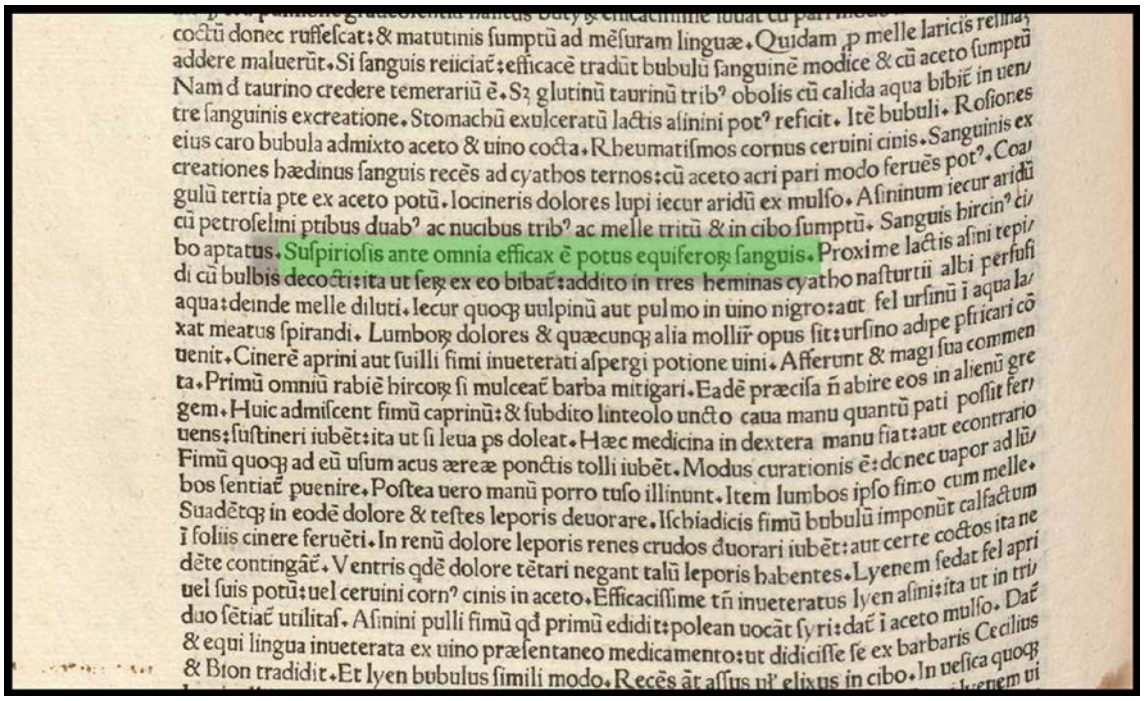


Figura 5.1. ***Alusión al*** **equiferus** ***en el libro XXVIII de la Historia Natural de Plinio***. Edición facsímile de Bayerische Staatsbibliothek, Munich (http://istc.bl.uk/search/record.html?istc=ip00793000).

Se ha considerado que a partir de la locución "equiferus" surgiría "eciferus", forma de latín vulgar utilizado por los escritores clásicos. Y a partir de "eciferus" se habrían originado posteriormente los vocablos *zevro* y *zebro*. Estos vocablos se habrían originado principalmente por ensordecimiento de *c(i) – c(e)* intervocálico en *z*, y por la sustitución de la *f* por *v,* y posteriormente por *b* (da Silveira, 1948).

Se ha propuesto que los vocablos más primitivos son *ezebro*/*a, ecebro*/*a*, o *azebro*, mientras que el resto de nombres derivarían de estas formas arcaicas (Fernández Galiano, 1957).

5.5.3. La identificación del cebro

5.5.3.1. La identificación del cebro con el onagro

Los documentos medievales que describen a este équido hacen mención al vocablo latino *onager* y a su posterior traducción por la palabra *zebro* y sus variantes (Nores y Liesau,

1992). El término *onager* es el utilizado desde la antigüedad clásica para hacer referencia al asno salvaje asiático *Equus hemionus* (Nores y Liesau, 1992; Vilstrup *et al*., 2013). La palabra *onagro* es una transcripción castellanizada del *onager* latino (Fernández Galiano, 1957).

Los primeros estudios lingüísticos relativos al vocablo *zebra*, y destinados a esclarecer este problema semántico, se llevaron a cabo a mediados del siglo XVIII por el fraile benedictino M. Sarmiento. En relación a la etimología del vocablo *zebra* utilizado para designar al animal africano, el padre Sarmiento fue el primero en relacionar el vocablo *onager* con el vocablo *zebra* y, además, según su criterio propuso un origen castellano para dicho vocablo. Sarmiento sugirió también que el vocablo *zebra* hacía referencia a un animal que, aunque ya extinto en territorio peninsular, en otro tiempo había sido el origen de algunas referencias toponímicas, y que además fue objeto de caza y de cría, se consumió con fines gastronómicos y su piel fue utilizada para diversas tareas (Sarmiento, 1999).

Ya en el siglo XX, la identificación del cebro con el onagro también fue detallada por Meréa (1925) cotejando un fuero latino del siglo XII con una traducción romanceada posterior. A partir de este hallazgo, posteriores investigaciones sobre textos medievales reforzaron esta idea. Se ha comprobado que esta asociación ya fue realizada en época medieval por el arzobispo Rodrigo Jiménez de Rada (1170/80-1247) en su crónica *De rebus Hispaniae* Libro V (primera mitad del siglo XIII), e incluso por el rey Alfonso X el Sabio (1221-1284) en su obra historiográfica *General estoria* (escrita a partir de 1270). En relación a este tema, Alfonso X destacó su filiación zoológica realizando la siguiente definición: "…Onager dezimos nos que es en la nuestra lengua por asno montés o por enzebro…" (Biblioteca Nacional, manuscrito 816, folio 60 v; en Castro, 1928).

Esta asociación del cebro con el onagro fue corriente durante la Edad Media en territorio peninsular debido a la abundancia de este animal y a la documentación existente sobre su caza. Pero, debido a la disminución de las referencias hacia el cebro en los documentos medievales durante la Baja Edad Media, a partir del siglo XVI el cebro ibérico dejó de ser un animal conocido. Además, su identificación se perdió rápidamente, hasta tal punto que los lexicógrafos del siglo XVII desconocían el significado de la palabra *cebro*. Este desconocimiento llegó a provocar inversiones lingüísticas, ya que en ocasiones se consideró erróneamente el origen del vocablo *cebro* en la palabra cebra, nombre asignado a los équidos africanos (Nores y Liesau, 1992).

Además, se ha sugerido que la asociación del cebro con el onagro en los documentos medievales se debe a que, en la época, el onagro era muy conocido como asno salvaje debido a la labor de los comentaristas bíblicos. Por lo tanto, y por extrapolación, al considerar al cebro como un équido salvaje, se le aplicó la definición de asno salvaje u onagro (Pascual, 2012).

Por último, aunque recientemente se ha sugerido la posibilidad de que los árabes introdujeran onagros en la península ibérica, no hay documentos ni registro zooarqueológico que confirme esta introducción (Nores *et al*., 2015).

5.5.3.2. La identificación del cebro con caballos salvajes

Disponemos de cuatro testimonios de autores clásicos sobre los caballos salvajes de Hispania: Varrón, Horacio, Estrabón y Plinio el Viejo (Pascual, 2008). Marco Terencio Varrón (116 – 27 aC.) en el Libro II de su obra *De re rustica* (II, 1, 5) hace una mención sobre los caballos salvajes de la provincia *Citerior* (Pascual, 2008). Por su parte, Horacio (65 – 8 aC.) hace una referencia al caballo salvaje en su sátira del Libro I de los *Sermones* (I, 5, 56-57). Estrabón (63 aC. – 19 AD) en el Libro III de su *Geografía* (III, 4, 15) menciona a la península ibérica como una región que produce caballos salvajes. Varrón y Horacio se refieren a estos animales con el sintagma *equus ferus*, mientras que Estrabón procede de manera análoga, pero con el adjetivo y el sustantivo en griego (Pascual, 2008).

Plinio (23 – 79 AD.) hace mención también a los caballos salvajes como *equus ferus* en el Libro VIII de su obra *Historia Natural* (VIII, 16, 39), aunque no se refiere a los caballos de Hispania, sino a poblaciones del norte, sugiriéndose que podía referirse a cualquier región septentrional del imperio (Pascual, 2008). Pero, además, en el Libro XXVIII de la misma obra, en una nueva referencia al caballo salvaje, Plinio no utiliza el sintagma *equus ferus* sino que, en esta ocasión, denomina al caballo salvaje como *equiferus* (XXVIII, 197), como se ha comentando anteriormente.

En esta referencia, Plinio hace mención al uso de la sangre del caballo salvaje como remedio para los asmáticos. Se ha sugerido que Plinio pudo tener conocimiento de esta práctica en Germania hacia el año 46 AD. o en Hispania hacia el 73 AD., regiones donde había poblaciones de caballos salvajes y donde los pueblos de esas zonas tenían la costumbre de beber sangre de caballo (Pascual, 2012).

Posteriormente, el término *equiferus* se mantuvo en la zona de la península ibérica, mientras que en otras partes de la Europa medieval, esta denominación fue sustituida por otras como *agrestis caballus* o *equus silvaticus,* sugiriéndose que con estos nombres se haría mención a un tipo de *equiferus* (Pascual, 2008).

Se ha considerado que Plinio usó el término *equiferus* para diferenciar conscientemente a los caballos salvajes, o a un tipo de caballo salvaje, de los caballos domésticos asilvestrados (Pascual, 2008).

De este modo, *equiferus* y *equus ferus* harían referencia a caballos salvajes, y se ha sugerido como posibles candidatos a *equiferus* ibéricos a las poblaciones de caballos que originarían la raza Sorraia, que está considerada como raza arcaica, con un origen antiguo y conservada en su estado original (ver apartado 2.6 *El censo caballar en la actualidad*). Esta asociación se fundamenta en la similitud del color gris ratón de la capa de esta raza de caballos con las descripciones del *equiferus* facilitadas en el siglo VII por Isidoro de Sevilla (560 – 636 AD.) en el Libro XII de su obra *Etymologiarum sive originum* (XII, 1, 54) (Pascual, 2008):

> *Dosinus autem dictus, quod sit color eius de asino: idem et cinereus. Sunt autem hi de agresti genere orti, quos equiferos dicimus, et proinde ad urbanam dignitatem transire non possunt.*
>
> "Es llamado dósino porque su color es de asno, y el mismo ceniciento. Estos son oriundos de una raza silvestre, a los cuales llamamos **cebros**, y por tanto no pueden pasar a la clase urbana."

Además, el caballo de Sorraia suele presentar cebraduras en las patas y en el tronco, y una franja de color oscuro que recorre su espalda denominada como *raya de mulo*, características adicionales por las que se ha asociado a este caballo con el cebro (Pascual, 2008). Sin embargo, recordamos que estas descripciones no son diagnósticas, ya que pueden aparecer en varias especies de équidos salvajes (hemiones, asnos, cebras, caballos de Przewalski), así como en ejemplares de razas domésticas de caballos y asnos (Nores *et al*., 2015).

Además, la posibilidad de que el cebro salvaje se acabara convirtiendo con el tiempo en la raza doméstica Sorraia, está asociada a la idea de la península ibérica como centro de domesticación independiente del caballo (Nores *et al*., 2015; Uerpmann, 1990).

5.5.3.3. La identificación del cebro con équidos asilvestrados

En el apartado anterior se ha comentado que Plinio usó el término *equiferus* para diferenciar conscientemente a los caballos salvajes, o a un tipo de caballo salvaje, de los caballos domésticos asilvestrados (Pascual, 2008). Frente a esta postura, se ha sugerido que este término no hiciera referencia a un animal salvaje en sentido biológico y cultural, sino a un équido asilvestrado de apariencia muy distinta a un équido doméstico (Nores *et al*., 2015). Entre los posibles candidatos se encuentran caballos y asnos asilvestrados, y se ha propuesto como mejor candidato a los caballos asilvestrados, debido a razones etológicas y de prácticas de cría (Nores *et al*., 2015).

Frente a esta propuesta del cebro como un caballo asilvestrado, también se ha sugerido que pudiesen estar relacionados con *equiferus*, con coloraciones de capas diferentes, los antepasados del caballo Marismeño y los del caballo de Las Retuertas (Pascual, 2008).

5.5.3.4. La identificación del cebro con Equus hydruntinus

Su asociación con la especie *Equus hydruntinus* ha sido sugerida por diversos autores (Driesch, 1972; Uerpmann, 1976; Morales, 1991; Nores y Liesau, 1992) a partir de los restos presumiblemente atribuidos a *Equus hydruntinus* que se han registrado en algunos yacimientos ibéricos de cronologías holocenas. Como se ha comentado en el apartado 5.4 *La extinción de* Equus hydruntinus *en la península ibérica*, la presencia de este taxón en Europa durante el Holoceno es residual, y su presencia en la península ibérica confirmaría el importante papel que supuso la Península como refugio ecológico para este taxón.

La caracterización de *Equus hydruntinus* en el Holoceno ibérico ha demostrado ser complicada. A la extrema escasez de restos, hay que añadir la problemática de las incorrectas adscripciones taxonómicas. De hecho, análisis posteriores sobre restos que previamente se asociaron a *Equus hydruntinus*, han demostrado que esta adscripción no está tan clara (Driesch, 2000), llegando a sugerirse incluso que los restos están mal datados (Spassov y Iliev, 2002).

Se ha comentado anteriormente cómo esta sospecha se confirmó sobre la falange anterior F938 recuperada en el poblado del Cerro de la Virgen (Huéscar, Granada), e inicialmente adscrita al Calcolítico. El posterior análisis radiométrico que se efectuó sobre la

falange arrojó una fecha de 1170 ± 20 BP[12], cronología asociada a la Alta Edad Media. Aunque se descartó a la falange F938 del Cerro de la Virgen como perteneciente a *Equus hydruntinus* atendiendo a su cronología medieval (Driesch, 2000), esta cronología todavía es compatible con las referencias medievales de cebros salvajes en al-Ándalus.

Además, Spassov y Iliev (2002) han llegado a sugerir que *Equus hydruntinus* probablemente no sobrevivió más allá de principios del Holoceno en el occidente europeo. Asimismo, otros autores han sugerido que la relación entre *Equus hydruntinus* y el cebro ha sido siempre inexistente, y se ha propuesto que los cebros hubieran sido, en realidad, asnos domésticos (*Equus asinus*) que se hubieran asilvestrado en reiteradas ocasiones a lo largo del Holoceno (C. Liesau, comunicación personal en Cardoso *et al*., 2013), u otro tipo de équido (onagros, caballos salvajes o caballos asilvestrados) como se acaba de describir (Nores *et al*., 2015).

A lo anteriormente comentado, es necesario destacar el estudio de Crees y Turvey (2014), donde se ha puesto en duda la asociación de *Equus hydruntinus* con el cebro ibérico. El análisis de las cronologías de extinción de *Equus hydruntinus* arrojó una fecha de extinción global ~580 aC (95%CI: 963 aC – 635 AD), no sustentando la hipótesis de la presencia de *Equus hydruntinus* durante la Edad Media en la península Ibérica (Crees y Turvey, 2014).

5.5.4. Topónimos y área de distribución del cebro en la península ibérica

El padre Sarmiento fue el primero en asociar referencias toponímicas al vocablo cebro (Sarmiento, 1999). Continuación de este análisis fue el realizado por otros autores como J. da Silveira en 1948, donde concluyó que la mayoría de los topónimos se encontraban en Galicia y Portugal (da Silveira, 1948). Posteriores trabajos han ido ampliando la lista de referencias toponímicas en la península ibérica, superando el centenar (Fernández Galiano, 1957; Terrón, 1983; Antunes, 2006).

Para Portugal, se han diferenciado hasta 81 topónimos locales relacionados con el vocablo *zebro*. Estos topónimos hacen referencia, sobre todo, a regiones, montes, villas o ríos (Antunes, 2006). Muchos topónimos asociados al cebro se han localizado en los distritos portugueses de Viana do Castelo, Braga, Vila Real, Porto, Guarda, Castelo Branco, Leiria, Santarem, Porto Alegre, Lisboa, Setúbal, Évora, Beja y Faro (Nores y Liesau, 1992). Alguno de

[12] Calibrado a 2σ con el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13: 774 – 943 AD.

estos topónimos son, por ejemplo: Monte de Zebro (Alto Alentejo), Zebro (Algarve), Vale do Zebro (Baixo Alentejo), Zebreiros y Terra de Ezebrario (Beira Litoral), Vale do Zebras (Estremadura), Costa de Zebreiro (Minho) o Zebras (Tras-os Montes), entre otros [para una lista toponímica más detallada, consultar da Silveira (1948); Fernández Galiano (1957); Terrón (1983); Antunes (2006)].

La cantidad de topónimos reconocidos en territorio portugués es superior a la cantidad identificada en territorio español. Con al menos 50 topónimos en tierras españolas, estas alusiones al cebro se han identificado en Albacete, Alicante, Ávila, Badajoz, Barcelona, Burgos, Cáceres, La Coruña, Cuenca, Ciudad Real, Guadalajara, Granada, Huelva, Jaén, León, Lugo, Murcia, Orense, Oviedo, Pontevedra, Salamanca, Segovia, Sevilla, Teruel, Toledo, Zamora y Zaragoza (Terrón, 1983). Alguno de estos topónimos son, por ejemplo: Encebros (Albacete), Cebreros (Ávila), Vallcebre (Barcelona); Cebrecos (Burgos), Camino de las Enzebras (Ciudad Real), Encebra, (Granada), Las Encebras (Murcia), Cebreiros (Orense), Valdecebro (Teruel) o Puerto de las Enzebras (Toledo) [para una lista toponímica más detallada, consultar da Silveira (1948); Fernández Galiano (1957); Terrón (1983)].

Además, ha sido posible inferir el área de distribución del cebro. Este trabajo se ha llevado a cabo a partir de los topónimos y de documentos que constatan su presencia, y su posterior ausencia cuando la información de algunos documentos se compara con otros más antiguos (Fernández Galiano, 1957; Nores y Liesau, 1992; Antunes, 2006). Un análisis de su distribución durante la Edad Media lo encontramos en Nores y Liesau (1992). Utilizando localidades con referencias toponímicas derivadas de enzebro-ezebro y azebro-zebro, topónimos originados a partir del siglo IX y documentados desde el siglo XI, se observa una concentración de topónimos sobre todo en la zona del occidente peninsular, desde Galicia al Algarve. También se encuentran topónimos alusivos a este animal en la zona occidental meridional de Castilla la Vieja hasta Teruel, así como en Extremadura, en Castilla-La Mancha, y en Andalucía y Murcia (Nores y Liesau, 1992) (Figura 5.2).

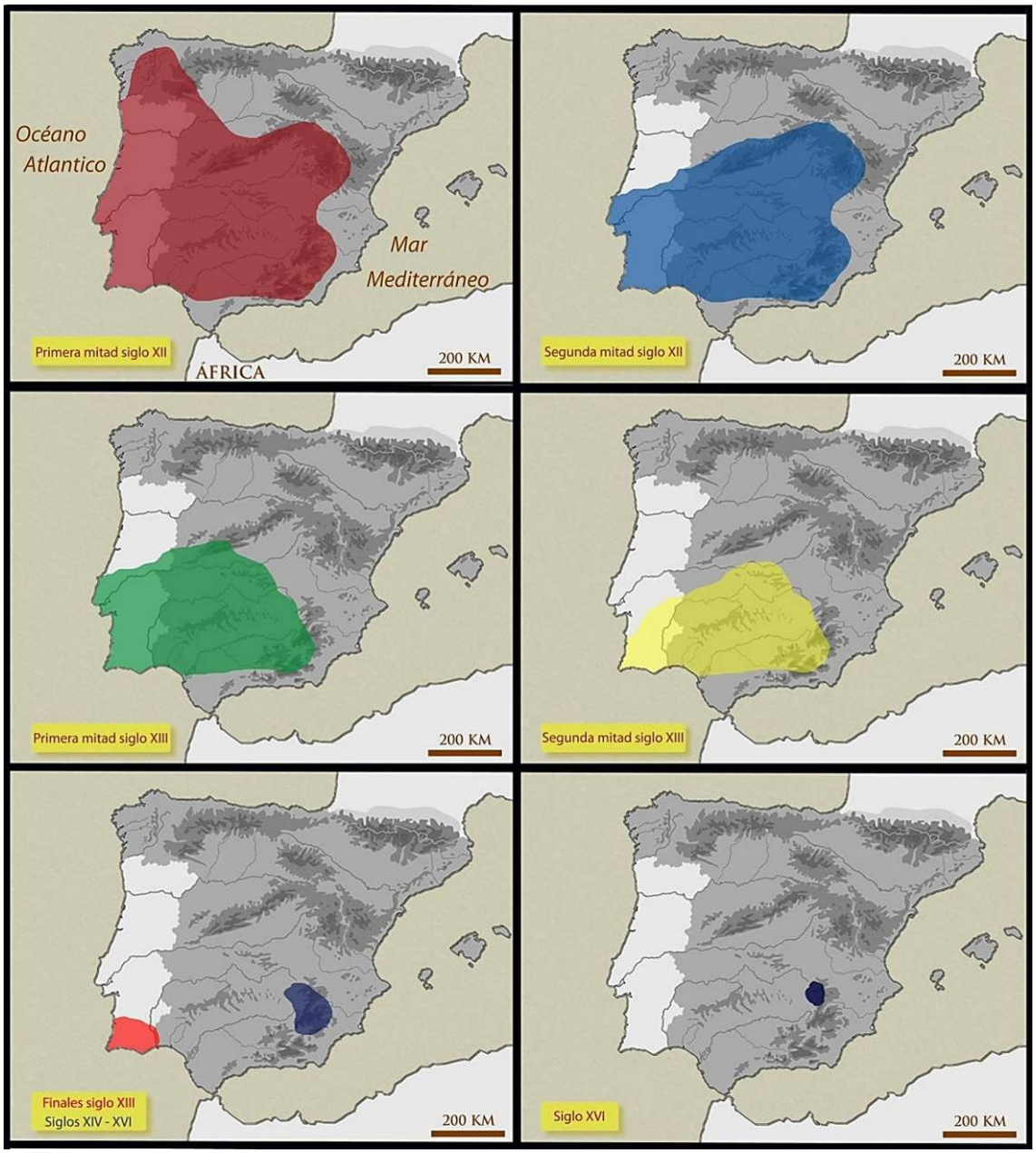


Figura 5.2. ***Distribución del cebro ibérico***. Mapa con la representación de la distribución del cebro ibérico a partir de la relación de las referencias toponímicas, donde se aprecia la reducción progresiva del área de distribución del animal. Modificado a partir de Nores y Liesau (1992) y Antunes (2006)**.**

Por otro lado, también se ha propuesto que muchos topónimos portugueses harían alusión al cebro, pero a partir de la palabra persa *khar,* palabra utilizada para denominar al asno (Antunes, 2006). A partir de la asociación del cebro con un onagro, se ha sugerido que durante la Edad Media, los habitantes de diferentes territorios portugueses con ascendencia de las actuales Siria o Persia, habrían denominado a los cebros con el mismo nombre utilizado en sus tierras de origen, *khar* o *cayr*. Se ha sugerido que, añadiendo a este término el artículo árabe *al-*, así como la finalización *ya-t'a marbuta* muy común en los topónimos, la palabra

resultante sería *al-Khariya*. Esta palabra se ha relacionado con las palabras "Alcaria" o "Caria", comunes en los topónimos portugueses (Antunes, 2006).

No obstante, esta sugerencia contrasta con la interpretación que propone al término *Qariya* (aldea, o pequeño asentamiento posiblemente temporal), como origen para los topónimos "Alcaria" o "Caria" (Antunes, 2006). Pero para reforzar la sugerencia de "Alcaria" o "Caria" como topónimos referidos al cebro, se ha argumentado que estos topónimos son muy comunes en el Algarve, y más concretamente, en regiones del interior con condiciones ambientales desfavorables y con escasez de agua. Además, estas regiones estuvieron prácticamente despobladas, en parte debido a las tensiones sociopolíticas ocurridas en la zona entre cristianos y musulmanes durante el siglo XIII (Antunes, 2006).

En territorio español también hay un topónimo muy parecido a los comentados anteriormente. El topónimo *Alcarria* hace mención a una zona localizada en el interior peninsular, y que se extiende por parte de la Comunidad de Madrid y de Castilla-La Mancha. El Diccionario de la Real Academia Española describe la entrada *alcarria* como un terreno alto, generalmente raso, y con poca hierba. La etimología de este vocablo todavía no tiene un consenso establecido (Aguiló, 1983). Se ha propuesto un origen vasco con el significado de "unidos o junto", un origen céltico con significado de "pedregoso" y también un origen árabe (Aguiló, 1983; Ranz, 1991). Dentro de la hipótesis del origen árabe, se barajan varios significados: que haga referencia a zonas altas o a la presencia de aldeas (Ranz, 1991). En este último caso, derivaría de la misma raíz que *alquería* (Aguiló, 1983). La palabra *alcarria* aparece por primera vez en un documento fechado en 1139 (Ranz, 1991). Durante esta época la zona de La Alcarria estuvo ubicada dentro del área de distribución del cebro (Figura 5.2). Frente a las opciones comentadas sobre el origen de la palabra *alcarria*, no se nos escapa su posible vinculación con el topónimo *al-Khariya*, y su asociación con el cebro ibérico. No obstante, esta es una hipótesis que se debe contrastar.

La paulatina reducción del área de distribución del cebro durante la Edad Media se ha asociado principalmente a causas antrópicas (Nores *et al*., 2015). Por un lado, se ha destacado que en las costumbres del Islam, numerosos hadices prohíben manifiestamente las actividades cinegéticas de caza mayor, y en general la caza de animales salvajes para usos diferentes de los alimenticios (Foltz, 2006). Como regla general, las leyes islámicas sugieren que a los animales salvajes se les debe dejar vivir sin molestar, siempre y cuando no supongan una amenaza para los grupos humanos (Foltz, 2006). Se ha sugerido que esta costumbre pudo tener un papel trascendental en la persistencia del cebro en territorio musulmán durante la Alta Edad Media

(Nores *et al*., 2015). No obstante, es necesario señalar que esta prohibición de cazar animales salvajes ha sido a menudo ignorada en las sociedades musulmanas, sobre todo entre las élites dominantes (Foltz, 2006).

Por otro lado, se ha destacado que la modificación del área de distribución del cebro coincide con la expansión de los reinos cristianos sobre suelo ibérico durante la Edad Media (Nores, *et al*., 2015). La posible consideración del cebro en los nuevos territorios cristianos como un animal dañino para las cosechas agrícolas, pudo desencadenar una sistemática actividad de caza sobre estos ejemplares (Valdelvira, 1996; Nores *et al*., 2015).

Respecto a la dinámica de su área de distribución durante la Edad Media en base a las referencias toponímicas, también se han destacado los cambios de hábitat por los que ha pasado el cebro, factor asociado al avance de los reinos cristianos (Nores *et al*., 2015). Mientras que en las referencias más antiguas, este animal aparece asociado a zonas boscosas con clima oceánico, a partir del siglo XIV los topónimos van a ser más frecuentes en áreas con una mayor aridez y un clima más frío y continental.

5.5.5. Referencias medievales del cebro ibérico

Son varios los textos que hacen mención a la presencia de cebros en territorio peninsular durante la Edad Media. Entre los escritores árabes que estudiaron la geografía de la península ibérica, podemos destacar la descripción de al-Ándalus realizada por el geógrafo Abulfeda (1273 - 1331), tomando como base bastante información de los trabajos de Abensaid (hacia 1214 – 1274 ó 1286/1287). De hecho, Abulfeda en su tratado de geografía titulado *Tacuim alboldan* o *Cuadro de la Regiones*, comenta la presencia en al-Ándalus de onagros (Alemany, 1921).

Por su parte, el místico musulmán Mohidín Ibn Al-Alrabi, nacido en Murcia a mediados del siglo XII, también hizo mención a la presencia de cebros en al-Ándalus. En su obra *Fotuhat*, escribió un pasaje sobre un avistamiento de cebros entre Carmona y Palma (resaltado en el texto):

> "En la época de mi disipación, iba yo de viaje cierto día en compañía de mi padre, entre Carmona y Palma, cuando topamos con un rebaño de **onagros o asnos salvajes** que estaban paciendo. Era yo entonces muy apasionado de su caza; y los criados habían quedado atrás, muy lejos de nosotros. Reflexioné un instante y

formé en mi corazón el decidido propósito de no hacer daño ni a uno tan solo de esos animales; pero así que el caballo alazán que yo montaba los vio, y se lanzó hacia ellos relinchando de gozo; lo refrené con violencia para detenerlo, hasta que llegué a donde los **asnos salvajes** pacían, y entonces, a pesar de que en la mano llevaba mi lanza y de que el caballo se metió entre ellos, de modo que el hierro de mi lanza pasaba rozando en las gibas de los **onagros**, todos ellos siguieron paciendo tranquilos, sin que uno solo levantase la cabeza, hasta que acabé de atravesar el rebaño. Alcanzáronme entonces mis criados, y solo entonces, es decir, delante de ellos echaron a correr los **onagros** huyendo." (Fragmento de texto recogido en Asín, 1925)

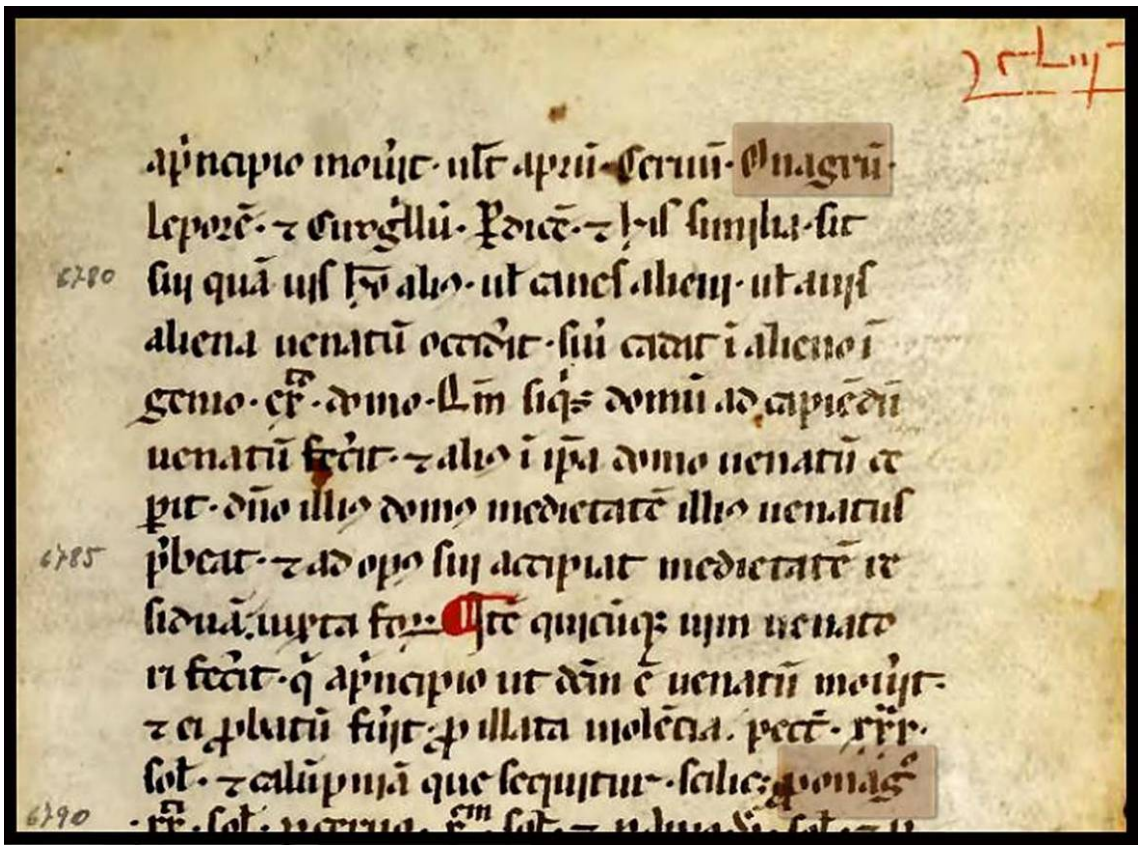


Figura 5.3. ***Referencias al onagro en los Fueros de Teruel, líneas 6778 y 6789.*** Folio CLIII del Códice de los Fueros concedidos a Teruel. Versión latina fechada en el siglo XIII, posiblemente hacia 1240 (Castañé, 1989) (página 311 del documento digitalizado). Líneas escritas en el margen izquierdo. Las referencias al onagro se encuentran localizadas en las líneas 6778 y 6789. Se resaltan las zonas del texto donde aparecen las referencias al onagro. Documento custodiado en el Archivo Histórico Provincial de Teruel. DARA-Documentos y Archivos de Aragón: (http://dara.aragon.es/opac/app/item/?i=257099yal=8yds=Fuero+de+Teruelyvm=nvypa=1yp=0yq=fueros+de+teruel).

La mayoría de las referencias medievales proceden de las Cartas Forales (da Silveira, 1948), conjunto de documentos que recogían las normas, los derechos y los privilegios de una localidad, y eran otorgadas por reyes, nobles y diáconos, o se formaban por iniciativa de los Concejos (Fernández Galiano, 1957; Antunes, 2006; Barrero, 1980). Su presencia se ha

constatado en los Fueros de Teruel, Cuenca, Albarracín, Alarcón, Sepúlveda, Salamanca, Plasencia, Alpreada, Coimbra o Évora, entre otros (da Silveira, 1948).

Entre las referencias castellanas más antiguas aludiendo al cebro, destacan las de los primeros fueros otorgados a las villas de Teruel y de Cuenca (Fernández Galiano, 1957; Terrón, 1983; Nores y Liesau, 1992). Las primeras versiones de estos documentos se escribieron en latín, y en ellos se menciona al onagro (Ledesma, 1989; Ríu, 1982). La primera redacción del Fuero de Teruel (*Forum Turolii*) se ha fechado en el año 1176 y fue concedido por Alfonso II de Aragón (Caruana, 1974; Castañé, 1989), mientras que el Fuero de Cuenca (*Forum Conche*) fue otorgado por Alfonso VIII de Castilla a finales de 1189 o principios de 1190 (Fernández Galiano, 1957; Caruana, 1974; Terrón, 1983). Las referencias que aparecen en estos documentos están relacionadas con su caza, y este animal aparece asociado junto a otras especies cinegéticas (Figura 5.3, Figura 5.4).

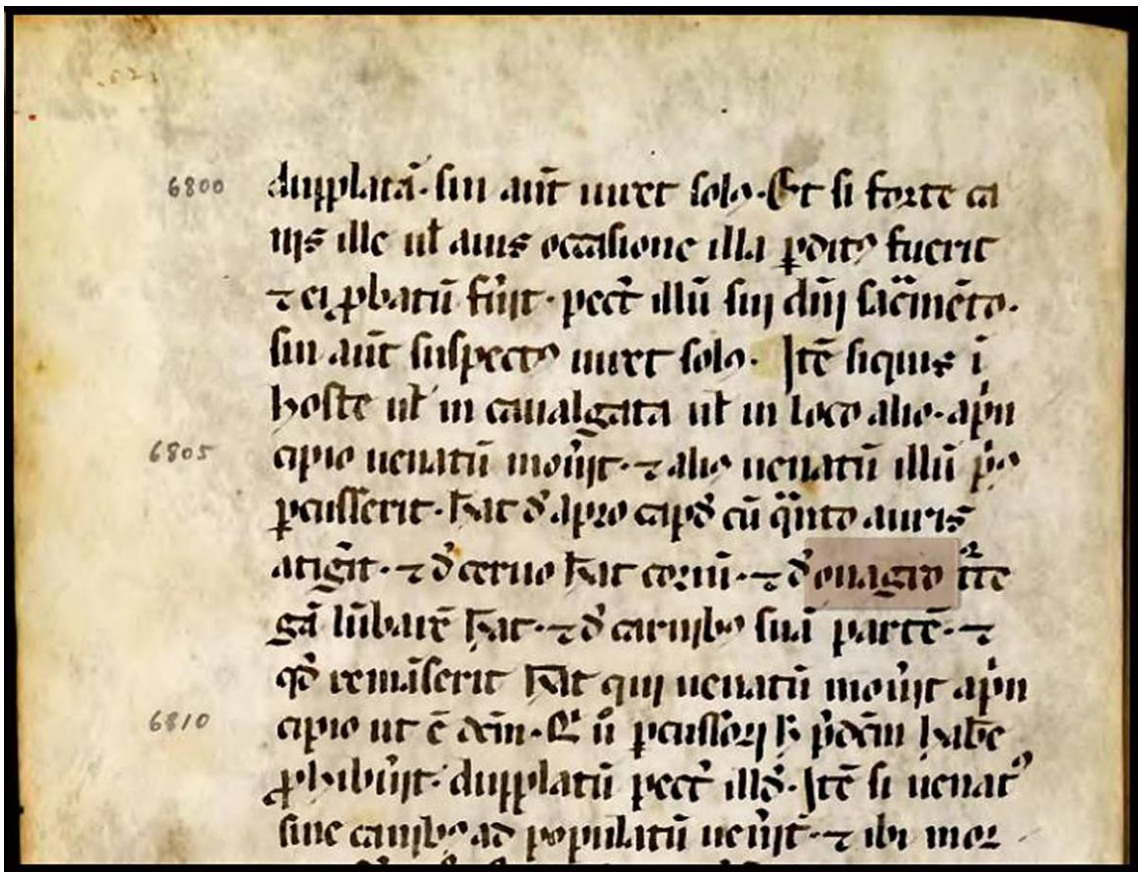


Figura 5.4. ***Referencias al onagro en los Fueros de Teruel, línea 6807.*** Folio CLIIIv del Códice de los Fueros concedidos a Teruel. Versión latina fechada en el siglo XIII, posiblemente hacia 1240 (Castañé, J., 1989) (página 312 del documento digitalizado). Líneas escritas en el margen izquierdo. Las referencias al onagro se encuentran localizadas en las líneas 6807. Se resaltan la zona del texto donde aparecen las referencias al onagro. Documento custodiado en el Archivo Histórico Provincial de Teruel. DARA-Documentos y Archivos de Aragón: (http://dara.aragon.es/opac/app/item/?i=257099yal=8yds=Fuero+de+Teruelyvm=nvypa=1yp=0yq=fueros+de+teruel).

Estos fueros sirvieron como base para la elaboración de los fueros de otras villas (Fernández Galiano, 1957; Caruana, 1974). A partir de ellos se elaboraron adaptaciones latinas, y posteriormente se hicieron también traducciones al romance, como es el caso del Fuero de Alcázar, Alarcón, Alcaraz, Baeza o Zorita de los Canes, entre otros (Fernández Galiano, 1957). Sin embargo, en las versiones de los fueros romanceados, las alusiones al cebro ya no son tan frecuentes, están ausentes, o se han sustituido por el nombre de otras especies cinegéticas. Este hecho se ha interpretado como una evidencia sobre la ausencia de este animal en el momento en el que esos nuevos fueros se otorgaron a sus villas respectivas (Fernández Galiano, 1957; Terrón, 1983). De hecho, esta situación habría ocurrido en el momento de la redacción de las versiones romanceadas de los *Fueros* de Teruel y Cuenca, aproximadamente 70 años después de sus versiones latinas (Fernández Galiano, 1957). Cuando se redactó la versión romanceada del Fuero de Teruel, es probable que el cebro ya no fuera un animal tan común dentro de las especies cinegéticas de la comarca (Figura 5.2). La razón por la cual se ha sugerido esta idea, se debe a la baja frecuencia de aparición de la palabra cebro o alguno de sus vocablos derivados en la versión romanceada del Fuero de Teruel. El término encebro aparece en ocasiones traduciendo el término *onagrum* del documento en latín *Forum Turolii*, pero en otras partes del Fuero de Teruel, la palabra *onagrum* no aparece traducida por encebro, sino que aparece sustituida por la de cabrón o cabrón montés (Figura 5.5). Además, no solo se sustituye un nombre por otro, sino que también se modifica el contexto en el que esa especie cinegética aparece mencionada (Figura 5.5). Se ha sugerido que estos cambios podrían responder a la adaptación de la Ley a las circunstancias del momento en el que el Fuero de Teruel fue escrito (Fernández Galiano, 1957).

A continuación, se presenta el texto del Fuero primitivo que se ha sugerido como base para la redacción del *Forum Turolii*, y la traducción del mismo realizada por Castañé (1989). La mención al onagro aparece resaltada en el texto. Siguiendo el método expositivo de Castañé (1989), se detalla en mayúsculas el epígrafe que en el texto en latín se considera como Título y comienza con una letra capital:

DE EO QUI VENATUM CUM CANIBUS SUIS A PRINCIPIO MOVERIT

[Línea 6776] *Mando preterea quod quicumque venatum cum canibus suis a principio moverit velut aprum, cervum,* ***onagrum,*** *leporem et cirogrillum, perdicem et his similia, sit*
[Línea 6780] *sui quamvis homo alius vel canes alieni vel avis aliena venatum occiderit, sive cadat in alieno ingenio, excepta domo. Quoniam si quis domum ad capiendum venatum fecerit, et alius in ipsa domo venatum ceperit, domino illius domus medietatem illius venatus*
[Línea 6785] *prebeat, et ad opus si accipiat medietatem residuam, iuxta forum. Item quincumque vim venatori fecerit, qui a principio, ut dictum est, venatum moverit et ei probaum fuerit, pro illata violencia pectet XXX^a^ solidos et calumpniam que sequitur, scilicet: pro* ***onagro***
[Línea 6790] *XX^ti^ solidos, pro cervo X^em^ solidos, et pro apro V^e^ solidos, et pro aliis minoribus venatibus sive aavibus reddat venatum dupplatum cum XXX^a^ solidos de calumpnia iam predicta. Sin autem, suspectus iuret solus et sit creditus, iuxta forum. Similiter quicumque canem*
[Línea 6795] *investigatorem vel avem alienam super predam occiderit vel linenciaverit, et ei probatum fuerit, pectet illam dupplatam sui domini sacramento. Sin autem, qui suspectus fuerit, iuret solus. Item si quis cani vel avi predam abstulerit et ei probatum fuerit, pectet X solidos et predam*
[Línea 6800] *dupplatam; sin autem, iuret solus. Et si forte canis ille vel avis occasione illa perditus fuerit et ei probatum fuerit, pectet illum sui domini sacramento; sin autem, suspectus iuret solus. Item si quis in hoste vel in cavalgata vel in loco alio a prin-*
[Línea 6805] *cipio venatum moverit, et alius venatum illum prius percusserit, habeat de apro capud cum quanto auris attigerit, et de cervo habeat corium, et de* ***onagro*** *turtegam lumbarem habeat, et de carnibus suam partem, et*

quod remanserit habeat qui venatum moverit a prin-

[Línea 6810] *cipio, ut est dictum.*

Traducción de Castañé (1989) realizada sobre el texto anterior:

DEL QUE LEVANTE UNA PIEZA DE CAZA CON SUS PERROS EN PRIMER LUGAR

Mando también que cualquiera que levante una pieza de caza con sus perros en primer lugar, como jabalí, ciervo, **cabra montés**, liebre, conejo, perdiz y otras semejantes a éstas, sea suya, aunque otra persona, perros ajenos o ave de caza ajena la mate o caiga en trampa ajena, con excepción de la casa. Puesto que si alguno construye una casa para coger piezas y otro coge una pieza en la misma casa, dé la mitad de aquélla al dueño de la casa y para sus necesidades reciba la mitad restante, según fuero. Asimismo, cualquiera que cause violencia al cazador que el primero, como se ha dicho, levante la caza y se le pruebe, por el acto de violencia realizado peche treinta sueldos y la pena pecunaria que sigue, a saber: veinte sueldos por **cabra montés**, diez sueldos por un ciervo, cinco sueldos por un jabalí, y por las otras piezas menores o aves restituya el doble de la pieza con la pena pecunaria ya mencionada de treinta sueldos; pero si no, el sospechoso jure solo y sea creído, según fuero. Además, cualquiera que mate un perro de caza o ave ajena, o les cause daño con motivo de la presa y se le prueba, páguela doble bajo juramento de su dueño; pero si no, el que sea sospechoso jure solo. Asimismo, si alguien quita la presa a un perro o ave y se le prueba, peche diez sueldos y la presa doble; pero si no, jure solo. Y si por ventura el perro o ave se pierde por aquel motivo y se le prueba, páguelo bajo juramento de su dueño; pero si no, el sospechoso jure solo. Además, si alguien en primer lugar levanta la presa en hueste, cabalgada o en otro lugar y otro hiere primero la pieza, tenga del jabalí la cabeza con cuanto alcance la oreja, del ciervo tenga su piel, de la **cabra montés** reciba la túrdiga del lomo y su parte de las carnes, y lo que quede téngalo el que primeramente haya levantado la pieza, como se ha dicho.

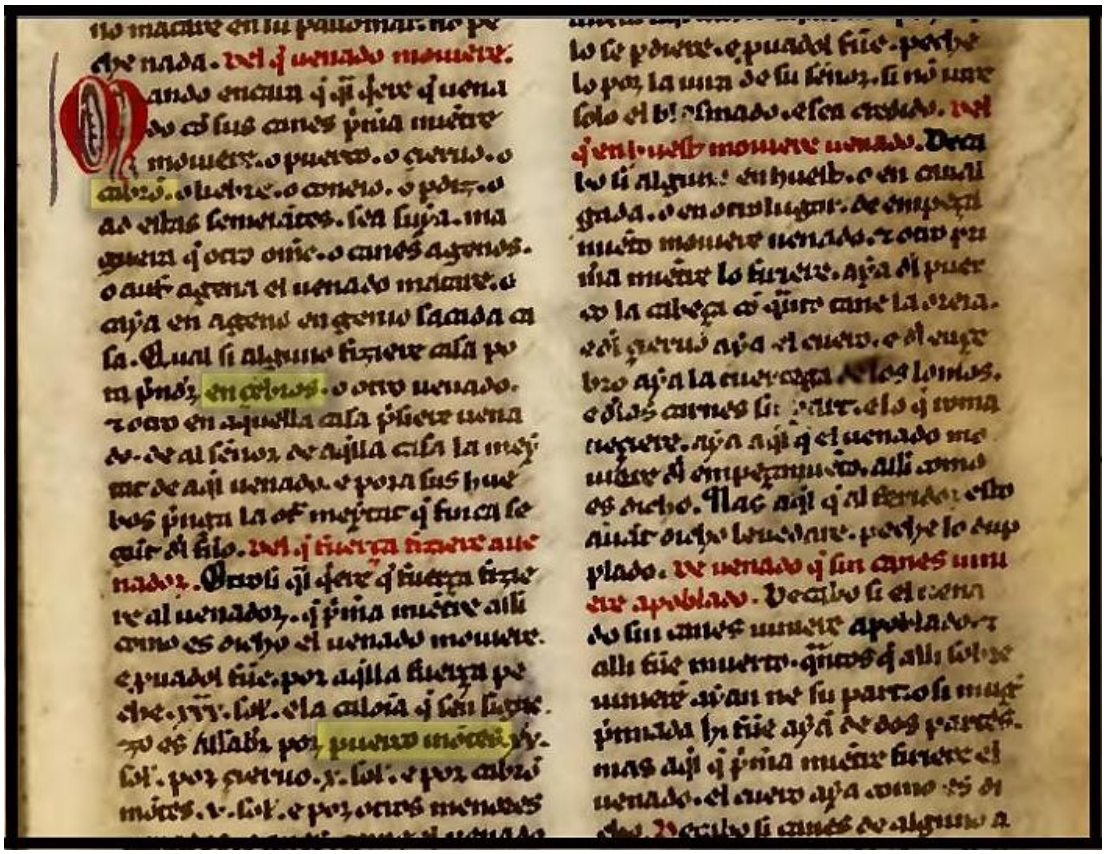


Figura 5.5. ***Códice de los Fueros concedidos a Teruel, versión romance del siglo XIV, parte I.*** Página 91 del ejemplar custodiado en el Archivo Histórico Provincial de Teruel. DARA-Documentos y Archivos de Aragón: http://dara.aragon.es/opac/app/attachment/?c1=Imagen+Vistaya0=Visualizar+Imagenyc0=Fondo+Vistoya=14/e2/AHPTE_C_PA_00002_0043.djvuya1=Fichayl0=Archivo+Hist%C3%B3rico+Provincial+de+Teruel+-+Ayuntamiento+de+Teruelyl1=djvu. Se resaltan las zonas del texto donde aparecen las referencias al cabrón montés, al encebro y al puerco montés. En la versión romance del siglo XIV de los Fueros de Teruel, en rojo en la parte superior de la columna de la izquierda puede leerse el siguiente título "Del que venado moviere". Cuatro líneas más abajo, en la descripción de las especies cinegéticas, donde debería aparecer una traducción de onagro, la palabra aparece sustituida por *cabró*. En la traducción de Castañé (1989) se mantiene esta sustitución. Aparte, en la décima línea aparece escrita la palabra *ençebros*. Este vocablo ha sido añadido en esta versión romanceada y no aparece en la traducción de Castañé (1989). Al final del mismo párrafo en la línea vigésimo primera, en relación a las multas a pagar según la especie cinegética, en lugar de traducir la palabra onagro se ha sustituido por puerco montés "…puerco montes XX sueldos, ciervo X sueldos, cabro montés V sueldos". Nótese la diferencia respecto a la traducción de Castañé (1989).

Aparte, se ha documentado una situación parecida en el Fuero de Cuenca, versión romanceada del *Forum Conche* escrito en latín. En el Fuero de Cuenca no aparecen traducciones de la palabra *onager* del *Forum Conche* latino, en su lugar se sustituye *onager* por el nombre de otra especie cinegética, en este caso el oso (Fernández Galiano, 1957).

Por otro lado, las referencias portuguesas más antiguas derivadas del topónimo *zebro* (*cebrario*, *ezebrario*, *zeurario*, *zebreiro*), aparecen en cartas forales fechadas entre los siglos IX – XI. Estos topónimos hacen referencia a lugares situados al norte del río Mondego y de la

ciudad de Coimbra, que con posterioridad serían integrados en la Corona de Portugal (Antunes, 2006) (Figura 5.2).

Con los primeros reyes de la Corona de Portugal, durante los siglos XII y XIII se conceden fueros a regiones recientemente conquistadas a los árabes y situadas al Este y al Sur. Las últimas referencias al *zebro* en territorio portugués proceden de fueros concedido por Afonso III entre 1250 – 1277, así como una referencia fechada el 25 de marzo de 1293 que hace alusión a una piel de *zebro*, y que aparece en el tratado de caza *História florestal, aquícola e cinegética, vol. I (1208-1483)* (Antunes, 2006).

5.5.6. Descripción del cebro ibérico

Hay un marcado desequilibrio entre la abundancia de topónimos relativos al cebro ibérico en los documentos medievales y la escasez de descripciones del animal. Durante la elaboración de este trabajo, solo se encontraron tres documentos donde se describiera al cebro: el más antiguo del siglo VII, otro del siglo XIII y el último fechado a finales del siglo XVI (y se comentará en el apartado dedicado a la extinción del cebro).

La referencia más antigua al cebro sería la descripción somera que hace en el siglo VII Isidoro de Sevilla en el Libro XII de su obra *Etymologiarum sive originum* (12, 1, 54), y que hemos comentado en el apartado dedicado a la identificación del cebro con los caballos salvajes. En esta referencia, Isidoro de Sevilla comenta que los *equiferi* proceden de una raza salvaje, y alude al color gris de su capa (Pascual, 2008).

El otro documento medieval donde se describe al cebro es el texto enciclopédico del *Libro del Tesoro*, escrito por Brunetto Latini (1220 – 1294/1295) en la segunda mitad del siglo XIII (Aebischer, 1957). El capítulo 50 de esta obra lo dedica al cebro, a partir de una información que se supone recogida por Brunetto Latini durante su estancia en la península ibérica en 1260 (Aebischer, 1957; Nores y Liesau, 1992). La primer parte de su descripción presenta al cebro como una animal de las tierras de la Corona de Castilla, caracterizado por ser de tamaño mayor que los ciervos, así como por presentar orejas largas y una banda de pelo de diferente color a lo largo del espinazo hasta la cola, similar a la que presentan las mulas. Es interesante destacar que el autor no confunde a estos animales con el asno salvaje, al que dedica otro capítulo de su obra (Pascual, 2012). El autor destaca también la velocidad de este animal, y la calidad de la carne para su uso gastronómico. La segunda parte, relativa al modo

en el que el cebro es cazado, carece de fiabilidad según algunos autores, por presentar su caza de un modo poco natural.

A continuación, se presenta el texto del *Libro del Tesoro* con las alusiones al cebro ibérico (Carrer, 1839):

> "Zevere sono una generazione di bestie che abitano nelle parti di Spagna, cioè di Castiglia vecchia, e sono maggiori che cervi. Ed hanno li loro orecchi molto lunghi. Ed hanno una lista su per le schiene infino in sulla coda, come mulo. Ed hanno li loro piedi fessi. E la loro carne è molto buona da mangiare. E sono sì correnti che l'uomo non li pote prendere in alcun modo, se non che sono molto vaghi del fuoco. E però quando li cacciatori li trovano al bosco, elli vanno intorno di loro di notte, e fanno gran fuochi e ben chiari in quella parte onde possono esser veduti meglio. E quando elle il veggono, sì ne sono sì vaghe, che non pongono bocca in terra per pascere, e quando li cacciatori li hanno tenuti quasi il terzo di, elli vanno in verso di loro, e vannogli traviando in verso quella parte, ove dee avere acqua. E quando elli gli hanno condotti all' acqua, elli li danno tanto di spazio, che elli possono bere, e beono molto volentieri. E quando hanno molto bevuto, ed elli le cacciano. Ed elle allora sono sì lasse per lo grande digiuno che hanno fatto, e per la molta acqua che hanno bevuta, ch'elle non possono guari correré. Allora li cacciatori le prendono leggermente".

La traducción de la parte del texto donde hacen referencia a su modo de caza sería la siguiente:

> "Es tan amigo de ver las llamas de fuego, que los hombres se utilizan de esta propiedad, para cogerle. Advierten el bosque en donde pasta, van allí de noche y encienden a su vista muchas hogueras, y como el animal es tan apasionado por el fuego, se está embobado contemplando sin pensar en el pasto. Pasados tres días le espantan hacia donde hubiere agua, y le dejan beber cuanto quiere. Como por no haber comido tiene mucha sed, bebe, y bebe tanto, que no puede ya correr, y entonces acuden los cazadores y le cogen con facilidad".

5.5.7. Principales usos documentados del cebro ibérico

5.5.7.1. El aprovechamiento de la piel

Entre los diferentes usos que se hacía del cebro, destaca la utilización de su piel. En los textos medievales se mencionan la explotación de la túrdiga o tuérdaga, y la parte de los lomos de los cebros (Terrón, 1983) (Figura 5.6). La túrdiga es la pellica del lomo, es decir, la

parte más gruesa y más fuerte que recubre el lomo del animal (Fernández Galiano, 1957; Terrón, 1987). En varios fueros medievales se constata la utilización de la túrdiga de los cebros por parte de curtidores, zurradores y zapateros entre otros, debido a su dureza y solidez (Terrón, 1983). De este modo, con la piel curtida se elaboraban planchas con las que se protegían los escudos. De hecho, en el Título 244 titulado *De cueros comprar* del Fuero de Salamanca, se obliga a los escuderos a forrar los escudos con pellejos de caballo, mulo, asno, buey, vaca o cebro, imponiéndoles una multa de LX sueldos si no cumplieran este reglamento (Castro y de Onís, 1916; Castro, 1928; Terrón, 1983).

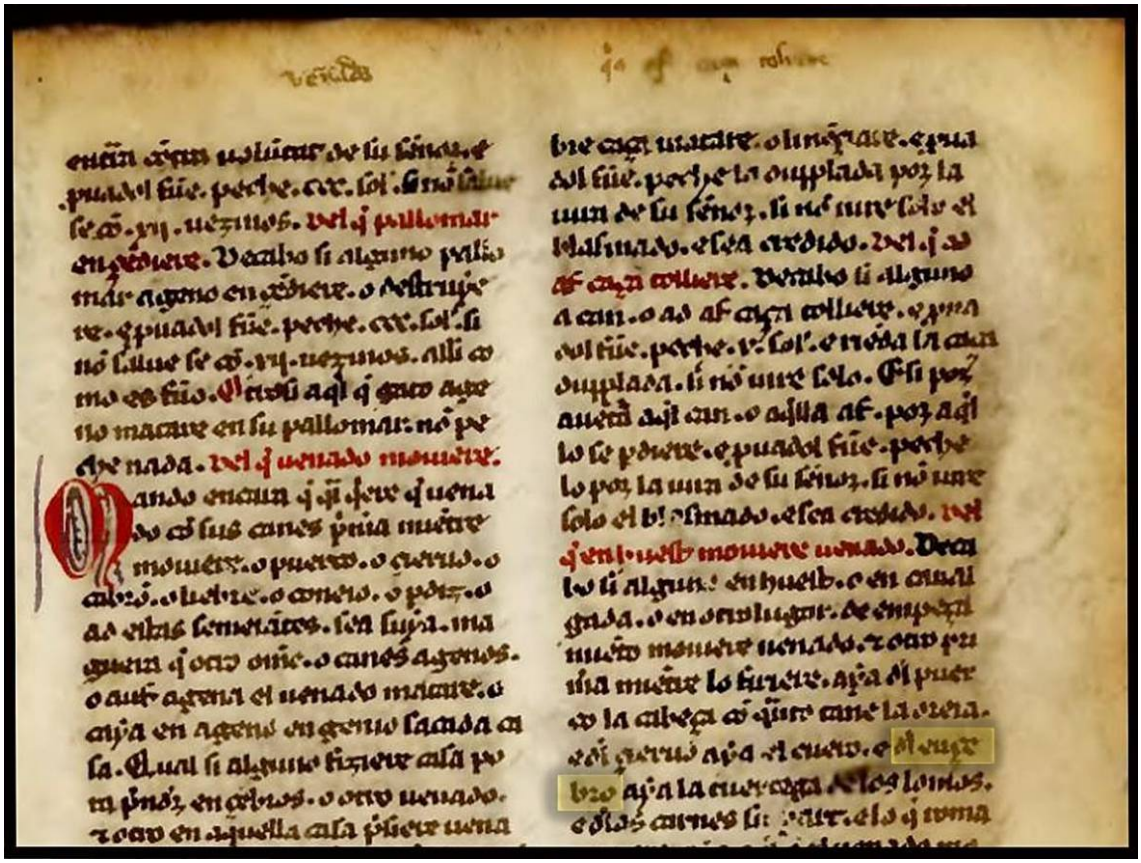


Figura 5.6. ***Códice de los Fueros concedidos a Teruel, versión romance del siglo XIV, parte II***. Página 91 del ejemplar custodiado en el Archivo Histórico Provincial de Teruel. DARA-Documentos y Archivos de Aragón: http://dara.aragon.es/opac/app/attachment/?c1=Imagen+Vistaya0=Visualizar+Imagenyc0=Fondo+Vistoya=14/e2/AHPTE_C_PA_00002_0043.djvuya1=Fichayl0=Archivo+Hist%C3%B3rico+Provincial+de+Teruel+-+Ayuntamiento+de+Teruelyl1=djvu. En la columna de la derecha, en la línea decimonovena y vigésima, aparece escrito el vocablo *ençebro* en relación a los trofeos de caza. Nótese la diferencia respecto a la traducción de Castañé (1989).

Otros usos que se han documentado con la túrdiga de los cebros ha sido la confección de zapatos (Terrón, 1983). En el Fuero de Usagre (Badajoz) de finales del siglo XIII, en el capítulo 125 dedicado a los zapateros, se hace mención a la manera de tratar el cuero: "Todo cortidor curta el cuero uacuno et **enzebruno** a quarto, et caualluno o de mulo o de asno a

tercias. Et si çapatero o cortidor este coto quebrantar, pectet II morauetis, medios al conceio medios alcades" (de Ureña y Smenjaud y Bonilla y San Martín, 1907). Por otro lado, se ha sugerido que en territorios de la Corona de Portugal, el calzado elaborado con la piel de cebro recibía el nombre de "zapatos cebrunos" (Fernández Galiano, 1957). Esto se debe a que entre las Posturas Municipales de Coimbra del año 1145, en el apartado dedicado a los precios que deben marcar los zapateros sobre sus productos, se detalla lo siguiente: "Zapatos zebrunos et bezerrunos untados pro X denarios" (Portugaliae Monumenta Historica. Leges et consvetvdines, 1866).

En los fueros medievales también se recoge el canon de "portazgo" por introducir en la ciudad carne y pieles de cebros. Así aparece reflejado en la versión romanceada de los Fueros de Sepúlveda, fechados el viernes 29 de abril del año 1300. En el título 223 relativo al portazgo (*Del portadgo, cómmo se deve tomar*) aparece documentada la tasa de I dinero por el cuero de buey o de *ezebr*a (Sáez, 1953). A modo de comparativa, el portazgo estipulado por el cuero de ciervo corresponde a la mitad, y por una docena de pieles de cabra II dineros, o lo que es lo mismo, 6 pieles de cabra valían lo mismo que una de cebro (Sáez, 1953; Alvar, 1953). Esta medida aparece expuesta de modo similar en otros fueros, como el de Zorita de los Canes, Alarcón, Cuenca, Alcázar, Albarracín, así como en los fueros portugueses de Lisboa, Seia, Alpedrinha y Portel, entre otros (Terrón, M., 1983).

Se ha sugerido que cuando en un fuero se establece un portazgo y no hay referencias al cebro, es decir, se ha excluido de la lista de impuestos, esta situación puede relacionarse con el hecho de que el cebro ya no sea frecuente, o ya no exista en la zona a la que dicho fuero hace referencia (por las razones que se han argumentado anteriormente) (Terrón, 1983).

5.5.7.2. El aprovechamiento de la carne

Son varias las referencias sobre el aprovechamiento de la carne de cebro. Un documento fechado en el año 1207 del Archivo de la Catedral de Toledo, refleja el precio que se pagaba por la misma: "La libra de carne de zebra, III dineros pepiones e meaia, e no más" (Castro, 1928). Entre otras referencias alusivas al consumo gastronómico del cebro, destacamos las citas que Enrique de Aragón o de Guzmán (1384-1434), Marques de Villena y Maestre de Calatrava, incluyó en su obra *Arte cisoria* o *Tratado del arte del cortar del cuchillo* (1423). Posiblemente su obra más conocida, Enrique de Aragón escribió *Arte cisoria* como respuesta a una petición de Sancho de Jarava, cortador mayor del rey Don Juan II de Castilla (1405-1454) (Gascón, 1986). Esta obra es un tratado que documenta la manera de preparar los

platos, analizándose los tipos, circunstancias y situaciones en la elaboración de los alimentos (Gascón, 1986), así como un repertorio de la cocina española del siglo XV (Ciaparelli, 2005). Entre las referencias al cebro, se destacan las siguientes (resaltadas), documentadas a partir de una versión de *Arte cisoria* de 1766 (de Aragón, 1766):

> "E tal mesma es la carne de la **enzebra** e del oso. E así los cortan, salvo que las manos osunas, peladas e cochas, son como ternilla, mejores que lo ál, e su carne mejor salada que fresca."
>
> "Los moflones, corços, cabras monteses, agazelas, **enzebras** e tales se cortan como la carne de la vaca, si non lo que dan en pan d'éstas, que fazen tajadas anchas e delgadas".

Por otro lado, es necesario destacar también las referencias literarias explícitas al consumo de carne de cebro con fines médicos (Pascual, 2012). El Marqués de Villena aconsejaba en su obra *Arte cisoria* dicho consumo con la finalidad de "quitar pereza" (resaltado) (Pascual, 2012):

> "Afuera d'estas cosas dichas que se comen por vianda e mantenimiento e placer de sus sabores, se comen otras por melezina; así como la carne del omne para las quebrantaduras de los huesos e la carne del perro para calçar los dientes, la carne del tasugo viejo para quitar el espanto e temor del coraçón, la carne del milano para quitar la sarna, la carne de la habubilla para aguzar el entendimiento, la carne del cavallo para fazer omne esforçado, la carne del león para ser temido, **la carne de la enzebra para quitar pereza**."

Aparte, también se hizo uso de los productos derivados del cebro para hacer frente a supersticiones o creencias populares que consideraban la influencia de unos individuos sobre otros por medio de la magia. El propio Marqués de Villena propuso la utilización de grasa de cebro contra el mal de ojo en su obra, escrita hacia 1425, *Tratado de fascinación o de aojamiento* (Pascual, 2012). Este texto está centrado en la prevención, diagnóstico y cura del mal de ojo, el cual se había tenido en cuenta durante siglos como una enfermedad hasta que, ya en el Renacimiento, la Medicina empezó a considerarla ajena a su campo (Ciaparelli, 2005). Por ese motivo, el *Tratado de fascinación o de aojamiento* sólo tiene sentido si se lo ubica en el contexto cultural del momento en que fue redactado. En esta obra, el Marqués de Villena escribió lo siguiente (Cátedra, 1994):

> "E por la primera vía usavan los pasados bostezar en nombre del enfermo muchas vezes, fasta que les cruxían las varillas e esa ora dezían que le era quitado el daño.

> Otros los pesavan en balanças con un canto grande e lançándolo en el agua corriente. E aun lavávanle el pie derecho con agua de lluvia e dávanla a beber a gallina que non oviese puesto; e cuando la avía bevido, que era señal de salud; e si non la bevía, de muerte. Otros los sahumavan con yerva tur e con aristología redonda e aun ruda con péñolas de habubilla e de lechuza. Otros le aniravan as sobreçejas con sevo de **enzebra** untado. E algunas d'estas cosas han quedado en uso d'este tiempo; e tal cosa non la han por bien en la santa Iglesia cathólica e, por ende, usar non se deve por fieles e creyentes".

Cabe destacar no obstante, que en el mismo *Tratado de fascinación* el Marques de Villena hace una clara alusión al onagro. Esto permitiría sugerir que en el siglo XV era posible distinguir claramente a los cebros de los onagros (resaltado) (Cátedra, 1994):

> "Otros buscaron remedio por las virtudes de las piedras e de las yervas e de los miembros de los animales, así como poner fojas de albahaca en las orejas, e traer uñas de **asno montés que dicen onagro**, e traer sortija de uña de asno doméstico, e verga e colmillos de lobo, e piedra diamante en el dedo, e oler isopo e *lilium convalium*, e tener lana de náquera en la mano".

Por otro lado, el historiador Lope García de Salazar (1399-1476) proponía en el Libro V de su obra *Istoria de la bienandanzas e fortunas,* el consumo de carne de cebro para cuidar la vista (cita resaltada) (Pascual, 2012):

> Libro V:
>
> "Los çierbos no son buenos, pero las corças son mejores. Las liebres e los conejos no son buenos, pero los nuebos son mejores, espeçial para los que han la piedra, ca su sustançia es atal. Los cabritos mamadores son mucho buenos e ligeros para moler. **La carne de las çebras es mucho sana para la vista del omne, la más que en las carnes se falla**. Las carnes de las cabras son dañosas, e más las viejas. Los corderos mamadores son dañosos, e más quanto menores".

5.5.7.3. Su posible uso como animal doméstico

También se ha destacado el uso del cebro como animal doméstico (Castro, 1928), e incluso se ha sugerido su utilización como animal de montura. Sobre la domesticación del cebro hay una alusión al respecto en la obra *Las Siete Partidas*, redactada a mediados del siglo XIII bajo la supervisión del rey castellano Alfonso X el Sabio (1221-1284). Esta alusión está

localizada en la Tercera Partida, y a su vez en el Título XXVIII, en la Ley XXII. A continuación, se presentan la Ley XXII completa, resaltando el vocablo alusivo al cebro:

> "Tercera Partida,
>
> Título 28: De cómo gana hombre el señorío en las cosas de cualquier naturaleza que sean.
>
> Ley 22: Pavones y faisanes y gallinas de India y palomas y grullas y ánsares y las otras aves semejantes de ellas, que son salvajes según naturaleza, acostumbran los hombres a veces a amansar y criar en sus casas. Y por ello decimos que en cuanto acostumbran estas aves reales a ir y volver a casa de aquel que las cría, que tiene el señorío de ellas por dondequiera que anden; más luego que ellas por sí se dejan de la costumbre que usaban de ir y volver, que pierde el señorío de ellas el que lo tenía, y gánalo quien quiera que las prenda. Eso mismo decimos de los ciervos, y de los gamos y de las **cebras** y de las otras bestias salvajes que los hombres amansan y crían en sus casas, pues luego que se vuelven a la selva y no usan de venir a la casa o al lugar donde su dueño las tenía, pierde el señorío de ellas." (Alfonso X el Sabio. Las Siete Partidas, pags. 112-113).

Con la finalidad de contrastar cualquier tipo de diferencia que pudiera existir entre el vocablo *cebra* de la edición actual de la obra que se ha expuesto en el párrafo anterior, y el vocablo original que se escribió en el siglo XIII, se ha consultado una edición contemporánea de *Las Siete Partidas,* en la cual aparece el vocablo *ezebras*. La edición consultada es una obra fechada entre los siglos XIII-XIV, que perteneció en origen a Don Álvaro de Zúñiga y Guzmán (*ca.* 1410-1488), primer duque de Arévalo, y posteriormente pasó a ser propiedad de los Reyes Católicos (Figura 5.7). Este documento está actualmente depositado en la Biblioteca Nacional, y digitalizado para su consulta a través de internet: (http://www.bne.es/es/Micrositios/Exposiciones/BNE300/Exposicion/Seccion3/sub2/Obra05.html?origen=galeria).

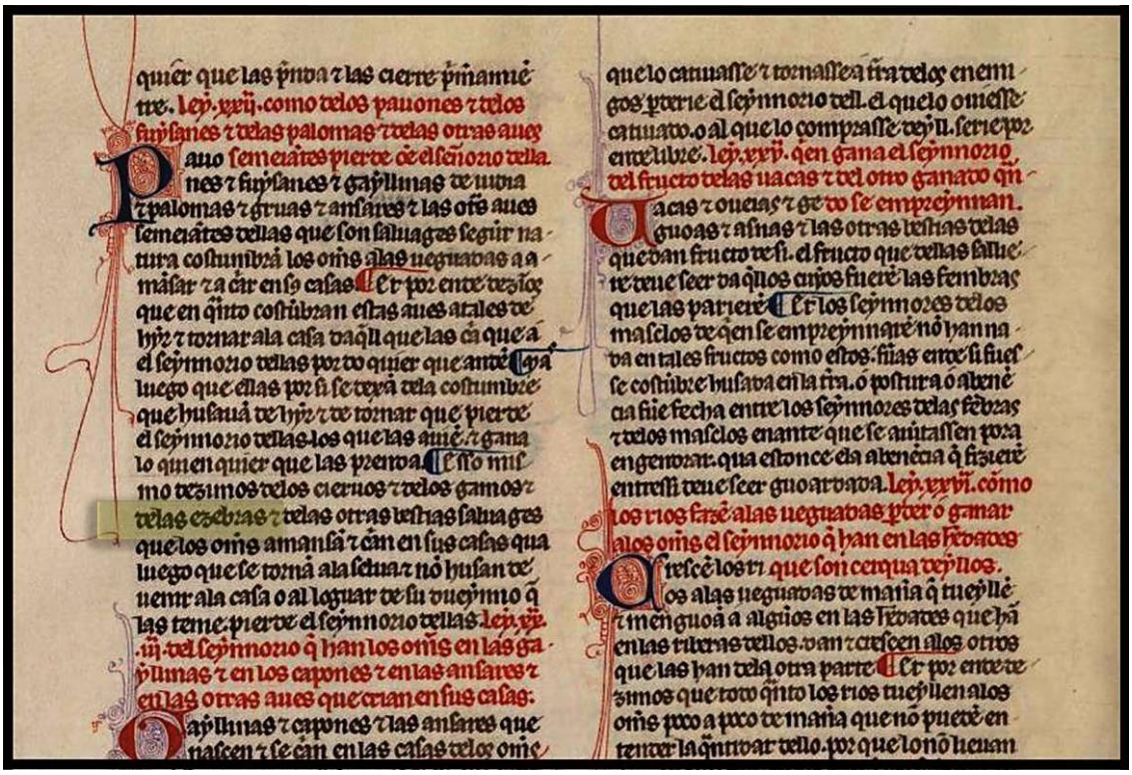


Figura 5.7. ***Las Siete Partidas de Alfonso X el Sabio***. Copia de *Las Siete Partidas* fechada en los siglos XIII – XIV, y depositada en la Biblioteca Nacional de España. Tercera Partida, Título · XXVIII · *de como gana ome el seynorio de las cosas de quoal natura quíer que sea* (hoja 550, http://bdh-rd.bne.es/viewer.vm?pid=d-2700287). Ley · XXII · *como delos pauones i de los faysanes i delas palomas i delas otras aues semeiares pierde de el señorio della* (hoja 554, http://bdh-rd.bne.es/viewer.vm?pid=d-2700287). El vocablo se encuentra localizado en la columna de la izquierda. En la decimoctava línea de este documento puede leerse el vocablo *ezebras*.

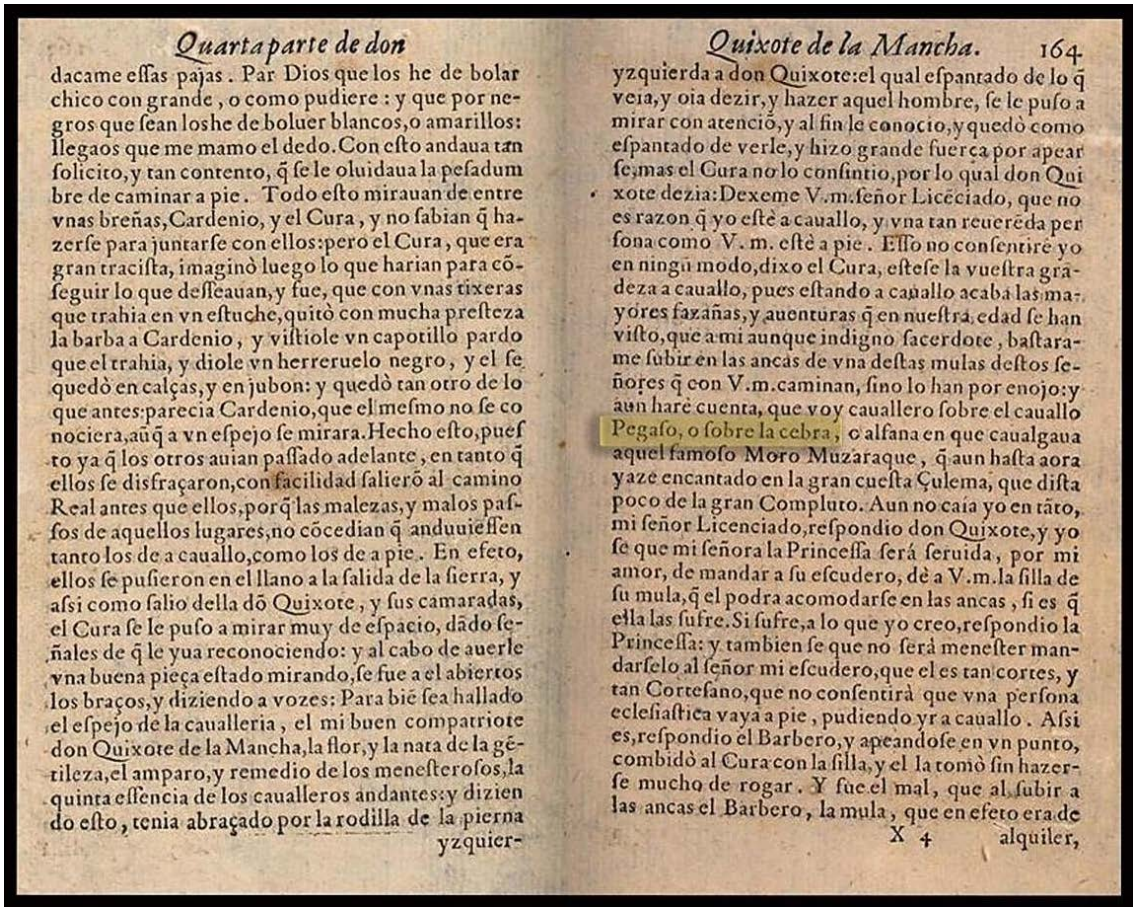
Con respecto al uso del cebro como animal de montura, destacamos dos referencias literarias. Por un lado, la alusión como animal de silla que aparece en el romance del rey Marsín (Castro, 1928; Nores y Liesau, 1992), un romance anónimo de principios del siglo XVI basado en la batalla de Roncesvalles de 15 de agosto de 778, donde se menciona:

> "Por las Sierras de Altamira
> huyendo va el rey Marsín,
> cavallero en una zebra,
> no por mengua de rocín"

Por otro lado, Don Miguel de Cervantes hace mención a los cebros en su obra *El ingenioso hidalgo Don Quijote de la Mancha* (1605). A continuación destacamos la mención a una montura con un cebro (resaltado) (Figura 5.8):

> "—Eso no consentiré yo en ningún modo —dijo el cura—: estése la vuestra grandeza a caballo, pues estando a caballo acaba las mayores fazañas y aventuras que en nuestra edad se han visto; que a mí, aunque indigno sacerdote, bastaráme subir en las ancas de una destas mulas destos señores que con vuestra merced

caminan, si no lo han por enojo. Y aun haré cuenta que voy caballero sobre el caballo Pegaso, **o sobre la cebra** o alfana en que cabalgaba aquel famoso moro Muzaraque, que aún hasta ahora yace encantado en la gran cuesta Zulema, que dista poco de la gran Compluto." (Primera Parte, Capítulo 29).



Quarta parte de don

dacame eſſas pajas. Par Dios que los he de bolar chico con grande, o como pudiere: y que por negros que ſean loshe de boluer blancos, o amarillos: llegaos que me mamo el dedo. Con eſto andaua tan ſolicito, y tan contento, q̃ ſe le oluidaua la peſadumbre de caminar a pie. Todo eſto mirauan de entre vnas breñas, Cardenio, y el Cura, y no ſabian q̃ hazerſe para juntarſe con ellos: pero el Cura, que era gran traciſta, imaginò luego lo que harian para cõſeguir lo que deſſeauan, y fue, que con vnas tixeras que trahia en vn eſtuche, quitò con mucha preſteza la barba a Cardenio, y viſtiole vn capotillo pardo que el trahia, y diole vn herreruelo negro, y el ſe quedò en calças, y en jubon: y quedò tan otro de lo que antes: parecia Cardenio, que el meſmo no ſe conociera, aũq̃ a vn eſpejo ſe mirara. Hecho eſto, pueſto ya q̃ los otros auian paſſado adelante, en tanto q̃ ellos ſe diſfraçaron, con facilidad ſalierõ al camino Real antes que ellos, por q̃ las malezas, y malos paſſos de aquellos lugares, no cõcedian q̃ anduuieſſen tanto los de a cauallo, como los de a pie. En efeto, ellos ſe puſieron en el llano a la ſalida de la ſierra, y aſsi como ſalio della dõ Quixote, y ſus camaradas, el Cura ſe le puſo a mirar muy de eſpacio, dãdo ſeñales de q̃ le yua reconociendo: y al cabo de auerle vna buena pieça eſtado mirando, ſe fue a el abiertos los braços, y diziendo a vozes: Para bié ſea hallado el eſpejo de la caualleria, el mi buen compatriote don Quixote de la Mancha, la flor, y la nata de la gẽtileza, el amparo, y remedio de los meneſterоſos, la quinta eſſencia de los caualleros andantes: y dizien do eſto, tenia abraçado por la rodilla de la pierna yzquier-

Quixote de la Mancha. 164

yzquierda a don Quixote: el qual eſpantado de lo q̃ veia, y oia dezir, y hazer aquel hombre, ſe le puſo a mirar con atenciõ, y al fin le conocio, y quedò como eſpantado de verle, y hizo grande fuerça por apear ſe; mas el Cura no lo conſintio, por lo qual don Quixote dezia: Dexeme V. m. ſeñor Licẽciado, que no es razon q̃ yo eſtè a cauallo, y vna tan reuereda perſona como V. m. eſtè a pie. Eſſo no conſentiré yo en ningũ modo, dixo el Cura, eſteſe la vueſtra gradeza a cauallo, pues eſtando a cauallo acaba las mayores fazañas, y auenturas q̃ en nueſtra edad ſe han viſto, que a mi aunque indigno ſacerdote, baſtarame ſubir en las ancas de vna deſtas mulas deſtos ſeñores q̃ con V. m. caminan, ſino lo han por enojo: y aun haré cuenta, que voy cauallero ſobre el cauallo Pegaſo, o ſobre la cebra, o alfana en que caualgaua aquel famoſo Moro Muzaraque, q̃ aun haſta aora yaze encantado en la gran cueſta Çulema, que diſta poco de la gran Compluto. Aun no caia yo en tãto, mi ſeñor Licenciado, reſpondio don Quixote, y yo ſe que mi ſeñora la Princeſſa ſerá ſeruida, por mi amor, de mandar a ſu eſcudero, dè a V. m. la ſilla de ſu mula, q̃ el podra acomodarſe en las ancas, ſi es q̃ ella las ſufre. Si ſufre, a lo que yo creo, reſpondio la Princeſſa: y tambien ſe que no ſerá meneſter mandarſelo al ſeñor mi eſcudero, que el es tan cortes, y tan Corteſano, que no conſentirá que vna perſona eccleſiaſtica vaya a pie, pudiendo yr a cauallo. Aſsi es, reſpondio el Barbero, y apeandoſe en vn punto, combidò al Cura con la ſilla, y el la tomò ſin hazerſe mucho de rogar. Y fue el mal, que al ſubir a las ancas el Barbero, la mula, que en efeto era de

X 4 alquiler,

Figura 5.8. ***Texto original publicado en 1605 de El ingenioso hidalgo Don Quijote de la Mancha***. La referencia a la montura de cebra aparece en la página de la derecha, en la decimosexta línea. Biblioteca Nacional de España (http://quijote.bne.es/libro.html).

5.5.8. Sobre la desaparición del cebro

Como se ha comentado en el apartado anterior relativo a las referencias al cebro en documentos medievales, su presencia o ausencia en los fueros de las villas ha permitido conocer la dinámica de su área de distribución. De este modo, se ha podido determinar una patente disminución en su distribución territorial, sobre todo a partir de la Baja Edad Media (Figura 5.2). No se conocen los factores de riesgo que amenazaron su supervivencia, pero es posible que éstos fueran los mismos que han actuado sobre otros taxones (Tellería, 2012). Es posible relacionar con este suceso la acción conjunta de la sobreexplotación en estado

silvestre y la fragmentación del hábitat debido a actividades antrópicas, sin descartar factores intrínsecos asociados a la propia especie (Valdelvira, 1996; Tellería, 2012; Nores *et al*., 2015).

Para obtener datos concretos sobre la extinción de este animal en la península ibérica, nuevamente los documentos oficiales han sido de una importancia capital. Los últimos avistamientos de cebros salvajes se documentaron durante el siglo XVI, y en esta ocasión esa información se recogió en las *Relaciones Topográficas* o *Relaciones histórico-geográficas de los pueblos de España* ordenadas por el rey Felipe II (1527 - 1598).

Las *Relaciones topográficas* son una serie de documentos elaborados a modo de cuestionarios o interrogatorios, que tenían como objetivo ofrecer información relativa a la geografía, organización administrativa, poblacional, estructura social o prestaciones tributarias entre otras cuestiones, de los pueblos de Castilla la Nueva (Valdelvira, 1996). Estos documentos contienen descripciones de 714 pueblos de Madrid, Toledo, Guadalajara, Ciudad Real, Cuenca, Albacete, Cáceres, Badajoz, Jaén, Alicante, Murcia y Ávila. La información sobre estos pueblos se obtuvo a partir de dos interrogatorios, el primero elaborado en 1575 y el segundo en 1578 (Valdelvira, 1996). Las informaciones relativas al avistamiento de los últimos cebros salvajes han quedado recogidas en los interrogatorios de las poblaciones albaceteñas de Chinchilla y La Roda, ambas pertenecientes al marquesado de Villena (Pascual, 2012). El pueblo de Chinchilla respondió el 30 de julio de 1576, mientras que el pueblo de La Roda no respondió hasta el 18 de marzo de 1579. Por su parte, las personas encargadas de informar en el pueblo de Chinchilla fueron dos vecinos, mientras que en el pueblo de La Roda fueron comisionados tres vecinos (Valdelvira, 1996).

Las respuestas originales se compilaron en 8 tomos, y se encuentran custodiados en la biblioteca del Monasterio de El Escorial[13] (Valdelvira, 1996). Posteriormente, a lo largo del siglo XX se han llevado a cabo diversas ediciones de las *Relaciones topográficas*, que se han centrado en provincias concretas. La siguiente información procede de las descripciones que se publicaron en 1992 bajo el título de las *Relaciones topográficas de los pueblos del Reino de*

[13] En concreto, la información relativa a los pueblos de la provincia de Albacete se encuentra en los legajos J. I. 14, volúmenes III y V; y J. I. 16, volumen V.

Murcia[14] (Cebrián y Cano, 1992), donde se compilaron los interrogatorios de los pueblos de Albacete[15] (Valdelvira, 1996).

Respecto a la fauna que era posible encontrar en los montes y bosques de Albacete, en la descripción de finales del siglo XVI relativa a la población de Chinchilla y alrededores, puede leerse lo siguiente (resaltada la referencia al cebro) (Cebrián y Cano, 1992):

> "…criase en esta tierra muchos benados, corços, gatos monteses y algunas vezes se hayan puercos y cabras monteses vna espeçie de salvagina ouo en nuestro tiempo en esta tierra que no la a avjdo en toda Espanna sjno aquí **que fueron enzebras** que abja muchas y tantas que destruyan los panes y senbrados son a manera de yeguas çenjzosas de color de pelo de rrata vn poco mohinas rrelinchauan como yeguas corrian tanto que no avia caballo que las alcançase y para aventarlas de los panes los sennores dellos se ponjan en paradas con caballos y galgos que otros perros no las podian alcançar y desta manera las aventauan que matar no podian por su ligereza".

La importancia de esta referencia es doble, porque además de ser una de las últimas referencias sobre cebros salvajes, también se caracteriza por ser uno de los pocos testimonios donde se describe a un cebro ibérico. Solamente hemos encontrado otras dos descripciones relativas al cebro, en obras de Isidoro de Sevilla y de Brunetto Latini, y comentadas anteriormente.

Respecto a la relación topográfica de la villa de La Roda y alrededores, el comentario que se recoge sobre el cebro es el siguiente (Cebrián y Cano, 1992):

> "Podra aver dos annos sin aver bosques ni escusados siendo la dicha caça común e ay ansi mjsmo munchas perdices e algunos conexos avnque pocos por ser la tierra llana y a pocos annos que se acabo la caza de los venados que avia muchos

[14] El Reino de Murcia fue una jurisdicción territorial de la Corona de Castilla, desde su reconquista entre 1243 – 1266 durante los reinados de Fernando III y Alfonso X de Castilla, hasta la división territorial de 1863.

[15] Aunque el reino de Murcia no incluía a todos los pueblos de Albacete, los autores incluyeron en su obra las relaciones de los 20 pueblos de Albacete que están incluidos en el manuscrito conservado en la biblioteca del Monasterio de El Escorial.

y **podra aver quarenta annos que avia muchas enzebras en termino desta villa** y se a acabado ansi mjsmo la dicha caza".

La Roda respondió al cuestionario en 1579, y como documenta que todavía había muchos cebros en la zona 40 años antes, se puede deducir que esa referencia hace mención a la presencia de este animal en los alrededores de La Roda hacia el año 1538.

Por otro lado, las evidencias más modernas a cebros domésticos, son las comentadas en el apartado anterior, la relativa al romance del rey Marsín (fechado en el siglo XVI), y la de *El ingenioso hidalgo Don Quijote de la Mancha* (1605). Junto a éstas, hay una evidencia aislada referida a un cebro doméstico localizado en Higuera la Real, junto a Frenegal de la Sierra (Badajoz). Se trata de un documento fechado el día 04 de junio de 1682. Dicho documento presenta una carta de dote donde se valora en 214 reales un jumento cebro de cinco años (Terrón, 1987). Esta sería la última referencia relativa al cebro ibérico, a partir de la cual se podría marcar el momento de su extinción. De este modo, el cebro pasaría a ser una de las 255 especies de mamíferos que se han extinguido a lo largo del Holoceno (Turvey, 2009).

CAPÍTULO 6

Al haber fracasado su maniobra, el rey de Inglaterra le pide a al-Adel que organice una entrevista con Saladino. Pero la respuesta de este último es la misma que dio unos meses antes:

> *"Los reyes sólo se reúnen tras llegar a un acuerdo. De todas formas —añade—, no comprendo tu lengua y tú ignoras la mía y precisamos un traductor en quien confiemos ambos. Que este hombre sea un mensajero entre tú y yo. Cuando lleguemos a un acuerdo, nos reuniremos y la amistad reinará entre nosotros."*

Amin Maaluf *Las cruzadas vistas por los árabes*.

6. ESTUDIOS PREVIOS CON ADN MITOCONDRIAL

6.1. Características del ADN mitocondrial

El ADN mitocondrial (ADNmt) de los mamíferos es un genoma circular constituido por 2 cadenas de ADN complementarias y antiparalelas, con una longitud aproximada de 16,5 kilobases (kb) (Figura 6.1). Las dos cadenas de este genoma se denominan cadena pesada o cadena H "heavy" y cadena ligera o cadena L "light" (Clayton, 2003). Estas terminologías se deben a las diferencias que presentan las dos cadenas en el contenido de guaninas y timinas, así como a sus diferencias en gradientes de densidad alcalinos de cloruro de cesio.

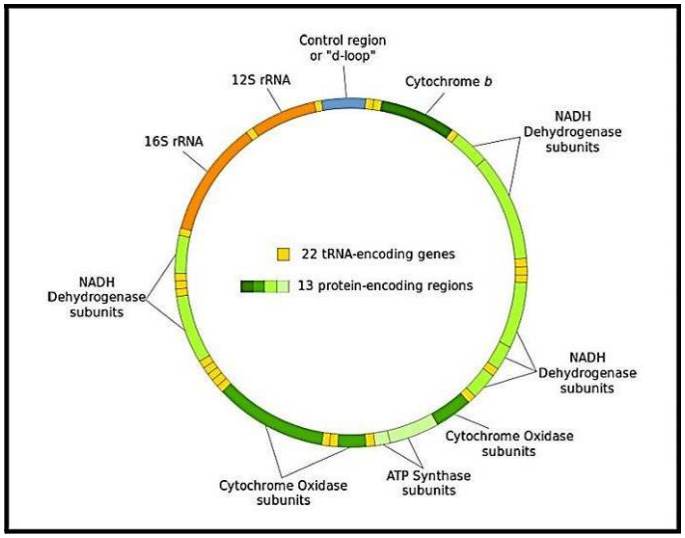


Figura 6.1. ***Estructura esquemática de una molécula de ADN mitocondrial*****.** Imagen tomada de https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Mitochondrial_DNA_en.svg

El ADN mitocondrial se puede dividir en dos dominios, uno codificante y otro no codificante. Aproximadamente el 93% del genoma mitocondrial de los mamíferos es codificante. Se han aislado 37 genes (Clayton, 2000) que codifican para subunidades de los ribosomas mitocondriales, para ARN de transferencia (ARNt) y para distintas proteínas. En concreto, los 37 genes codifican para 2 subunidades de ARNr (12S y 16S), 22 ARNt y 13 (de las aproximadamente 90) proteínas que están vinculadas a la cadena respiratoria de las mitocondrias de los mamíferos (Falkenberg *et al*., 2007) (Figura 6.1).

El 7% del genoma restante es la principal fracción no codificante del genoma mitocondrial, y se ha denominado región control, lazo de desplazamiento o lazo D (*displacement loop* o D loop) (Figura 6.1). En esta región se han localizado los promotores P_{H1},

P_{H2} y P_L (Garesse y Vallejo, 2001), necesarios para la transcripción de las hebras H y L, así como el origen de replicación de la hebra H (O_H). La replicación del genoma mitocondrial es asincrónica y asimétrica (Garesse y Vallejo, 2001). La síntesis comienza en el origen de replicación de la cadena pesada (O_H), y se realiza de manera unidireccional hasta el origen de replicación de la cadena ligera (O_L) (Clayton, 2000), preferentemente situado a dos tercios de O_H (Clayton, 2003). El inicio de la síntesis de la hebra pesada marca el comienzo del lazo de desplazamiento. Por su parte, la síntesis de la cadena ligera se realiza en sentido opuesto a la síntesis de la cadena pesada (Garesse y Vallejo, 2001).

Diversos estudios llevados a cabo sobre el ADN mitocondrial han puesto de manifiesto una serie de características que confieren a este genoma un papel destacado en los estudios de procesos evolutivos:

- El ADN mitocondrial presenta una tasa de sustitución entre 5 - 10 veces mayor que la del ADN nuclear (Brown *et al.,* 1979).

- La tasa de sustitución estimada para la región D-loop ha arrojado valores más altos que la del resto del genoma mitocondrial. En humanos, la estimación de la tasa de sustitución de la región control ha resultado ser hasta 2,8 veces más alta que la del resto del genoma mitocondrial (Cann *et al*., 1984; Parsons *et al*., 1997).

- A partir del análisis con híbridos recíprocos de *Equus caballus* x *Equus asinus* se comprobó que el ADN mitocondrial de los mamíferos sigue un patrón de transmisión generacional exclusivamente materno (Hutchinson *et al.,* 1974). Además, el ADN mitocondrial es un genoma que se encuentra libre de fenómenos de recombinación (de Francesco *et al.,* 1980). Aunque nuevos estudios han sugerido la posibilidad de que el ADN mitocondrial pueda pasar por procesos de recombinación (Awadalla *et al*., 1999), estos resultados no son concluyentes.

- Se ha comprobado que en una célula la proporción de ADN mitocondrial respecto al nuclear es muy elevada. Una célula somática puede llegar a tener entre 1000 y 10.000 copias de ADN mitocondrial (Falkenberg *et al*., 2007). Esta significativa proporción ha conferido durante muchos años mayor facilidad para la extracción de ADN mitocondrial, y ha sido una de las razones principales de su extendido uso en los estudios con ADN antiguo.

6.2. Estudios sobre la domesticación del caballo en la península ibérica con ADN mitocondrial

6.2.1. Estudios con ADN mitocondrial moderno

Los estudios sobre los procesos de domesticación del caballo también se han analizado desde la perspectiva genética. Uno de los marcadores moleculares más ampliamente utilizados en este tipo de estudios ha sido el ADN mitocondrial. Su tasa de mutación, mayor que la del ADN nuclear, su transmisión exclusivamente por vía materna, su aparente ausencia de recombinación, y el gran número de genomas mitocondriales que pueden presentar las células en contraposición a un único genoma nuclear, han sido las principales características que han convertido al ADN mitocondrial en el marcador de referencia en estudios sobre diversidad genética de mamíferos en general (Harrison, 1989), y sobre los procesos de domesticación en particular (Bruford *et al*., 2003). El ADN mitocondrial se ha utilizado para diferenciar poblaciones de ganado vacuno y ganado cebú, asociándolas a distintas áreas geográficas que se han considerado como focos potenciales de domesticación (Loftus *et al*., 1994; Bradley *et al*., 1998; Achilli *et al.,* 2008). Asimismo, ha permitido conocer la diversidad genética de distintas poblaciones de suidos salvajes y domésticos distribuidos por toda Eurasia (Larson *et al.,* 2005), definiendo, además, cómo fue el patrón de reemplazamiento de las poblaciones salvajes por las domésticas durante el Neolítico y el Calcolítico en Europa (Larson *et al.,* 2007). También ha contribuido en la determinación de las posibles áreas geográficas donde las cabras y las ovejas pudieron ser domesticadas (Luikart *et al*., 2001; 2006; Bruford y Townsend, 2006).

La diversidad genética observada en el ADN mitocondrial del caballo es significativamente mayor que la que se pueden encontrar en otros animales domésticos, como los asnos (Beja-Pereira *et al*., 2004), el ganado vacuno (Troy *et al*., 2001; Jia *et al*., 2010), el ovino (Pedrosa *et al*., 2005) o el caprino (Naderi *et al*., 2007; 2008).

Numerosos estudios centrados en el análisis de razas de caballos domésticos han puesto de manifiesto que la mayoría de las razas se caracterizan por presentar una gran diversidad matrilineal. Esta diversidad se ha asociado a un origen múltiple de domesticación. Entre las razas que presentan una gran diversidad mitocondrial podemos destacar: los caballos de raza Lipizana (Kavar *et al*., 1999; 2002), los caballos de raza Árabe (Bowling *et al*., 2000), los caballos de raza Cheju (Yang *et al*., 2002), el Pura Sangre Inglés (Hill *et al*., 2002; Bower *et al*., 2011), el

Pura Sangre Lusitana (Lopes *et al*., 2005), el Pura Raza Española (Royo *et al*., 2005), las razas autóctonas chinas de Ningqiang, Kazahk, Guizhou o Guanzhong (Lei *et al*., 2009), o las poblaciones de caballos nativos japoneses (Kakoi *et al*., 2007), entre otras.

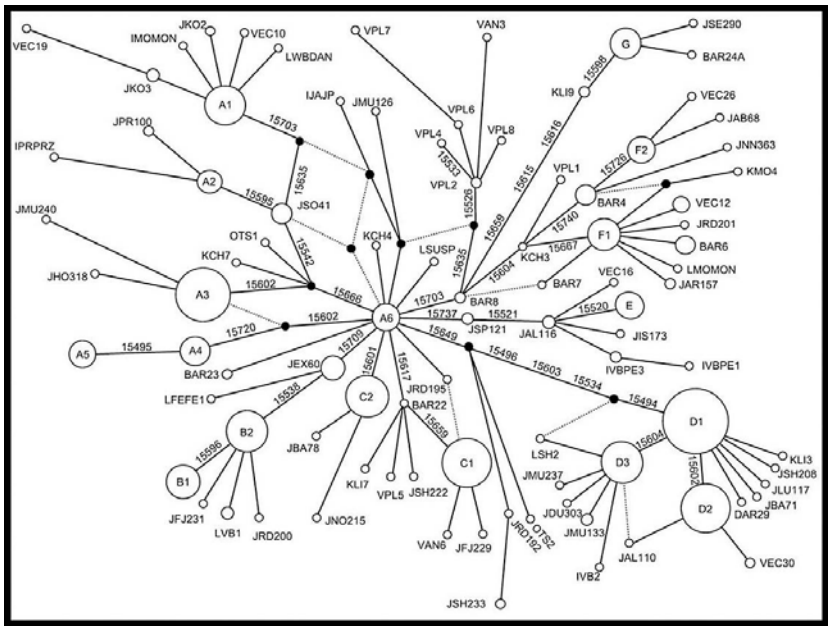


Figura 6.2. ***Principales haplogrupos de*** **Equus caballus** ***diferenciados a partir de la región control.*** Haplogrupos diferenciados por Jansen *et al*. (2002) analizando 652 caballos. Nomenclatura de los haplogrupos: A1, A2, A3, A4, A5, A6, B1, B2, C1, C2, D1, D2, D3, E, F1, F2 y G.

De este modo, se ha podido comprobar que la mayoría de la razas de caballo no son genéticamente homogéneas desde el punto de vista del ADN mitocondrial (Lister *et al*., 1998). En algunas ocasiones, como en el caso de la raza Lipizana o los Pura Sangre Inglés, estos análisis permitieron descubrir discrepancias entre los haplotipos y las supuestas líneas maternas asociadas a los pedigrís (Kavar *et al*., 1999; 2002; Hill *et al*., 2002).

El análisis mitocondrial de gran cantidad de individuos de distintas razas distribuidas por todo el mundo ha permitido determinar que en el proceso de domesticación del caballo estuvieron involucradas una gran cantidad de líneas maternas (Lister *et al*., 1998; Vilà *et al*., 2001). Entre los caballos modernos (incluídos los caballos de Przewalski) se han diferenciado hasta 17 haplogrupos distintos analizando la región control (Jansen *et al*., 2002) (Figura 6.2), o 18 haplogrupos a partir del estudio de mitogenomas completos (Achilli *et al*., 2012) (Figura 6.3).

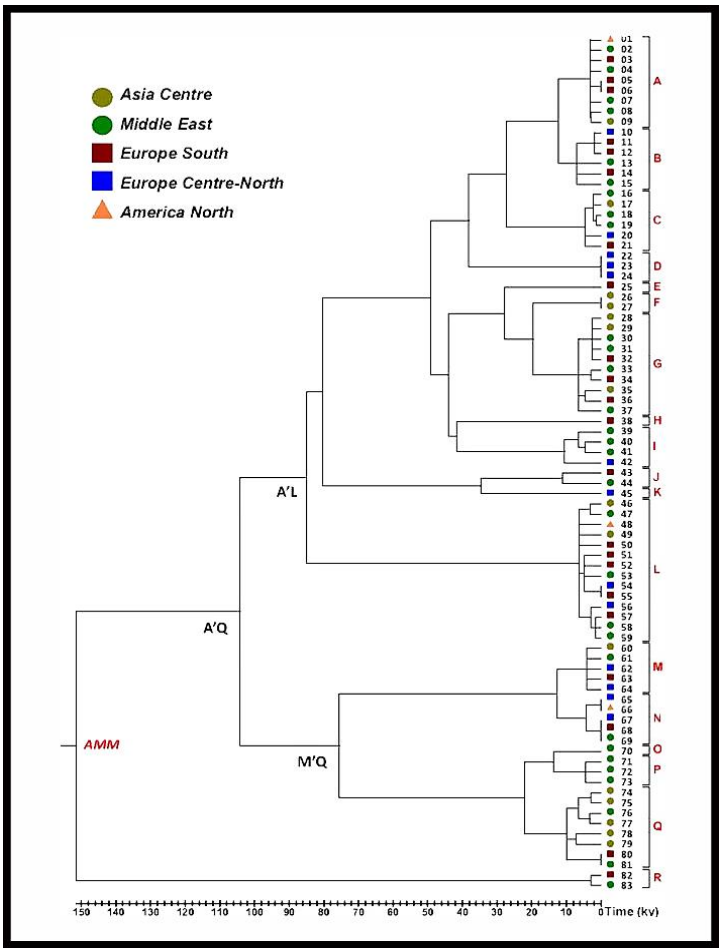


Figura 6.3. ***Principales haplogrupos de*** **Equus caballus** ***diferenciados a partir de mitogenomas completos***. Nomenclatura de los haplogrupos: A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q y R (Achilli *et al*., 2012).

El análisis de estos haplogrupos ha puesto de manifiesto, una vez más, que caballos de diferentes razas pueden ser mitocondrialmente iguales, y además la mayoría de los haplogrupos definidos no se pueden vincular con regiones geográficas concretas, aunque en ocasiones sí era posible relacionar haplogrupos a grandes áreas geográficas, como es el caso del haplogrupo F, asociado a las razas caballares del este de Eurasia en el estudio de McGahern *et al*. (2006a). De este modo se han corroborado resultados anteriores que habían propuesto que el caballo es la especie doméstica que presenta la mayor diversidad mitocondrial, además de un patrón filogeográfico muy poco definido (MacHugh y Bradley, 2001; Jansen *et al*., 2002). Estos resultados no apoyan la hipótesis de un único evento de domesticación para esta especie, y propuesto en las estepas euroasiáticas. En su lugar, estos datos mitocondriales sugieren un proceso de selección artificial mucho más complejo, en el que caballo ha sido una especie que ha pasado por numerosos eventos de domesticación o de introgresión en numerosas áreas geográficas y en diferentes momentos cronológicos (Vilà *et al*., 2001; Jansen *et al*., 2002; Cieslak *et al*., 2010; Lippold *et al*., 2011b; Achilli *et al*., 2012).

Las primeras secuencias mitocondriales obtenidas de restos fósiles de ocho caballos salvajes procedentes de Alaska, permitieron sugerir que las poblaciones de caballos salvajes estaban estructuradas filogeográficamente, planteando la posibilidad de que la gran diversidad presente en poblaciones actuales fuera el resultado de la intensificación de la cría caballar durante tiempos históricos. Datos posteriores obtenidos a partir de caballos salvajes procedentes de diversos yacimientos eurasiáticos (Weinstock *et al*., 2005) han ofrecido resultados que no apoyan esta hipótesis. Al contrario, el análisis de la diversidad haplotípica de 28 secuencias de individuos salvajes ha permitido comprobar que las poblaciones salvajes ya presentaban una estructuración filogeográfica poco marcada, con una distribución haplotípica alta, y una diversidad nucleotídica significativamente menor que en los caballos domésticos (Lira *et al*., 2010). Esta diversidad genética, mayor en las poblaciones domésticas que en las salvajes analizadas, es el resultado esperable en una especie que, en lugar de haber pasado por un evento de domesticación asociado a un cuello de botella que implicara pérdida de diversidad genética, se hubiera domesticado en reiteradas ocasiones a partir de diferentes poblaciones salvajes (Lira *et al*., 2010). Posteriormente, se han obtenido resultados de diversidad genética similares que han apoyado la hipótesis de los múltiples eventos de domesticación (Cieslak *et al*., 2010; Lippold *et al*., 2011b; Achilli *et al*., 2012).

Aunque los análisis de los haplogrupos han puesto de manifiesto la dificultad de realizar asociaciones filogeográficas de las razas, para algunos haplogrupos sí se pudieron delimitar áreas geográficas concretas, y proponer sus posibles eventos de domesticación. Este es el caso del haplogrupo mitocondrial D1. Este haplogrupo fue definido por primera vez por Jansen *et al*. (2002) a partir del análisis de la región control del ADN mitocondrial de 652 caballos (Figura 6.4). Con el reciente estudio sobre variabilidad genética a partir de 83 mitogenomas completos, este haplogrupo ha pasado a formar parte del haplogrupo L (Achilli *et al*., 2012) (Figura 6.3).

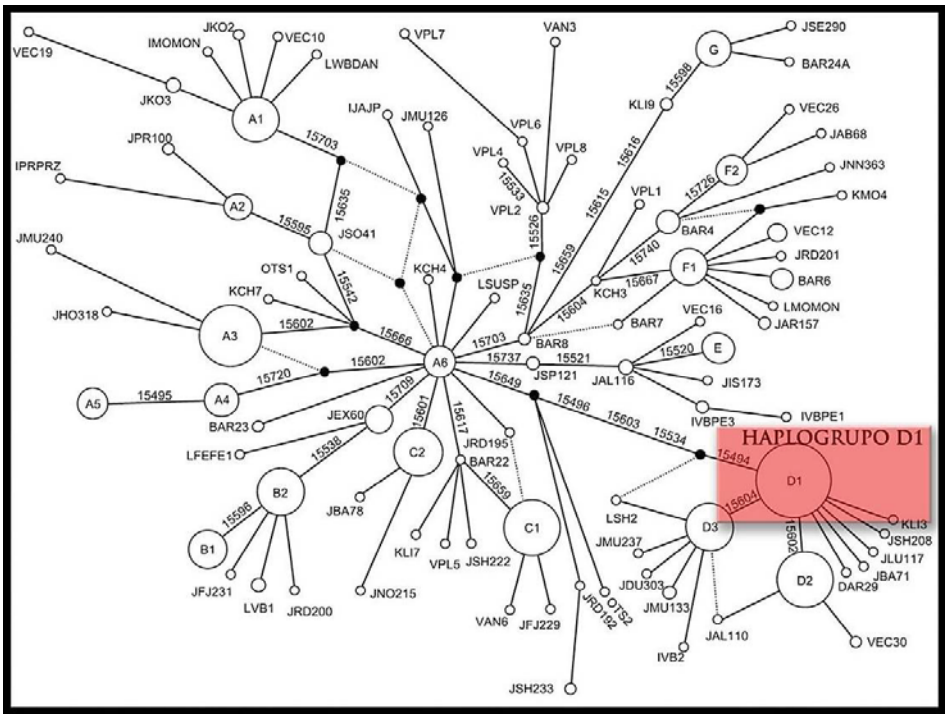


Figura 6.4. ***Principales haplogrupos de*** **Equus caballus** ***diferenciados a partir de la región control.*** Se destaca sobre fondo rojo el haplogrupo D1 diferenciado por Jansen *et al*. (2002).

Se comprobó que el haplogrupo D1 estaba constituido por animales de diferentes razas, aunque la mayoría procedían del norte de África, de la península ibérica, o eran razas americanas de origen ibérico. Aunque Jansen *et al*. (2002) habían encontrado caballos de origen ibérico en otros haplogrupos, la mayor frecuencia de caballos Pura Raza Española o Pura Sangre Lusitana analizada en ese estudio la presentaba el haplogrupo D1 (Jansen *et al*., 2002). De este modo se propuso que este haplogrupo era el resultado de un evento de domesticación que podía haber ocurrido, o bien en el norte de África, o bien en la península ibérica (Jansen *et al*., 2002).

En trabajos posteriores a Jansen *et al*. (2002) donde se analizó el ADN mitocondrial de razas exclusivamente ibéricas, se obtuvieron resultados similares (Lopes *et al*., 2005; Royo *et al*., 2005). Por un lado, el análisis del ADN mitocondrial del caballo Pura Sangre Lusitana puso de manifiesto que todos los caballos analizados de esta raza se distribuían en cuatro grupos mitocondriales diferentes, denominados A, B, C y D, los cuales presentaban frecuencias desiguales (Figura 6.5). El grupo A presentó una frecuencia mucho mayor que la de los otros tres grupos restantes, y se identificó con el previamente definido como haplogrupo D1 (Lopes *et al*., 2005).

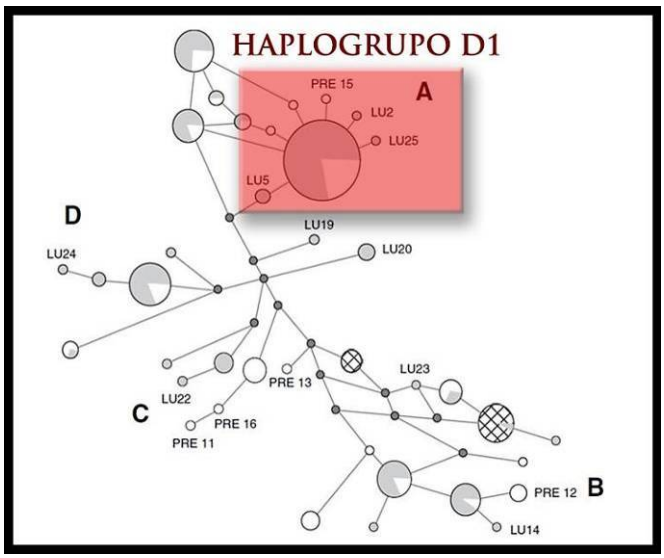


Figura 6.5. ***Principales haplogrupos reconocidos en los caballos Pura Sangre Lusitana***. Nomenclatura de los haplogrupos: A, B, C y D (Lopes *et al*., 2005). Se destaca sobre fondo rojo el haplogrupo A, que se corresponde con el haplogrupo D1 diferenciado por Jansen *et al*. (2002).

Por otro lado, en el análisis de una muestra de caballos de Pura Raza Española se pudieron diferenciar hasta cinco grupos mitocondriales (denominados con números romanos del I a V), los cuales también se caracterizaban por presentar frecuencias diferentes (Figura 6.6). El grupo que estaba constituido por más individuos era el denominado Ia, también identificado en su momento como haplogrupo D1 (Royo *et al*., 2005).

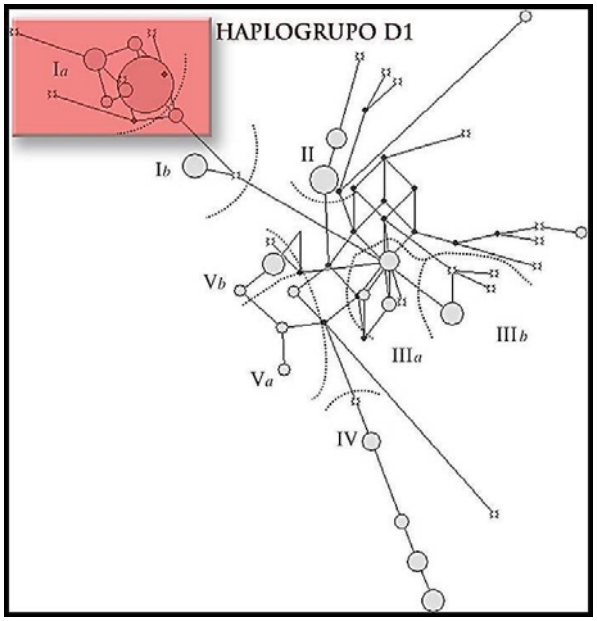


Figura 6.6. ***Principales haplogrupos reconocidos en los caballos Pura Raza Española***. Nomenclatura de los haplogrupos: Ia, Ib, II, IIIa, IIIb, IV, Va y Vb (Royo *et al*., 2005). Se destaca sobre fondo rojo el haplogrupo Ia, que se corresponde con el haplogrupo D1 diferenciado por Jansen *et al*. (2002).

De este modo, se comprobó que en dos de las razas de caballos más importantes de la península ibérica, el haplogrupo D1 (ahora incluido en el haplogrupo L) era el dominante. Esto permitía sugerir que este haplogrupo se había originado en la península ibérica, o podía haber

llegado a Iberia procedente del norte de África y, posteriormente, expandirse por el territorio peninsular.



Figura 6.7. ***Ejemplar de la raza Sorraia.*** Foto: Selona, imagen tomada de https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Altamiro,_Purebred_Sorraia_Stallion.jpg

En la búsqueda de los ancestros de los caballos domésticos ibéricos también se había propuesto, como un posible candidato, a la raza portuguesa Sorraia (Figura 6.7). Los caballos Sorraia fueron descubiertos en la década de los años 20 del siglo XX cerca de Coruche, entre los ríos Sor y Raia. La descripción morfológica de estos caballos destacó su morfología primitiva, sugiriéndose que pudiesen ser antepasados de algunas razas ibéricas (D'Andrade, 1945). La raza Sorraria se fundó en 1937 a partir de 12 individuos: cinco machos y siete hembras (Luís *et al*., 2002). Posteriores análisis genéticos pusieron de manifiesto que era una raza altamente endogámica (Oom y Cothran, 1994) y que, además, se distribuían en tres linajes maternos distantes entre sí denominados Azambuja, Cigana y Pomba (Luís *et al*., 2002; 2006a). Únicamente el linaje Pomba está asociado al haplogrupo D (Luís *et al*., 2006a), vinculado al haplogrupo D1 de Jansen *et al*. (2002) y que ahora forma parte del haplogrupo L de Achilli *et al*. (2012). (Figura 6.8)

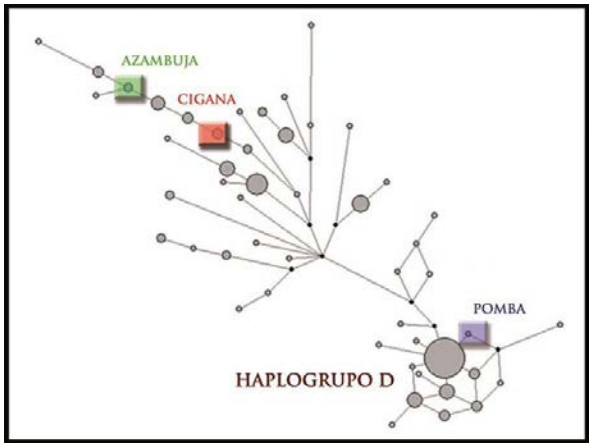


Figura 6.8. ***Principales haplogrupos reconocidos en los caballos Sorraia***. Nomenclatura de los haplogrupos: Azambuja, Cigana y Pomba (Luís *et al*., 2002; 2006a)

Además, también se ha sugerido que la raza Sorraia estaría emparentada con la raza Marismeña. Desde el año 2005, se considera a la Marismeña como una raza autóctona de las marismas del Guadalquivir. La vinculación con la raza Sorraia se ha concluido a partir del examen de determinados caracteres fenotípicos. La raza Marismeña comparte con la raza Sorraia la capa grulla – ratonera-, la raya de mulo, y las cebraduras. De este modo, se ha concluido que ambas razas serían los últimos representantes de una población primigenia (Sánchez Belda, 2012).

Debido a las características fenotípicas de la raza Sorraia, cabe recordar que a estos caballos se los ha considerado también como los posibles descendientes del cebro ibérico (Pascual, 2008), como se ha descrito en el Capítulo 5.

6.2.2. Estudios con ADN mitocondrial antiguo

Con la finalidad de conocer si el haplogrupo D1/L (Jansen/Achilli) estaba presente en caballos salvajes de la península ibérica que posteriormente pasaron a formar parte de las poblaciones domésticas, se han llevado a cabo análisis de ADN antiguo de muestras de diferentes cronologías. Un primer estudio analizó seis muestras asociadas cronológicamente al Pleistoceno superior, la Edad del Hierro, así como restos procedentes de la batalla de Aljubarrota, que tuvo lugar en territorio portugués en 1385 entre tropas portuguesas y castellanas. Ninguna de estas seis muestras se asoció con el haplogrupo D1/L y, en su lugar, aparecieron distribuidas entre los haplogrupos A (Seco Morais *et al*., 2007) definidos por Jansen *et al*. (2002).

El segundo estudio con ADN antiguo relacionado con este tema fue publicado por nosotros dentro del marco de investigación de esta tesis doctoral (Lira *et al*., 2010). En este estudio se analizó el ADN mitocondrial de 22 muestras de caballos de dos yacimientos diferentes. Dos de las muestras analizadas procedían del yacimiento de Cova Fosca (Ares del Maestre, Castellón) (ver *apartado 7.4.5* de esta investigación). Estas muestras se habían asociado al Neolítico, por estratigrafía y por datación directa de las propias muestras mediante radiocarbono: ~ 6200 ± 50 BP.; datos que, calibrados, correspondían a ~7200 – 7000 años cal BP. ó ~5300 – 5000 años cal. aC. (la relación completa de estas dataciones se encuentra en el *apartado 7.4.5*). Estas muestras se asociaron con caballos salvajes por criterios cronológicos y culturales, debido a que los caballos domésticos más antiguos aparecían fechados con unas

edades de ~3500 aC., y estaban asociados al Calcolítico del yacimiento de Botai (Kazajistán) (Outram *et al*., 2009).

Las 20 muestras restantes procedían del yacimiento del Portalón de Cueva Mayor (sierra de Atapuerca, Burgos) (ver *apartado 7.4.7* de esta investigación). Diecinueve muestras se habían asociado a la transición Calcolítico – Edad del Bronce, y a la Edad del Bronce (~3910 - 3370 BP, resultados que, calibrados, correspondían a unas fechas ~4500 – 3480 años cal. BP ó ~2500 - 1500 años cal. aC). La muestra restante se había asociado a la Edad Media por los resultados de radiocarbono ~ 1000 BP que, calibrado, correspondía a unas cronologías comprendidas entre los años 903 y 1155 (la relación completa de estas dataciones se encuentra en el *apartado 7.4.7*). Aunque la Edad del Bronce ha sido el periodo cultural que se ha establecido como el momento en el que se domesticó el caballo, para las muestras de la Edad del Bronce del yacimiento del Portalón todavía no se ha podido dar un resultado concluyente sobre su estado doméstico, aunque se ha sugerido que pudieran haber estado sometidas a algún tipo de control por grupos humanos (Castaños, 2005; Galindo-Pellicena, *et al.*, 2017b) (ver Capítulo 7*, apartado 7.4.7*).

Si el haplogrupo D1/L se hubiese domesticado en la península ibérica, lo esperado hubiese sido encontrar a los individuos salvajes de cronología neolítica en este haplogrupo, agrupados conjuntamente con los caballos de la Edad del Bronce, posiblemente en proceso de domesticación, junto al caballo medieval. Sin embargo, los resultados observados mostraron un patrón totalmente diferente.

De las 22 muestras analizadas, únicamente la muestra medieval apareció asociada al haplogrupo D1/L (Figura 6.9A). Las muestras restantes se distribuyeron en diferentes haplogrupos con distintas frecuencias. Una de las muestras neolíticas de Cova Fosca, y la mayoría de muestras de la Edad del Bronce, se asociaron al haplogrupo C de los caballos Lusitanos definido por Lopes *et al.* (2005) (Figura 6.5). Este haplogrupo se definió a partir de un número reducido de individuos de la raza Pura Sangre Lusitana y, en el trabajo de Lira, *et al*. (2010) aparecen asociados a este haplogrupo, además, caballos actuales de las razas Criolla Argentina y Paso Fino de Puerto Rico. La presencia de individuos de estas razas americanas en un haplogrupo con individuos de origen exclusivamente ibérico, corroboraba los registros históricos sobre el transporte de caballos ibéricos al Nuevo Mundo (Mirol *et al*., 2002; Luís *et al*., 2006b). Pero además, la presencia en el mismo haplogrupo de individuos neolíticos y de la Edad del Bronce junto a caballos americanos, apoyaba la propuesta realizada sobre la posible presencia de linajes maternos antiguos en algunas razas americanas (Mirol *et al*., 2002).

La otra secuencia neolítica se agrupó con otro caballo de la Edad del Bronce en un haplotipo nuevo, y las restantes muestras de la Edad del Bronce se situaron principalmente en los haplogrupos A6, A2 y cerca del haplogrupo C1, todos definidos en el trabajo de Jansen *et al.* (2002) (Figura 6.9A).

Los análisis de diversidad genética de los caballos de la Edad del Bronce pusieron de manifiesto que estos caballos presentaban una diversidad nucleotídica significativamente más baja que la obtenida para las muestras de caballos modernos y caballos antiguos con las que se habían comparado. El intervalo cronológico comprendido entre ~2500 - 1500 años cal aC de estas muestras permitió sugerir la posibilidad de que pertenecieran a una población que estuviese pasando por un cuello de botella, asociado a un evento de domesticación. Además, la presencia de caballos salvajes en el haplogrupo C de los caballos Pura Sangre Lusitana evidenciaba que en la península ibérica había tenido lugar, al menos, un proceso de introgresión de yeguas locales salvajes. Los caballos salvajes ibéricos habían pasado en algún momento a formar parte de las poblaciones caballares domésticas ibéricas y, posteriormente, representantes ibéricos de este haplogrupo fueron seleccionados para viajar a América y contribuir a la formación de algunas razas americanas (Lira *et al*., 2010).

El hecho de que, ni los caballos salvajes neolíticos, ni los caballos de la Edad del Bronce se hubiesen asociado en el haplogrupo D1/L, no descartaba completamente la hipótesis de que este haplogrupo fuera autóctono de la península ibérica, pero ofrecía más fuerza a la hipótesis alternativa de un origen en el norte de África y una entrada en Iberia con caballos domésticos durante tiempos históricos, desarrollándose posteriormente por el territorio peninsular.

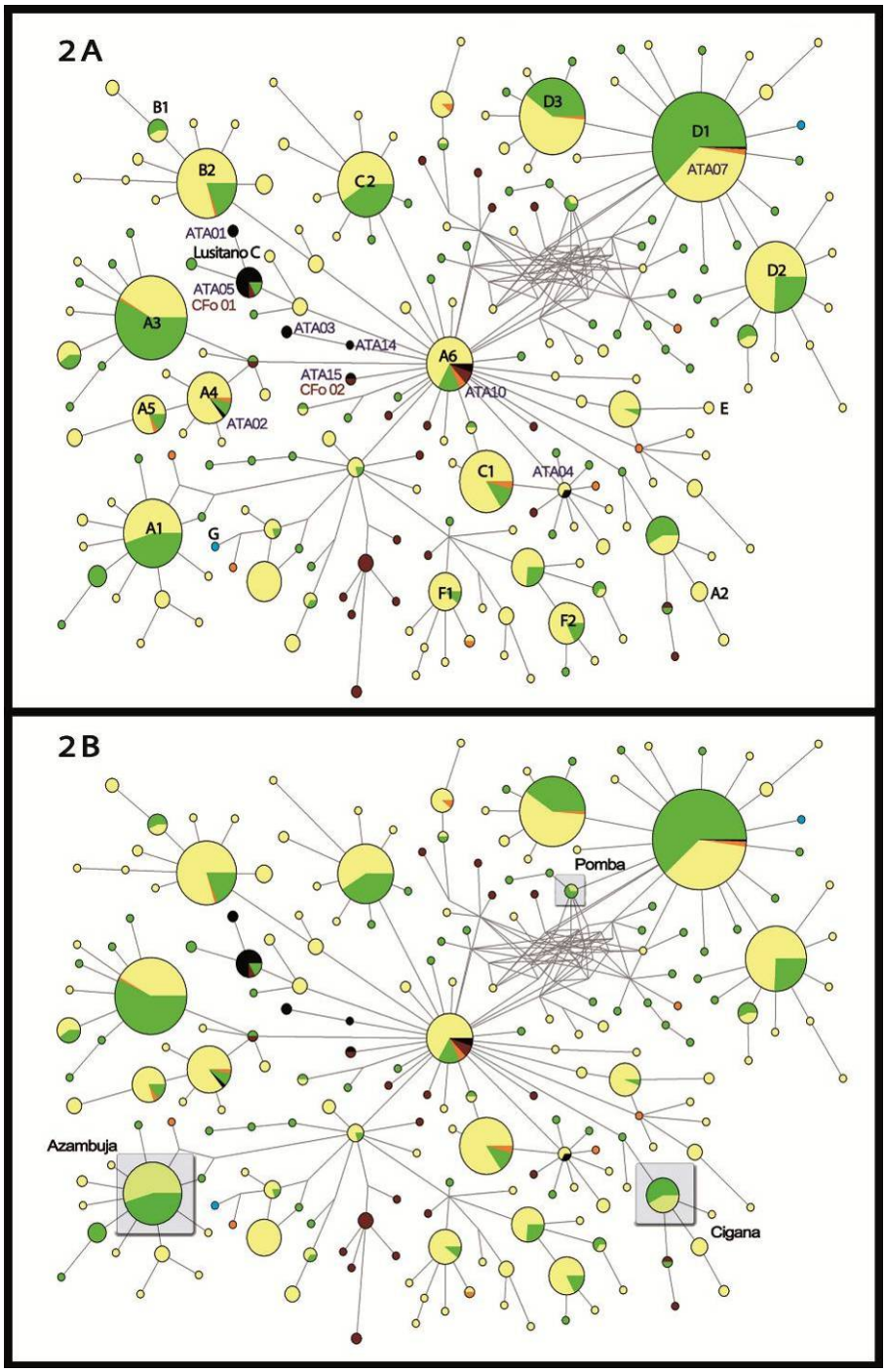


Figura 6.9. ***Distribución de muestras ibéricas antiguas en una red de haplotipos con 1156 secuencias de ADN mitocondrial***. *Color verde*: muestras modernas ibéricas o de origen ibérico, *color amarillo*: muestras modernas no ibéricas, *color marrón*: muestras de équidos salvajes pleistocenos y holocenos, *color naranja*: muestras prehistóricas o históricas de caballos domésticos, *color negro*: muestras de El Portalón y de Cova Fosca. **A)** Nomenclatura de los haplogrupos a partir de Jansen *et al*. (2002). En letras azules aparecen los nombres de algunas muestras de El Portalón. En letras marrones aparecen los nombres de las muestras de Cova Fosca. **B)** Distribución de los haplotipos Azambuja, Cigana y Pomba, característicos de los caballos de la raza Sorraia.

También se analizó de manera paralela, la posibilidad de que los linajes maternos Azambuja, Cigana y Pomba de la raza Sorraia pudiesen ser linajes ibéricos antiguos. Aunque se

descartó su asociación con los haplotipos de los caballos neolíticos y de la Edad del Bronce (Figura 6.9B), se observó que los linajes Azambuja y Pomba se relacionaban con caballos de época medieval. El linaje de Azambuja se asoció con uno de los caballos procedentes de la batalla de Aljubarrota, mientras que el linaje Pomba se asoció con el caballo medieval del Portalón de Cueva Mayor de la sierra de Atapuerca, en el haplogrupo D1/L. De este modo, se propuso la posibilidad de que esta raza se hubiera originado en la península ibérica en tiempos históricos (Lira *et al*., 2010).

Un estudio posterior corroboró los resultados de este trabajo. En este nuevo estudio se publicaron 85 secuencias de ADN mitocondrial de caballos de diferentes cronologías enmarcadas entre finales del Pleistoceno hasta época medieval, cuyos restos se habían recuperado en diferentes yacimientos repartidos por toda Eurasia (Cieslak *et al*., 2010). Se analizó la aparición, persistencia y extinción de los linajes maternos de los caballos en distintas regiones de Eurasia. Además, en este estudio también se propuso una nueva nomenclatura, que posteriormente se ha desaconsejado (Achilli *et al*., 2012).

Los análisis de diferenciación poblacional permitieron distinguir entre varias poblaciones principales, una de ellas relegada a la península ibérica. En relación al territorio peninsular, este estudio analizó 19 nuevas secuencias que abarcaban unas cronologías comprendidas entre 5500 - 4900 aC, asociadas por los autores al Mesolítico-Neolítico, hasta la Edad Media (Cieslak *et al*., 2010). Estas nuevas secuencias se analizaron junto a 20 de las 22 secuencias publicadas por Lira *et al*. (2010), excluyéndose en el análisis las dos secuencias procedentes de los caballos salvajes de Cova Fosca. Los resultados obtenidos corroboraron la presencia en Iberia del haplogrupo Lusitano C (renombrado como H1 según nueva nomenclatura de Cieslak *et al*., 2010), y de otros linajes de la Edad del Bronce identificados en Lira *et al*. (2010). Asimismo, reafirmó el origen histórico del haplogrupo D1/L (renombrado como X2 en este estudio) y se corroboró que la diversidad genética de las poblaciones ibéricas era bastante baja (Cieslak *et al*., 2010).

Varias de las muestras analizadas por Cieslak, *et al*. (2010) proceden de yacimientos que se han comentado en el apartado 4.1 *El caballo en la península ibérica durante el Holoceno*. Las muestras asociadas a niveles mesolíticos/neolíticos se recuperaron en Atxoste (Álava, País Vasco), Cova Fosca (Ares del Maestre, Castellón) y la cueva de la Vaquera (Segovia). Las muestras asociadas al Calcolítico se recuperaron en El Capricho (Madrid), Carmona (Sevilla), Las Pozas (Zamora) y Cueva Rubia – Valmayor (Madrid). Por su parte, las muestras asociadas a la Edad del Bronce procedían de Cueva Rubia– Valmayor (Madrid), El Acequión (Albacete),

Peñalosa (Jaén) y la Morra del Quintanar (Albacete). Las muestras de la Edad del Hierro se excavaron en La Mota (Medina del Campo, Valladolid) y el Soto de Medinilla (Valladolid), y la muestra medieval se recuperó en Mucientes (Valladolid). De un total de 45 muestras ibéricas analizadas, se obtuvo ADN mitocondrial de 19 de ellas. En ocasiones, el porcentaje de resultados asociado a determinados yacimientos fue bastante bajo. De hecho, de algunos yacimientos no se pudo obtener ningún resultado positivo, ninguna de las ocho muestras seleccionadas del yacimiento de Peñalosa (Jaén), ni tres de las cuatro muestras seleccionadas en el Soto de Medinilla (Valladolid), ofrecieron resultados positivos.

Por otro lado, estos resultados se han visto nuevamente confirmados por un reciente estudio realizado sobre 106 muestras antiguas de diferentes yacimientos ibéricos y del norte de África (Matoso Silva *et al*., 2015). Este estudio presentó los resultados genéticos de 33 muestras de équidos procedentes de Portugal, España, Argelia y Túnez (29% de éxito). Descartando las muestras que no pertenecían a *Equus ferus*/*Equus caballus* y otras muestras demasiado modernas, se representaron en un network casi 30 secuencias. Solo dos caballos pertenecían a finales del Pleistoceno, y procedían de la cueva de La Riera (Asturias). El resto estaban vinculados a distintos momentos culturales desde el Mesolítico hasta la Edad Media. En este análisis los caballos se distribuyeron en seis haplogrupos, y se puso de manifiesto la elevada presencia de individuos en el haplogrupo Lusitano C (26% de la muestra), documentado mayoritariamente en caballos ibéricos de la Edad del Bronce. En cambio, los representantes del haplogrupo D1/L aparecían a partir de la Edad del Hierro, siendo todas las muestras de este haplogrupo presumiblemente del norte de África (Matoso Silva *et al*., 2015). Asumiendo que todas las muestras del haplogrupo D1/L de este estudio son norteafricanas, este resultado reforzaría las sugerencias propuesta en Lira *et al*. (2010) sobre el origen alóctono del haplogrupo D1/L. Aunque este trabajo ha aumentado la información relativa al ADN antiguo de los caballos ibéricos, no ha ofrecido la información polimórfica de las secuencias recuperadas. Por este motivo, no hemos podido incluirlas en el estudio que aquí se presenta.

Tomando como base las conclusiones de nuestro estudio publicado y, utilizando una significativa cantidad de información inédita, los objetivos de la presente tesis doctoral relativos al estudio de la domesticación del caballo en la península ibérica son:

1. Investigar la antigüedad del haplogrupo D1 (integrado en el haplogrupo L) en la península ibérica.

2. Examinar la hipótesis de la raza Sorraia como tipo ancestral de algunas razas ibéricas modernas.

3. Explorar la existencia de otras posibles líneas maternas involucradas en la domesticación del caballo en Iberia que no se hayan considerado previamente con ADN moderno.

4. Analizar la variabilidad genética de líneas maternas de caballos pleistocenos y holocenos ibéricos.

5. Estudiar la dinámica en las fluctuaciones del tamaño efectivo de las poblaciones de caballos pleistocenos y holocenos ibéricos de los últimos 50.000 años.

6.3. Estudios genéticos sobre *Equus hydruntinus* previos a esta investigación

La identificación y clasificación filogenética de los miembros de la familia Equidae ha demostrado ser bastante compleja (Azzaroli, 1992). A este debate también han contribuido los análisis de ADN antiguo realizados durante los últimos años sobre especímenes de diferentes especies de Equidae (Orlando *et al*., 2003; 2006; 2008; 2009). Estos estudios han mostrado de manera reiterada una significativa inconsistencia entre las adscripciones taxonómicas a partir del análisis morfológico y los resultados obtenidos con el ADN antiguo.

Los estudios moleculares que se han llevado a cabo sobre *Equus hydruntinus* se han centrado mayoritariamente en el análisis de la región control del ADN mitocondrial (Orlando *et al*., 2006; 2009). Hasta la fecha (enero de 2017), se han analizado cuatro muestras: dos adscritas a *Equus hydruntinus* y otras dos determinadas como *Equus* cf. *hydruntinus* (Orlando *et al*., 2006; 2009). A este conjunto hay que añadir una veintena de secuencias genéticas asociadas a *Equus hemionus hydruntinus* publicadas en abril de 2017 (Bennett *et al*., 2017). Su vinculación con *Equus hydruntinus* se comentará al final de este apartado.

Una de las principales características de la región control del ADN mitocondrial de *Equus hydruntinus* es la presencia de una deleción de 28-29 pares de bases y considerada como sinapomorfía del clado constituido por *Equus kiang* / *Equus hemionus* / *Equus hydruntinus* (Orlando *et al*., 2006). Esta característica permite agrupar a estos taxones dentro del

subgénero *Hemionu*s, y diferenciarlos de otros équidos (Orlando *et al*., 2006) sin la necesidad de utilizar la información del gen del Citocromo *b*.

Las muestras analizadas de *Equus hydruntinus* proceden de los yacimientos de Kabazi II (Crimea) y de Scladina (Bélgica). La muestra DQ464009 (MM) recuperada de Kabazi II está asociada al Paleolítico Medio (MIS 3) (Burke *et al*., 2003; Orlando *et al*., 2006). Por su parte, la muestra GQ324610 (CH561) recuperada de Scladina, se ha datado en torno a 40.000 años BP. (Orlando *et al*., 2009).

Las muestras clasificadas como *Equus* cf. *hydruntinus* se han recuperado de los yacimientos de Sagzabad y Zagheh (ambos en Irán). La muestra DQ464012 (CH25) del yacimiento de Sagzabad se ha datado en torno a 1264 - 863 aC (Orlando *et al*., 2006). La muestra GQ324611 (TZ9) del yacimiento del yacimiento de Zagheh se ha datado entre el VII – VI milenio aC (Orlando *et al*., 2009).

Las secuencias de la región control del ADN mitocondrial de estas muestras de *Equus hydruntinus* y *Equus* cf. *hydruntinus* se compararon filogenéticamente con ejemplares caballinos y no caballinos de los taxones actuales del género *Equus* sp. (*Equus caballus,* caballos de Przewalski*, Equus asinus, Equus quagga, Equus grevyi, Equus zebra/Equus hartmannae, Equus hemionus* y *Equus kiang*), así como con ejemplares del género extinto *Hippidion* y de la especie extinta *Equus ovodovi*, entre otros (Orlando *et al*., 2006; 2009).

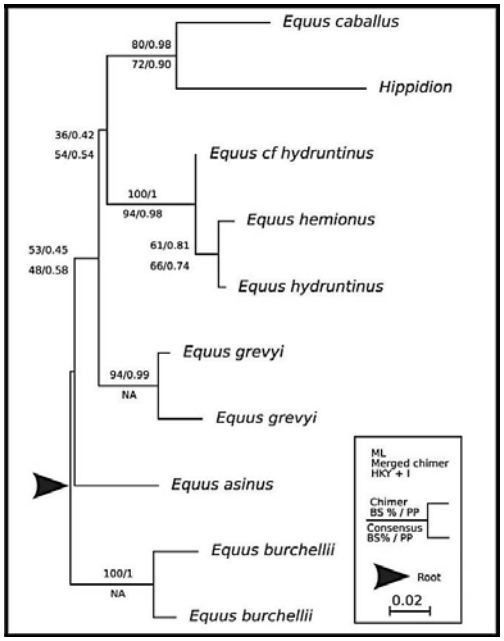


***Figura 6.10. Relaciones filogenéticas de* Equus hydruntinus *con otros representantes del género* Equus** [Figura tomada de Orlando *et al*. (2006)].

Con respecto al estatus taxonómico de *Equus hydruntinus*, los análisis genéticos con la región control del ADN mitocondrial han descartado la asociación filogenética de *Equus hydruntinu*s con las cebras o los asnos africanos (Orlando *et al*., 2006) (Figura 6.10). No obstante, los análisis filogenéticos no fueron concluyentes respecto a la relación de *Equus hydruntinus* con *Equus hemionus*. Por un lado, los primeros análisis filogenéticos que se realizaron con las muestras DQ464009 (MM) y DQ464012 (CH25), determinadas como *Equus hydruntinus* y *Equus* cf. *hydruntinus* respectivamente, mostraron a *Equus hydruntinus* como un grupo parafilético con respecto a *Equus hemionus* (Orlando *et al*., 2006) (Figura 6.10). Además, en los análisis de distancias genéticas intraespecíficas e interespecíficas se observó que la distancia genética existente entre *Equus hydruntinus* y *Equus hemionus* era similar al rango de variación intraespecífico observado tanto para *Equus caballus* como para *Equus quagga* (antes *Equus burchelli*). Estos resultados sugerían la posibilidad de que *Equus hemionus* y *Equus hydruntinus* fueran taxones conespecíficos en lugar de verdaderas especies (Orlando *et al*., 2006). El análisis posterior de las muestras GQ324610 (CH561) y GQ324611 (TZ9), también determinadas como *Equus hydruntinus* y *Equus* cf. *hydruntinus* respectivamente, no permitieron despejar estas dudas (Orlando *et al*., 2009).

Además, Orlando, *et al.* (2009) han destacado que los kiang (*Equus kiang*), los onagros (*Equus hemionus onager*) y los kulan (*Equus hemionus kulan*) actuales basan su diferenciación específica y su clasificación como especies o subespecies diferentes a partir de criterios de muy distinta categoría, como el color de la capa, la morfología, la distribución geográfica o el cariotipo y, sin embargo, los individuos de estas especies presentan muy baja diferenciación mitocondrial. Estas características han permitido sugerir que, aunque las diferencias entre *Equus hydruntinus* y *Equus hemionus* sean bajas, *Equus hydruntinus* podría ser una verdadera especie diferente de *Equus hemionus*, y que las relaciones filogenéticas obtenidas fueran el resultado de múltiples eventos de introgresión desde diferentes poblaciones de onagros o kulans a las poblaciones de *Equus hydruntinus* (Orlando *et al*., 2009). De este modo se podrían justificar las afinidades filogenéticas de las muestras clasificadas como *Equus* cf. *hydruntinus* con *Equus hemionus onager* y con *Equus hemionus kulan* (Orlando *et al*., 2009).

Hay un tercer trabajo donde se mencionan datos relativos al ADN mitocondrial de *Equus hydruntinus*. En el trabajo publicado por Geigl y Grange (2012) se describen y discuten los datos originales de un trabajo aún sin publicar (Champlot *et al*., en preparación, en Geigl y Grange, 2012), donde se analizaron genéticamente restos atribuidos a *Equus hydruntinus* y a *Equus hemionus*. Estos restos se habían recuperado en distintos yacimientos distribuidos por

España, Francia, Bélgica, Italia, Eslovaquia, Serbia, Rumania, Turquía, Georgia, República de Daguestán, Armenia, Siria e Irán, y se encuadraron en un marco temporal que abarca desde finales del Pleistoceno medio hasta momentos holocenos. En este trabajo se ha propuesto que uno de los haplogrupos identificados, constituido por unas 12 secuencias procedentes de muestras atribuidas a *Equus hydruntinus*, correspondería realmente a este taxón. Los autores proponen que este haplogrupo habría estado distribuido por el occidente europeo durante el Pleistoceno medio, y que sus últimos representantes habrían resistido hasta finales del Neolítico, confinados al sur de los Balcanes y la región de Turquía (Geigl y Grange, 2012). Otra posible alternativa que sugieren Geigl y Grange (2012) es que las poblaciones del occidente europeo se hubieran originado a partir de poblaciones ancestrales de Europa del Este y de Turquía.

Además, en el reciente trabajo de C. Nores *et al*. (2015), los autores ofrecen algunos resultados genéticos de un trabajo no publicado al que se refieren como Bennett *et al*. "unpublished data" y guarda relación con el trabajo aún sin publicar de Champlot *et al*. del párrafo anterior. Haciendo alusión a este trabajo, mencionan un metacarpo de *Equus hydruntinus* con más de 100.000 años de antigüedad y recuperado de la cueva de Artenac (Francia), cuyo ADN mitocondrial es característico de *Equus hemionus*.

Por último, recientemente (abril de 2017) se ha publicado un trabajo que guarda relación estrecha con los análisis aún no publicados y comentados en Geigl y Grange (2012) y en Nores *et al*. (2015). Este trabajo ha analizado la variabilidad genética durante los últimos 100.000 años de diferentes poblaciones antiguas, históricas y actuales de *Equus hemionus*, *Equus kiang* y supuestos *Equus hydruntinus*, a partir de muestras recuperadas en distintas regiones de Europa y el suroeste asiático (Bennett *et al*., 2017).

Bennett *et al*. (2017) han analizado la diversidad mitocondrial de las especies de asnos asiáticos *Equus kiang* y *Equus hemionus*, y de esta última se han considerado poblaciones de cuatro subespecies actuales y una subespecie ya desaparecida. Las subespecies actuales consideradas han sido *Equus hemionus hemionus* (el kulan de Mongolia o dziggetai), *Equus hemionus khur* (el khur de la India), *Equus hemionus kulan* (el kulan turcomano) y *Equus hemionus onager* (el onagro persa o iraní). La subespecie extinta considerada fue *Equus hemionus hemippus* (el asno salvaje sirio). Se analizaron 229 - 295 pares de bases de la región control de 121 muestras (57 muestras arqueológicas, 11 muestras históricas y 53 muestras actuales) a las que se sumaron 25 muestras de otras publicaciones (Bennett *et al*., 2017). Muchas muestras taxonómicamente asociadas a *Equus hydruntinus* ofrecieron ADN de caballo.

Otras en cambio, presentaron ADN que entraba dentro de la variabilidad del ADN mitocondrial de *Equus hemionus*. Con 26 de estas muestra se han diferenciado dos clados para *Equus hydruntinus*, denominados H1 (*n*=24) y H2 (*n*=2). Estas muestras proceden mayoritariamente de Turquía (*n*=19) y Rumania (*n*=4) y están temporalmente distribuidas entre el Neolítico y finales de la Edad del Bronce. Solo dos muestras son pleistocenas, proceden de Francia y cada una pertenece a un clado distinto. La del clado H1 es una muestra de ~13.000 años procedente de la cueva de Quéroy. La del clado H2 es la muestra de ~100.000 años de antigüedad procedente de la cueva de Artenac (Francia) y mencionada en Nores *et al*. (2015). La muestra restante de este conjunto pertenece a un *Equus hemionus* nacido en el zoológico de París en 1895 y que se engloba en el clado H2. Solamente se analizó una muestra ibérica en este trabajo, asociada a la Edad del Bronce, procedente de la Morra del Quintanar (Albacete) y, ofreció ADN de caballo. Entre las conclusiones de este estudio, se ha sugerido que *Equus hydruntinus* sea considerado como la subespecie *Equus hemionus hydruntinus* (Bennett *et al*., 2017).

Por todo lo expuesto anteriormente, para poder tener un conocimiento más preciso sobre la presencia de *Equus hydruntinus* en la península ibérica durante el Pleistoceno y en momentos holocenos, consideramos interesante y necesario presentar un estudio genético. No hay ningún resto asociado a la península ibérica, y sólo tres muestras antiguas que han ofrecido ADN son europeas, la muestra GQ324610 - CH561 procedente de Scladina (Bélgica) de Orlando *et al*. (2009), y las dos muestras pleistocenas de Bennett *et al*. (2017). Por ese motivo, consideramos la caracterización mitocondrial de individuos de poblaciones ibéricas del Pleistoceno superior como un objetivo prioritario. De este modo, se podrá comprobar si estas poblaciones presentan la deleción de 28-29 pares de bases considerada como sinapomorfía del clado constituido por *Equus kiang* / *Equus hemionus* / *Equus hydruntinus* (Orlando *et al*., 2006). Además, mediante la extracción y análisis del ADN de restos ibéricos holocenos determinados como *Equus hydruntinus*, se podrá constatar la pervivencia de este taxón en Iberia durante el Holoceno. Idealmente, una tercera fase consistiría en la obtención de algún resto orgánico atribuido inequívocamente al cebro. El análisis de su ADN permitiría caracterizar categóricamente a este animal, y confirmar si es cierto que fue un *Equus hydruntinus*.

En la presente tesis doctoral acometeremos el análisis de las dos primeras etapas, estructuradas de la siguiente manera:

1. Caracterizar el ADN mitocondrial de individuos pleistocenos ibéricos de la especie *Equus hydruntinus*, y realizar un análisis filogenético con estos especímenes.

2. Examinar la hipótesis de la persistencia de *Equus hydruntinus* en Iberia en momentos holocenos.

CAPÍTULO 7

Nada es más difícil que el arte de la maniobra. La dificultad en este terreno consiste en convertir un camino tortuoso en la vía más directa y en cambiar la mala suerte en ventaja.

Sun Tzu. *El arte de la Guerra*

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1. Protocolos de Laboratorio

Durante los últimos 30 años los estudios realizados en diferentes disciplinas como paleontología, arqueología, genética moderna o biología evolutiva se han visto complementados y enriquecidos con la información genética aportada por restos fósiles y subfósiles. Sin embargo, para poder desarrollar este tipo de investigaciones es necesario llevar a cabo la extracción del material genético bajo unas estrictas condiciones de muestreo.

El ADN antiguo es un tipo de material genético altamente degradado, que se ha visto sometido a diversos factores tafonómicos que han alterado su integridad y su estructura en mayor o menor medida (Hofreiter *et al*., 2001). Por ese motivo, el ADN antiguo se caracteriza por ser un tipo de ADN escaso, degradado y químicamente modificado (Päabo, 1989; Pääbo *et al*., 2004; Höss *et al*., 1996b).

Además, se ha comprobado que no en todos los yacimientos el ADN se preserva por igual. Los mejores ambientes para la recuperación de ADN antiguo han resultado ser aquellos que presentan temperaturas estables y que se caracterizan por ser fríos, como las regiones del permafrost, que además se caracterizan por tener poca humedad, y los yacimientos en cueva (Höss *et al*., 1996a; Willerslev *et al*., 2003; Shapiro *et al*., 2004). Entre los registros genéticos más antiguos documentados en el permafrost podemos destacar secuencias de ADN de cloroplastos con 400.000 – 300.000 años de antigüedad o secuencias de bacterias de 600.0000 – 400.000 años de antigüedad (Willerslev *et al*., 2003; 2004). De este tipo de ambientes proceden también las muestras que han permitido recuperar borradores de genomas nucleares como el de un équido de hace entre 870.000 - 560.000 años, procedente del Territorio del Yukón en Canadá (Orlando *et al*., 2013).

Se ha argumentado que en los territorios más meridionales la preservación del ADN es peor debido, sobre todo, a la acción de la temperatura (Smith *et al*., 2001). Sin embargo, en cuevas situadas en localizaciones más meridionales del Hemisferio Norte también ha sido posible recuperar ADN de los restos excavados en ellas, destacando el mitogenoma más antiguo relativo a un homínido recuperado de la Sima de los Huesos (sierra de Atapuerca, Burgos) y con una antigüedad en torno a 430.000 años (Meyer, *et al*., 2014), o secuencias de

ADN nuclear de dos individuos de esta misma población de homínidos de la Sima de los Huesos (Meyer *et al*., 2016).

Generalmente se ha propuesto que las piezas dentales son los elementos más aptos para realizar este tipo de análisis, debido a que la alta mineralización del esmalte ofrece a la muestra un extraordinario aislamiento hacia los factores ambientales (Gilbert *et al*., 2006). Por otra parte se ha demostrado mediante diversos experimentos de recuperación de ADN antiguo, que los extractos de ADN procedentes de las piezas dentarias presentan un rendimiento de amplificación más alto que aquellos extractos procedentes de hueso (Izagirre *et al*., 1998).

Sin embargo, también es posible obtener ADN a partir fragmentos postcraneales mediante técnicas de PCR convencionales (Krings *et al*., 1997). Además, los recientes estudios basados en secuenciación de alto rendimiento (Green *et al*., 2006), han puesto de manifiesto que los elementos postcraneales también pueden utilizarse para analizar información genómica. De hecho, las muestras croatas del yacimiento de Vindija que se han utilizado para la elaboración del borrador del genoma neandertal (Vi33.16, Vi33.25 y Vi33.26) han resultado ser fragmentos de hueso largo con escasa información taxonómica (Green *et al*., 2010).

La fiabilidad del resultado obtenido va a depender de la ausencia de contaminación en la muestra, tanto si es de procedencia dental, como craneal o postcraneal. La contaminación de la muestra con ADN moderno (humano o microorganismos, por ejemplo) puede enmascarar los resultados obtenidos, dando lugar a interpretaciones erróneas (Handt *et al*., 1994; Abbot, 2003; Green *et al*., 2006; Wall y Kim, 2007). Un extracto de ADN antiguo puede contaminarse incluso antes de haber sido extraído del fósil. Esto se debe a que el resto fósil del que se ha tomado la muestra que se ha usado para la extracción de ADN, puede haber estado en contacto con cualquier agente que haya provocado la contaminación. De hecho, los episodios de contaminación pueden empezar en el propio yacimiento, en la fase bioestratinómica, durante la fase fosildiagenética del fósil, o durante la excavación, potenciados por la presencia de los propios excavadores. Cualquier proceso de manipulación de la muestra posterior a la excavación, también puede suponer un riesgo para su contaminación. Se ha argumentado que los procesos de lavado y limpieza de los fósiles son fases críticas que potencian los episodios de contaminación (Sampietro *et al*., 2006). Por ese motivo, en algunas investigaciones centradas en la extracción y análisis de ADN antiguo de homínidos, se han desarrollado protocolos de excavación especiales para minimizar este riesgo, como los implementados en el yacimiento de neandertales de El Sidrón (Asturias, España), donde se ha excavado con las

mayores condiciones posibles de esterilidad (Fortea *et al*., 2008). Según este protocolo, los excavadores utilizaron trajes aislantes, máscaras, guantes, el material de excavación ha sido previamente tratado con hipoclorito sódico al 30%, y las muestras destinadas a ADN no son lavadas, se guardan en bolsas de plástico y se congelan a -20ºC hasta su llegada al laboratorio (Fortea *et al*., 2008). La aplicación de este protocolo ha permitido aumentar la cantidad de ADN endógeno recuperado de las muestras fósiles (Fortea *et al*., 2008).

7.1.1. El laboratorio de ADN antiguo

Las características propias del ADN antiguo han obligado a desarrollar una serie de protocolos de obtención de la muestra y de extracción del ADN que han de realizarse en laboratorios especialmente acondicionados. A su vez, el laboratorio es un espacio donde la muestra puede contaminarse, por lo que los laboratorios de extracción de ADN antiguo han de ser estancias donde únicamente se trabaje con ADN altamente degradado (Cooper y Poinar, 2000).

Las extracciones de ADN de las muestras utilizadas en nuestra investigación se han llevado a cabo en el laboratorio de ADN antiguo del Centro Mixto UCM-ISCIII de Evolución y Comportamiento Humanos de Madrid. Este laboratorio está especialmente diseñado para la extracción exclusiva de ADN antiguo. En estas instalaciones nunca se han realizado extracciones de ADN moderno, y únicamente han trabajado en este laboratorio los investigadores encargados de estudios con ADN antiguo. Además, este laboratorio se encuentra físicamente aislado de otros laboratorios de ADN moderno, así como de instalaciones de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa - *Polymerase Chain Reaction*) y post-PCR, medidas de seguridad recomendadas en diversos estudios (Fulton, 2012; Knapp *et al*., 2012).

La técnica de la PCR permite aumentar, de manera exponencial, el número de copias de la región genética de interés para poder proceder posteriormente a su secuenciación. Desde su publicación (Saiki *et al*., 1985), esta técnica se ha utilizado ampliamente en los estudios de ADN moderno y de ADN antiguo (Pääbo *et al*., 1989; Krings *et al*., 1997; Troy *et al.*, 2001; Vilà *et al*., 2001; Hofreiter *et al*., 2001; Jansen *et al*, 2002; Pääbo *et al*., 2004; Willerslev y Cooper, 2005). Pero en los estudios de ADN antiguo, donde la cantidad de ADN del extracto inicial puede ser muy baja, es extremadamente necesario que estas moléculas no estén mezcladas

con moléculas de ADN moderno, ya que la PCR amplificará también al ADN moderno. Además la productividad de la PCR también supone un gran riesgo de contaminación muestral.

Por ese motivo en esta investigación, las instalaciones donde se han realizado las amplificaciones de PCR y posteriormente se ha trabajado con el ADN ya amplificado (salas de post-PCR), han sido espacios localizados en edificios diferentes al del laboratorio de ADN antiguo (ver apartado *7.1.4. Estrategias de amplificación de ADN*).

Con la intención de minimizar cualquier episodio de contaminación, todas las máquinas y reactivos que se han utilizado en el laboratorio de ADN antiguo no han estado nunca en una instalación de PCR o post-PCR. Además, los investigadores que han trabajado en este laboratorio, nunca estuvieron previamente en una sala de PCR o post-PCR. Además, como se ha comprobado que incluso el propio investigador puede ser un foco de contaminación para la muestra (Kitchin *et al.,* 1990), todos los investigadores que han entrado en el laboratorio de ADN antiguo lo han hecho con trajes aislantes, máscaras y guantes de látex, para evitar que cualquier agente potencialmente contaminante accediese al fósil durante el proceso de obtención de la muestra y de extracción de ADN (Knapp *et al*., 2012) (Figura 7.1.1).



Figura 7.1.1. ***Equipamiento de los investigadores en el laboratorio de ADN antiguo del Centro Mixto UCM-ISCIII.***

Durante esta investigación, estas instalaciones se han sometido a protocolos estrictos de limpieza. Antes y después de haber realizado cualquier obtención de muestra de un resto fósil, o una extracción de ADN, las superficies de trabajo se han limpiado con hipoclorito sódico al 3-10%, agua y etanol al 70% para eliminar cualquier agente químico que pudiera dañar de manera potencial el ADN (Rohland y Hofreiter, 2007; Fulton, 2012; Knapp *et al*., 2012).

Estas medidas de seguridad se han acompañado con limpiezas semanales del laboratorio, y con la irradiación a diario del laboratorio con luz UVC (Ultravioleta de onda

corta) con una longitud de onda (λ =254 nm) (Knapp *et al*., 2012). El efecto de la luz UV complementa la acción desinfectante del hipoclorito sódico, generando diversas alteraciones en las moléculas de ADN de los posibles agentes contaminantes. La luz UV induce principalmente la formación de dímeros de pirimidina y los fotoproductos de 6 - 4 pirimidina pirimidona, impidiendo que el ADN irradiado se pueda amplificar mediante PCR (Ou *et al*., 1991).

7.1.2. Manipulación de los fósiles y preparación de reactivos

La luz UV también se ha utilizado para descontaminar todos los objetos, tampones y reactivos (excluyendo enzimas y oligonucleótidos) que han estado en contacto con los restos fósiles durante la obtención de la muestra y durante la extracción de ADN (Tamariz *et al*., 2006), manteniendo en todo momento tiempos de exposición adecuados para evitar efectos negativos en la amplificación del ADN endógeno (Burgess y Hall, 1999; Tamariz *et al*., 2006). Esta tarea se ha realizado con un Bio-Link tipo BLX, con λ =254 nm y un tiempo de exposición de 30 minutos (Kolman y Tuross, 2000).

Con la finalidad de evitar cualquier episodio de contaminación cruzada, la preparación de reactivos o etiquetado de tubos siempre se ha realizado antes de empezar a manipular los restos óseos (Rohland y Hofreiter, 2007).

En los trabajos con ADN antiguo todos los restos fósiles que se someten a extracción deben ser tratados de manera que se elimine de su superficie externa cualquier posible foco de contaminación con ADN foráneo (por ejemplo hongos, bacterias o ADN del personal investigador que lo ha manipulado desde su recuperación). Aunque en la actualidad todavía no hay ningún procedimiento que elimine la contaminación existente por completo (Rohland y Hofreiter, 2007), se han propuesto diferentes alternativas para minimizar el problema de la contaminación. Este proceso se puede llevar a cabo eliminando la superficie del hueso en la zona donde se va a realizar la obtención de la muestra (Rohland y Hofreiter, 2007), exponiendo la muestra a diversos productos químicos, como hipoclorito sódico (Kolman y Tuross, 2000), irradiando la superficie externa del fósil con luz UV (Oota *et al*., 1999), o mediante una combinación de estos métodos (MacHugh *et al*., 2000; Gilbert *et al*., 2006).

En esta investigación, previo al muestreo de los restos faunísticos, todos los fósiles y subfósiles que se han analizado se sometieron a irradiación UV de su superficie (λ =254 nm)

durante 1 minuto, utilizando el Bio-Link antes comentado (Lira *et al*., 2010). De este modo, se ha procurado impedir la replicación de ADN de cualquier forma de vida que estuviese en la superficie externa de la pieza, pero sin llegar a dañar el propio material genético de la misma.



Figura 7.1.2. ***Obtención de una muestra a partir de un resto fósil*.**

Una vez finalizada la irradiación, se realizó sobre los restos faunísticos una intervención no reversible con un taladro tipo DREMEL® 200 Series, utilizando brocas con un diámetro de trabajo de 1,6 mm (Figura 7.1.2). La obtención de la muestra se realizó en una zona aislada del laboratorio, bajo campana de protección (Figura 7.1.3). Previamente al proceso de obtención de la muestra, la campana de protección se limpiaba con hipoclorito sódico diluido y alcohol, e irradiaba con luz UVC interna. Para evitar cualquier episodio de contaminación cruzada, cada resto faunístico se manipuló de manera individual dentro de la campana.

Hasta que no se obtenía la muestra, se pesaba, se etiquetaba, se guardaban la muestra y y el resto fósil que se había manipulado, no se comenzaba a trabajar con el siguiente resto faunístico. Una vez finalizada la obtención de cada muestra, la campana de protección y el taladro se volvían a limpiar con hipoclorito sódico y etanol antes de proceder a trabajar con un nuevo resto faunístico (Rohland y Hofreiter, 2007). Además, cada resto faunístico se manipuló con una pareja de guantes de látex nueva.

La limpieza y descontaminación de las brocas se ha realizado con baños de ultrasonido, seguidos de tratamientos con HCl diluido, agua, y etanol. Posteriormente, las brocas se han irradiado durante 30 minutos a una λ =254 nm.



Figura 7.1.3. ***Campana de protección destinada a las labores de obtención de las muestras***.

Para los restos de équidos se obtuvieron unas cantidades promedio de 150 mg. Para los restos faunísticos utilizados como control de extracción, la cantidad de muestra obtenida varió en función del tipo de fósil utilizado.

Una vez obtenida la muestra, y siguiendo unos estrictos criterios de autentificación para secuencias de ADN antiguo (Handt *et al*., 1994; Cooper y Poinar, 2000; Hofreiter *et al*., 2001; Pääbo *et al*., 2004), se ha llevado a cabo la extracción del material genético utilizando dos protocolos desarrollados para este fin.

7.1.3. Protocolos de extracción de ADN antiguo

Una vez ha muerto un organismo, diversos procesos químicos pueden actuar sobre las moléculas de ADN, fragmentando el esqueleto azúcar-fosfato, alterando o eliminando bases nitrogenadas, o generando uniones intermoleculares. El resultado final se traduce en una reducción significativa de la longitud de las moléculas de ADN que se pueden amplificar (Campos *et al*., 2012). Además, diversos factores pueden actuar sobre esta tasa de degradación molecular, comprometiendo la presencia de ADN en los restos biológicos (Tuross, 1994). Entre estos factores se han destacado el contenido en sales del sedimento, el pH del

medio donde el organismo esté enterrado, la exposición del organismo a radiación, la presencia en el medio de oxígeno, de agua o la temperatura, considerándose este último factor como el más relevante para la persistencia de moléculas de ADN antiguo en un resto biológico (Campos *et al*., 2012). La acción conjunta de estos factores aumenta la degradación del material genético, incluso en mayor medida que el tiempo de enterramiento transcurrido (Pääbo, 2004), reflejando su acción directamente sobre la cantidad y calidad de las moléculas que se pueden recuperar.

Además, los restos óseos y los dientes pueden contener sustancias inhibidoras de la PCR, que se pueden extraer en paralelo al material genético, y posteriormente interferir en el proceso de amplificación de ADN (Rohland y Hofreiter, 2007).

Por lo tanto, el bajo número de moléculas de ADN antiguo que se pueden rescatar y su frágil estado, unido a la posible presencia de sustancias inhibidoras de la acción de la polimerasa, han determinado el desarrollo de diversos métodos de extracción ADN antiguo. Las características de estas moléculas de ADN han provocado que los métodos desarrollados para la extracción de ADN antiguo eviten utilizar temperaturas muy elevadas o detergentes muy agresivos (Rohland y Hofreiter, 2007), maximizando la recuperación de ADN endógeno de los restos biológicos, degradando este ADN lo menos posible, y evitando extraer en paralelo posibles sustancias inhibidoras de la PCR.

Esta investigación se ha llevado a cabo desarrollando dos métodos de extracción de ADN. Todas las muestras que se presentan en ese estudio se trataron con el Protocolo de extracción número 1 y, además, un subconjunto de las mismas se sometió al Protocolo de extracción número 2 (Anderung, *et al*., 2008).

7.1.3.1. Protocolo de extracción número 1

El método de extracción que más hemos utilizado en esta investigación (Yang *et al.*, 1998; Bowman y Brown, 2002), maximiza la liberación del ADN a partir del uso de EDTA junto a la enzima proteinasa *K* (Rohland y Hofreiter, 2007). La posterior purificación de los extractos de ADN se basa en la gran capacidad de adsorción que presentan las partículas de sílice o silica por el ADN (Höss y Pääbo, 1993), utilizando dispositivos de ultrafiltración (Yang *et al.*, 1998).

Este protocolo permite realizar la extracción de un conjunto de 8 – 12 muestras en dos días. Se caracteriza por necesitar un equipo de laboratorio mínimo, muy pocos reactivos y se

puede ajustar a diferentes cantidades de muestra. Además, permite una mínima manipulación de las muestras.

Este protocolo permite obtener un extracto de ADN libre de inhibidores (Barrio-Caballero, 2013).

Durante los procesos de extracción las muestras se acompañaron, al menos, de un control negativo o blanco de extracción, que contenía la solución de extracción pero sin ningún tipo de muestra. Este blanco se trató de manera idéntica que al resto de muestras durante todo el proceso, con la finalidad de monitorizar cualquier evento de contaminación cruzada o contaminación de alguno de los reactivos durante la extracción (Rohland y Hofreiter, 2007).

Reactivos utilizados

- *Tampón de extracción: 0,5 M EDTA (pH 8); Urea 1M*
- *Proteinasa K*
- *Tampón PB: Guanidine hydrochloride, Isopropanol*
- *Tampón PE: Etanol (96-100)%*
- *Tampón EB: 10mM Tris.Cl (pH 8,5)*

Fase de desmineralización

En esta fase inicial del protocolo, aplicamos sobre la muestra el *Tampón de extracción* y la proteinasa *K*, e incubamos el conjunto a 55°C durante 5 - 6 horas. El EDTA es un quelante iónico, actúa atrapando las sales iónicas de la muestra, como el calcio de los huesos. La enzima proteinasa *K* cataliza la hidrólisis de las proteínas de la muestra. La digestión proteínica se debe llevar a cabo en presencia de EDTA a un pH entre 4,3 - 12. La urea además, potencia la desnaturalización de proteínas.

Los siguientes volúmenes son para muestras de ~150 mg:

1. Se añaden a la muestra 1000 μl de tampón de extracción (900 μl de EDTA y 100 μl de Urea) y 5 μl de proteinasa *K* (100 μg).
2. Se mezcla la muestra y se incuba a 55 °C durante 5 - 6 horas con agitación constante.
3. Se centrifuga la muestra a 2000 rpm durante 5 minutos.

Fase de concentración y purificación del ADN

Tras la desmineralización de la muestra y su posterior centrifugación, se recogerá el sobrenadante que contendrá las moléculas de ADN y otros solutos. Este paso del protocolo consistirá en eliminar esos solutos y concentrar las moléculas de ADN antiguo. Este protocolo utiliza las columnas de centrífuga que ya tienen incorporada una suspensión de sílice, comercializadas por *QIAquick Company,* y disponibles en el *QIAquick PCR Purification Kit.* Estas columnas están originalmente diseñadas para purificar los productos de PCR, capturando fragmentos con una longitud comprendida entre 100 pb y 10 Kb, y excluyendo el sobrenadante que quedará retenido en los tubos de microcentrífuga a los que las columnas van asociados. Este rango de tamaños de los fragmentos hace perfectamente accesible el uso de estas columnas para la recuperación de ADN antiguo ya que, al ser una molécula degradada, su recuperación no permite encontrar fragmentos con una longitud mayor a 250 pb (Yang, *et al*., 1998).

La adsorción del ADN a la membrana de sílice tiene lugar en condiciones de altas concentraciones de sales con capacidad caotrópica en medio acuoso, a un pH menor o igual a 7,5. La solución de unión PB se encarga de optimizar la afinidad del ADN al sílice. Por su parte, la solución PE lava todos aquellos componentes que no se han unido a la membrana de sílice. Por último, la elución del ADN se produce en un medio con concentraciones muy bajas de sal y un pH comprendido entre 7 y 8,5. Este proceso se desarrolla bajo la acción del tampón de elución EB (QIAGEN, 2008).

Los pasos del protocolo son los siguientes:

1. Se transfiere el sobrenadante a tubos Amicon^{R} Ultra-4 con membrana para retener solutos de 30 KDa. Se procede a la filtración con centrífuga con rotor de cabezal basculante a 4000 x *g* durante 12 minutos.
2. Se transfiere el concentrado (~100 μl) a microtubos y se añade la solución de unión o tampón PB a un volumen 5 veces superior al del sobrenadante.
3. Se mezcla la muestra y se transfiere a las columnas de centrifugado *QIAquick PCR Purification Kit*.
4. Se centrifuga a 14.000 rpm durante 1 minuto y se elimina el sobrenadante que ha pasado a través de la columna
5. Se lava el ADN añadiendo a la columna 720 μl de solución de lavado o tampón PE.

6. Se centrifuga a 14.000 rpm durante 1 minuto y se elimina el sobrenadante que ha pasado a través de la columna.
7. Se vuelve a centrifugar la columna a 14.000 rpm durante 1 minuto. Este paso se realiza para asegurar que el ADN queda bien lavado, y que no haya etanol que pueda interferir en posteriores reacciones enzimáticas.
8. Se transfiere la columna a nuevos tubos de microcentrífuga y se añade a la columna 25 μl de solución de elución o tampón EB a 60-65°C para eluir el ADN retenido en la solución de sílice. Se incuba a temperatura ambiente durante 1 minuto.
9. Se centrifuga la columna a 14.000 rpm durante 1 minuto y se guarda el sobrenadante, que contendrá las moléculas de ADN.
10. Se vuelve a añadir a la columna otros 25 μl de tampón EB y se repite la incubación y la centrifugación de la muestra.
11. Se recupera el sobrenadante, que se junta con el obtenido en el paso nº 9.

De este modo, debido a la gran afinidad de las partículas de silica por el ADN, todo lo que no se ha unido a la suspensión de silica no será recogido en la fase final. Este método permite obtener extractos de ADN libres de inhibidores, que serán utilizados en posteriores amplificaciones.

7.1.3.2. Protocolo de extracción número 2

Este segundo método se caracteriza por la hibridación del ADN con sondas biotiniladas, y su posterior purificación del resto de componentes del extracto mediante separación magnética (Tofanelli *et al.*, 1999).

Este protocolo permite realizar la extracción de un conjunto de 12 muestras en 2 ó 3 días. Se necesita un contenedor magnético para poder realizar la purificación del ADN, muy pocos reactivos y se puede ajustar a diferentes cantidades de muestra. A diferencia del protocolo anterior, este protocolo implica un gran número de pasos durante el proceso de extracción de ADN.

Este método origina un extracto de ADN extremadamente puro y libre de sustancias inhibidoras, debido a que sólo contiene los fragmentos ligados a las sondas biotiniladas (Anderung *et al*., 2008; Barrio-Caballero, 2013).

Además, este método permite reutilizar el extracto de ADN principal con sondas específicas de otros marcadores moleculares (Anderung *et al*., 2008).

Como en el protocolo anterior, durante los procesos de extracción las muestras se acompañaron, al menos, de un control negativo, que contenía la solución de extracción pero sin ningún tipo de muestra. Este blanco se trató de manera idéntica que al resto de muestras durante todo el proceso de extracción, con la finalidad de monitorizar cualquier evento de contaminación cruzada o contaminación de alguno de los reactivos (Rohland y Hofreiter, 2007).

Reactivos utilizados:

- *Enzima Collagenase Type I Sigma C0130*
- *Tampón colagenasa: [10mM Tris HCl (pH 7), 2 mM EDTA y 10mM NaCl]*
- *Tampón de extracción: 250 mM K_2PO_4, neutralizado a pH 6,5 con ácido fosfórico*
- *Tampón de unión y lavado: 1M NaCl, 5mM Tris-HCl (pH7), 0,5 mM EDTA*
- *Tampón PCR: Tris.Cl, KCl, $(NH_4)_2SO_4$, 15mM $MgCl_2$; pH 8,7 (20° C)*

Digestión celular:

Se elimina el colágeno que se encuentra en la muestra para poder acceder a las moléculas de ADN antiguo. El colágeno es la proteína más abundante de los dientes y del hueso, y se encuentra estructurada en forma de una molécula de triple hélice. La eliminación de esta proteína se realiza con la enzima colagenasa.

1. A una muestra de ~150 mg se le añade 1ml de tampón colagenasa y 4 mg de enzima colagenasa (Collagenase Type I Sigma C0130).
2. Se mezcla la solución y se incuba a 37 ℃ durante 12 horas con agitación constante.

Liberación de la molécula de ADN:

Una vez eliminado el colágeno, el siguiente paso consiste en separar el ADN de los cristales de hidroxiapatita de la fracción inorgánica del hueso o del diente (Campos *et al*.,

2012). Esta liberación se realiza utilizando soluciones iónicas que compiten con la hidroxiapatita por los sitios de unión del ADN (Persson, 1992; Götherström y Lidén, 1996), de manera que la hidroxiapatita se asocie a estos iones y libere a las moléculas de ADN. La solución utilizada para liberar el ADN de los cristales de hidroxiapatita es el tampón PO_4^{2-}.

1. Se centrifuga la muestra a 6000 rpm durante 5 minutos.
2. Se desecha el sobrenadante y se lava la muestra con 500 μl de ddH_2O (Sigma). Se mezcla el contenido y se vuelve a centrifugar a 6000 rpm durante 5 minutos.
3. Eliminamos el sobrenadante y se añade 500 μl de tampón PO_4^{2-} 0,25 M.
4. Se mezcla el contenido y se incuba 60 minutos a temperatura ambiente con agitación constante.
5. Se centrifuga la muestra a 2000 rpm durante 5 minutos y se guarda el sobrenadante.

Concentración del ADN

Este paso del protocolo consiste en reducir el volumen y eliminar residuos que puedan inhibir las reacciones enzimáticas posteriores. Para este propósito utilizaremos los filtros Microcon Centrifugal Filter Device YM-30 (Millipore) que tienen una membrana hidrofílica y anisotrópica. El proceso consiste en un ultrafiltrado de la solución que contiene el ADN, provocando una separación de moléculas en torno a 30 KDa, (límite del tamaño de poro de la membrana). La membrana retiene los macrosolutos (incluyendo a las moléculas de ADN), eliminándose el resto de solutos de menor peso molecular que atraviesan los poros de la membrana.

1. Se aplica la muestra a los filtros Microcon YM-30 y se centrifuga a 14.000 rpm durante 12 minutos.
2. Se lavan los filtros con tampón de unión y lavado (480 μl) y se vuelve a centrifugar la muestra a 14.000 rpm durante 12 minutos.
3. Se coloca el filtro Microcon YM-30 invertido sobre nuevos viales especiales de ultrafiltrado y se centrifuga a 2000 rpm durante 3 minutos.
4. Se añade al nuevo vial 480 μl de tampón de unión y lavado.

Hibridación de la muestra

En este paso del protocolo utilizamos sondas biotiniladas que unimos a las cadenas de ADN, delimitando la región de estudio.

1. Se añade 0,1pmol de cada sonda (Tabla 7.1.1).
2. Se desnaturalizan las moléculas de ADN aplicando calor (100 °C) durante 15 minutos.
3. Se deja que las muestras alcancen la temperatura ambiente para que las sondas hibriden con sus regiones complementarias.

Tabla 7.1.1. ***Sondas biotiniladas utilizadas con el protocolo de extracción de ADN número 2.***

SONDAS	SECUENCIA
H1R	5´ biotin ACA TGC TTA TTA TTC ATG G 3´
H2R	5´ biotin TGT TGA CTG GAA ATG ATT TG 3´
H2F	5´ biotin CCC ACC TGA CAT GCA ATA T 3´

Purificación del ADN

En esta fase se capturan las sondas biotilinadas hibridadas a las cadenas de ADN antiguo, utilizando microperlas imantadas (Dynabeads ® M-280). Las microperlas se añaden a la muestra y se unen las sondas biotiniladas por acción magnética. Este proceso se lleva a cabo utilizando un contenedor magnético *Dynal Magnetic Particle Concentrator*.

1. A los viales que contienen tampón de unión y lavado (200 μl) en el *Dynal Magnetic Particle Concentrator*, se les añade 0,083 mg de Dynabeads ® M-280 y se agitan los viales durante 5 - 10 segundos.
2. Se elimina el tampón, se lavan los Dynabeads ® M-280 con otros 200 μl de tampón de unión y lavado y se agitan los viales durante 5 - 10 segundos.
3. Se elimina el tampón y se añade a los viales la muestra de ADN.
4. Se retiran los viales del *Dynal Magnetic Particle Concentrator*, dejando a los Dynabeads ® M-280 en contacto con la muestra durante 15 minutos.
5. Se vuelven a colocar los viales en el *Dynal Magnetic Particle Concentrator.* Se retira la muestra de los viales, se añaden 200 μl de tampón de unión y lavado y se agitan los viales durante 5 – 10 segundos.
6. Se elimina el tampón de unión y lavado, se lavan los Dynabeads ® M-280 con otros 200 μl de tampón de unión y lavado, y se agitan los viales durante 5 – 10

segundos. Con este proceso de lavado se retira del sobrenadante cualquier tipo de residuos que puedan interferir en el proceso de amplificación.

7. Se elimina el tampón de unión y lavado, y se añade 100 μl de tampón PCR 1X a los viales con los Dynabeads ® M-280.
8. Se centrifugan los viales a 2000 rpm durante 3 minutos.
9. Se elimina el tampón PCR y se resuspende el ADN en 40 μl de ddH_2O (Sigma).

7.1.4 Estrategias de amplificación de ADN

La región genética analizada en esta investigación está comprendida entre las posiciones nucleotídicas 15.444 – 15.842 de la Región Hipervariable I (HVR-I) del ADN mitocondrial de *Equus caballus* (posiciones relativas a la nueva secuencia de Referencia para *Equus caballus* JN398377, Achilli *et al*., 2012, excluyendo cebadores). Esta región no codificante se encuentra comprendida entre el gen tRNA-Pro y el principal bloque de secuencia conservadora, y es la porción más variable de la región control del ADN mitocondrial de los mamíferos (Ishida *et al*., 1995).

Esta región genética se ha estudiado en numerosos trabajos que han analizado la diversidad genética de los caballos de manera global (Vilà *et al*, 2001, Jansen *et al*., 2002, McGahern *et al*., 2006a; Cieslak *et al*., 2010) y, de manera particular, en el análisis de razas concretas (Mirol *et al*., 2002; Lopes *et al*., 2005; Royo *et al*., 2005). Además, esta misma región también ha sido ampliamente utilizada en estudios con ADN antiguo (Di Bernado *et al*., 2004; Keyser-Tracqui *et al*., 2005; Weinstock *et al*., 2005; McGahern *et al*., 2006b; Lira *et al*., 2010).

7.1.4.1. Relación de cebadores y programas de PCR utilizados en la amplificación de ADN mitocondrial de Equus ferus / Equus caballus*.*

Para la amplificación de la región diana hemos utilizado cebadores diseñados en otros trabajos, así como cebadores diseñados por nosotros mismos (Tabla 7.1.2). Los cebadores 15.425F y 15.862R fueron diseñados por Marklund *et al*. (1995), y posteriormente han sido utilizados por otros investigadores (Vilà *et al*., 2001). Los cebadores 15.625R, 15.546F, 15.708R y 15.668F fueron diseñados por Vilà *et al*., (2001). Los números de estas posiciones nucleotídicas hacen referencia al primer nucleótido del extremo 5’ del cebador.

La pareja de cebadores 15.537F – 15.728R fue diseñada por nosotros para esta investigación (Tabla 7.1.2), así como todos que aparecen en la Tabla 7.1.3, excluyendo 15.425F y 15.862R, comentados en el párrafo anterior.

Los cebadores que hemos utilizado amplifican fragmentos genéticos de diferente tamaño. Los cebadores de la Tabla 7.1.2 amplifican fragmentos comprendidos entre 163 – 201 pares de bases (con cebadores incluidos). Los cebadores de la Tabla 7.1.3 amplifican para fragmentos ligeramente más pequeños, entre 96 – 130 pares de bases (cebadores incluidos). Este otro conjunto de cebadores se diseñó para tratar muestras con las que no se pudiera amplificar ADN con los cebadores de la Tabla 7.1.2, debido seguramente que su ADN se encontraba más degradado. Este conjunto de cebadores se pudo probar con material procedente de varios yacimientos.

Debido a las características inherentes a las moléculas de ADN antiguo, la estrategia que hemos adoptado para estudiar la región comprendida entre las posiciones nucleotídicas 15.444 – 15.842 de HVR-I ha consistido en generar diferentes fragmentos genéticos solapantes. Estos fragmentos nos han permitido diferenciar la zona de estudio en tres regiones diferentes. Para los cebadores de la Tabla 7.1.2, la región 1 se ha amplificado con los cebadores 15.425F y 15.625R. La región 2 se ha amplificado con las parejas de cebadores 15.546F - 15.708R y 15.537F – 15.728R. La región 3 se ha amplificado con la pareja de cebadores 15.668F y 15.862R (Figura 7.1.4).

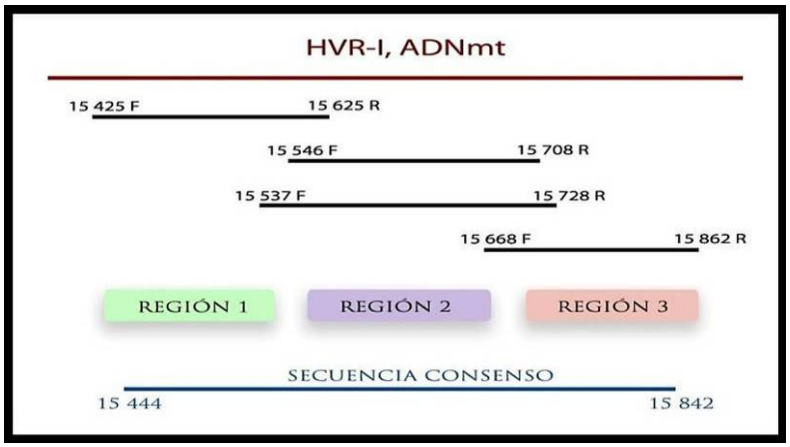


Figura 7.1.4. ***Estrategia de amplificación con los cebadores de la Tabla 7.1.2.*** La longitud de la secuencia consenso aparece representada sin los cebadores.

Para los cebadores de la Tabla 7.1.3, la región 1 se ha amplificado con las parejas de cebadores 15.425F – 15.520R y 15.470F – 15.583R. La región 2 se ha amplificado con las parejas de cebadores 15.542F – 15.660R y 15.608F – 15.708R. La región 3 se ha amplificado con las parejas de cebadores 15.668F – 15.770R y 15.733F – 15.862R (Figura 7.1.5).

Tabla 7.1.2. ***Relación de cebadores que amplifican fragmentos de ADN mitocondrial de HVR-I de*** **Equus caballus** ***con tamaños comprendidos entre 163 – 201 pares de bases.*** Se presentan también las temperaturas de anillamiento.

FRAGMENTO DE LA REGIÓN CONTROL	FORWARD (5')	TAMAÑO FORWARD	REVERSE (5')	TAMAÑO REVERSE	LONGITUD (pb)	POSICIONES ENTRE LOS CEBADORES	LONGITUD SIN CEBADORES (pb)	Tª ANILLAMIENTO (ºC)
1	(15425F) GCC ATC AAC TCC CAA AGC T	19	(15625R) ACA TGC TTA TTA TTC ATG G	19	201	15444 - 15606	163	50
2	(15546F) CCC ACC TGA CAT GCA ATA T	19	(15708R) TGT TGA CTG GAA ATG ATT TG	20	163	15565 - 15688	124	50
	(15537F) AAC ACC ATA CCC ACC TGA C	19	(15728R) AAC ATG GGT TGT GAT ATG CG	20	192	15556 - 15708	153	50
3	(15668F) TCG TGC ATA CCC CAT CCA A	19	(15862R) CCT GAA GTA GGA ACC AGA TG	20	195	15687 - 15842	156	50

Tabla 7.1.3. ***Relación de cebadores que amplifican fragmentos de ADN mitocondrial de HVR-I de*** **Equus caballus** ***con tamaños comprendidos entre 96 - 130 pares de bases.*** Se presentan también las temperaturas de anillamiento.

FRAGMENTO DE LA REGIÓN CONTROL	FORWARD (5')	TAMAÑO FORWARD	REVERSE (5')	TAMAÑO REVERSE	LONGITUD (pb)	POSICIONES ENTRE LOS CEBADORES	LONGITUD SIN CEBADORES (pb)	Tª ANILLAMIENTO (ºC)
1	(15425F) GCC ATC AAC TCC CAA AGC T	19	(15520R) TGA TAC TGA CAT AGC ACA TGA G	22	96	15444 - 15498	55	48
	(15470F) TTT CTT CCC CTA AAC GAC AAC	21	(15583R) TAC ATA GGC CAT TCA TAA GAT A	22	114	15491 - 15561	71	48
2	(15542F) CAT ACC CAC CTG ACA TGC AA	20	(15660R) TAT AAT GTA CYT ATG TAA GAT AAA T	25	119	15562 - 15635	74	50
	(15608F) CAT GAA TAA TAA GCA TGT ACA TAA	24	(15708) TGT TGA CTG GAR ATG ATT TGA C	22	101	15632 - 15686	55	52
3	(15668F) TCG TGC ATA CCC CAT CCA A	19	(15770R) GAG GGT TGC TGA TTT CCC G	19	103	15687 -15751	65	50
	(15733F) GAG CTT AAT CAC CAA GCC GC	20	(15862R) CCT GAA GTA GGA ACC AGA TG	20	130	15753 -15842	90	52

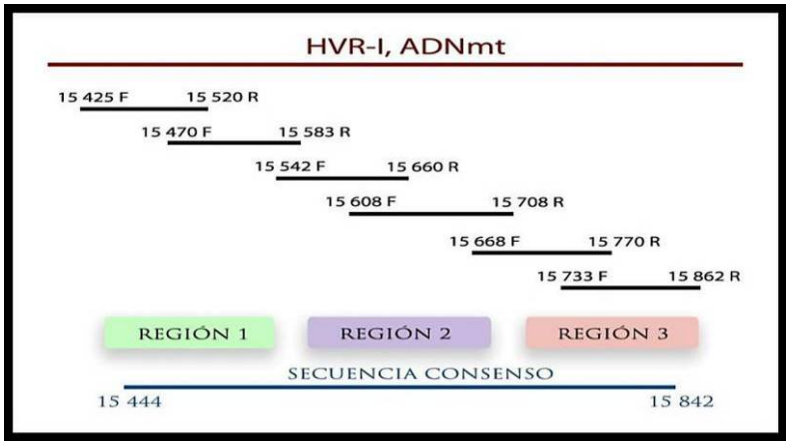


Figura 7.1.5. ***Estrategia de amplificación con los cebadores de la Tabla 7.1.3.*** La longitud de la secuencia consenso aparece representada sin los cebadores.

Todas las preparaciones de PCR se han realizado en el laboratorio de ADN antiguo bajo campana de protección. Antes de proceder a la preparación de la PCR, la campana se limpiaba con hipoclorito sódico, agua y etanol, y se irradiaba con UV (λ =254 nm) durante 15 – 20 minutos, con los sistemas de UV integrados que presenta la campana de protección (Figura 7.1.6). Una vez finalizada la preparación de PCR, se volvía a limpiar con el procedimiento antes comentado, y se abandonaba el laboratorio con los extractos de ADN para su PCR.

En todas las reacciones de PCR los conjuntos se han acompañado de, al menos, un blanco control, para monitorizar cualquier evento de contaminación ocurrida en el laboratorio durante la preparación de la PCR (Gilbert *et al*., 2005; 2006).

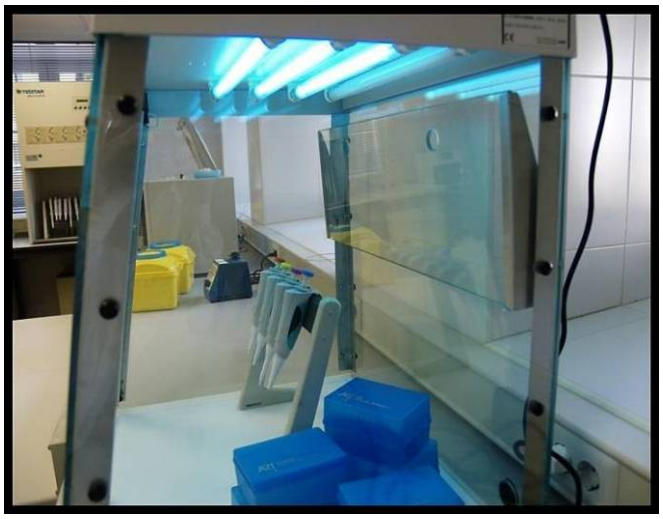


Figura 7.1.6. ***Campana de protección destinada a la preparación de PCR***.

La reacción en cadena de la polimerasa se llevó a cabo en un termociclador *MJ Research PTC-200*, a partir de un volumen final de reacción de 25 µl para cada muestra. Cada volumen de reacción contenía tampón PCR 1X (distribuido por Naxo), $MgCl_2$ 1mM (distribuido por Naxo), dNTPs 200 µM (distribuido por SIGMA), 0,2 µM de cada primer *Forward* y *Reverse*

(distribuido por TAG Copenhagen), Polimerasa Smart *Taq* Hot 1,5 U/µl (distribuido por Naxo) y Albúmina de Suero Bovino (BSA) 0,2 mg/ml (distribuido por SIGMA). La cantidad de ADN que se utilizó para cada reacción fue de 5 µl en caso del protocolo de extracción de ADN número 1 y de 9 µl en el caso del protocolo de extracción de ADN número 2.

Se ha utilizado Albúmina de Suero Bovino (BSA, *Bovine Serum Albumin*) con la finalidad de poder contrarrestar la acción de posibles inhibidores de la acción enzimática de la *Taq* polimerasa (Pääbo *et al*., 1988; Hagelberg *et al*., 1989; Cooper, 1994).

El programa de PCR comprende una fase de activación inicial de la enzima Smart Taq Hot incubándose a 95°C durante 10 minutos, seguida de 54 ciclos donde cada uno de ellos presentaba una etapa de desnaturalización a 94°C durante 30 segundos, a continuación una etapa de hibridación de los cebadores durante 30 segundos, y finalmente una etapa de elongación a 72°C durante 30 segundos. Una vez desarrollados todos los ciclos, el programa de PCR termina con una fase de elongación final a 72°C durante 7 minutos.

En el caso de los cebadores que amplifican fragmentos entre 163 – 201 pares de bases, las temperaturas de hibridación para cada par de cebadores fueron 50 °C (Tabla 7.1.2). Los cebadores que amplifican fragmentos entre 96 – 130 pares de bases, presentaban unas temperaturas de hibridación entre 48 – 52 °C (Tabla 7.1.3).

7.1.4.2. Relación de cebadores y programas de PCR utilizados en la amplificación de ADN mitocondrial de Equus hydruntinus*.*

La región diana de estudio fue un fragmento de 452 - 453 pares de bases (excluyendo cebadores) localizado en la Región Hipervariable I (HVR-I) del ADN mitocondrial. Este fragmento se encuentra comprendido entre las posiciones nucleotídicas 15.444 – 15.926 (posiciones relativas a la nueva secuencia de Referencia para *Equus caballus* JN398377, Achilli *et al*., 2012).

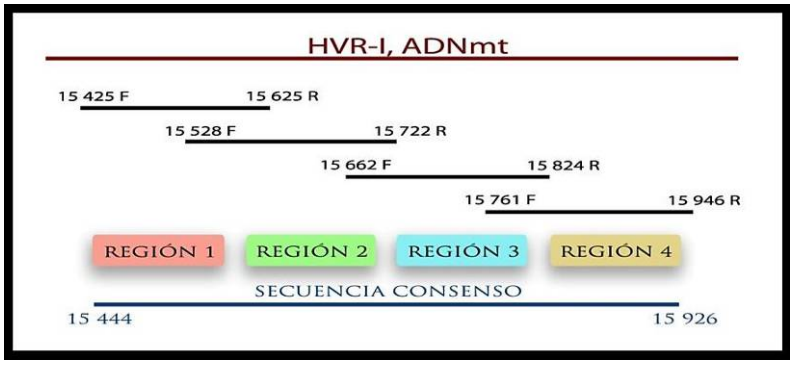


Figura 7.1.7. ***Estrategia de amplificación del ADN mitocondrial de*** **Equus hydruntinus.** La longitud de la secuencia consenso aparece representada sin los cebadores

La secuencia consenso de este taxón se construyó a partir de cuatro fragmentos solapantes, obtenidos con cuatro parejas de cebadores, iniciadores o primers (Tabla 7.1.4). Los cebadores de la región 1 fueron utilizados por Vilà, *et al.* (2001) y Lira, *et al.* (2010) para la amplificación de ADN antiguo de caballos. Los cebadores de las regiones 2, 3 y 4 fueron especialmente diseñados para este análisis (Figura 7.1.7). Los cebadores del la región 1 (15.425F - 15 625R) presentaban una longitud de fragmento amplificado de 172 pares de bases, el fragmento de la región 2 (15.528F – 15.722R) una longitud de fragmento amplificado de 167 pares de bases, el fragmento de la región 3 (15.662F – 15.824R) una longitud de fragmento amplificado de 162 pares de bases y el fragmento de la región 4 (15.761F – 15.946R) una longitud de fragmento amplificado de 185 pares de bases. Los números de estas posiciones nucleotídicas hacen referencia al primer nucleótido del extremo 5' del cebador. Todas las posiciones nucleotídicas son relativas a la nueva secuencia de Referencia para *Equus caballus*, JN398377 (Achilli *et al.,* 2012).

La reacción en cadena de la polimerasa se llevó a cabo en un termociclador *MJ Research PTC-200*, a partir de un volumen final de reacción de 25 µl para cada muestra. Cada volumen de reacción contenía tampón PCR 1X (distribuido por Naxo), $MgCl_2$ 1mM (distribuido por Naxo), dNTPs 200 µM (distribuido por SIGMA), 0,2 µM de cada primer *Forward* y *Reverse* (distribuido por TAG Copenhagen), Polimerasa Smart *Taq* Hot 1,5 U/µl (distribuido por Naxo) y Albúmina de Suero Bovino (BSA) 0,2 mg/ml (distribuido por SIGMA). La cantidad de ADN que se utilizó para cada reacción fue de 5 µl. Como en el caso anterior y con el objetivo de monitorizar cualquier error durante el proceso de amplificación, todo el conjunto se acompañó, además, con al menos una muestra control de PCR, que incluía todos los componentes necesarios para la amplificación, y donde la muestra de ADN se había sustituido por ddH_20 (distribuida por SIGMA).

El programa de PCR comprendía una fase de activación inicial de la enzima Smart *Taq* Hot incubándose a 95°C durante 10 minutos, seguida de 54 ciclos donde cada uno de ellos presentaba una etapa de desnaturalización a 94°C durante 30 segundos, a continuación una etapa de hibridación de los cebadores a unas temperaturas comprendidas entre 50-55°C durante 30 segundos y, finalmente, una etapa de elongación a 72°C durante 30 segundos. Las temperaturas de hibridación para cada par de cebadores se ofrecen en la Tabla 7.1.4: cebadores fragmento 1 (15.425F-15.625R): 50°C; cebadores fragmento 2 (15.528F-15.722R): 55°C; cebadores fragmento 3 (15.662F-15.824R): 50°C y cebadores fragmento 4 (15.761F-15.946R): 52°C. Una vez desarrollados todos los ciclos, el programa de PCR terminaba con una fase de elongación final a 72°C durante 7 minutos.

Tabla 7.1.4. ***Relación de cebadores utilizados en la amplificación de ADN mitocondrial de HVR-I de*** **Equus hydruntinus.**
Se detalla también el tamaño de cada uno de los fragmentos amplificados y las temperaturas (Tª) de anillamiento de PCR en ºC

FRAGMENTO DE LA REGIÓN CONTROL	FORWARD (5')	TAMAÑO FORWARD	REVERSE (5')	TAMAÑO REVERSE	LONGITUD (pb)	POSICIONES ENTRE LOS CEBADORES	LONGITUD SIN CEBADORES (pb)	Tª
1	(15425F) GCC ATC AAC TCC CAA AGC T	19	(15625R) ACA TGC TTA TTA TTC ATG G	19	172	15444 - 15606	134	50
2	(15528F) CCC CCA TAT CCT ACT AAT ACC TTA T	25	(15722R) GGT CGT GAT ATG CGT GTT GAC	21	167	15581 - 15701	121	55
3	(15662F) TAT TGA TCG TAC ATA CCC CA	20	(15824R) TAG AAA CCC CCA CAC TTG GA	20	162	15682 - 15804	122	50
4	(15761F) AGC AAC CCT TCC AAT ACG TG	20	(15946R) GTG TGA GCA TGG GCT GAT TA	20	185	15781 - 15926	145	52

Tabla 7.1.5. ***Relación de cebadores utilizados en la amplificación de ADN mitocondrial de HVR-I de*** **Equus asinus.**
Se detalla también el tamaño de cada uno de los fragmentos amplificados y las temperaturas (Tª) de anillamiento de PCR en ºC

FRAGMENTO DE LA REGIÓN CONTROL	FORWARD (5')	TAMAÑO FORWARD	REVERSE (5')	TAMAÑO REVERSE	LONGITUD (pb)	POSICIONES ENTRE LOS CEBADORES	LONGITUD SIN CEBADORES (pb)	Tª
1	(15420F) GCC ATC AAC TCC CAA AGC T	19	(15620R) ACA TGC TTA TTA TTC ATG G	19	201	15439 - 15601	163	50
2	(15544F) GCT CAA CAT ACA ATA CTC T	19	(15717R) GGT GGT GAT ATG CGT GTT G	19	174	15563 - 15698	136	52
3	(15663F) TCG TGC ATA CCC CAT CCA A	19	(15857R) CCT GAA GTA GGA ACC AGA TG	20	195	15682 - 15837	156	50

Tabla 7.1.6. ***Relación de cebadores utilizados en la amplificación de ADN mitocondrial de HVR-I de*** **Bos taurus.**
Se detalla también el tamaño de cada uno de los fragmentos amplificados y las temperaturas (Tª) de anillamiento de PCR en ºC.

FRAGMENTO DE LA REGIÓN CONTROL	FORWARD (5')	TAMAÑO FORWARD	REVERSE (5')	TAMAÑO REVERSE	LONGITUD (pb)	POSICIONES ENTRE LOS CEBADORES	LONGITUD SIN CEBADORES (pb)	Tª
1	(16022F) GCCCCATGCATATAAGCAAG	20	(16178R) CACGCGGCATGGTAATTAAG	20	157	16042 - 16158	117	55
2	(16159F)CTTAATTACCATGCCGCGTG	20	(16334R) CGAGATGTCTTATTTAAGAGG	21	176	16179 - 16313	135	55

7.1.4.3. Relación de cebadores y programa de PCR utilizados en la amplificación de ADN mitocondrial de Equus asinus*.*

En algunos experimentos que se comentan en sus apartados correspondientes hemos amplificado ADN mitocondrial HVR-I de *Equus asinus*.

La amplificación de ADN de este taxón la hemos realizado utilizando las parejas de cebadores de la región 1 (15.425F y 15.625R) y región 3 (15.668F y 15.862R) de Vilà *et al*. (2001). Acomodadas a la secuencia de Referencia para *Equus asinus* X97337, Xu *et al*., (1996) las posiciones que ocupan los cebadores de la región 1 son 15.420F y 15.620R, y los de la región 3 son 15.663F y 15.857R. Para amplificar la región 2, hemos diseñado una pareja de primers específica para amplificar ADN de *Equus asinus*: 15.544F (5'-GCT CAA CAT ACA ATA CTC T-3') y 15.717R (5'-GGT GGT GAT ATG CGT GTT G-3') (posiciones relativas a la secuencia de Referencia para *Equus asinus* X97337, Xu *et al*., 1996) (Tabla 7.1.5).

La preparación de la PCR y el programa del termociclador para llevar a cabo la amplificación fueron similares a las comentadas para los cebadores de fragmentos comprendidos entre 163 – 201 pares de bases. La reacción en cadena de la polimerasa se llevó a cabo en un termociclador *MJ Research PTC-200*. La temperatura de anillamiento de los cebadores 15.544F - 15.717R fue de 52°C.

7.1.4.4. Relación de cebadores y programa de PCR utilizados en la amplificación de ADN mitocondrial de Bos taurus*.*

Durante la extracción de ADN las muestras de équidos analizados se han acompañado de, al menos, una muestra de otro taxón. Esta muestra ha actuado como control negativo, la hemos usado para monitorizar cualquier posible evento de contaminación. De este modo, cada extracción que hemos realizado ha ido acompañada de, por lo menos, dos controles negativos: un control que contenía todos los reactivos de extracción pero no incluía ninguna muestra, y un control constituido por una muestra de un taxón diferente a un équido.

Las muestras de otros taxones que se han utilizado como controles negativos han procedido, en la mayoría de las ocasiones, de los mismos yacimientos que los équidos de estudio.

Hemos utilizado muestras de *Bos* sp. procedentes de varios yacimientos. En el caso particular de las muestras de El Portalón de Cueva Mayor, además de usar muestras de bóvinos como controles negativos, hemos realizado amplificaciones de PCR con cebadores específicos de *Bos taurus*. Este análisis lo hemos realizado para excluir que estas muestras presentaran cualquier tipo de inhibidor, y confirmar que podían amplificar ADN cuando se sometían a un programa específico de PCR.

La amplificación de ADN se llevó a cabo con una pareja de cebadores que ha sido ampliamente utilizada en los análisis de diversidad mitocondrial del ganado vacuno (Anderung *et al*., 2005; Bollongino *et al*., 2006) (Tabla 7.1.6). Se ha amplificado la región comprendida entre las posiciones nucleotídicas 16.022 y 16.334 de HVR-I del ADN mitocondrial de *Bos taurus* (posiciones relativas de la secuencia de referencia V00654, Anderson *et al*., 1982).

La reacción en cadena de la polimerasa se llevó a cabo en un termociclador *MJ Research PTC-200*, a partir de un volumen final de reacción de 25 µl para cada muestra. Cada volumen de reacción contenía tampón PCR 1X (distribuido por Naxo), $MgCl_2$ 1mM (distribuido por Naxo), dNTPs 200 µM (distribuido por SIGMA), 0,2 µM de cada primer *Forward* y *Reverse* (distribuido por TAG Copenhagen), Polimerasa Smart *Taq* Hot 1,5 U/µl (distribuido por Naxo). La cantidad de ADN que se utilizó para cada reacción fue de 5 µl. Cualquier posible evento de contaminación se monitorizó con una muestra control de PCR.

El programa de PCR comprendía una fase de activación inicial de la enzima Smart *Taq* Hot incubándose a 95°C durante 10 minutos, seguida de 45 ciclos donde cada uno de ellos presentaba una etapa de desnaturalización a 94°C durante 15 segundos, a continuación una etapa de hibridación de los cebadores a 55°C durante 30 segundos y, finalmente, una etapa de elongación a 72°C durante 15 segundos. Una vez desarrollados todos los ciclos, el programa de PCR terminaba con una fase de elongación final a 72°C durante 7 minutos.

7.1.5. Tratamiento de muestras post-PCR

7.1.5.1. Visualización de resultados en geles de agarosa

La visualización de los resultados de PCR se llevó a cabo mediante electroforesis en geles de agarosa en tampón TBE al 0,5X. La separación electroforética se realizó con un volumen de 5 µl de producto de amplificación en geles de agarosa concentrados al 2% (D1 LOW EEO

Pronadisa). El tampón de carga utilizado contenía glicerol y colorante Orange 1X ó 2X. La fuente de electroforesis generó un campo eléctrico de 135 V durante 45 minutos. Como marcador de peso molecular conocido se utilizaron el marcador de 100pb *Low Range DNA ladder Express* (distribuido por Naxo) y de 50pb DNA ladder (GeneRuler™, distribuido por ThermoFisher).

Tras la separación electroforética, la visualización de los productos de PCR se llevó a cabo con el gel de agarosa teñido con 0,625 mg/ml de Bromuro de Etidio (BIO RAD) y sometido a UV.

7.1.5.2. Protocolo de purificación de muestras para secuenciación.

La purificación de los productos de PCR se llevó a cabo mediante la reacción enzimática del protocolo de Illustra™ ExoStar™-1 Step (distribuido por GE HealthCare). Este protocolo elimina los cebabores en exceso, así como los dNTPs que no se han incorporado a las nuevas cadenas generadas *in vitro* por PCR utilizando un enzima Exonucleasa I y una enzima Fosfatasa Alcalina.

El protocolo de actuación de Illustra™ ExoStar™-1 Step es el siguiente:

1. Se mezclan 10 µl de producto de PCR con 4 µl de ExoStar.
2. Incubamos en el termociclador a 37°C durante 15 minutos para degradar el resto de primers y nucleótidos que no han actuado en la reacción de PCR.
3. Incubamos a 80°C durante 15 minutos para desactivar la acción de ExoStar.

Finalmente, la secuenciación de ADN se llevó a cabo por el servicio de secuenciación de ADN del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO) de Madrid. Las secuencias se obtuvieron utilizando un secuenciador ABI 3730 de Applied Biosystems con 96 capilares, mediante el sistema ABI Prism de terminadores fluorescentes Big Dye™.

7.1.6. Manipulación informática de secuencias genéticas

Los ficheros que se generaron de la secuenciación de ADN fueron procesados por duplicado con dos software de edición de secuencias. Por un lado utilizamos BioEdit (Hall, 1999) como primer sistema exploratorio para analizar la calidad de las secuencias.

Posteriormente, las secuencias se depuraron y ensamblaron utilizando el software Sequencher versión 4.5 (distribuido por GeneCodes Corporation).

7.2 Relación de yacimientos estudiados

Para realizar esta investigación hemos analizado 225 restos de équidos procedentes de 20 yacimientos ibéricos (Figura 7.2.1). La Tabla 7.2.1 presenta la relación de yacimientos estudiados y la cantidad de restos de équidos analizados en cada yacimiento.

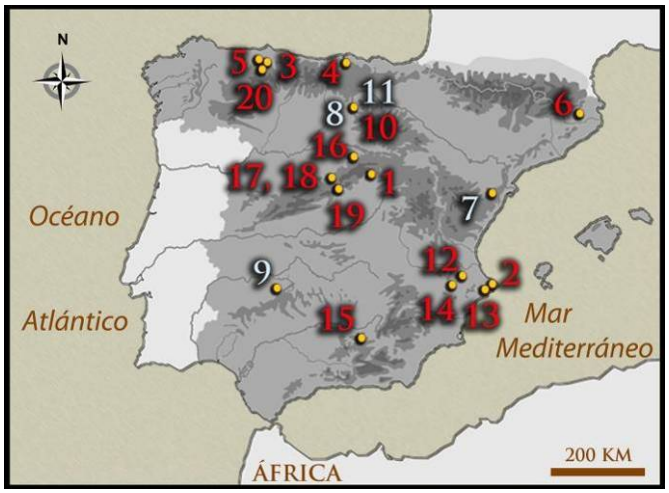


Figura 7.2.1. ***Localización geográfica de los yacimientos de los que proceden las muestras de équidos analizadas en esta investigación***. En color rojo, muestras con cronologías pleistocenas. En color azul claro, muestras con cronologías holocenas. (1) Jarama VI, (2) Cova Foradada, (3) Las Caldas, (4) La Garma A, (5) Cueva Oscura de Ania, (6) Bora Gran, (7) Cova Fosca, (8) El Portalón, (9) Cancho Roano, (10) Galería de las Estatuas, (11) El Mirador, (12) Cova Negra,(13) Cova de les Cendres, (14) Cova Beneito, (15) La Carihuela, (16) Peña de Estebanvela, (17) Cueva de la Zarzamora, (18) Tejadilla, (19) Cueva del Camino, (20) Cueva del Conde.

No se ha podido obtener ADN en todas las muestras de todos los yacimientos. De hecho, hay nueve yacimientos de los que no se ha podido obtener ningún resultado positivo.

Por este motivo, y para ser más sintéticos en esta investigación, en el siguiente apartado *7.4*. *Análisis sobre* Equus ferus / Equus caballus, solamente se va a presentar la información relativa a los yacimientos de los que sí se han obtenido resultados positivos.

En el capítulo de *Resultados* se detallarán los yacimientos de los que no se pudo obtener ADN, y en el capítulo de *Discusión* se expondrán algunos de los factores que creemos, han intervenido negativamente en la obtención de ADN antiguo.

Tabla 7.2.1. ***Relación de yacimientos de los que proceden las muestras de équidos analizados en esta investigación y número de muestras analizadas por yacimiento.***

LOCALIZACIÓN	YACIMIENTO	COMUNIDAD AUTÓNOMA	N
Cordillera y litoral cantábrico	Las Caldas (San Juan de Priorio)	Principado de Asturias	30
	Cueva Oscura de Ania (Las Regueras)		12
	Cueva del Conde (Santo Adriano de Tuñón)		2
	La Garma (Omoño)	Cantabria	10
Prepirineo	Bora Gran d'En Carreras (Serinyà, Girona)	Cataluña	20
Cuenca Mediterránea	Cova Fosca (Ares del Maestre, Castellón)	Comunidad Valenciana	8
	Cova Negra (Xàtiva, Valencia)		3
	Cova Foradada (Xàbia, Valencia)		12
	Cova Beneito (Muro, Alicante)		9
	Cova de les Cendres (Teulada-Moraira, Alicante)		3
	La Carihuela (Piñar, Granada)	Andalucía	12
Meseta Central	Galería de las Estatuas (sierra de Atapuerca, Burgos)	Castilla y León	1
	El Portalón de Cueva Mayor (sierra de Atapuerca, Burgos)		54
	El Mirador (sierra de Atapuerca, Burgos)		2
	La Peña de Estebanvela (Ayllón, Segovia)		10
	Cueva de la Zarzamora (Perogordo, Segovia)		2
	Portalón de Tejadilla (Perogordo, Segovia)		5
	Cueva del Camino (Pinilla del Valle)	Comunidad de Madrid	3
	Jarama VI (Valdesotos, Guadalajara)	Castilla-La Mancha	20
	Cancho Roano (Zalamea de la Serena, Badajoz)	Extremadura	7
		TOTAL	**225**

N = muestras de équidos utilizadas para los análisis (sin contar las muestras utilizadas como controles negativos).

7.3. Criterios de determinación taxonómica y morfológica de los restos estudiados

7.3.1. Caracteres utilizados para las determinaciones taxonómicas

Durante el desarrollo de esta investigación los taxones que se han intentado identificar a partir de estos restos óseos han sido *Equus ferus* / *Equus caballus*, *Equus hydruntinus* y *Equus asinus*.

Las determinaciones taxonómicas se han realizado utilizando artículos, manuales y atlas de osteología animal (Schmid, 1972; Barone, 1976; Eisenmann, 1981; Eisenmann *et al*., 1988).

Además, la mayoría de estos restos faunísticos que se han analizado han sido piezas dentales. Basándonos en Davis (1980), Eisenmann, (1981) así como en otros autores (Geigl y Grange, 2012), a continuación presentamos los principales criterios utilizados para realizar las diferenciaciones taxonómicas en los restos dentales.

7.3.1.1. Dentición superior

- ***La forma del protocono*** (Figura 7.3.1A). Está considerado como el mejor carácter distintivo de la dentición superior. *Equus caballus / Equus ferus* se caracteriza por presentar protoconos alargados en sentido distal o posterior, suele ser estrecho, y con la mitad posterior mucho más larga que la mitad anterior. *Equus hydruntinus*, junto a *Equus stenonis* y las cebras, se caracterizan por presentar protoconos cortos y triangulares, adquiriendo lo que se ha denominado como “forma de zapato”. En estos protoconos, la mitad anterior es más pequeña que la mitad posterior. Además, la pared lingual suele ser recta, aunque en ocasiones se ha observado una ligera concavidad (Davis, 1980). Por su parte, en *Equus asinus* el protocono tiende a ser ovalado (como ocurre también con *Equus hemionus*), donde la mitad anterior y la posterior presentan un tamaño similar, y la pared lingual presenta una marcada concavidad (Davis, 1980).

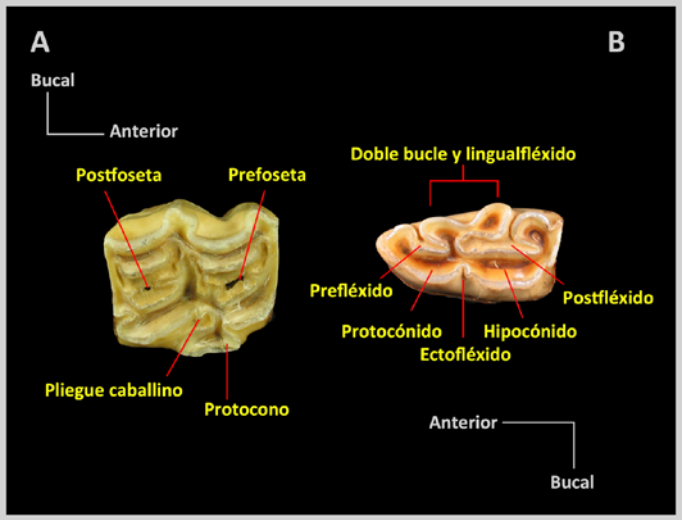


Figura 7.3.1. ***Vista oclusal de un diente superior (A) y un diente inferior (B) de un caballo.*** Se señala la nomenclatura de los caracteres analizados.

7.3.1.2. Dentición inferior

- ***La forma del doble bucle*** (Figura 7.3.1B). El surco lingual o linguafléxido puede adquirir forma de "V" o forma de "U". La forma en "U" es característica de *Equus caballus / Equus ferus*, y se ha denominado ***forma caballina***. Por su parte, la forma en "V" es característica de *Equus hemionus*, *Equus asinus* y *Equus hydruntinus*, y se ha denominado ***forma estenoniana*** (Davis, 1980; Eisenmann, 1981). Algunos autores han considerado que en los hemiones el ángulo del linguafléxido es mayor que en *Equus asinus* (Davis, 1980), lo que ha llevado a proponer para los hemiones un tercer tipo o ***forma intermedia*** (Eisenmann, 1981). No obstante, este rasgo no está diferenciado de manera unitaria, ya que otros análisis realizados sobres asnos y hemiones han puesto de manifiesto que este ángulo es un carácter variable (Davis, 1980).

- ***La profundidad del ectofléxido y su relación con el linguafléxido*** (Figura 7.3.1B). Se ha sugerido que en los molares de los équidos de finales del Pleistoceno, el ectoflexido no penetra hacia el linguafléxido (Davis, 1980). En *Equus hydruntinus* el ectofléxido penetra de manera significativa, llegando a contactar con el linguafléxido. Por su parte, en *Equus asinus* no se observa un ectofléxido que penetre hacia el linguafléxido. En *Equus caballus* / *Equus ferus* el ectofléxido alcanza la región entre el prefléxido y el postfléxido, pero no llega a contactar con el linguafléxido.

- ***Curvatura de la pared externa del protocónido y del hipocónido*** (Figura 7.3.1B). Aunque se ha considerado que no es un buen carácter discriminante, se ha propuesto que existe una tendencia en *Equus hydruntinus* a presentar las paredes externas

curvadas, mientras que *Equus caballus* / *Equus ferus* y *Equus asinus* las presentan aplanadas (Davis, 1980).

7.3.2. Criterios de diferenciación morfológica sobre dientes

Las series dentales superiores e inferiores, así como los dientes aislados se han diferenciado siguiendo como base el sistema estandarizado establecido a partir de la *New York International Hipparion Conference, 1981* (Eisenmann *et al*., 1988), y utilizando algunos criterios propuestos por otros autores (Davis, 1980; Eisenmann, 1981).

7.3.2.1. Dentición superior

A excepción del premolar 2 (P2) y del molar 3 (M3), la diferenciación del resto de los dientes maxilares es complicada (Eisenmann *et al.*, 1988). El P2 y el M3 se pueden diferenciar fácilmente debido a su sección triangular (Davis, 1980). En el caso del P2 superior, además, se ha prestado especial atención a la presencia del anterostilo (Eisenmann *et al.*, 1988).

A continuación, se presentan una serie de criterios que se han tenido en cuenta para realizar estas diferenciaciones:

- Los molares son más pequeños que los premolares (Davis, 1980; Eisenmann *et al*., 1988).
- Los M superiores suelen estar más desgastados que los P (sobre todo en el caso del M1). Por este motivo, el plano oclusal de los M suele ser cuadrado, mientras que el de los P suele ser rectangular (la medida mesiodistal es mayor que la bucolingual) (Eisenmann *et al*., 1988).
- A medida que se va desgastando la dentición superior, el plano oclusal de los M pasa de tener una forma cuadrada a tener una forma rectangular (con la medida bucolingual mayor que la mesiodistal), mientras que el plano oclusal de los P suele adquirir una forma cuadrada (Eisenmann *et al*., 1988).
- En los M, la anchura mesial es mayor que la anchura distal (sobre todo en el M2) (Eisenmann, *et al*., 1988).
- Respecto a las proyecciones o cuernos de las prefosetas y postfosetas (Figura 7.3.1A), en los P las proyecciones vestíbulo-anteriores de las postfosetas suelen estar más desarrolladas en dirección vestibular que las proyecciones vestíbulo-posteriores de las

prefosetas. Por su parte, en los M ambas proyecciones suelen presentar el mismo grado de desarrollo (Eisenmann *et al*., 1988).

- Normalmente, las series maxilares completas se caracterizan por presentar una convexidad mesio-distal o antero-posterior. Por este motivo, en los P las superficies oclusales tienen una orientación anterior (destacada sobre todo en el P3), mientras que la superficie oclusal de los molares presenta una orientación posterior (destacado sobre todo en el M2) (Eisenmann *et al*., 1988).
- Presencia de pliegue caballino (Figura 7.3.1A): Mientras que los P suelen tener presente este pliegue, en los M suele estar ausente (Eisenmann *et al*., 1988).

7.3.2.2. Dentición inferior

Como con la dentición maxilar superior, exceptuando el caso del P2 y del M3, la diferenciación del resto de dientes es complicada (Eisenmann *et al*., 1988). El P2 y el M3 se distinguen del resto de dientes de la serie dental debido a la forma ligeramente triangular de su superficie oclusal (Eisenmann, 1981). En el caso del P2, la parte superior del triángulo es anterior (el paracónido), mientras que en el M3 es posterior (el hipoconúlido) (Eisenmann, 1981; Eisenmann *et al*., 1988). Los criterios que se han utilizado para diferenciar los dientes inferiores son los siguientes:

- De manera general, los M son más pequeños que los P (Eisenmann, 1981), sobre todo en lo relativo a su anchura (Eisenmann *et al*., 1988).
- Como una serie dental completa tiene su anchura máxima entre el P4 y el M1, los M suelen ser más anchos en el lado mesial que en el lado distal (sobre todo en el M2), mientras que los P suelen presentar una anchura mayor en el lado distal, en comparación con la del lado mesial (especialmente en el caso del P3) (Eisenmann, 1981; Eisenmann *et al*., 1988).
- En la corona de los P, la superficie oclusal presenta un ángulo más o menos recto. En los M la superficie oclusal está curvada en sentido distal. Esta característica se distingue sobre todo en el M2 (Eisenmann *et al*., 1988).

7.4. Análisis sobre *Equus ferus / Equus caballus*.

A continuación, se presentan los yacimientos de los que se han obtenido resultados positivos, del siguiente modo según su localización geográfica: cornisa cantábrica, este de la península ibérica, Meseta Norte y Meseta Sur.

7.4.1. La cueva de Las Caldas (San Juan de Priorio, Asturias)

7.4.1.1. Localización del yacimiento

La cueva de Las Caldas se encuentra localizada en el término municipal de San Juan de Priorio, a 8 km de la ciudad de Oviedo y a 1,2 km de la aldea que le da nombre a la cueva (Corchón, 1981) (Figura 7.4.1.1). La cueva está situada a una altitud de 160 metros sobre el nivel del mar (msnm) (Hoyos, 1981), y sus coordenadas geográficas son 43° 20' 4,53'' latitud N y 5° 54' 47,61'' longitud O (obtenidas mediante la aplicación SIGPAC: http://sigpac.magrama.es/fega/h5visor/).



Figura 7.4.1.1. ***Localización geográfica del yacimiento de Las Caldas en la península ibérica*.**

Esta cueva está situada en la vertiente izquierda de un valle por donde circula el arroyo de Las Caldas, que vierte al río Gafo a unos 500 metros de la cueva (Corchón, *et al*., 2009). Este valle está englobado dentro de la cuenca media del río Nalón (Corchón y Álvarez, 2008). La entrada de la cueva está orientada en dirección SO-O. La orientación que presenta el eje longitudinal de la cueva en su tramo externo es NE.E-SO.O (Hoyos, 1981) (Figura 7.4.1.2).



Figura 7.4.1.2. ***Entrada de la cueva de Las Caldas*****.** (Foto: Turismo Asturias – C. Alonso).

7.4.1.2. Historia de las excavaciones en Las Caldas

La cueva de Las Caldas es una cavidad con yacimiento y con arte parietal paleolítico (Corchón, *et al*. 2009). Las excavaciones en la cueva de Las Caldas se llevaron a cabo entre 1971 y 1998 bajo la dirección de M.S. Corchón (Corchón, 1981; 1999). Los trabajos de excavación se han efectuado en Caldas I, en los sectores denominados Sala I, Sala II, Pasillo I, entrada de la Sala Principal y corte exterior (Corchón, *et al*., 2009; Corchón y Álvarez, 2008) (Figura 7.4.1.3), recuperándose restos de fauna, industria ósea, industria lítica y arte mueble asociados al Solutrense y al Magdaleniense (Corchón, 1991-1992; 1998; 1999). La cueva de La Caldas presenta uno de los registros estratigráficos del Solutrense y Magdaleniense más importantes de Europa (Corchón, 2014).

7.4.1.3. Descripción de Las Caldas

El complejo kárstico en el que se desarrolla la cueva de Las Caldas pertenece a la Caliza de Montaña (Viseense-Namuriense, Carbonífero inferior), asociado a un sistema kárstico de la "Región Cántabro Asturiana" (Hoyos, 1981). El yacimiento se encuentra situado en una cavidad denominada Caldas I, que está integrada en una red de galerías de más de 1km de longitud (Corchón, 2014). Las Caldas I está constituida por un corredor conectado con dos salas en dos puntos diferentes del mismo. Una de las salas (Sala II) se encuentra en el fondo de la cueva, mientras que la otra (Sala I) está situada en su tramo medio (Corchón, 1999; Corchón y Álvarez, 2008) (Figura 7.4.1.3).

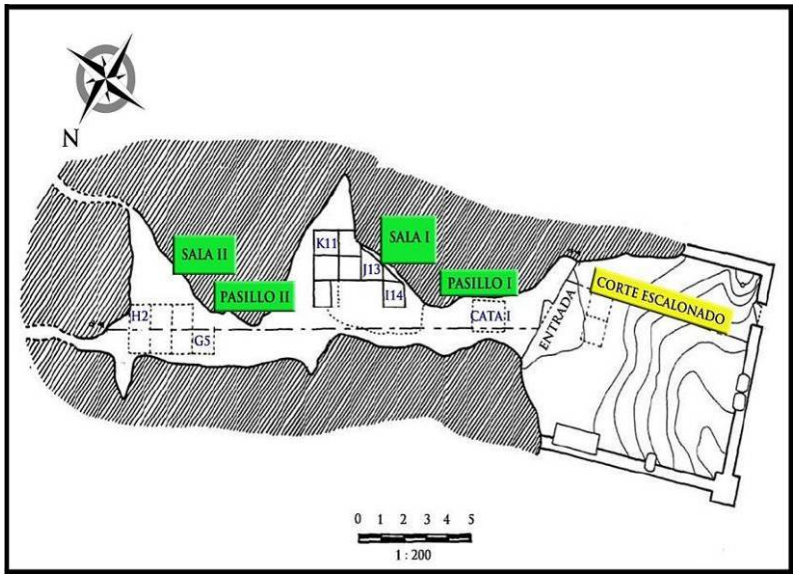


Figura 7.4.1.3 ***Plano de la cueva de Las Caldas, con el detalle de las diferentes zonas excavadas***. Se detalla los sectores Sala I, Sala II, Pasillo I y Pasillo II [Figura modificada a partir de Corchón (1999)].

7.4.1.4. Cronoestratigrafía de Las Caldas

Entre todos los sectores de excavación, se ha dejado al descubierto una secuencia estratigráfica asociada a los periodos culturales Solutrense medio, superior y final, y Magdaleniense inferior, medio, superior y final (Corchón, 1999; Corchón y Álvarez, 2008, Corchón, 2014) (Tabla 7.4.1.1). La secuencia estratigráfica abarca una horquilla temporal de *ca*. 10.000 años, desde el Solutrense medio (~24.000 años cal. BP.) hasta el Magdaleniense superior y final (~14.500 años cal. BP.) (Tabla 7.4.1.2).

Estos periodos culturales están representados de manera desigual en los sectores excavados. La secuencia magdaleniense casi completa se ha encontrado al fondo de la cueva. La máxima potencia de sedimentos se ha encontrado en la Sala II (Figura 7.4.1.3), observándose una disminución paulatina a medida que se avanza hacia la boca de la cueva. Por el contrario, los niveles Solutrenses se han encontrado mejor representados cerca de la boca de la cueva, en la Sala I y en el Pasillo I (Corchón, 1999) (Figura 7.4.1.3).

Tabla 7.4.1.1. ***Niveles estratigráficos de la cueva de Las Caldas y periodos culturales asociados*** . Elaborada a partir de Corchón (1981, p.66); de la nota 2 de Corchón (1999), de Corchón & Álvarez (2008), y Corchón (2014).

NIVELES ESTRATIGRÁFICOS DE LA CUEVA DE LAS CALDAS	UBICACIÓN	PERIODO CULTURAL
II	Corte Exterior	Solutrense superior
2	Pasillo I	Magdaleniense medio
3		Solutrense final
4		
5		
6		
7		Solutrense superior
8		
9		
10		
11		Solutrense medio
12		
13		
14		
15		
16		
17		
2A	Sala I	Magdaleniense final
2B		Magdaleniense medio
3		Solutrense final
4		
5		
6		
7		Solutrense superior
8		
9		
10		
11		
12		
13		Solutrense medio
14		
15		
16		
17		
18		
19		
-I	Sala II	Magdaleniense superior
-II		
-III		
I		
II		
III		Transición
IV		Magdaleniense medio
V		
VI		
VII		
VIII		
IX		
X		*Nivel Estéril*
XI		Magdaleniense inferior
XII		
XIII		
XIVc		Solutrense final

De este modo, los niveles culturales definidos en la secuencia estratigráfica de Las Caldas se encuentran diferenciados en los sectores excavados de la siguiente manera (Corchón, 1981; 1995; 1999; Corchón y Álvarez, 2008, Corchón, 2014) (Tabla 7.4.1.1):

- **Solutrense medio:** Sala I niveles 19 a 13 y Pasillo I niveles 17 a 11.
- **Solutrense superior:** Sala I niveles 12 a 7, Pasillo I niveles 10 a 7 y nivel II del corte exterior.
- **Solutrense final:** Sala I y Pasillo I niveles 6 a 3, Sala II nivel XIVc.
- **Magdaleniense inferior:** Sala II niveles XIII, XII inferior, XII y XI techo.
- **Magdaleniense medio:** Sala I nivel 2B, Pasillo I nivel 2, Sala II niveles IX a IV.
- **Magdaleniense superior y final:** Sala I nivel 2A, Sala II niveles III a I; y de – III a - I.

Sobre esta secuencia estratigráfica se han realizado hasta 26 dataciones de radiocarbono, lo que convierte a este yacimiento en una de los más completos y mejor datados de la península ibérica para el periodo comprendido entre el Solutrense medio y el Magdaleniense superior y final (Corchón, 1995; 1999; Corchón y Álvarez, 2008) (Tabla 7.4.1.2).

Tabla 7.4.1.2. ***Relación de las dataciones de los niveles de la cueva de Las Caldas***. Información obtenida a partir de Corchón (1995); Corchón (1999) y Corchón y Álvarez (2008). (1) Calibrado a 2σ con el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13.

Ref. Lab	^{14}C BP	cal BP 2 σ [1]	cal aC 2 σ [1]	Nivel (Sector)	Periodo cultural
Ua-15318	20250 ± 235	25093 - 23816	23144 - 21867	15 (Sala I)	Solutrense Medio
Ly-2428	19510 ± 330	24287 - 22712	22338 - 20763	16 (Topera)	Solutrense Medio
Ly-2426	19480 ± 260	24096 - 22842	22147 - 20893	12b (Pasillo)	Solutrense Medio
Ly-2425	19030 ± 320	23758 - 22320	21809 - 20371	12t (Pasillo)	Solutrense Medio
Ly-2429	19000 ± 280	23605 - 22362	21656 - 20413	18 (Topera)	Solutrense Medio
Ly-2424	19390 ± 260	24002 - 22729	22053 - 20780	9 (Pasillo)	Solutrense Superior
Ly-2423	18310 ± 260	22746 - 21523	20797 - 19574	7 (Pasillo)	Solutrense Superior
Ua-15316	18305 ± 295	22842 - 21435	20893 - 19486	11 (Sala I)	Solutrense Superior
Ua-15315	17945 ± 370	22541 - 20773	20592 - 18824	9 (Sala I)	Solutrense Superior
Ua-4302	17380 ± 215	21621 - 20457	19672 - 18508	XIVc (Sala II)	Solutrense Final
Ly-2422	17050 ± 290	21397 - 19884	19448 - 17935	4 (Pasillo)	Solutrense Final
Ly-2421	18250 ± 300	22788 - 21343	20839 - 19394	3 (Pasillo)	Solutrense Final
Ua-4301	15165 ± 160	18757 - 18029	16808 - 16080	XIII (Sala II)	Magdaleniense inferior
Ua-4300	14835 ± 130	18375 - 17718	16426 - 15769	XII inf (Sala II)	Magdaleniense inferior
Ua-2735	14495 ± 140	18002 - 17283	16053 - 15334	XII (Sala II)	Magdaleniense inferior
Ua-2734	13755 ± 120	17017 - 16256	15068 - 14307	XI (Sala II)	Magdaleniense inferior
Ua-10188	13370 ± 110	16405 - 15750	14456 - 13801	IX (Sala II)	Magdaleniense medio
Ua-10189	13640 ± 150	16961 - 16047	15012 - 14098	VIII (Sala II)	Magdaleniense medio
Ly-2936	13310 ± 200	16582 - 15351	14633 - 13402	VIII (Sala II)	Magdaleniense medio
Ly-3318	12869 ± 160	15908 - 14808	13959 - 12859	VII (sala II)	Magdaleniense medio
Ua-10190	13650 ± 140	16946 - 16082	14997 - 14133	VIc (Sala II)	Magdaleniense medio
Ly-2427	13400 ± 150	16594 - 15699	14645 - 13750	IV / III (Sala II)	Magdaleniense medio
Ua-10191	13185 ± 155	16250 - 15324	14301 - 13375	IIIb - IIIc (Sala II)	Magdaleniense medio / superior
Ua-10192	12960 ± 190	16111 - 14916	14162 - 12967	II (Sala II)	Magdaleniense superior
Ua-10193	12595 ± 125	15290 - 14261	13341 - 12312	I (Sala II)	Magdaleniense superior
Ua-10194	12590 ± 120	15273 - 14271	13324 - 12322	-II (Sala II)	Magdaleniense superior

7.4.1.4.1. El Solutrense

A partir del estudio conjunto de la industria ósea y lítica en asociación con la dataciones de radiocarbono, se ha podido concluir que las ocupaciones Solutrenses en la cueva de Las Caldas se sucedieron en un segmento temporal comprendido entre hace unos 25.000 – 20.000 años cal. BP. (Corchón, 1999; Corchón y Álvarez, 2008) (Tabla 7.4.1.2).

Los niveles basales solutrenses de la cueva de Las Caldas son los más antiguos de la cornisa cantábrica (Corchón, 2014). Se sedimentaron bajo unas condiciones muy húmedas y frías del Último Máximo Glaciar (Sala I: niveles 19 base, 19 y 18) (Tabla 7.4.1.1). A medida que avanzó el Solutrense medio, el ambiente se hizo más moderado y más húmedo y la cueva

sufrió episodios de inundación. Estas condiciones se han documentado en los niveles 17 a 13 de la Sala I y en los niveles 17 a 11 del Pasillo I (Corchón, 2014) (Tabla 7.4.1.1).

El Solutrense superior comenzó bajo unas condiciones como las descritas anteriormente (Sala I: niveles 12 y 11) (Tabla 7.4.1.1), pero a medida que se desarrolló este periodo, el clima fue cada vez más frío y húmedo. Se ha detectado fauna de estepa fría como el reno y el mamut (Corchón, 2014).

El análisis de la cultura material ha puesto de manifiesto para estos grupos humanos una amplia movilidad para la captación de materias primas e intercambio de objetos (Corchón, 2014).

7.4.1.4.2. El Magdaleniense

A partir de las dataciones realizadas en muestras de los niveles XIII - XI de la Sala II, se ha comprobado que el Magdaleniense inferior se desarrolló en la cueva de Las Caldas entre hace unos 18.750 – 16.250 años cal. BP (Corchón, 2014) (Tabla 7.4.1.2). Los análisis sedimentológicos han revelado que este periodo está relacionado con la transición de Lascaux (nivel XIII de la Sala II) hacia nuevas condiciones muy frías y húmedas, registradas en los niveles XII inferior, XII y XI de la Sala II (Corchón, 2014) (Tabla 7.4.1.1).

El Magdaleniense medio se desarrolló entre hace unos 16.900 – 14.800 años cal. BP (Corchón, 1999) (Tabla 7.4.1.2). El análisis de la cultura material ha permitido diferenciar dos estadios sucesivos: el Magdaleniense medio antiguo y el Magdaleniense medio evolucionado (Corchón, 2014).

El Magdaleniense medio antiguo se ha registrado en los niveles IX – VI de la Sala II (Corchón, 2014) (Tabla 7.4.1.1). Fue un episodio muy frío y húmedo. Se han recuperado restos de reno (*Rangifer tarandus*), tanto en la base (nivel IX) como en el techo del tramo (nivel VI). También se ha recuperado arte mueble con figuras de fauna de estepa fría grabada en "plaquitas": reno, mamut (*Mammuthus primigenius*) y rinoceronte lanudo (*Coelodonta antiquitatis*) (Corchón, 2014). Por su parte, los niveles asociados al Magdaleniense medio evolucionado (niveles V-IV) (Tabla 7.4.1.1) se sedimentaron bajo condiciones ambientales todavía rigurosas y muy húmedas, en la transición al Interestadio Tardiglaciar (Corchón, 2014). El estudio de la industria ósea y del arte mueble de este periodo ha puesto de manifiesto la presencia de elementos característicos del área de los Pirineos. Su presencia se ha explicado por la existencia de contactos culturales a larga distancia (Corchón, 2014).

El techo del Magdaleniense medio evolucionado se ha fechado entre hace unos 16.594 – 15.699 años cal. BP. (Corchón, 1999) (Tabla 7.4.1.2). En la cueva de Las Caldas, la transición entre el Magdaleniense medio y el superior está reconocida en el nivel III de la Sala II (Tabla 7.4.1.1) (Corchón, 1999). En este nivel se ha recuperado industria ósea de ambos periodos culturales. Además, de este nivel se ha obtenido una datación de 13.185 ± 155 BP (16.250 – 15.324 años cal. BP) (Corchón, 1995; Corchón, 1999) (Tabla 7.4.1.2).

Por último, el Magdaleniense superior se ha caracterizado por un segmento temporal comprendido entre ~16.100 – 14.260 años cal BP, a partir de las dataciones obtenidas en los niveles II, I y –II de la Sala II (Tabla 7.4.1.2) (Corchón, 1999).

7.4.1.5. El estudio de la fauna de Las Caldas

Recientemente se ha publicado un estudio de Las Caldas (Corchón, 2014) donde se detallan algunos aspectos de la fauna de los niveles solutrenses, del Magdaleniense inferior y Magdaleniense medio, que se comentan a continuación.

7.4.1.5.1. La fauna del Solutrense

Se ha documentado una gran abundancia de fauna en los niveles solutrenses, siendo el Solutrense más rico en restos de toda la península ibérica (Corchón, 2014). En todos los niveles los restos faunísticos de ungulados presentan marcas de alteraciones antrópicas. Se ha interpretado que el origen de la acumulación de estos ungulados se debería a los grupos humanos que habitaron Las Caldas. A partir de la cuantificación del número de restos, en los niveles solutrenses la especie de macromamífero dominante fue el ciervo (*Cervus elaphus*) (>65% de los restos) seguido del caballo (*Equus ferus*). Aunque su representación durante el Solutrense medio superó el 20% de los restos identificados (nivel 19 base y nivel 19 de la Sala I), su presencia fue mínima durante el Solutrense superior y final (entre los niveles 8 y 4 – 5 de la Sala I) (Corchón, 2014).

Otros taxones que se han documentado han sido cabra montés (*Capra pyrenaica*), rebeco (*Rupicapra rupicapra*) y corzo (*Capreolus capreolus*). Hay evidencias de bovino en toda la secuencia solutrense, pero no se ha podido diferenciar si se trata de uro (*Bos primigenius*) o bisonte (*Bison priscus*). También se ha documentado reno, en el nivel 15 del Solutrense medio y en los niveles 12 - 10 asociados al Solutrense superior. No obstante, el porcentaje de restos

identificados no ha superado en ningún caso el 0,2%. Este valor concuerda con los obtenidos para otros yacimientos del occidente de la cornisa cantábrica (Corchón, 2014).

También se han identificado restos de oso de las cavernas, zorro, tejón, marta, leopardo, lince, y algún resto de marmota, conejo y liebre (Corchón, 2014).

Es destacable la identificación de restos de mamut en los niveles 9, 8, 7 y 3 de la Sala I (Solutrense superior y final). La presencia de este taxón también se ha documentado por la industria y el arte mueble recuperado en diferentes niveles del Solutrense medio y superior (Corchón, 2014).

7.4.1.5.2. La fauna del Magdaleniense inferior

Entre los ungulados el taxón dominante es el ciervo en todos los niveles. El caballo es el siguiente taxón que más número de restos ha proporcionado en todos los niveles, llegando a alcanzar el 70% en los niveles XII y XI de la Sala II. Como ocurría durante el Solutrense, también se ha identificado cabra montés, corzo, rebeco, bóvino indeterminado (uro/bisonte), reno, zorro, marmota y, además, rinoceronte lanudo y lobo (Corchón, 2014).

7.4.1.5.3. La fauna del Magdaleniense medio

Para el Magdaleniense medio antiguo, los taxones de macromamíferos con más cantidad de restos faunísticos identificados son el ciervo (61% de los restos), el caballo (19%) y los caprinos (15%). También se han documentado evidencias de mamíferos marinos (recuperación de dientes perforados para su uso como colgantes) y de moluscos (Corchón, 2014).

Durante el Magdaleniense medio evolucionado se ha documentado la desaparición de las especies de estepa y la disminución de los grandes ungulados. La representación de caballo disminuye a 2,3 - 1,5 % del número de restos y, la de *Bos* sp. / *Bison* sp. es menor al 4%. Se ha observado una especialización en la caza de ciervo (55% de los restos), cabra (34% de los restos) y rebeco (9,5 – 8% de los restos) (Corchón, 2014).

7.4.1.6. Muestras de Las Caldas seleccionadas para esta investigación

Para la realización de esta investigación se escogieron un total de 35 muestras (Tabla 7.4.1.3), recuperadas en diversas campañas de excavación desde 1983 hasta 1998. Proceden de diversos sectores de la cueva y están asociadas a distintos periodos culturales, desde el Solutrense medio hasta el Magdaleniense superior. Treinta muestras eran de équidos, mientras que otras cinco pertenecían a *Cervus elaphus*. Las muestras de ciervo se seleccionaron para ser utilizados como controles de extracción.

La mayoría de las muestras que hemos analizado son piezas dentarias, y ha sido posible precisar con exactitud el tipo de diente en la mayoría de las ocasiones, gracias a que la profesora S. Corchón nos cedió para su estudio series maxilares o hemimandibulares completas.

De las 30 muestras de équidos seleccionadas, 28 pertenecen a *Equus ferus*, y dos muestras posiblemente a *Equus hydruntinus*. Cabe destacar la presencia de estos dos restos, que llamaron la atención a los investigadores de Las Caldas por su pequeño tamaño. Estas muestras son las etiquetadas con los números de laboratorio CDS23 y CDS24 (Figura 7.4.1.4.). La muestra CDS23 es un molariforme inferior izquierdo, mientras que CDS24 se ha identificado como un M1/M2 inferior derecho. Aunque las muestras presentan un alto grado de desgaste, se caracterizan por presentar una longitud oclusal pequeña. Por ese motivo, se seleccionaron por la posibilidad de que pudieran pertenecer supuestamente a *Equus hydruntinus*.



Figura 7.4.1.4. ***Muestras CDS23 y CDS24***.

Tabla 7.4.1.3. ***Relación de muestras de Las Caldas utilizadas en esta investigación.***

CAMPAÑA	TAXÓN	CUADRO	NIVEL	HORIZONTE	DESCRIPCIÓN	ELEMENTO SELECCIONADO	Nº LAB
1998	*Equus ferus*	I11 - J11	19 base	Solutrense medio	P3-M2 superiores izquierdos	P3 superior izquierdo	CDS 01
1998	*Equus ferus*	J11	19 base		P2-M3 inferiores derecho	P3 inferior derecho	CDS 02
1998	*Equus ferus*	J11	19 base		Dientes superiores e inferiores, lado izquierdo	P3 inferior izquierdo	CDS 03
1998	*Equus ferus*	I11	18		M1-M3 superiores izquierdo	M1 superior izquierdo	CDS 04
1997	*Equus ferus*	J11	17		dP inferior derecho	dP inferior derecho	CDS 05
1997	*Cervus elaphus*	J11	17		P3/4 superior izquierdo	P3/4 superior izquierdo	CDS06
1997	*Equus ferus*	J11	15		P4-M3 inferiores derechos	M2 inferior derecho	CDS 07
1996	*Cervus elaphus*	J11	14		M3 superior izquierdo	M3 superior izquierdo	CDS 08
1994	*Equus ferus*	J13	12B	Solutrense superior	Fragmento proximal de falange 2	Fragmento proximal de falange 2	CDS 09
1994	*Equus ferus*	K12	11		P3/P4 superior izquierdo	P3/P4 superior izquierdo	CDS 10
1993	*Equus ferus*	K11	10B		P2-M3 superiores derechos	P4 superior derecho	CDS11
1991	*Equus ferus*	J11	9b		Fragmento de hemimandíbula izquierda con posible M1 y M2	Posible M1 inferior izquierdo	CDS 12
1990	*Equus ferus*	K11	8c		Incisivo	Incisivo	CDS 13
1991	*Equus ferus*	K11	7		P2-P4 Superior derecho	P3 superior derecho	CDS 14
1985	*Equus ferus*	G4	III-1		Molariforme inferior derecho	Molariforme inferior derecho	CDS 15
1992	*Equus ferus*	H3	XII inferior	Magdaleniense inferior	M1/M2 inferior derecho	M1/M2 inferior derecho	CDS 16
1992	*Equus ferus*	G3	XII		P3/P4 superior izquierdo	P3/P4 superior izquierdo	CDS 17
1985	*Equus ferus*	G4	XI		P3/P4 inferior derecho	P3/P4 inferior derecho	CDS 18
1992	*Equus ferus*	H4	IX	Magdaleniense medio antiguo	Falange 3	Falange 3	CDS 19
1985	*Equus ferus*	G4	IXc		P2 inferior izquierdo	P2 inferior izquierdo	CDS 20
1985	*Equus ferus*	G4	IX base a IXc		Fragmento apical de molariforme inferior izquierdo	Fragmento apical de molariforme inferior izquierdo	CDS 21
1985	*Equus ferus*	G4	IXc		Incisivo	Incisivo	CDS 22
1983	*Equus ferus / Equus hydruntinus*	G4	IX		Molariforme inferior izquierdo	Molariforme inferior izquierdo	CDS 23
1987	*Equus ferus / Equus hydruntinus*	G5	IXa		M1/M2 inferior derecho	M1/M2 inferior derecho	CDS 24
1986	*Equus ferus*	G5	VIII		M1/M2 inferior izquierdo	M1/M2 inferior izquierdo	CDS 25
1990	*Equus ferus*	H4	VIII		dI inferior izquierdo	dI inferior izquierdo	CDS 26
1986	*Equus ferus*	G5	VII		Fragmento de mandíbula con I1-I3 izquierdos e I1-I2 derechos	I2 inferior derecho	CDS 27
1988	*Equus ferus*	H4	VII		Fragmento distal de molariforme inferior izquierdo	Fragmento distal de molariforme inferior izquierdo	CDS 28
1985	*Equus ferus*	H3	IV	Magdaleniense medio evolucionado	P2 inferior derecho	P2 inferior derecho	CDS 29
1983	*Equus ferus*	G3	III	Magdaleniense medio transicional	P2 inferior izquierdo	P2 inferior izquierdo	CDS 30
1983	*Equus ferus*	G3	III		Falange 3	Falange 3	CDS 31
1987	*Equus ferus*	H2	II	Magdaleniense superior	P2 inferior izquierdo	P2 inferior izquierdo	CDS 32
1994	*Cervus elaphus*	K12	11	Solutrense superior	Molar superior	Molar superior	CDS 33
1985	*Cervus elaphus*	G4	III-1		Molar inferior	Molar inferior	CDS 34
1985	*Cervus elaphus*	G4	XI	Magdaleniense inferior	M2/M3 superior izquierdo	M2/M3 superior izquierdo	CDS 35

En el Capítulo 5 *Estudios sobre* Equus hydruntinus *ibéricos*, se comentan en detalle las características morfológicas y biométricas que han sido utilizadas por diversos autores de manera general para identificar restos faunísticos del taxón *Equus hydruntinus*.

7.4.1.7. El proceso de extracción de ADN de la fauna de Las Caldas

7.4.1.7.1. Extracción de ADN

De cada fósil se obtuvo una muestra, que se sometió al protocolo de extracción de ADN número 1. Las extracciones se realizaron en seis series de cinco muestras. Cada serie se acompañó de una muestra de *Cervus elaphus* y dos muestras de ddH_2O.

7.4.1.7.2. Amplificación de ADN

Sobre los extractos de ADN se realizó una primera amplificación con los cebadores 15.425F – 15.625R (región 1). Esta pareja de cebadores permite diferenciar fragmentos genéticos de distintas especies de équidos. A continuación, se realizó una amplificación de las regiones 2 y 3, utilizando los siguientes cebadores: 15.537F – 15.728R (región 2) y 15668F – 15862R (región 3) (Tabla 7.1.2; Figura 7.1.4).

Posteriormente, se realizó sobre los extractos de ADN una nueva amplificación de cada región utilizando las mismas parejas de cebadores para las regiones 1 y 3 y, la pareja de cebadores 15.546F – 15.708R para la región 2.

7.4.2. El yacimiento de Cueva Oscura de Ania (Las Regueras, Asturias)

7.4.2.1. Localización del yacimiento

El yacimiento de Cueva Oscura de Ania se encuentra localizado en el concejo de Las Regueras, a 23 km de Oviedo, en el Principado de Asturias (Figura 7.4.2.1) (Gómez Tabanera, *et al*., 1975). Las coordenadas aproximadas de este yacimiento son 43° 25' 29,22'' latitud Norte y 5° 59' 17,63'' longitud Oeste (coordenadas obtenidas con la aplicación SIGPAC: http://sigpac.magrama.es/fega/h5visor/).



Figura 7.4.2.1. ***Localización geográfica de Cueva Oscura de Ania en la península ibérica.***

Este yacimiento se encuentra a una cota aproximada de 140 metros sobre el nivel del mar (msnm) (Adán *et al*., 1999). Está localizado en el tramo medio de la cuenca hidrográfica del río Nalón. Más concretamente, se encuentra en la margen izquierda del curso medio del río Andallón, a 1500 metros antes de que este río desemboque en el río Nalón (Adán *et al*., 1999; Adán *et al*., 2001). Está situado en un área que presentó una intensa ocupación humana durante el Paleolítico Superior, ya que se encuentra próximo a otras cuevas con depósitos arqueológicos, como la Cueva de la Paloma, la Cueva de Sofoxó I, la Cueva del Gitano, la Peña de Candamo y la Cueva de Las Caldas (Figura 7.4.2.2) (Gómez Tabanera *et al*., 1975; Pérez Pérez, 1977; Adán *et al*., 2001).

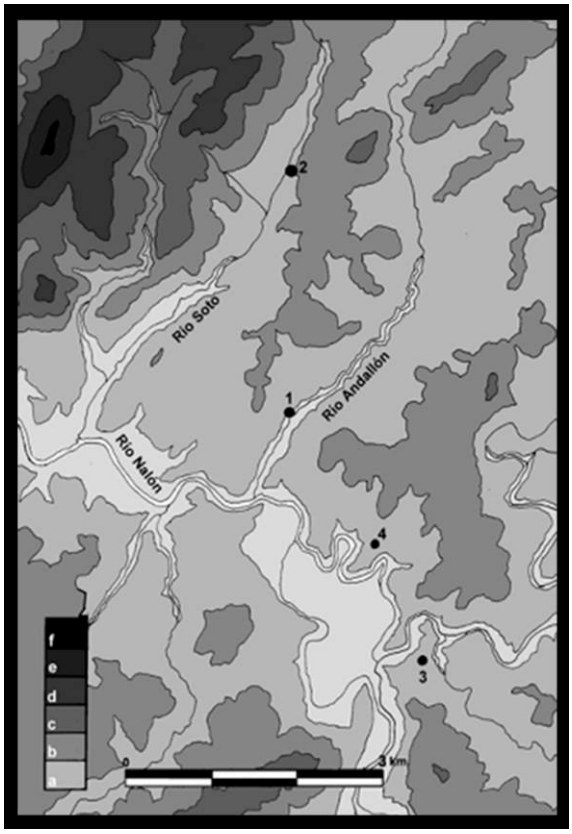


Figura 7.4.2.2. ***Mapa de la cuenca media del río Nalón.*** Se representan los yacimientos cercanos a Cueva Oscura de Ania citados en el texto. **1)** Cueva Oscura de Ania, **2)** Cueva de La Paloma, **3)** Cueva de Sofoxó I, **4)** Cueva del Gitano o Mestas III. Curvas de nivel (msnm): a. – 0 – 100; b. – 100 – 200; c. – 200 – 300; d. – 300 – 400; e. – 400 – 500; f. – 500 – 600. (Figura tomada de Adán *et al*., 2001).

7.4.2.2. Historia de las excavaciones en Cueva Oscura de Ania

El yacimiento de Cueva Oscura de Ania fue descubierto por alumnos del Instituto de Enseñanza Media de la villa de Grado (Asturias) hacia el año 1958, y posteriormente excavado por un equipo dirigido por Gómez Tabanera y Pérez Pérez (Adán *et al*., 1999). Los trabajos de campo se realizaron durante seis campañas, comenzando en la primavera de 1975, y finalizando en 1980 (Gómez Tabanera *et al*., 1975; Pérez Pérez, 1992; Adán *et al*., 1999).

7.4.2.3. Descripción de Cueva Oscura de Ania

Cueva Oscura de Ania es un yacimiento en cueva que presenta dos entradas abiertas orientadas hacia el Este (Figura 7.4.2.3). Ambas entradas dan acceso a una cámara principal que se encuentra dividida casi simétricamente por bloques calizos caídos del techo (Gómez Tabanera *et al*., 1975; Adán *et al*., 1999).

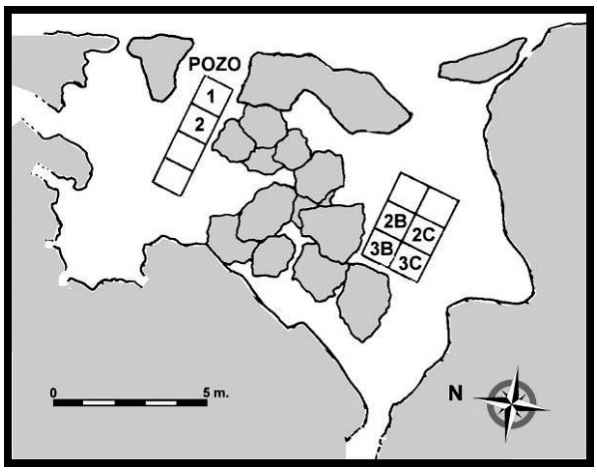


Figura 7.4.2.3. ***Plano del yacimiento de Cueva Oscura de Ania*****.** Se detalla la ubicación los sectores de excavación norte y sur, y de las cuadrículas de excavación. (Figura modificada de Adán *et al*., 2001).

Durante los trabajos de campo se definieron dos zonas de excavación, una cata en la cámara septentrional o sector norte, y otra zona de excavación en la cámara meridional o sector sur (Figura 7.4.2.3). Los trabajos de excavación de la cámara septentrional abrieron una cata de $2m^2$ donde documentaron una zona revuelta, asociada a una excavación clandestina realizada hacia el año 1934 por un buscador de tesoros. Además, también se documentó un gran agujero frente a la entrada meridional de la cueva, que se consideró realizado por la misma persona (Pérez Pérez, 1978). De este modo, y ante la imposibilidad de recuperar una estratigrafía clara en la zona septentrional, se realizó una cata en la zona meridional o cámara sur (Gómez Tabanera *et al*., 1975).

En la cámara sur se excavó una zona con una extensión de $6m^2$ (Adán *et al*., 2002, nota 2; Adán *et al*., 2007). Los materiales que se recuperaron en los trabajos de campo han permanecido prácticamente inéditos, a excepción de un par de artículos genéricos donde se presentaba la estratigrafía (Gómez Tabanera *et al*., 1975; Pérez Pérez, 1977), y otros artículos sobre piezas muy concretas (Pérez Pérez, 1978; 1992). La industria lítica y ósea del yacimiento se ha dado a conocer más detalladamente a partir de revisiones del material realizadas por Adán *et al*. (1999; 2001; 2002; 2007).

La estratigrafía que se publicó inicialmente del sondeo de la cámara meridional correspondía a la primera campaña de excavación, y presentaba 3 niveles (Gómez Tabanera *et al*., 1975; Pérez Pérez, 1977; 1992). No obstante, la secuencia estratigráfica no se presentó en detalle. En los dibujos de los cortes estratigráficos publicados en estos artículos no se hacía referencia a los niveles identificados. En estos dibujos no aparecía la nomenclatura de los niveles establecidos durante la excavación (Adán *et al*., 1999; 2001). Además, se comentaba que la estratigrafía había resultado ser muy compleja de interpretar (Pérez Pérez, 1977).

Aparte, cuando se procedió al estudio de los materiales azilienses depositados en el Museo de Arqueología de Asturias, se descubrió que no había correlación entre los niveles estratigráficos descritos en los primeros trabajos y la información de las etiquetas de las muestras (Adán *et al*., 1999; 2001). A partir de la información de las etiquetas, las muestras azilienses aparecían asociadas a los horizontes 0, 0a, 0b y 0c, además de unos pocos materiales asociados al horizonte suplementario 0/Superficial (Adán *et al*., 1999; 2001).

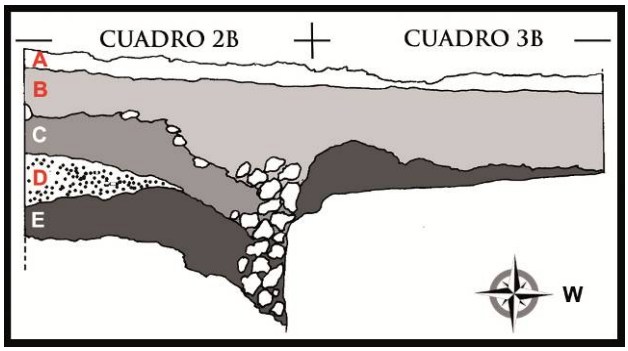


Figura 7.4.2.4. ***Perfil estratigráfico del área de excavación sur de Cueva Oscura de Ania***. Hipotética reconstrucción de niveles: A=Nivel superficial; B=Nivel 1 / Horizontes 0 y 0a; C= Nivel 2 / Horizontes 0b y 0c; D= Nivel de arcillas blancas; E= Estrato III. [Figura modificada a partir de Adán *et al*. (2001)].

Por esa razón, en los trabajos de revisión de materiales que se han realizado desde finales de la década de 1990 en adelante sobre la industria lítica y ósea de este yacimiento, se redefinieron los niveles estratigráficos asociados a la excavación de la cámara meridional (Adán *et al*., 1999; 2001). Estos nuevos trabajos propusieron delimitar los niveles estratigráficos de la siguiente manera (Figura 7.4.2.4), entendida como una reconstrucción hipotética a contrastar. El análisis del Nivel 3 se realizó en detalle en Adán *et al.* (2002). En este trabajo de investigación hemos seguido esta propuesta de nomenclatura.

La estratigrafía que se ha publicado sobre Cueva Oscura de Ania corresponde al área de excavación sur (Gómez Tabanera *et al*., 1975; Pérez Pérez, 1977; Adán *et al*., 1999). En el estudio de Adán *et al*. (2002) se destacó que la estratigrafía publicada simplificaba de manera excesiva la secuencia estratigráfica, sobre todo en su tramo inferior. Se argumentó como posible causa de ese desajuste, que la estratigrafía se dibujase antes de que el sondeo del sector sur alcanzara su base en toda la superficie del área de excavación (Figura 7.4.2.4).

A continuación, se detallan los niveles estratigráficos diferenciados en el sector sur de Cueva Oscura de Ania, así como su adscripción cultural:

- **Nivel superficial** (Antiguo horizonte suplementario 0 / Superficial. Nuevo Nivel A), *superficie revuelta*.

No hay información sobre el espesor, distribución y características, solamente comentarios a la superficie revuelta (Gómez Tabanera *et al*., 1975; Pérez Pérez, 1977; Adán *et al*., 1999).

- **Nivel 1** (Antiguos horizontes 0 y 0a. Nuevo nivel B), *Aziliense clásico temprano.*

  En la primera publicación no se ofreció información sobre las características sedimentológicas de este nivel (Gómez Tabanera *et al*., 1975). En otra publicación posterior, se comenta su diferenciación en dos subniveles, pero sin explicar la razón de esta división (Pérez Pérez, 1977). Se ha sugerido que estos subniveles fueran los horizontes 0 y 0a (Adán et al., 1999). Según los excavadores, las características de los materiales de industria lítica y ósea encontrados en este nivel permitían asociarlo en principio al Aziliense Cantábrico (Gómez Tabanera et al., 1975; Pérez Pérez, 1977).

  Las posteriores revisiones del utillaje lítico microlaminar y del análisis tecnomorfológico de la colección ósea de los niveles superiores de Cueva Oscura de Ania, han propuesto que este nivel quede asociado a momentos de transición hacia el Aziliense clásico, encuadrándose por lo tanto en un Aziliense clásico temprano (Adán *et al*., 1999).

- **Nivel 2** (Antiguos horizontes 0b y 0c. Nuevo Nivel C), *Aziliense antiguo*.

  En las primeras publicaciones sobre el yacimiento se destacó lo complicado de la estratigrafía de este nivel (Gómez Tabanera et al., 1975; Pérez Pérez, 1977). A partir del material recuperado, este nivel se asoció con el periodo Aziliense, considerándolo como "Aziliense atípico", carácter fundamentado por la presencia de dos arpones planos de una hilera de dientes sin perforación basal (Gómez Tabanera *et al*., 1975; Pérez Pérez, 1977).

  Las posteriores revisiones del utillaje lítico microlaminar y del material óseo de los niveles superiores de Cueva Oscura de Ania, han propuesto que este nivel quede asociado a un Aziliense antiguo, donde la presencia entre el repertorio lítico de puntas de doble dorso ha tenido una importancia significativa para realizar dicha distinción (Adán *et al*., 1999). De hecho, Cueva Oscura de Ania ha ofrecido la secuencia Aziliense arcaico más completa de la cuenca hidrográfica del río Nalón (Adán *et al*., 1999).

- **Nivel de Arcillas blancas** (Nuevo Nivel D).
- **Estrato III** (Antiguos niveles 3, 3a y 3b. Nuevo Nivel E).

A partir de los materiales recuperados, sobre todo teniendo en cuenta algunas piezas de gran tamaño talladas en cuarcita y la industria ósea, este nivel se atribuyó en un principio al Magdaleniense superior cantábrico (Gómez Tabanera *et al*., 1975; Pérez Pérez, 1977).

En este nivel se identificaron varias unidades estratigráficas, pero los excavadores no ofrecieron información sobre las características sedimentarias que motivaron esta diferenciación (Adán *et al.,* 2007). Aunque la división en subniveles 3a y 3b se comentó de manera tangencial (Pérez Pérez, 1992), posteriores análisis han puesto de manifiesto que los excavadores definieron 3 niveles o capas arqueológicas, denominados de techo a base 3, 3a y 3b (Adán *et al*., 2002).

A partir del análisis de Adán *et al*. (2002), se ha denominado este nivel como Estrato III (además de nuevo Nivel E), manteniendo la denominación de Nivel 3 para la parte superior del mismo, y de este modo evitar confusiones.

Como resultado del análisis de la industria ósea, se han diferenciado dos tecnocomplejos. El primero estaría formado por el material recuperado del nivel 3 y quizás algunos elementos del 3a. El segundo tecnocomplejo estaría constituido por la mayoría de los materiales del nivel 3a y los materiales de 3b (Adán *et al*., 2002).

Se ha considerado que el primer tecnocomplejo (nivel 3 y quizás algunos elementos del 3a) sería representativo de un Magdaleniense superior muy inicial, debido en parte a la presencia de arpones (Adán *et al*., 2002; 2007).

Por otro lado, se ha considerado que el segundo tecnocomplejo (constituido por la mayoría de los materiales del nivel 3a y los materiales de 3b) podría estar asociado al Magdaleniense medio evolucionado o a la transición Magdaleniense medio / Magdaleniense superior, debido a la abundante presencia de varillas decoradas y azagayas de bisel doble (Adán *et al*., 2002; 2007).

Además, el análisis preliminar del arte mueble del nivel 3a, en concreto un fragmento de hueso decorado con motivos no figurativos y zoomorfo (Pérez Pérez, 1992), también apoya la adscripción de este horizonte al Magdaleniense medio evolucionado (Adán *et al*., 2002).

7.4.2.4. Cronoestratigrafía de Cueva Oscura de Ania

La cronoestratigrafía propuesta para el Aziliense y el Magdaleniense medio / superior de Cueva Oscura de Ania se ha elaborado contrastando los materiales recuperados en este yacimiento y sus cronologías asociadas con los de otros yacimientos cantábricos coetáneos (Tabla 7.4.2.1).

7.4.2.4.1. Cronoestratigrafía propuesta para los niveles azilienses

La propuesta cronoestratigráfica del Nivel 1 (Nuevo nivel B), vinculado a una etapa de transición al Aziliense clásico, ha resultado ser compleja. La razón principal se ha debido a la ausencia de dataciones de radiocarbono en otros yacimientos con Aziliense clásico. El límite superior se ha establecido en las evidencias de Aziliense clásico que presenta el nivel 3e3 de la Cueva de los Azules I, localizada en la cuenca hidrográfica del río Sella (Asturias). Este nivel 3e3 presenta una datación de 11.190 ± 350 BP (BM-1877) (Fernández-Tresguerres, 1989 en Adán *et al*., 2001). Se ha propuesto que el Nivel 1 de Cueva Oscura de Ania no debería superar la fecha del nivel 3e3 de la Cueva de los Azules I (Adán *et al*., 2001) (Tabla 7.4.2.1).

Por su parte, del nivel 2 (nuevo Nivel C, asociado al Aziliense antiguo) se han obtenido dos dataciones de radiocarbono a partir de muestras de fragmentos de carbón vegetal. Una muestra del Horizonte 0b ha arrojado un resultado de 11.880 ± 200 BP (GIF-5102) (Tabla 7.4.2.1).

Tabla 7.4.2.1. ***Dataciones previamente publicadas de Cueva Oscura de Ania.*** Se presentan también las dataciones de niveles de otros yacimientos con los que se compara su secuencia estratigráfica.
(1) Calibración realizada con el programa OxCal 4,2 y la curva de calibración IntCal13.

YACIMIENTO	NIVEL	PERIODO CULTURAL	REFERENCIA DEL LABORATORIO	^{14}C BP CONVENCIONAL	^{14}C cal. BP. (2σ) [1]	^{14}C cal. aC. (2σ) [1]	REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA
Los Azules I (Asturias)	3e3	Aziliense clásico	BM-1877	11190 ± 350	13925 - 12388	11976 - 10439	Fernández-Tresguerres, 1989 en Adán Álvarez, G.E. *et al* ., 2001
Cueva Oscura de Ania (Asturias)	Antiguo horizonte 0b - Nuevo Nivel C	Aziliense antiguo	GIF-5102	11880 ± 200	14266 - 13279	12317 - 11330	Pérez Pérez, M., 1992
	Antiguo horizonte 0b - Nuevo Nivel C	Aziliense antiguo	CSIC-362	9440 ± 90	11094 - 10433	9145 - 8484	Pérez Pérez, M., 1992
	Antigua capa 3a	Magdaleniense superior	GIF-5106	11670 ± 200	13970 - 13119	12021 - 11170	Pérez Pérez, M., 1992
	Antigua capa 3b	Magdaleniense medio evolucionado	GIF-5407	13500 ± 150	16755 - 15826	14806 - 13877	Pérez Pérez, M., 1992

La otra muestra, también recuperada en el Horizonte 0b, ha ofrecido una edad de 9440 ± 90 BP (CSIC-362) (Pérez Pérez, 1992). No obstante, al desconocerse el proceso de muestreo, la situación relativa entre estas muestras, e incluso la posible existencia de diferencias entre las cotas de estas muestras, se ha sugerido que estos resultados se utilicen con prudencia (Adán *et al*., 1999) (Tabla 7.4.2.1).

Para la determinación cronoestratigráfica del Aziliense antiguo de Cueva Oscura de Ania se ha planteado que la datación (GIF-5102) 11.880 ± 200 BP del Nivel 2 (nuevo Nivel C), sea considerada como límite inferior (Tabla 7.4.2.1). De este modo, se propone aceptar como válida esta datación por radiocarbono, al ser similar a las dataciones obtenidas en otros yacimientos con Aziliense antiguo (Adán *et al*., 2001). Por su parte, el límite superior del Aziliense antiguo sería anterior al nivel 3e3 de la Cueva de Los Azules I. Este nivel se ha considerado ya característico del Aziliense clásico, y presenta un resultado de radiocarbono de 11.190 ± 350 BP (BM-1877), comentada anteriormente. De este modo, esta etapa cultural correspondería con la primera mitad del episodio paleoclimático Alleröd / Cantábrico VIII de la secuencia sedimentológica establecida por M. Hoyos para la cornisa cantábrica (Adán *et al*., 2001).

7.4.2.4.2. Cronoestratigrafía propuesta para el nivel magdaleniense

Este nivel se había dividido a su vez en los niveles o capas arqueológicas denominadas de techo a base 3, 3a y 3b. Tras la revisión de sus materiales, se había sugerido agrupar estas capas en dos tecnocomplejos. El tecnocomplejo más moderno estaría constituido por los materiales de la capa 3 y quizás algún elemento de 3a. El tecnocomplejo más antiguo estaría formado por la mayoría de los materiales de 3a y los materiales de 3b (Adán *et al*., 2002; 2007).

La asociación cronoestratigráfica del tecnocomplejo relacionado con los materiales de la capa 3 y de algunas muestras de la capa 3a no se ha podido precisar con exactitud (Adán *et al*., 2002). Para la capa 3 no hay publicadas dataciones de radiocarbono. Para la capa 3a, hay asociada una datación de radiocarbono con un resultado de 11.670 ± 200 BP (GIF-5106) (Pérez Pérez, 1992) (Tabla 7.4.2.1), que se ha considerado demasiado reciente para el tipo de material estudiado en esta capa, que debería estar asociado a dataciones de radiocarbono más antiguas (Adán *et al*., 2007). Las razones que se argumentan para esta incoherencia descansan en las características técnicas y tipológicas de la industria ósea. La industria de este

tecnocomplejo presenta características atribuibles a inicios del Magdaleniense superior (Adán *et al*., 2007). Además se ha sugerido que este tipo de industria se correspondería con los momento iniciales del episodio paleoclimático Dryas II / Cantábrico VII de la secuencia de M. Hoyos (Adán *et al*., 2002; 2007).

No obstante, el resultado de radiocarbono del nivel 3a situaría esta fecha en un momento de transición hacia las primeras fases del episodio Ällerod / Cantábrico VIII y, por lo tanto, temporalmente más moderno que el episodio al que se vincula el tipo de industria ósea analizada en este nivel 3a (Adán *et al*., 2007).

Además, tanto el resultado de esta datación de la capa 3a, como su vinculación con el episodio de transición al episodio Ällerod / Cantábrico VIII, guarda similitud con las conclusiones obtenidas sobre el Nivel 2 (nuevo nivel C). Cabe recordar que el material del Nivel 2 (nuevo nivel C) se ha asociado al Aziliense antiguo (Adán *et al*., 2007). Además, la datación de 11.880 ± 200 BP (GIF-5102) del Nivel 2 (nuevo nivel C) solapa con la obtenida en la capa 3a (11.670 ± 200 BP, GIF-5106) (Tabla 7.4.2.1).

La asociación cronoestratigráfica del tecnocomplejo asociado a los materiales de la capa 3b y la mayoría de las muestras de la capa 3a se ha precisado atendiendo, sobre todo, a una datación de radiocarbono de la capa 3b. Para esta capa se dispone de una datación por radiocarbono que ha arrojado un resultado de 13.500 ± 150 BP (GIF-5407) (Pérez Pérez, 1992) (Tabla 7.4.2.1). Esta datación se ha considerado coherente con el análisis de la industria ósea. Debido a esta cronología, se ha propuesto que esta unidad estratigráfica correspondería con el comienzo del episodio paleoclimático Bölling / Cantábrico VI de la secuencia de M. Hoyos (Adán *et al*., 2002; 2007).

7.4.2.5. El estudio de la fauna de Cueva Oscura de Ania

Hasta la fecha, no se ha publicado ningún estudio específico sobre la fauna recuperada en Cueva Oscura de Ania. Se tiene constancia de que el estudio de la misma recayó en un principio en J.F. Villalta, jefe de la sección de Ecología del Cuaternario del Instituto Jaime Almera de Investigaciones Geológicas (CSIC, Barcelona) (Gómez Tabanera *et al*., 1975; Adán *et al*., 2002, nota 8), pero no se ha encontrado información alguna sobre la publicación de estos análisis. La ausencia de esta publicación se suma a la de otros análisis que quedaron pendientes, y que han provocado que la práctica totalidad del material recuperado en Cueva Oscura de Ania haya permanecido inédito (Adán *et al*., 2001).

La fauna de Cueva Oscura de Ania se encuentra mayoritariamente repartida entre el Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid (MNCN) y una institución catalana (Adán *et al*., 2002). Además, una pequeña parte se encuentra almacenada en el Museo Arqueológico de Asturias (MAA). Los restos depositados en el MAA han sido estudiados por D. Álvarez-Lao, y detallados en un documento inédito [Adán *et al*., (2000) *Informe del análisis de los materiales depositados en el "Museo Arqueológico de Asturias" de la Cueva Oscura de Ania (Las Regueras)*. Consejería de Educación y Cultura del Principado de Asturias. Oviedo, en Adán *et al*. (2007), nota 27].

En la nota 27 de Adán *et al*. (2007), se detallan algunos resultados del análisis de los restos faunísticos del Nivel 3. Los taxones que se identificaron fueron los siguientes: ciervo (Nivel 3a: 21,7%; Nivel 3b: 75,6%); cabra (Nivel 3a: 21,7%; Nivel 3b: 12,5%); bovino (Nivel 3a: 12,9%; Nivel 3b: 7,5%) y corzo (Nivel 3a: 2%). Además, se destacó la abundancia de conejo en el Nivel 3a (41,4%) y su práctica ausencia en el Nivel 3b (solo un resto identificado). Aparte, la mayoría de los restos presentaban un alto grado de fracturación (no superando los 30 mm).

Por otro lado, a partir de la revisión de las colecciones de fauna y actualización de las listas faunísticas de los restos procedentes de 57 yacimientos cantábricos que se encuentran depositados en el MNCN (Domingo *et al*., 2005), ha sido posible obtener algunos datos relativos a Cueva Oscura de Ania. Este análisis no se ha realizado para cada nivel estratigráfico, sino que se muestra de manera global atendiendo a todos los niveles. En la colección de restos faunísticos de este yacimiento depositada en el MNCN el ciervo es la especie predominante, seguida de la cabra y del rebeco (Domingo *et al*., 2005). Al igual que ocurría con el análisis realizado sobre los restos depositados en el MAA, el ciervo (*Cervus elaphus*) y la cabra (*Capra* sp.) se presentan como los taxones mayoritarios.

7.4.2.6. Muestras de Cueva Oscura de Ania seleccionadas para esta investigación

La fauna seleccionada para este estudio pertenece a las colecciones del MNCN. La información relativa a la procedencia de las muestras paleontológicas aquí estudiadas permite afirmar que, por lo menos la inmensa mayoría (el 80% de las muestras seleccionadas) pertenecen a la cata realizada en el sector meridional o sector sur, siendo lo más probable que todas las muestras pertenezcan a la excavación del sector sur.

Para llevar a cabo esta investigación, en el MNCN se seleccionaron 16 restos faunísticos, de los cuales ocho pertenecían a *Equus ferus*, cuatro restos a *Equus* (*Asinus*) sp. y los cuatro restantes a *Cervus elaphus* (Tabla 7.4.2.2).

Los cérvidos se seleccionaron con la finalidad de utilizarlos como controles negativos durante el proceso de extracción de ADN de los équidos.

Con la finalidad de profundizar en la descripción de las muestras, hemos llevado a cabo un reanálisis de todas las muestras para esta investigación.

Además, debemos destacar el posible hecho de tener representada en la colección de équidos por lo menos dos taxones diferentes. Un taxón estaría caracterizado por los restos de *Equus ferus*, y el otro taxón sería *Equus hydruntinus*.

En el listado proporcionado por Domingo *et al*. (2005) destacan la presencia de algunos restos de un équido de tipo asno. Durante el proceso de selección de las muestras en el MNCN, por lo menos cuatro de las 12 muestras de équidos estaban etiquetadas como posibles asnos (Tabla 7.4.2.2). Estas muestras son las que se etiquetaron con los números de laboratorio COA6, COA8, COA10, COA13 (Tabla 7.4.2.2). Teniendo en cuenta su cronología pleistocena, y que a *Equus hydruntinus* también se lo conoce comúnmente como *asno salvaje europeo*, se ha propuesto que hagan alusión a *Equus hydruntinus* (Álvarez Laó, 2003).

La razón por la cual estos restos se etiquetaron como *Equus* (*Asinus*) sp., está relacionada con su pequeño tamaño y sus proporciones gráciles. En el Capítulo 5 *Estudios sobre* Equus hydruntinus *ibéricos*, se comenta en detalle las características morfológicas y biométricas que han sido utilizadas de manera general para clasificar restos faunísticos al taxón *Equus hydruntinus*.

Los restos de équidos seleccionados son una muestra del total depositado en el museo, que asciende a 54 restos de *Equus ferus* y 2 de *Equus* (*Asinus*) sp. (Domingo *et al*., 2005). Hemos notado que hay una discrepancia entre el número de restos publicados por Domingo *et al*. (2005) como *Equus* (*Asinus*) sp. y los seleccionados por nosotros. Este descuadre podría estar relacionado con la distribución de muestras por etiquetas, debido a que era posible encontrar varias muestras con la misma etiqueta.

Tabla 7.4.2.2. Relación de muestras de Cueva Oscura de Ania utilizadas en esta investigación. (1). A partir de Adán *et al.* (1999)

YACIMIENTO	CAMPAÑA	SIGLA MNCN	SIGLA ASTURIAS	CUADRÍCULA	NIVEL ANTIGUO	PROPUESTA DE NUEVO NIVEL [1]	ASOCIACIÓN CULTURAL [1]	TAXÓN	DESCRIPCIÓN	Nº LABORATORIO
Cueva Oscura de Ania	1975-1979	12165	C-1b/N-1A	1b	1A	B	Aziliense clásico temprano	*Equus ferus*	Fragmento rama ascendente hemimandíbula izquierda	COA1
	1979-1980	27115	C-2b/N-3A	2b	3A	E	Magdaleniense medio evolucionado / superior inicial	*Equus ferus*	Fragmento de I3 inferior derecho	COA2
	1979-1980	12219	C-1b/N-3?	1b	3?	E	Magdaleniense medio evolucionado / superior inicial	*Cervus elaphus*	P4 inferior derecho	COA3
	1979-1980	27115	C-2b/N-3A	2b	3A	E	Magdaleniense medio evolucionado / superior inicial	*Equus ferus*	M1/M2 inferior izquierdo	COA4
	Sin información	27115	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información	*Equus ferus*	P3/P4 inferior derecho	COA5
	1979-1980	12209	C-1b/N-3A	1b	3A	E	Magdaleniense medio evolucionado / superior inicial	*Equus hydruntinus*	Fragmento proximal de posible metatarso II izquierdo	COA6
	Sin información	12219	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información	*Cervus elaphus*	M1/M2 inferior derecho	COA7
	1979-1980	12209	C-1b/N-3?	1b	3?	E	Magdaleniense medio evolucionado / superior inicial	*Equus hydruntinus*	Fragmento proximal de metacarpo II derecho	COA8
	1979-1980	27085	C-2c/N-3A	2c	3A	E	Magdaleniense medio evolucionado / superior inicial	*Equus ferus*	I1 inferior izquierdo	COA9
	1979-1980	12144	C-2b/N-3A	2b	3A	E	Magdaleniense medio evolucionado / superior inicial	*Equus hydruntinus*	Metatarso II derecho	COA10
	Sin información	10962	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información	*Equus ferus*	Epífisis proximal metatarso III	COA11
	1980	10969	C-1b/N-3B	1b	3B	E	Magdaleniense medio evolucionado	*Cervus elaphus*	Fragmento de radio	COA12
	1979-1980	12208	C-1b/N-3A	1b	3A	E	Magdaleniense medio evolucionado / superior inicial	*Equus hydruntinus*	Fragmento de molariforme superior derecho	COA13
	1980	27077	C-1b/N-3B	1b	3B	E	Magdaleniense medio evolucionado	*Equus ferus*	M1/M2 Inferior derecho	COA14
	Sin información	12252	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información	*Cervus elaphus*	M1/M2 superior derecho	COA15
	1980	27077	C-1b/N-3B	1b	3B	E	Magdaleniense medio evolucionado	*Equus ferus*	Gérmen de M3 superior derecho	COA16

A partir de la información etiquetada en los propios restos, y contrastándola con la información ofrecida por Adán *et al*. (1999; 2001; 2002; 2007), se ha asociado cada uno de estos restos con su nivel estratigráfico correspondiente, vinculándolo además con un periodo cultural (Tabla 7.4.2.2).

De este modo, para el caso de los restos de équidos, de las 12 muestras analizadas, una muestra procede del nivel asociado a la transición hacia el Aziliense clásico (8,3% del total de las muestras de équidos), nueve muestras proceden de niveles asociados al Magdaleniense (75% del total), donde seis muestras están asociadas a la capa 3a, dos muestras asociadas a la capa 3b, y una muestra podría pertenecer a cualquiera de las dos. Por último, dos muestras (16,7% del total) no están asociadas a ninguno de los niveles estratigráficos definidos, y tampoco se tiene información relativa a la cuadrícula donde se excavaron (Tabla 7.4.2.2).

En el caso de los ciervos, dos de las cuatro muestras (50%) proceden de niveles asociados al Magdaleniense. De estas dos muestras, una está asociada a la capa 3b y la otra podría pertenecer a cualquiera de las dos capas. Por otro lado, de las dos muestras restantes (50%) no se obtuvo información relativa a la cuadrícula y nivel donde se excavaron (Tabla 7.4.2.2).

En relación a las muestras de équidos, el 75% de las muestras seleccionadas pertenecen al Nivel 3 (nuevo nivel E – Estrato III). Para este nivel se disponía de una sucinta información sobre el análisis de la fauna, detallada en la nota 27 de la publicación de Adán *et al*. (2007) comentada anteriormente. Cabe destacar que en el listado representado en la nota 27, no se hace mención sobre el porcentaje de los restos de équidos.

A partir de la información proporcionada por Adán *et al.* (2002, nota 4) sobre las campañas de excavación del nivel 3, ha sido posible asociar los restos faunísticos seleccionados con alguna campaña de campo. La excavación del Nivel 3 comenzó en 1977, en el cuadro 2b. En el año 1978 se excavó el Nivel 3 en los cuadros 1b; 1c; 2b y 2c, y además se identificó el Nivel 3a en el cuadro 1c. En el año 1979 se excavó el Nivel 3a en el resto de cuadros (1b; 1c; 2b y suponemos también en 2c, ya que se hace mención a todos los cuadros). En la campaña de 1980 se continuó con la excavación del Nivel 3 y además, se identificó el Nivel 3b (Adán *et al.* 2002, nota 4) (Tabla 7.4.2.2).

7.4.2.7. El análisis de radiocarbono sobre la fauna de Cueva Oscura de Ania

Con la finalidad de obtener información radiométrica más detallada de la fauna de Cueva Oscura de Ania, se efectuaron muestreos sobre dos restos faunísticos para su posterior análisis de radiocarbono. Las muestras seleccionadas fueron los restos con los números de laboratorio COA10 y COA16.

Los análisis de radiocarbono se llevaron a cabo en el Oxford Radiocarbon Acelerator Unit (ORAU) Research Laboratory for Archaeology, Oxford, Reino Unido.

7.4.2.8. El proceso de extracción de ADN de la fauna de Cueva Oscura de Ania

7.4.2.8.1. Extracción de ADN

De cada resto faunístico se obtuvo una muestra, a excepción de COA16, de la que se obtuvieron dos muestras (Tabla 7.4.2.2).

La extracción de ADN se llevó a cabo separando las muestras en dos conjuntos:

- **Conjunto 1**: COA01; COA02; COA03; COA04; COA05; COA06; COA07; COA08.
- **Conjunto 2**: COA09; COA10; COA11; COA12; COA13; COA14; COA15; COA16.

A su vez, cada conjunto se acompañó de una muestra de ddH_2O, como muestra control durante el protocolo de extracción. La recuperación de ADN se llevó a cabo utilizando el protocolo de extracción número 1.

Sobre la muestra adicional de COA16, se realizó una extracción independiente con el protocolo de extracción de ADN número 1. Durante la extracción esta muestra se acompañó de dos muestras de ddH_2O.

7.4.2.8.2. Amplificación de ADN

La amplificación de ADN se llevó a cabo para todos los extractos de ADN utilizando las parejas de cebadores 15.425F - 15.625R (región 1); 15.537F - 15.728R (región 2) y 15.668F –

15.862R (región 3) (Tabla 7.1.2; Figura 7.1.4). Con cada cebador se realizó una amplificación independiente.

Además, con la muestra adicional de COA16 se realizó una extracción independiente, y una amplificación adicional utilizando las mismas parejas de cebadores.

7.4.3. El yacimiento de La Garma A (Omoño, Cantabria)

7.4.3.1. Localización del yacimiento

El monte de La Garma es una pequeña elevación que se encuentra a 186 metros sobre el nivel del mar (msnm), localizada en Omoño (Ribamontán al Monte, Cantabria). La Garma se encuentra emplazada a ~5 km de la desembocadura del río Miera, en la parte oriental de la bahía de Santander (Arias *et al*., 2000) (Figura 7.4.3.1). Las coordenadas aproximadas de este yacimiento son 43° 25' 50'' latitud Norte y 3° 39' 57'' longitud Oeste (coordenadas obtenidas con la aplicación SIGPAC, http://sigpac.magrama.es/fega/h5visor/).

El monte de La Garma está ubicado en el extremo meridional de la sierra de Calobro, una cadena litoral elevada sobre la llanura costera debido a un plegamiento de materiales mesozoicos. El monte de La Garma está formado por calizas del Aptiense y del Albiense inferior, presentando además en su zona superior una banda de areniscas albienses (Arias *et al*., 2010).



Figura 7.4.3.1. ***Localización geográfica del monte de La Garma en la península ibérica***.

7.4.3.2. Descripción de los yacimientos del monte de La Garma

En la vertiente meridional del monte de La Garma se han localizado hasta 11 yacimientos arqueológicos de diversas cronologías que comprenden desde el Paleolítico Inferior hasta la Edad Media (Arias *et al*., 2000; 2011). Los principales yacimientos reconocidos hasta la fecha son La Garma A, La Garma B, Galería Intermedia, Galería Inferior, Cueva del Mar y el Castro del Alto de La Garma. Además, esta lista de yacimientos se completa con otros yacimientos reconocidos en diferentes covachas localizadas también en la vertiente meridional

de La Garma. Estos yacimientos son El Truchiro, Valladar, Peredo, La Garma C y la Garma D (Arias *et al*., 2000) (Figura 7.4.3.2). Debido a la importancia arqueológica de los yacimientos del monte de La Garma, desde el 24 de julio de 1998 todo el complejo arqueológico fue declarado Bien de Interés Cultural con categoría de Zona Arqueológica (Arias *et al*., 2000). Además, en el año 2008 fue incluido por la UNESCO en la Lista de Patrimonio de la Humanidad (Arias *et al*., 2011).

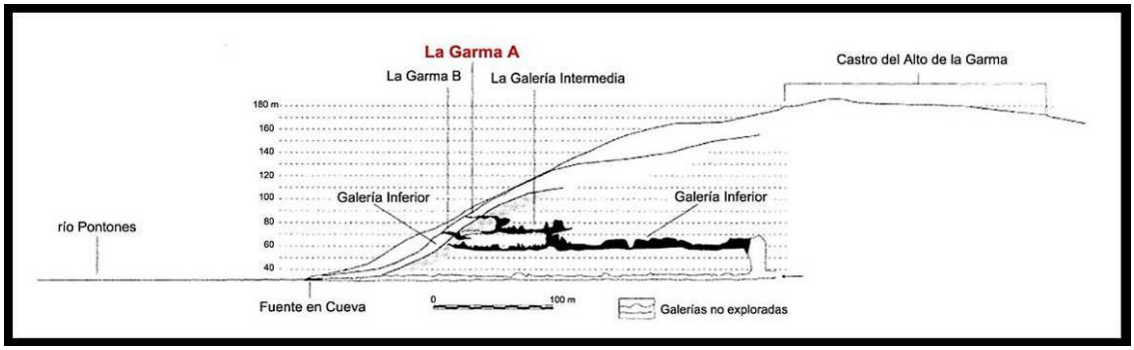


Figura 7.4.3.2*. Sección del monte de La Garma con la ubicación de los principales yacimientos*. En color rojo, se destaca la ubicación del yacimiento de La Garma A [Figura modificada de Arias *et al*. (2000)].

El yacimiento más importante de todos los mencionados es la Galería Inferior. Su singularidad se debe a que presenta un yacimiento en superficie de época magdaleniense, acompañado de arte parietal paleolítico, al que se suman algunas evidencias medievales (Arias *et al*., 2000). Su descubrimiento tuvo lugar a partir de los estudios realizados en La Garma A y La Garma B. Estos yacimientos se habían descubierto en 1991 y, a partir de las excavaciones realizadas en ellos, el 02 de noviembre de 1995 se descubrió la Galería Inferior. La Galería Inferior es un conducto de ~300 metros de desarrollo y con una orientación N-S, de difícil acceso (Arias *et al*., 2011).

En la actualidad, a la Galería Inferior se llega desde La Garma A. Es necesario sortear un desnivel de ~30 metros, desde los 84 msnm de La Garma A hasta los 58 – 55 msnm de la Galería Inferior. Desde La Garma A se desciende por una sima de 7 metros de altura hasta la Galería Intermedia, y desde este yacimiento se vuelve a descender por otra sima de 13 metros de profundidad (Arias *et al*., 2000).

Su entrada original quedó colapsada por un derrumbe a finales del Paleolítico Superior, en un momento que todavía no se conoce (Arias *et al*., 2011). No ha habido acción antrópica posterior, ni procesos de sedimentación. De este modo, la pérdida de comunicación con el exterior provocó una preservación extraordinaria en superficie de todos los artefactos paleolíticos de la última ocupación anterior al derrumbe (Arias *et al*., 2011). La Galería Inferior

solamente recibió visitas puntuales alrededor del siglo VIII, con un impacto limitado sobre los restos paleolíticos. Debido a la morfología del karst, se ha sugerido que el mismo recorrido actual fue que el se realizó durante la Edad Media para acceder a la Galería Inferior (Arias *et al*., 2011).

Para el estudio de la Galería Inferior, se ha dividido esta cavidad en nueves zonas (zonas I – IX) (Arias *et al*., 2011). Los primeros 70 metros de la Galería Inferior presentan un yacimiento en superficie con una extensión aproximada de 500 m^2. Se han documentado evidencias de estructuras (cabañas y amontonamiento de huesos), así como miles de restos de fauna, industria lítica e industria ósea, y arte rupestre paleolítico (Arias, 2007-2008; Arias y Ontañón, 2008). Además, a 90 metros y 130 metros de la entrada original respectivamente, también se han documentado estructuras de cabañas paleolíticas realizadas con muretes de piedra seca adosada a las paredes.

A partir del estudio de los restos de fauna, de la industria lítica y del arte mobiliar, la Galería Inferior se ha asociado al Magdaleniense medio (Arias *et al*., 2000). Los suelos y construcciones del Magdaleniense medio se han definido en las zonas I, II, III y IV de la Galería Inferior (Arias y Ontañón, 2008; Arias *et al*., 2011). Además, los resultados de radiocarbono obtenidos también sustentan esta propuesta: 14.050 ± 110 BP (OxA-8721), 13.610 ± 100 BP (OxA-8722) ó 13.410 ± 120 BP (AA-45581)[16] (una relación más extensa de dataciones de radiocarbono de la Galería Inferior se encuentra detallada en Arias y Ontañón, 2008). No obstante, cabe destacar también el descubrimiento en las zonas IV y V de la Galería Inferior de 5 esqueletos humanos medievales, con edades en torno al siglo VIII (las edades de radiocarbono de algunos de estos individuos y de otros elementos medievales se encuentran detalladas en Arias y Ontañón, 2008).

Por su parte, el estudio del arte parietal ha puesto de manifiesto que esta cavidad fue ocupada a lo largo del Paleolítico Superior. Se ha diferenciado por lo menos tres fases: 1) Paleolítico Superior Inicial, 2) Solutrense y Gravetiense, y 3) diversos momentos del Magdaleniense (Arias *et al*. 2000; Arias y Ontañón, 2008). La Galería Inferior y la Galería

[16] Calibrados a 2σ con el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13:

- (OxA-8721) 14.050 ± 110 BP: 17.445 – 16.685 años cal. BP; 15.496 – 14.736 años cal. aC.
- (OxA-8722) 13.610 ± 100 BP: 16.781 – 16.109 años cal. BP; 14832 – 14160 años cal. aC.
- (AA-45581) 13.410 ± 120 años BP: 16.508 – 15.784 años cal. BP; 14.559 – 13.835 años cal. aC.

Intermedia son las dos cavidades de la Zona Arqueológica de La Garma donde se ha localizado arte rupestre paleolítico (Arias y Ontañón, 2008).

7.4.3.3. Descripción de La Garma A

Por su parte, La Garma A es una cueva de corto desarrollo que se encuentra ubicada a 84 msnm (Arias *et al*., 2000). Es una pequeña cavidad situada en el tercio inferior de la colina de La Garma (Arias *et al*., 2005). La entrada de la cueva se abre en dirección S-SO (Figura 7.4.3.3). A partir de ella, se desarrolla un vestíbulo de 4 x 2 metros que tiene un desarrollo en dirección SO-NE. En su extremo izquierdo, un pequeño paso de 1,2 metros permite el acceso a otra sala de 6,5 x 2 metros, que a su vez da acceso a una tercera sala de dimensiones similares. A partir de esta tercera sala se accede al sistema kárstico de la Zona Arqueológica de La Garma, siendo éste el único acceso actual (Arias, *et al*., 2005).

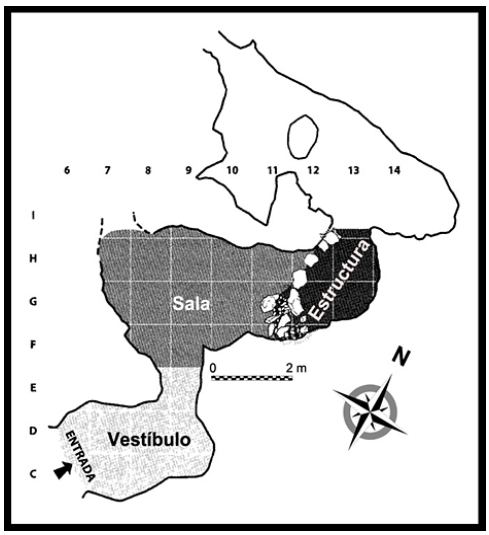


Figura 7.4.3.3. ***Plano del yacimiento de La Garma A***. En sombreado, se diferencian las zonas del vestíbulo, la sala y la estructura [Figura modificada de Arias *et al*. (2005)].

El yacimiento de esta cueva se descubrió en 1991, y las excavaciones se efectuaron entre 1995 – 2004. A partir de estas labores de excavación se ha documentado un depósito de más de 6 metros de potencia, con materiales asociados al Paleolítico Inferior, a tecnocomplejos del Paleolítico Superior (Auriñaciense, Gravetiense, Solutrense, Magdaleniense y transición al Aziliense), un conchero mesolítico, evidencias de comienzos del Neolítico y estructuras sepulcrales del Calcolítico y de la Edad del Bronce. Esta secuencia se completa con materiales medievales en superficie (Arias, *et al*., 2000; 2005).

Respecto a los estratos del Paleolítico Superior reconocidos en La Garma A, cabe destacar la estructura de habitación identificada en el nivel L3. Este nivel es uno de los cuatro

niveles identificados en el Estrato L, asociado al Magdaleniense medio. De muro a techo, se han definido estos niveles como sigue: L1, L2, L3, L4.

En la zona de la sala, en el nivel L3 se ha descrito una estructura de bloques calizos que se construyó a comienzos de este nivel. Una datación de la base de este nivel ha arrojado un resultado de 13.810 ± 180 BP.[17], compatible con la cronología relativa al Magdaleniense medio de este nivel (Arias, *et al*. 2005; Arias y Ontañón, 2008). Esta estructura delimita un espacio oval de 2,4 x 1,7 m, contra la pared del fondo de la sala de la cueva. Se ha interpretado como una construcción artificial destinada a usos habitacionales o área de descanso. Además, se ha concluido que el resto de la sala también funcionó como un espacio de ocupación humana, con indicios de tareas asociadas a la talla lítica y al procesado de animales. Además, esta estructura del nivel L3 presenta a una organización similar a otras estructuras análogas, tanto con las coetáneas de la Galería Inferior de La Garma, como con las de otros yacimientos europeos (Arias, *et al*. 2005).

7.4.3.4. El estudio de la fauna de La Garma A

En el análisis faunístico que se ha realizado sobre el nivel L3 de La Garma A, se ha puesto de manifiesto la dominancia de restos de caballo sobre otros taxones (*Bos primigenius /Bison priscus*, *Cervus elaphus*, *Rangifer tarandus*, *Capreolus capreolus* y *Capra pyrenaica*), tanto en la zona de la estructura como en el resto de la sala (Arias *et al*., 2005). Además, se ha comprobado que este patrón era similar al obtenido en el análisis comparativo con restos faunísticos de la zona IV de la Galería inferior de La Garma. Los restos de équidos en la zona IV alcanzan las dos terceras partes de los restos analizados, dominando claramente el espectro faunístico de la zona IV. A continuación, estos restos están seguidos por los de los taxones *Bos primigenius /Bison priscus*, *Cervus elaphus* y *Rangifer tarandus* en mucha menos proporción, completando el espectro con una frecuencia muy baja los restos de *Ursus* sp., *Vulpes vulpes*, *Panthera* (*Leo*) *spelaea* y *Crocuta crocuta spelaea* (Arias y Ontañón, 2008; Arias *et al*. 2011).

Esta gran abundancia de équidos es un dato sorprendente en sí mismo, ya que no existe otro caso en el Magdaleniense regional donde los restos de équidos sean más abundantes que

[17] Calibrado a 2σ con el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13: 15.323 – 14.238 años cal. BC; 17.272 – 16.187 años cal. BP.

los restos de ciervos. Hasta la fecha, La Garma A y la Galería Inferior son los únicos yacimientos coetáneos donde se ha registrado unas frecuencias similares (Arias *et al*., 2011).

En el caso de la Galería Inferior, además los restos de carnívoros no presentan marcas de corte, como sí ocurre con los ungulados. No se ha considerado probable que fueran animales consumidos por las gentes del Magdaleniense, sino más bien que fueran animales muertos durante los periodos de hibernación, o que procediesen de depósitos paleontológicos anteriores al Magdaleniense (Arias *et al*., 2011).

Entre los restos faunísticos recuperados en La Garma A, es interesante destacar que en el estrato L también se ha recuperado una concha del molusco mediterráneo *Zonaria pyrum*, evidencia que se ha utilizado para argumentar sobre las relaciones entre poblaciones geográficamente separadas durante el Magdaleniense (Arias y Ontañón, 2008).

7.4.3.5. Muestras de La Garma A seleccionadas para esta investigación

Para la realización de esta investigación, se han seleccionado 10 muestras de *Equus ferus* procedentes del nivel L3 de La Garma A, más una muestra de *Cervus elaphus* (Tabla 7.4.3.1). La muestra de ciervo se utilizó como control negativo durante el proceso de extracción de ADN. Todas las muestras fueron proporcionadas por el profesor P. Arias, e identificadas por M. Cueto.

Tabla 7.4.3.1. ***Relación de muestras de La Garma A utilizadas en esta investigación*.** Identificación realizada por M. Cueto.

YACIMIENTO	NÚMERO	NIVEL	ASOCIACIÓN CULTURAL	TAXÓN	DESCRIPCIÓN	Nº LAB
La Garma A	17563	L3	Magdaleniense medio	*Equus ferus*	M3 inferior derecho	GAR1
	17917			*Equus ferus*	M1/M2 inferior derecho	GAR2
	18283			*Equus ferus*	M1/M2 inferior derecho	GAR3
	18726			*Equus ferus*	M3 inferior izquierdo	GAR4
	26918			*Equus ferus*	M3 inferior izquierdo	GAR5
	37480			*Equus ferus*	P3/P4 inferior izquierdo	GAR6
	52526			*Equus ferus*	P3 inferior derecho	GAR7
	13170			*Equus ferus*	M1/M2 superior derecho	GAR8
	18301			*Equus ferus*	P3/P4 superior izquierdo	GAR9
	19686			*Equus ferus*	M1/M2 superior izquierdo	GAR10
	69537			*Cervus elaphus*	M1/M2 superior izquierdo	GAR11

7.4.3.6. El proceso de extracción de ADN de la fauna de La Garma A

7.4.3.6.1. Extracción de ADN

De cada fósil se obtuvo una muestra, además de una muestra adicional de los restos GAR1, GAR2, GAR3, GAR5, GAR6, GAR10 y GAR11.

Se realizaron dos extracciones independientes. Una extracción estaba constituida por todas las muestras, y la segunda por las muestras GAR1, GAR2, GAR3, GAR5, GAR6, GAR10 y GAR11. Cada conjunto se acompañó de una muestra de ddH_2O. Todas las extracciones se realizaron con el Protocolo de extracción de ADN número 1.

7.4.3.6.2. Amplificación de ADN

Con las muestras de la primera extracción se preparó una PCR con las parejas de cebadores 15.425F – 15.625R (región 1); 15.546F – 15.708R (región 2) y 15668F – 15862R (región 3) (Tabla 7.1.2; Figura 7.1.4). Con los extractos de ADN obtenidos de la segunda extracción de ADN se preparó una nueva PCR con las mismas parejas de cebadores comentadas para la primera extracción de ADN.

7.4.4. El yacimiento de Bora Gran d'En Carreras (Serinyà, Girona)

7.4.4.1. Localización del yacimiento

El yacimiento de Bora Gran d'En Carreras (en adelante Bora Gran), se encuentra localizado en el término municipal de Serinyà, en la comarca de Pla de l'Estany (Girona) (Figura 7.4.4.1). Sus coordenadas son 42° 10' 22,85'' latitud Norte y 2° 44' 38,50'' longitud Este (Campeny, 2009). Dista unos 200 metros del núcleo urbano, junto a la carretera que comunica Girona con Besalú (Cazurro, 1908). Este yacimiento también se conoce con el nombre de "Cova de Serinyà", "La Bauma" o "Cova del Barbuts" (Cazurro, 1908; Nadal *et al*., 1997). Bora Gran se encuentra a una cota de 170 metros sobre el nivel del mar (msnm), y está emplazado en la margen izquierda del arroyo del Rech o el Serinyadell, cerca de la confluencia de éste con el río Ser (Cazurro, 1908; Nadal, *et al*., 1997).



Figura 7.4.4.1. ***Localización geográfica del yacimiento de Bora Gran en la península ibérica.***

7.4.4.2. Descripción de Bora Gran

Bora Gran es un abrigo rocoso, y el sustantivo de *Bora* se debe a su localización en la vertiente de un barranco (Cazurro, 1908), con potentes estratos de conglomerados aluviales del Plioceno (Galobart, *et al*., 1996; Nadal *et al*., 1997). Presenta una orientación hacia el noreste y sus dimensiones, cuando se encontraba relleno de sedimento, eran de 16 metros de ancho, 3 metros de alto y 10 metros de profundidad (Cazurro, 1908). Actualmente está casi vaciado, lo que ha originado que sus dimensiones sean todavía mayores (Nadal *et al*., 1997). (Figura 7.4.4.2 A y B).



Figura 7.4.4.2 ***Bora Gran***. **A**) Entrada del abrigo de Bora Gran; **B)** Entrada del abrigo de Bora Gran y detalle de una concreción estalagmítica situada en el lado noroeste de la entrada; **C)** Bora Gran desde la concreción estalagmítica situada en el lado noroeste de la entrada; **D)** Detalle de la concreción estalagmítica situada en el lado noroeste de la entrada; **E)** Entrada de Bora Gran vista desde el interior; **F)** Vista de la entrada de Bora Gran desde su lado noroeste.

7.4.4.3. Historia de las excavaciones de Bora Gran

Está considerado por algunos autores como el yacimiento magdaleniense catalán más rico e importante de los excavados en la actualidad (Galobart *et al*., 1996; Nadal *et al*., 1997). Descubierto en 1866 por el fraile capuchino P. J. Cata (Cazurro, 1908), las primeras excavaciones fueron realizadas por P. Alsius entre 1871 – 1881 (Cazurro, 1908; Nadal *et al*., 1997). Fruto de estos trabajos de campo fueron las primeras asociaciones culturales a partir

del análisis de la industria ósea y lítica recuperada, atribuyéndole al material una cronología magdaleniense (Nadal *et al*., 1997).

Durante el siglo XX, la cueva volvió a ser excavada en diversos momentos. A partir del año 1907, J. Bosoms y C. Bosoms realizaron nuevas excavaciones (Cazurro, 1908). Aunque según J. Bosoms, la cueva se había vaciado en las excavaciones anteriores (Campeny, 2009) (Figura 7.4.4.2 C), en estas nuevas excavaciones se pudieron recuperar materiales que habían estado protegidos por una capa estalagmítica. Mientras que algunos autores consideraron que estos materiales debían pertenecer a un estrato inferior y por tanto ser más antiguos a los recuperados en el siglo XIX (Cazurro, 1908), otros en cambio consideran que no tenía que ser necesariamente así (Campeny, 2009). En su lugar se ha propuesto que J. Bosoms excavó una zona superficial al fondo del abrigo, que simplemente estaba cubierta por una capa estalagmítica (Campeny, 2009) (Figura 7.4.4.2 B, C y D).

Posteriormente, entre 1930 – 1935 el médico de Banyoles J.M. Corominas, cribó el sedimento de las excavaciones anteriores (Nadal *et al*., 1997; Campeny, 2009). La gran cantidad de microlitos recuperados le permitieron sugerir una ocupación epipaleolítica (Nadal *et al*., 1997).

Más tarde, entre los años 1943-1944 el yacimiento se volvió a excavar, esta vez de la mano de J. Maluquer y L. Pericot (Nadal *et al*., 1997).

Por último, en 1979 N. Soler, realizó un sondeo con la finalidad de estudiar la posibilidad de realizar nuevas excavaciones (Nadal *et al*., 1997). Fruto de esta intervención fue la recuperación de un escaso registro lítico y faunístico (Campeny, 2009).

Los materiales, tanto faunísticos como de industria de Bora Gran, están distribuidos en diferentes colecciones. La colección de J. Alsius se encuentra depositada en el Museu Arqueològic Comarcal de Banyoles. Una buena parte de la colección de J.M Corominas está depositada en el Servei d'Arqueologia de Catalunya y en Museu d'Arqueologia de Sant Pere de Galligants, ambos localizados en la ciudad de Girona. Además, también hay una parte importante de la colección en el Museu Arqueològic Comarcal de Banyoles. Por otra lado, una buena parte de la colección Bosoms está depositada en el Servei d'Arqueologia de Catalunya en Girona, otra parte se encuentra en el Museu Arqueològic Comarcal de Banyoles, mientras que algunas piezas están expuestas en el Museu d'Arqueologia de Catalunya en Girona. Por su parte, los materiales de las excavaciones efectuadas por J. Maluquer y L. Pericot se encuentran

en el Museu Arqueològic de Barcelona. Por último, los materiales recuperados por N. Soler en su prospección de 1979 se encuentran también en Girona (Nadal *et al*., 1997; Campeny, 2009).

Actualmente no es posible disponer de un estudio de la estratigrafía de Bora Gran, debido al tipo de excavación no sistemática realizada por P. Alsius por un lado, y por J. y C. Bosoms por otro (Campeny, 2009) (Figura 7.4.4.2 E y F). Esto ha planteado incertidumbres a la hora de realizar posibles periodizaciones para los materiales recuperados. El análisis de los arpones con una y dos hileras de dientes ha sugerido la presencia de, por lo menos, dos niveles de épocas diferentes. (Cazurro, 1908).

A partir de la industria ósea y lítica, junto a los elementos de malacología asociados a fines estéticos, se ha propuesto para Bora Gran una cronología comprendida fundamentalmente entre el Magdaleniense medio y el Magdaleniense superior final (Nadal *et al*., 1997). Por otro lado, a partir del análisis de la industria lítica recuperada por J. Corominas, se concluyó que la ocupación más importante de Bora Gran estaría asociada al Magdaleniense (Nadal *et al*., 1997). Además, existe una datación de radiocarbono realizada por el museo de Antropología de la Universidad de Michigan, que ha arrojado una fecha de 11.470 ± 500 BP[18] (Nadal *et al*., 1997).

Aunque los datos expuestos en el párrafo anterior sustentan la asociación magdaleniense de la colección arqueopaleontológica recuperada en Bora Gran, no se debe olvidar las sugerencias de ocupación epipaleolítica (Nadal *et al*., 1997) y la evidencia de un hacha pulida atribuida al Neolítico (Cazurro, 1908).

7.4.4.4. El estudio de la fauna de Bora Gran

En 1881, P. Alsius y E. Harlé realizaron una prospección recuperando restos de fauna. A partir de la lista faunística publicada por P. Alsius y E. Harlé a finales del siglo XIX, Cazurro (1908) comentó que los taxones podrían pertenecer a época Magdaleniense. Además estos taxones eran muy similares a los actuales ya que, exceptuando algunas especies, la mayoría se encuentran representados en la región en la actualidad. Se mencionaron, entre otros, abundancia en restos de caballo, de conejo y de ciervo, acompañados de restos de gato,

[18] Calibrado 2σ con el programa OxCal 4,2 y la curva de calibración IntCal13: 15.079 – 12.410 cal. BP; 13.130 – 10.461 cal. aC.

gineta, zorro, lince, erizo, reno, corzo, gamo, rebeco, cabra, buey y otro bovino de gran tamaño (Cazurro, M., 1908).

El primer estudio global de la fauna de Bora Gran lo realizó J. Estévez en su tesis doctoral en 1979, y un nuevo reanálisis preliminar del material se ha llevado a cabo por Nadal *et al*. (1997).

En este estudio preliminar, Nadal *et al*. (1997) analizaron los restos faunísticos de la colección Alsius de Banyoles, Corominas de Banyoles, Bosoms de Girona, y de la prospección de N. Soler de 1979, también depositada en Girona. Se analizaron una total de 5579 restos faunísticos, considerándose determinables un 41,63% del total (2323 restos) (Nadal *et al*., 1997).

A la mayoría de estos restos se les atribuyó una cronología paleolítica, asociándolos al Magdaleniense. Sin embargo, los investigadores también se dieron cuenta de la presencia de fauna doméstica entre los restos de la colección. No obstante, y atendiendo a la proporción de materiales paleolíticos en relación a la escasa cantidad de materiales postpaleolíticos de la cultura material, se asumió para los restos óseos unas proporciones similares. De este modo, se proponía una significativa abundancia de restos faunísticos paleolíticos en la colección de Bora Gran. Además, esta idea se vio sustentada por la presencia de restos faunísticos pertenecientes a animales extintos (Nadal *et al*., 1997).

En la colección estudiada por Nadal, *et al.* (1997), diferenciaron un total de Número de Restos (NR) de 223 restos de équidos (un 9,58% del total de restos faunísticos) que asociaron a diferentes taxones con las siguientes proporciones:

- *Equus ferus*, *NR* = 58; 2,49% del total de restos faunísticos.
- *Equus hydruntinus*, *NR* = 38 restos; 1,63% del total de restos faunísticos.
- *Equus* sp., *NR* = 127 restos; 5,46% del total de restos faunísticos.

Los caballos salvajes son uno de los taxones más representados según NR en este estudio, junto a *Cervus elaphus* - ciervos (*NR*=1313; 56,52% del total de restos faunísticos), *Oryctolagus cuniculus* - conejos (*NR*=391; 16,83%) y *Sus scrofa* - jabalíes (*NR*=58; 2,49%) (Nadal *et al*., 1997). Estas proporciones relativas son similares a las documentadas por Cazurro (1908), donde solo pudo tener en cuenta la colección de P. Alsius. En cambio, otros taxones como *Rupicapra rupicapra* – rebeco (*NR*= 49; 2,10%), *Bos primigenius* – uro (*NR*= 22; 0,94%) o

Rangifer tarandus – reno (*NR*=5; 0,21%) muestran una representación más pequeña en el caso del rebeco, o residual en el caso de los restantes taxones.

Entre las principales conclusiones obtenidas del estudio de la fauna de Nadal *et al*. (1997), se ha comprobado que no hay diferencias significativas entre los materiales de las diferentes colecciones. Este resultado lo han relacionado con una posible estabilidad en las condiciones paleoclimáticas o paleoeconómicas, o a una descontextualización del material antes de que se excavara, o a una metodología de excavación poco rigurosa tanto por parte de P. Alsius como de J. y C. Bosoms.

Además, se ha considerado que hay evidencias de una caza especializada de ciervo, debido a su *NR* = ~50% del total de restos identificados. En cambio, otros taxones de macrovertebrados, o vertebrados pequeños como erizos, aves, peces, anfibios y reptiles, se han considerado como evidencias de caza generalista, debido a su representación mucho más marginal (Nadal *et al*., 1997).

Además, el estudio preliminar de fitolitos del cálculo dental de una pequeña muestra de *Cervus elaphus*, *Equus ferus*, *Equus hydruntinus* y *Bos primigenius*, ha ofrecido información de la vegetación disponible en el entorno de Bora Gran durante el Magdaleniense. Según estos resultados, estos taxones se habrían cazado en ambientes bien diferenciados cercanos a Bora Gran. De este modo, la zona geográfica que rodea a Bora Gran habría estado dominada por una vegetación abierta, poco boscosa, y con importantes extensiones de herbáceas. Estos resultados han sugerido un entorno con diferentes ecosistemas, que habrían sido los hábitats de las especies analizadas. (Nadal *et al*., 1997).

7.4.4.5. Muestras de Bora Gran seleccionadas para esta investigación

La fauna utilizada en este estudio fue seleccionada en el Museu Arqueològic Comarcal de Banyoles. Se seleccionaron 20 muestras de équidos y 3 muestras de *Bos primigenius*. De las 20 muestras de équidos, 15 muestras estaban adscritas a *Equus hydruntinus* y las cinco restantes a *Equus ferus* (Tabla 7.4.4.1).

Las 3 muestras de *Bos primigenius* se seleccionaron para ser utilizadas como controles negativos durante el proceso de extracción de ADN.

Tabla 7.4.4.1. ***Relación de muestras de Bora Gran utilizadas en esta investigación***

YACIMIENTO	SIGLA	TAXÓN	DESCRIPCIÓN	NºLAB
Bora Gran	BGA 1962	*Equus hydruntinus*	M1/M2 inferior izquierdo	BG 01
	BGA 1827	*Equus hydruntinus*	M1 superior derecho	BG 02
	BGA 1831	*Equus hydruntinus*	M1/M2 inferior izquierdo	BG 03
	BGA 1852	*Equus hydruntinus*	P2 inferior derecho	BG 04
	BGA 1855	*Equus hydruntinus*	P2 Inferior izquierdo	BG 05
	BGA 2264	*Equus hydruntinus*	Epífisis distal de metatarcarpo/Metatarso III	BG 06
	BGC 1729	*Equus hydruntinus*	Molariforme inferior izquierdo	BG 07
	BGC 1743	*Equus hydruntinus*	P2 superior derecho	BG 08
	BGA 2280	*Equus hydruntinus*	Fragmento distal de tibia derecha	BG 09
	BGA 1901	*Equus hydruntinus*	Fragmento maxilar con P2 & P3 superior derecho	BG 10
	BGA 1801	*Equus hydruntinus*	M1 inferior derecho	BG 11
	BGA 2120	*Equus hydruntinus*	Astrágalo izquierdo	BG 12
	BGA 1567	*Equus hydruntinus* [1]	P3/P4 superior derecho	BG 13
	BGA 1786	*Equus hydruntinus*	P4/M1 superior derecho	BG 14
	BGA 1522	*Equus hydruntinus*	P2 superior derecho	BG 15
	BGA 1799	*Bos primigenius*	M1/M2 superior izquierdo	BG 16
	BGA 1824	*Bos primigenius*	P4 inferior izquierdo	BG 17
	BGA 18??	*Bos primigenius*	M1 inferior izquierdo	BG 18
	BGA 1573	*Equus ferus*	Fragmento mandibular derecho con fragmento apical de P2	BG 19
	BGA 1811	*Equus ferus*	P2 superior derecho	BG 20
	BGA 1793	*Equus ferus*	M1/M2 inferior derecho	BG 21
	BGA 1816	*Equus ferus*	P2 inferior derecho	BG 22
	BGA 1790	*Equus ferus*	P3/P4 superior izquierdo	BG 23

(1) Sobre la adscripción taxonómica de la muestra BG13, ver apartado *8.1.4.1. Resultados genéticos obtenidos*

7.4.4.6. El análisis de radiocarbono sobre la fauna de Bora Gran

Con la finalidad de obtener información radiométrica más detallada de una de las muestras de Bora Gran en particular, y del resto de la fauna en general, se efectuó un muestreo sobre un resto faunístico para su posterior análisis de Carbono-14. La muestra seleccionada fue el resto con número de laboratorio BG13 (Figura 7.4.4.3). El análisis de radiocarbono se llevó a cabo en Beta Analytic Inc., Miami, Florida, USA.



Figura 7.4.4.3. ***Muestra con número de laboratorio BG13 sometida a análisis de radiocarbono***.

7.4.4.7. El proceso de extracción de ADN de la fauna de Bora Gran

7.4.4.7.1. Extracción de ADN

Se obtuvo una muestra de cada restos fósil (Tabla 7.4.4.1), excepto del resto BG13, que se obtuvieron dos muestras.

La extracción de ADN se llevó a cabo separando las muestras en tres conjuntos:

- **Conjunto 1**: BG01; BG02; BG03; BG04; BG05; BG06; BG07; BG08; BG09; BG16; BG19.
- **Conjunto 2**:BG10; BG11; BG12; BG13; BG14; BG15; BG17.
- **Conjunto 3**: BG18; BG20; BG21; BG22; BG23.

A su vez, cada conjunto se acompañó de una muestra de ddH_2O, como muestra control durante el protocolo de extracción. La recuperación de ADN se llevó a cabo utilizando el protocolo de extracción número 1.

Sobre la muestra BG13 adicional se realizó una nueva extracción de ADN por separado, utilizando el protocolo de extracción de ADN número 1. La muestra BG13 se acompañó durante la extracción por dos muestras de ddH_2O.

7.4.4.7.2. Amplificación de ADN

Sobre los extractos de ADN se realizó una primera amplificación con la pareja de cebadores 15.425F – 15.625R (región 1). Esta pareja de cebadores permite diferenciar fragmentos genéticos de distintas especies de équidos. A continuación, se realizó una amplificación de las regiones 2 y 3, utilizando los siguientes cebadores: 15.537F – 15.728R (región 2) y 15.668F – 15.862R (región 3) (Tabla 7.1.2; Figura 7.1.4). Posteriormente, se realizó sobre los extractos de ADN una nueva amplificación de cada región utilizando las mismas parejas de cebadores.

Con cada extracto de ADN de la muestra BG13, se realizó una amplificación con la pareja de cebadores 15.544F - 15.717R, específica para la amplificación de ADN mitocondrial de *Equus asinus*.

7.4.5. El yacimiento de Cova Fosca (Alto Maestrazgo, Castellón)

7.4.5.1. Localización del yacimiento

El yacimiento de Cova Fosca también es conocido con los nombres de Cova Gran o Mas de En Llorens. Se encuentra situado en la zona montañosa de la parte septentrional de la provincia de Castellón, dentro de la comarca del Alto Maestrazgo, en el término municipal de Ares del Maestre, en Castellón (Comunidad Valenciana) (Olària, 1988a). Está localizado en la zona subcentral del macizo del Parque de Gasulla a una altitud media de 900 metros sobre el nivel del mar (msnm) (Olària, 1988a; Olària, 2012). Sus coordenadas son 40° 25' 5'' latitud Norte y 0° 5' 1,10'' longitud Este (coordenadas obtenidas con la aplicación SIGPAC, http://sigpac.magrama.es/fega/h5visor/) (Figura 7.4.5.1).

El Maestrazgo está situado en las estribaciones meridionales del Sistema Ibérico. Dentro del macizo del Parque de Gasulla, Cova Fosca es una cavidad kárstica situada entre el Barranco dels Cicerals y el Barranco Molero, que confluyen en el Barranco de Gasulla (Olària, 1988a).



Figura 7.4.5.1. ***Localización geográfica del yacimiento de Cova Fosca en la península ibérica.***

A poca distancia del yacimiento se han localizado varios abrigos con pinturas rupestres que forman parten del conjunto de Arte Rupestre del Arco Mediterráneo de la península Ibérica. Aproximadamente a 1 km en línea recta desde Cova Fosca se encuentran los abrigos de Cova Remigia y el Cingle de la Mola Remigia del barranco de la Gasulla (Olària, 1988a), que se han comentado en el Capítulo 4 de esta tesis doctoral, en el apartado dedicado a la domesticación del caballo en el arte rupestre holoceno.

7.4.5.2. Historia de las excavaciones en Cova Fosca

El yacimiento de Cova Fosca ha sido excavado en tres fases diferentes bajo la dirección de F. Gusi y C. Olària. La primera fase de excavación transcurrió entre 1975-1979. Posteriormente se realizó una nueva excavación en 1982. Tras un periodo de inactividad, las excavaciones se retomaron en 1999 y finalizaron en el año 2003 (Olària y Gusi, 1981; Lira *et al*., 2010; Llorente, 2010; Gutiérrez *et al*., 2014).

7.4.5.3. Descripción de Cova Fosca

Cova Fosca está localizada en el corto farallón rocoso situado inmediatamente por debajo de la cima del macizo del Parque de Gasulla. La boca de Cova Foca está orientada al Sur (Olària y Gusi, 1981), y presenta una amplitud media de 18 x 4 m (Olària, 2012). Cova Fosca está constituida por una única sala subcircular, con una anchura que varía entre 24 – 16 m y una altura que oscila entre 5 – 2 m (Olària, 2012) (Figura 7.4.5.2.A).

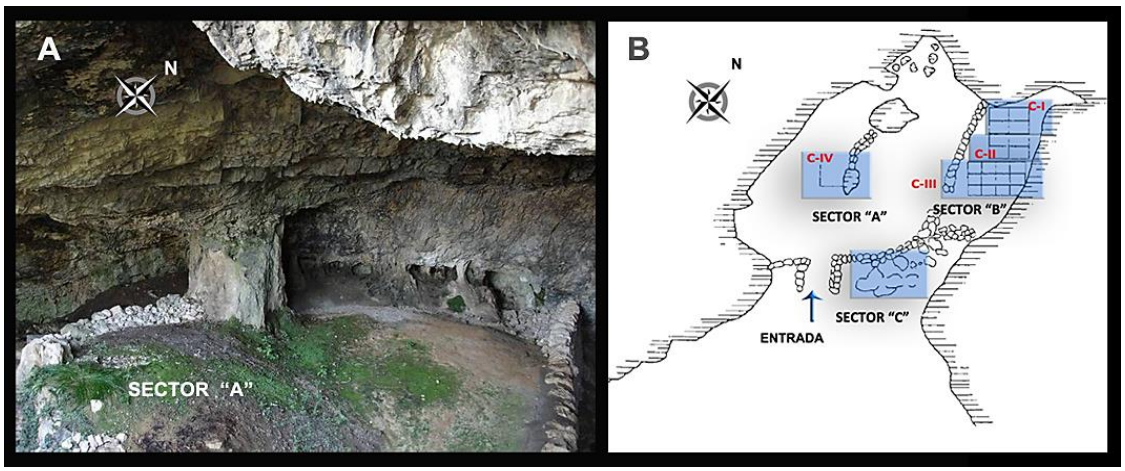


Figura 7.4.5.2. A) Vista general de la cavidad de Cova Fosca, Sector "A". **B)** Planta de Cova Fosca, detallándose la ubicación del Sector "A", Sector "B" y Sector "C". Unidades estratigráficas del Sector "B": C-I, C-II y C-III. Unidad estratigráfica del Sector "A": C-IV. [Imagen de la planta modificada a partir de Olària (1991)].

El interior de la cavidad se caracteriza por presentar una gran columna estalagmítica en el sector central de la sala (Morell y Garay, 1988) (Figura 7.4.5.2.A). Durante el siglo XX la cavidad fue utiliza como redil para el ganado. Por ese motivo el interior se encuentra dividido por muros de piedra seca que se levantaron para adecuar Cova Fosca a su uso como establo. Esos muros se han utilizado para diferenciar dos zonas bien delimitadas que se han denominado Sector A y Sector B. (Olària y Gusi, 1981).

Las áreas de excavación de Cova Fosca se han denominado Sector "A", Sector "B" y Sector "C" (Figura 7.4.5.2.B) (Olària, 1991). Los Sectores "A" y "B" habían sufrido episodios de excavaciones no controladas, que podía distinguirse en algunas zonas de su estratigrafía (Olària, 1981). Los Sectores "A" y "B" se excavaron entre 1975-1979. El área de excavación Sector "C" se había localizado junto a la entrada de la cueva, y conservaba parte de la estratigrafía intacta al estar protegida por la caída de bloques y piedras procedentes de la visera de Cova Fosca (Olària, 1991; Llorente, 2010). En 1982 se realizaron una serie de sondeos en la entrada de Cova Fosca, y desde 1999 hasta 2003 se excavó la zona del Sector "C" (Gutiérrez *et al*., 2014). Las muestras que hemos analizado proceden de esta área de excavación, de las campañas realizadas entre 1999 – 2003.

7.4.5.4. Cronoestratigrafía de Cova Fosca

En Cova Fosca se han documentado ocupaciones ininterrumpidas desde el Mesolítico hasta el Neolítico pleno, y otras más antiguas y esporádicas relacionadas con el Epipaleolítico (Olària, 2012).

A partir de las unidades estratigráficas C-I, C-II y C-III del Sector "B" y C-IV del Sector "A", se han podido diferenciar hasta 6 niveles estratigráficos. De techo a muro, se denominaron: Nivel Superficial (N-S), Nivel –IA, Nivel –IB, Nivel –IIA, Nivel –IIB y Nivel –III (Olària y Gusi, 1988). Además, se llevaron a cabo dataciones de carbones vegetales recuperados en estos niveles, que ofrecieron una horquilla temporal comprendida entre 9460 ± 160 BP (I-11313) para el nivel N-III hasta 5715 ± 80 BP (I-9867) para el nivel N-S (Olària, 1988b). La Tabla 7.4.5.1 presenta una relación de las muestras de radiocarbono de Cova Fosca publicadas en 1988 (Olària, 1988c), y la Tabla 7.4.5.2 una relación de muestras publicadas hasta el año 2010 (Llorente, 2010).

Las fases de ocupación del yacimiento se establecieron utilizando la información procedente de la cultura material, los restos de actividades de supervivencia, los restos de los niveles de habitación y especialmente el conjunto de dataciones obtenidas. De este modo se pudo diferenciar 3 fases de ocupación: Fosca I – Nivel I; Fosca II – Nivel II y Fosca III – Nivel III (Olària, 1988c).

La fase de ocupación Fosca I – Nivel I se asoció a momentos neolíticos, y se caracterizó por presentar niveles de ocupación prolongada con presencia de hogares con material cerámico abundante, material lítico, la aparición de molinos de triturar y por la presencia de

varios taxones faunísticos salvajes y domésticos. Entre las especies consideradas como domésticas destacaron caprinos, ganado vacuno, ganado porcino y el perro. Además, se sugirió que el caballo pudiera ser ya un taxón doméstico (ver el siguiente apartado *7.4.5.5. El estudio de la fauna de Cova Fosca*). Esta fase de ocupación se asoció a unas fechas de radiocarbono comprendidas entre 7100 ± 70 BP y 7210 ± 70 BP (Olària, 1988c) (Tabla 7.4.5.1).

La fase de ocupación Fosca II – Nivel II también se asoció a momentos neolíticos, con una cultura material muy similar a la de la fase Fosca I. Es la fase cerámica más antigua detectada en la estratigrafía de Cova Foca. No obstante, la cultura material de esta fase resultó ser más pobre en algunos aspectos relacionados con la decoración cerámica, los elementos de adorno, los útiles de hueso y piedra pulimentada, así como por la ausencia de molinos. En esta fase también se diferenciaron hogares, aunque no tan definidos como en la fase Fosca I. Entre los taxones faunísticos establecidos se identificaron animales salvajes y domésticos, estando este segundo grupo constituido por caprinos, perros y el resto de especies referenciadas en la fase Fosca I. Esta segunda fase de ocupación se asoció al resultado de radiocarbono de 7460 ± 110 BP (Olària, 1988c) (Tabla 7.4.5.1).

Tabla 7.4.5.1. ***Relación de dataciones de radiocarbono de Cova Fosca publicadas en 1988 (Olària, C., 1988c)*** **.**
(1) Calibrado a 2σ con la curva de calibración IntCal13 y el programa OxCal 4,2

YACIMENTO	UE	UNIDAD DE EXCAVACIÓN	NIVEL	ETAPA CULTURAL	REFERENCIA DE LABORATORIO	^{14}C BP CONVENCIONAL	^{14}C cal. BP. (2σ) [1]	^{14}C cal. aC. (2σ) [1]	MUESTRA
Cova Fosca	-160	C-III	N-S	Descontextualizado	I-9867	5715 ± 80	6673 - 6317	4724 - 4368	Carbón
	-180	C-II	IA	Neolítico	CSIC-356	7100 ± 70	8045 - 7752	6096 - 5803	Carbón
	-182	C-I	IA	Neolítico	CSIC-357	7210 ± 70	8178 - 7880	6229 - 5931	Carbón
	-184	C-III	IB	Neolítico	CSIC-353	7460 ± 110	8445 - 8024	6496 - 6075	Carbón
	-270	C-I	IIB	Epipaleolítico	I-9868	8880 ± 200	10489 - 9526	8540 - 7577	Carbón
	-278	C-III	III	Epipaleolítico	I-11313	9460 ± 160	11190 - 10298	9241 - 8349	Carbón

Con respecto a la fase de ocupación Fosca III – Nivel IIII, ésta se caracterizó por ser una fase acerámica que se asoció con el Epipaleolítico tardío. Esta fase de ocupación presentó niveles pobres en sus depósitos, con escasos restos de hogares y donde no se definió de manera clara ninguna estructura de habitación. La industria ósea fue poco abundante. La industria lítica se caracterizó por presentar, sobre todo, muescas y denticulados. Entre los taxones faunísticos se destacó al conejo como base de la alimentación de los ocupantes de la cueva durante esta fase. También se identificó cabra, ciervo y caballo, y se propuso una incipiente domesticación de caprinos. Para esta fase de ocupación se presentaron dos fechas de radiocarbono. La más antigua ofreció una edad de 9460 ± 160 BP, mientras que la más reciente arrojó una fecha de 8880 ± 200 BP (Olària, 1988c) (Tabla 7.4.5.1).

Para esta fase de ocupación se sugirió la posibilidad de diferenciar dos momentos: 1) un momento reciente encuadrado en una fase denominada "meso-neolítica", la cual se caracterizó por ser una fase de transición relacionada con niveles cerámicos y con una domesticación incipiente de caprinos; y 2) un momento antiguo que se asoció al epipaleolítico tardío, representado por útiles líticos de tradición paleolítica y por la ausencia de hogares con carácter permanente (Olària, 1988c).

En la secuencia estratigráfica del Sector "C" se han diferenciado estas etapas culturales del siguiente modo (Llorente, 2010) (Tabla 7.4.5.2):

- **Niveles superficiales**. Paquete sedimentario con una profundidad comprendida entre +14,75 / -32,3 cm. Presenta un relleno sin valor arqueológico por encontrarse aparentemente revuelto.

- **Neolítico medio**. Paquete sedimentario con una profundidad comprendida entre -34 cm / -130 cm. También denominado Neolítico "B". Caracterizado por tierras quemadas y cenizas producidas por hogares. Los análisis de radiocarbono realizados sobre restos óseos arrojaron unas edades comprendidas entre 5890 ± 50 BP y 5800 ± 40 BP.

- **Neolítico antiguo**. Paquete sedimentario con una profundidad comprendida entre -125 / -250 cm. También denominado Neolítico "A". Es un nivel de naturaleza antrópica con 1,2 metros de espesor, donde las cerámicas son abundantes. Las únicas dataciones disponibles para este periodo fueron las de las muestras de

fauna utilizadas para análisis genéticos en Lira *et al*. (2010), que arrojaron unos valores de ~ 6200 ± 50 BP.

- **Mesolítico**: Paquete sedimentario con una profundidad comprendida entre -250 / -298 cm. Se caracteriza por presentar industrias geométricas y ausencia de cerámica. Las dataciones asociadas para este nivel han arrojado unos resultados comprendidos entre 10.720 – 10.260 cal. BP a 2σ (comunicación personal de C. Olària en Llorente, 2010).

- **Epipaleolítico**. Paquete sedimentario de más de 3 metros de profundidad (desde z = -298 cm hasta alrededor de - 600 cm). En este nivel se ha documentado industria lítica microlaminar. Las dataciones asociadas a este nivel han arrojado unos resultados comprendidos entre 12.130 ± 100 BP y 10.320 ± 40 BP.

Tabla 7.4.5.2. Relación de dataciones de radiocarbono de Cova Fosca a fecha de 2010 (tomada de Llorente, L., 2010)

YACIMENTO	UE	ETAPA CULTURAL	REFERENCIA DE LABORATORIO	14C BP CONVENCIONAL	14C cal. BP. (2σ) 1	14C cal. aC. (2σ) 1	MUESTRA
Cova Fosca	-34 / -48	Neolítico medio	Beta-148996	5850 ± 70	6846 - 6489	4897 - 4540	Carbón
	-44 / -51	Neolítico medio	Beta-247466	5820 ± 50	6740 - 6495	4791 - 4546	Ciervo
	-44 / -51	Neolítico medio	Beta-247467	5860 ± 40	6780 - 6561	4831 - 4612	Oveja
	-45 / -57	Neolítico medio	Beta-148997	5870 ± 80	6889 - 6491	4940 - 4542	Carbón
	-45 / -83	Neolítico medio	Beta-148999	5980 ± 70	6996 - 6661	5047 - 4712	Carbón
	-47 / -71	Neolítico medio	Beta-247468	5800 ± 40	6716 - 6493	4767 - 4544	Oveja
	-47 / -71	Neolítico medio	Beta-277469	5860 ± 40	6780 - 6561	4831 - 4612	Cabra montés
	-47 / -71	Neolítico medio	Beta-247470	5890 ± 50	6850 - 6564	4901 - 4615	Ciervo
	-49 / -78	Neolítico medio	Beta-149000	6080 ± 80	7165 - 6746	5216 - 4797	Carbón
	-65 / -79	Neolítico medio	Beta-149001	6140 ± 90	7251 - 6797	5302 - 4848	Carbón
	-77 / -89	Neolítico medio	Beta-149003	5440 ± 140	6505 - 5914	4556 - 3965	Carbón
	-111 / -120	Neolítico medio	Beta-149004	6150 ± 70	7248 - 6861	5299 - 4912	Carbón
	-118 / -120	Neolítico medio	Beta-149005	6070 ± 80	7163 - 6743	5214 - 4794	Carbón
	-119	Neolítico medio	Beta-149006	6250 ± 80	7412 - 6946	5463 - 4997	Carbón
	-120 / -130	Neolítico medio	Beta-149007	6130 ± 60	7174 - 6803	5225 - 4854	Carbón
	-126	Neolítico medio	Beta-149008	5900 ± 110	6999 - 6449	5050 - 4500	Carbón
	-135	Neolítico medio	Beta-149009	6390 ± 40	7420 - 7260	5471 - 5311	Carbón
	-196 / -211	**Neolítico antiguo**	**Beta-222754**	**6230 ± 50**	**7260 - 7003**	**5311 - 5054**	**Caballo**
	-196 / -211	**Neolítico antiguo**	**Beta-227420**	**6200 ± 50**	**7250 - 6975**	**5301 - 5026**	**Caballo**
	-304 / -319	Epipaleolítico evolucionado	Beta-184513	10920 ± 100	13028 - 12689	11079 - 10740	Carbón
	-311	Epipaleolítico microlaminar	Beta-184499	11630 ± 110	13725 - 13266	11776 - 11317	Carbón
	-319 / -365	Epipaleolítico evolucionado	Beta-184500	10700 ± 110	12801 - 12400	10852 - 10451	Carbón
	-347	Epipaleolítico microlaminar	Beta-184501	11750 ± 170	13787 - 13344	11838 - 11395	Carbón
	-357	Epipaleolítico microlaminar	Beta-184503	11830 ± 240	14401 - 13132	12452 - 11183	Carbón
	-365	Epipaleolítico evolucionado	Beta-184504	10350 ± 40	12392 - 12025	10443 - 10076	Carbón
	-379 / -380	Epipaleolítico microlaminar	Beta-184509	12130 ± 100	14311 - 13740	12362 - 11791	Carbón
	-407	Epipaleolítico microlaminar	Beta-184511	11340 ± 50	13286 - 13087	11337 - 11138	Carbón
	-600	Epipaleolítico evolucionado	Beta-184512	10320 ± 40	12384 - 11975	10435 - 10026	Carbón

En sombrado en gris, las muestra procedente sde J. Lira et al. (1), Calibrado a 2σ con el programa OxCal 4,2 y la curva de calibración IntCal13.

7.4.5.5. El estudio de la fauna de Cova Fosca

La fauna de Cova Fosca ha sido estudiada por diferentes autores. En la monografía de Cova Fosca de 1988 se presentó un estudio global de la fauna procedente de las campañas comprendidas entre 1975 – 1982 (Estévez, 1988). Posteriormente, la fauna de las campañas 1999 - 2003 ha sido estudiada por L. Llorente (Gutiérrez *et al*., 2014), y se han publicado estudios sobre taxones concretos (Llorente, 2010; Llorente *et al*., 2014; 2016)

En el estudio global de la fauna recuperada en Cova Fosca entre 1975 - 1982, se diferenciaron hasta 25 taxones de mamíferos, y se observó, para todos los niveles estratigráficos, que el conejo era el taxón dominante. La segunda especie dominante era la cabra, seguida del ciervo (Estévez, 1988).

Se recuperaron restos de caballo en todos los niveles, y se observó que la proporción de restos aumentaba desde el Nivel III en adelante, aunque no fue posible establecer si en alguno de los niveles el caballo podría ser ya un taxón doméstico (Estévez, 1988). No obstante, las medidas obtenidas a partir de tres falanges segundas recuperadas de los niveles N-II, N-I y N-S, una falange tercera recuperada del nivel N-I, así como de un astrágalo del nivel N-I, presentaron unos valores que entraban dentro del rango de variabilidad propuesto para los caballos del Cerro de la Virgen (Estévez, 1988), considerados como animales domésticos (Driesch, 1972).

Además, la hipótesis de una presunta domesticación precerámica del caballo en Cova Fosca se ha apoyado también en otros dos factores: 1) la evidencia de que todos los restos de caballo recuperados pertenecen a individuos adultos, sugiriéndose que se hubiesen usado como animal de tiro o transporte, y 2) los resultados obtenidos de los análisis paleobotánicos, que sumado a la orografía del terreno, han permitido reconstruir un paisaje que se ha considerado no idóneo para la presencia del caballo salvaje (Estévez, 1988).

7.4.5.6. Muestras de Cova Fosca seleccionadas para esta investigación

Hemos seleccionaron 12 muestras asociadas al Neolítico antiguo (Tabla 7.4.5.3). Se escogieron un total de 8 muestras de caballos, que se acompañaron de 4 muestras de *Bos* sp., *Cervus elaphus* y *Capra* sp. / *Cervus* sp., que se utilizaron como controles de extracción negativos.

7.4.5.7. Análisis de radiocarbono sobre las muestras de Cova Fosca

Aunque las muestras elegidas procedían de un nivel cultural bien definido (Tabla 7.4.5.3), se decidió concretar la antigüedad de las muestras dentro del Neolítico antiguo. Con este fin se realizaron análisis de radiocarbono sobre cuatro de las ocho muestras de caballos. Las muestras seleccionadas presentaban la sigla de laboratorio CFo01, CFo02, CFo08 y CFo12.

Estos análisis se llevaron a cabo en dos laboratorios diferentes. Dos muestras (CFo01 y CFo02) se analizaron en los laboratorios de Beta Analytic Inc., Miami, Florida, USA. Las muestras CFo08 y CFo12 se analizaron en los laboratorios de Oxford Radiocarbon Acelerator Unit (ORAU) Research Laboratory for Archaeology, Oxford, Reino Unido.

La decisión de analizar las muestras en dos laboratorios por separado descansaba en nuestro interés por contrastar la precisión del análisis de radiocarbono en ambos laboratorios, al menos para muestras holocenas.

7.4.5.8. El proceso de extracción de ADN de la fauna de Cova Fosca

7.4.5.8.1. Extracción de ADN

Para cada resto faunístico CFo01, CFo02, CFo03, CFo04 y CFo05 se obtuvieron 2 muestras para extracción de ADN. Con ellas se realizaron dos extracciones independientes de ADN con el protocolo de extracción número 1. En cada extracción el conjunto se acompañó con una muestra de ddH20.

Tabla 7.4.5.3. ***Relación de muestras de Cova Fosca utilizadas para lo análisisde ADN antiguo.***

YACIMIENTO	CAMPAÑA	CUADRO	COTA	SIGLA	ASOCIACIÓN CULTURAL	TAXÓN	DESCRIPCIÓN	Nº LAB
Cova Fosca	2001	3SC Q VII	-196 / -211	CF' 01 1161	Neolítico antiguo	*Equus ferus*	Porción proximal de metacarpo III derecho	CFo01
		3SC Q VII	-196 / -211	CF' 01 1541		*Equus ferus*	Fragmento de maxilar derecho	CFo02
		3SC Q VII	-211 / -220	CF' 01 140		*Equus ferus*	Fragmento proximal de cúbito	CFo03
		3SC Q VII	-211 / -220	CF' 01 356		*Cervus elaphus*	Fragmento proximal de asta	CFo04
		3SC Q VII	-211 / -220	CF' 01 525		*Capra* sp. / *Cervus* sp.	Fragmento de cráneo	CFo05
		Sin información	-196 / -211 D	CF' 01 1359		*Equus ferus*	Navicular derecho	CFo06
		Sin información	-196 / -211 S	CF' 01 93		*Equus ferus*	Navicular izquierdo	CFo07
		Sin información	-220 / -224	CF' 01 1619		*Equus ferus*	Epífisis distal de fémur izquierdo	CFo08
		Sin información	-211 / -220	CF' 01 280		*Bos* sp.	Epífisis distal de metápodo	CFo09
		Sin información	-211 / -220	CF' 01 116		*Bos* sp.	Acetábulo izquierdo	CFo10
		Sin información	-211 / -220	CF' 01 615		*Equus ferus*	Fragmento de cóndilo y rama mandibular derecha	CFo11
		Sin información	-211 / -220	CF' 01 932		*Equus ferus*	Falange 2	CFo12

Identificación taxonómica y anatómica de las muestras CFo01 - CFo05 realizada por A. Morales (LAZ-UAM).
Identificación taxonómica y anatómica de las muestras CFo06 - CFo12 realizada por J. Lira.

De los restos faunísticos CFo06, CFo07, CFo08, CFo09, CFo10, CFo11, CFo12 se obtuvo una muestra. Sobre ese nuevo conjunto se realizó la extracción de ADN con el protocolo de extracción número 1. Durante la extracción, se monitorizó cualquier evento de contaminación con una muestra de ddH2O.

7.4.5.8.2. Amplificación de ADN

Sobre las muestras CFo01, CFo02, CFo03, CFo04 y CFo05, se realizaron dos extracciones independientes. Sobre cada extracto se amplificaron las parejas de cebadores 15.425F – 15.625R (región 1); 15.537F – 15.728R y 15.546F – 15.708R (región 2); 15.668F – 15.862R (región 3) (Tabla 7.1.2; Figura 7.1.4). En cada extracción independiente, cada pareja de cebadores se amplificó entre 1 y 3 veces.

Sobre las muestras CFo06, CFo07, CFo08, CFo09, CFo10, CFo11, CFo12 se realizó una extracción de ADN. Cada extracto se amplificó con las parejas de cebadores 15.425F – 15.625R (región 1); 15.537F – 15.728R (región 2); 15.668F – 15.862R (región 3) (Tabla 7.1.2; Figura 7.1.4). Cada pareja de cebadores se amplificó 3 veces.

Adicionalmente, se utilizaron muestras de Cova Fosca para optimizar la amplificación de las parejas de cebadores que amplifican para fragmentos ligeramente más pequeños, entre 96 – 130 pares de bases (apartado *7.1.4. Estrategias de amplificación de ADN,* Tabla 7.1.3). Sobre los extractos independientes de ADN de las muestras CFo01, CFo02 y CFo05 se amplificaron las parejas de cebadores 15.425F – 15.520R y 15.470F – 15.583R (región 1, amplificada cada pareja en dos ocasiones); 15.542F – 15.660R y 15.608F – 15.708R (región 2, amplificada cada pareja una vez); y 15.668F – 15.770R y 15.733F – 15.862R (región 3, amplificada cada pareja una vez) (Tabla 7.1.3; Figura 7.1.5).

7.4.6. El yacimiento de Cova Foradada (Xàbia, Alicante)

7.4.6.1. Localización del yacimiento

El yacimiento de Cova Foradada se encuentra localizado en el municipio de Xàbia, Alicante (Comunidad Valenciana) (Figura 7.4.6.1), en la vertiente septentrional de los acantilados del cabo de Sant Antoni, perteneciente al macizo alicantino del Montgò (Casabó i Bernad, 1997). El yacimiento está situado a 40 metros sobre el nivel del mar (msnm), y sus coordenadas son 38° 48´ 18,5´´ latitud Norte y 0° 11´ 53,35´´ longitud Este (Casabó i Bernad, 1999; 2001).



Figura 7.4.6.1. ***Localización geográfica del yacimiento de Cova Foradada en la península ibérica.***

7.4.6.2. Historia de las excavaciones de Cova Foradada

El yacimiento se descubrió en 1992, en una prospección arqueológica dirigida por el Museo Arqueológico "Soler Blasco" en los acantilados del cabo de Sant Antoni (Casabó i Bernad, J., 2001). Las excavaciones comenzaron ese mismo año con una primera campaña de urgencia para evitar su expolio por furtivos. Se reanudaron en 1994 bajo la dirección de J. Casabó i Bernad, y se ha estado excavando hasta el año 2003 (Casabó i Bernad, 2001; Pantoja, *et al*., 2011).

7.4.6.3. Descripción de Cova Foradada

La Cova Foradada es una cavidad en forma de abrigo rocoso de ~60m^2 situado en la parte final de un barranco de origen kárstico (Casabó i Bernad, 2001) (Figura 7.4.6.2).

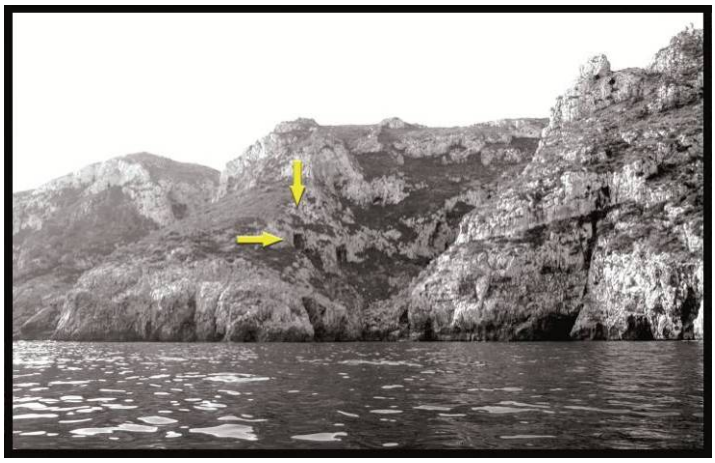


Figura 7.4.6.2. ***Cova Foradada vista desde el mar*** (Foto: J. Casabó i Bernad).

La morfología que presenta el abrigo en la actualidad tiene su origen en una gran fractura abierta en las calizas mesozoicas del Montgò (Casabó i Bernad, 1997; 2001). Se desarrollaron varias dolinas a favor de una diaclasa, que fueron aumentando de tamaño de manera progresiva, formando un complejo kárstico. Posteriormente sufrió el colapso de su techo, originando el barranco actual (Casabó i Bernad, 2001). En las paredes laterales quedaron restos de la gran cueva primigenia, siendo Cova Foradada un testigo de la misma (Casabó i Bernad, 1997; 2001). En la actualidad continua el colapso, y ha afectado a la morfología de Cova Foradada (Figura 7.4.6.3). De hecho, durante su ocupación el asentamiento debía tener un acceso situado a una cota mayor. No obstante, la erosión de las laderas ha provocado el progresivo derrumbe de la entrada, con el consiguiente desmantelamiento de sus depósitos (Casabó i Bernad, 1997).

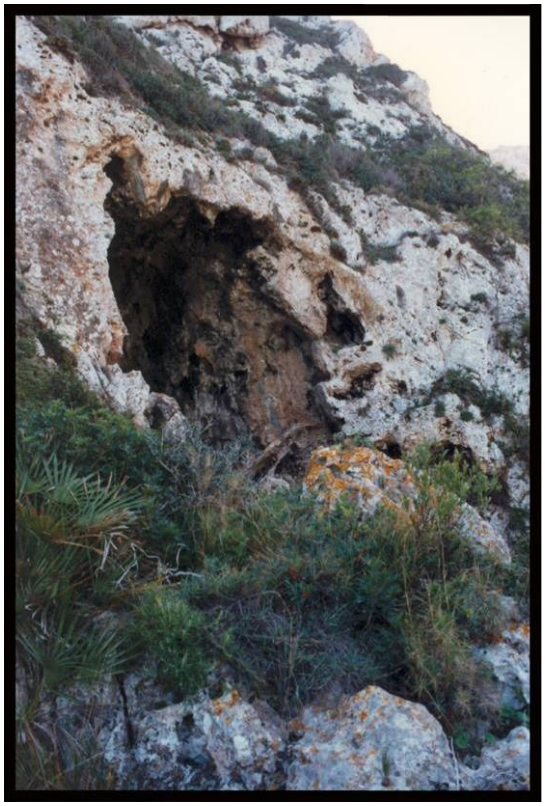


Figura 7.4.6.3. ***Detalle de la entrada a la cavidad de Cova Foradada*** (Foto: J. Casabó i Bernad).

Las excavaciones se han realizado en dos áreas diferentes con una extensión de 10 m^2 y 6 m^2, denominados los Sectores I y II respectivamente (Casabó i Bernad, 1997) (Figura 7.4.6.4A). La secuencia estratigráfica abarca una horquilla temporal desde el Paleolítico Superior hasta momentos históricos, presentando mayor importancia en niveles datados en torno a 39.100 - 30.000 años cal. BP., y en otros fechados en torno a 7321 – 6671 años cal. BP (Figura 7.4.6.4B; Tabla 7.4.6.1). Fruto de las excavaciones, se han recuperado restos de industria lítica, fauna terrestre y marina, ofreciendo testimonio del aprovechamiento de los recursos de la zona por parte de grupos humanos, desde el Paleolítico Superior hasta probablemente el Neolítico (Casabó i Bernad, 1997).

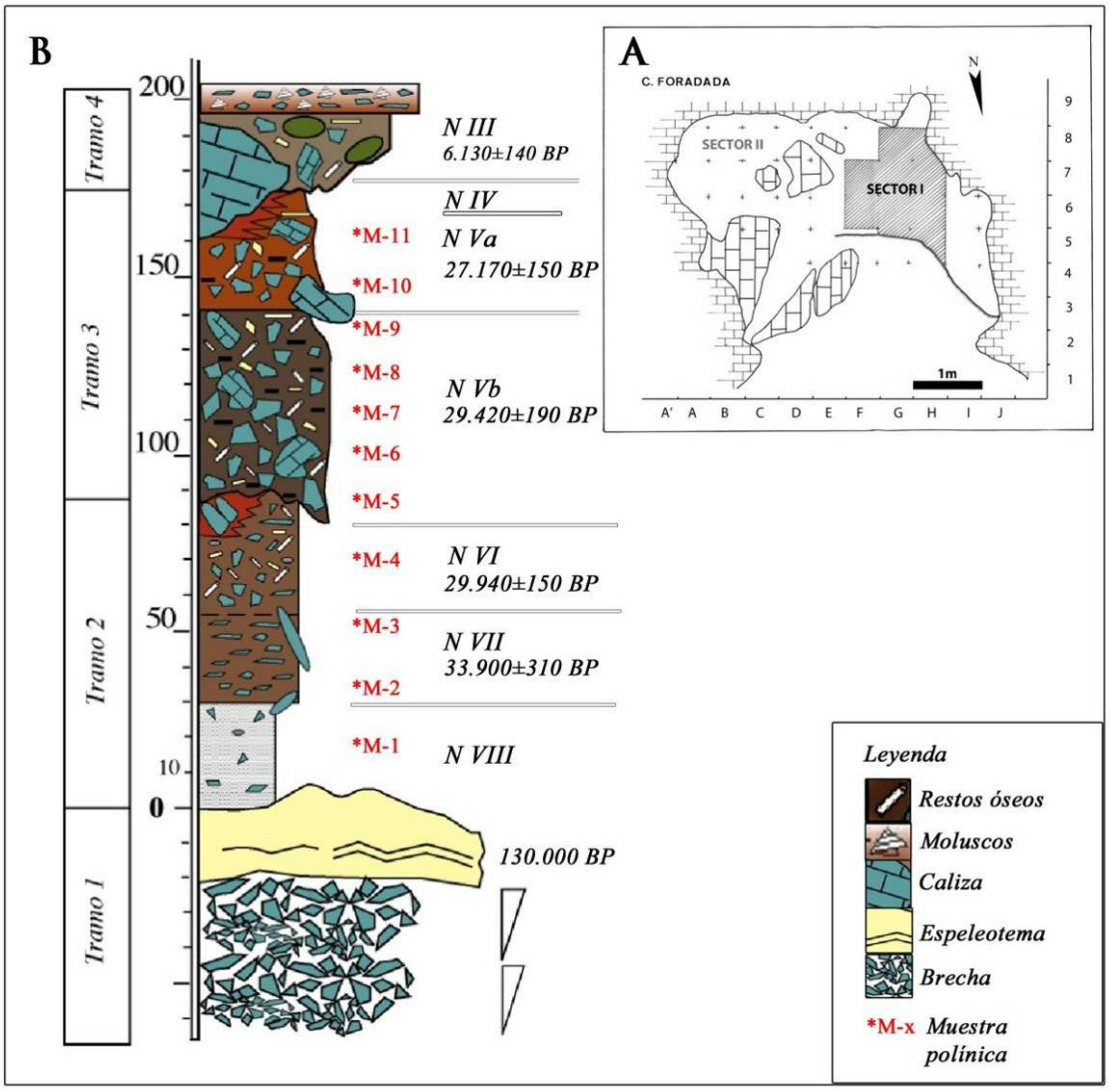


Figura 7.4.6.4. ***Cova Foradada.*** **A)** Planta de la excavación del yacimiento de Cova Foradada. **B)** Columna estratigráfica del Sector I de Cova Foradada [Figura tomada de Pantoja *et al*. (2011)].

7.4.6.4. Cronoestratigrafía de Cova Foradada

La estratigrafía del Sector I de Cova Foradada se ha diferenciado en 4 tramos (Pantoja *et al*., 2011) (Figura 7.4.6.4B). En la base del Sector I se ha localizado un depósito denominado Tramo 1 (Pantoja *et al*., 2011). Este depósito está constituido por una brecha carbonatada, que a su vez está sellada por una colada estalagmítica, y que está datada en más de 130.000 años (Casabó i Bernad, 2001; Pantoja *et al*., 2011). En el 2001 todavía no se había comenzado a excavar, y al menos en un examen de sus perfiles, no presentaba registro arqueológico (Casabó i Bernad, 2001; Pantoja *et al*., 2011).

Continuando en el Sector I, por encima del Tramo I se han diferenciado 8 niveles estratigráficos diferenciados en 3 Tramos (Figura 7.4.6.4B). Estos niveles y sus tramos, están

distribuidos de base a techo del siguiente modo: Tramo 2 (niveles VIII, VII y VI), Tramo 3 (nivel V), Tramo 4 (niveles IV, III, II y I) (Pantoja *et al*., 2011).

Por su parte, en el Sector II se han diferenciado 3 niveles estratigráficos (niveles III, II y I) (Casabó i Bernad, 2001).

Con respecto a la asociación cronológica de los niveles estratigráficos del Sector I (Tabla 7.4.6.1), en el techo del nivel VII (Tramo 2) se ha realizado una datación por radiocarbono que ha arrojado un resultado de 33.900 ± 310 BP, y se ha asociado con una posible primera ocupación Auriñaciense. El nivel estratigráfico VI (Tramo 2) se ha datado en 29.940 ± 150 BP. Por su parte, el nivel V (Tramo 3) se ha dividido en dos subniveles, Vb y Va, para los que hay disponibles dos dataciones de radiocarbono. El subnivel estratigráfico Vb ha arrojado una fecha de 29.420 ± 190 BP, mientras que el subnivel Va está datado en 27.170 ± 150 BP. Todos los niveles estratigráficos del Tramo 2 y del Tramo 3 se han asociado al Auriñaciense, siendo el nivel V la principal fase de ocupación del yacimiento (Casabó i Bernad, 2001) (Figura 7.4.6.4B).

Tabla 7.4.6.1. ***Relación de las dataciones asociadas a la estratigrafía de Cova Foradada.*** En azul se presentan los resultados de calibración distribuidos en periodos históricos. (1) Calibrado a 2σ con el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13.

YACIMIENTO	SECTOR	NIVEL	PERIODO CULTURAL	^{14}C BP CONVENCIONAL	^{14}C cal. BP (2σ)[1]	^{14}C cal. aC (2σ)[1]
Cova Foradada	II	I	Auriñaciense evolucionado / Descontextualizado	310 ± 40	480 - 296	1470 - 1655 cal. AD
				2820 ± 80	3156 - 2769	1207 - 820
		II	Auriñaciense	26610 ± 460	31405 - 29740	29456 - 27791
				28310 ± 170	32799 - 31601	30850 - 29652
	I	III	Epipaleolítico / Neolítico	6130 ± 140	7321 - 6671	5372 - 4722
		Va	Auriñaciense	27170 ± 150	31350 - 30920	29401 - 28971
		Vb		29420 ± 190	33992 - 33198	32043 - 31249
		VI		29940 ± 150	34329 - 33732	32380 - 31783
		VII		33900 ± 310	39127 - 37341	37178 - 35392

Respecto a los niveles estratigráficos del Tramo 4 (niveles IV, III, II y I), el nivel IV es un nivel erosivo que se ha sugerido podría deberse a remociones antrópicas del nivel III suprayacente (Casabó i Bernad, 1997). Los estudios geológicos lo han incluido en el Tramo 4 (Pantoja *et al*., 2011). Sin embargo, al presentar la misma cota que el nivel Va en varios perfiles

estratigráficos del yacimiento, en la columna estratigráfica sintética de Cova Foradada (Pantoja *et al*., 2011) se incluyó en el Tramo 3 para una mayor claridad expositiva (A. Pantoja, comunicación personal) (Figura 7.4.6.4B). Para el nivel IV no se dispone de ninguna datación de radiocarbono, pero se ha sugerido que este nivel debería ser ligeramente más reciente que la datación de 27.170 ± 150 BP del nivel Va. Un análisis detallado de la industria ósea de este nivel, ha propuesto que debería encuadrarse en el Auriñaciense final o evolucionado (J. Casabó i Bernad, comunicación personal).

Por su parte, el nivel III se ha datado en 6130 ± 140 BP (Tabla 7.4.6.1). Su adscripción cultural ha resultado ser problemática, ya que presenta una cronología contemporánea al Neolítico antiguo, pero la industria lítica es propia del Epipaleolítico y, además, no han aparecido evidencias de animales domésticos (Casabó i Bernad, 1997; 2001).

Por último, con respecto a los niveles estratigráficos II y I, mientras que el nivel estratigráfico II se ha atribuido al Eneolítico, el nivel I corresponde a momentos histórico-actuales, y sólo aparece puntualmente en el yacimiento (Casabó i Bernad, 2001).

Con respecto a los tres niveles del Sector II, los niveles III y II se han atribuido al Auriñaciense. El nivel II ha presentado unas dataciones comprendidas entre 26.610 ± 460 BP y 28.310 ± 170 BP (Tabla 7.4.6.1). Por su parte aunque la industria del nivel I se ha asociado con un Auriñaciense evolucionado, también se ha detectado alteraciones por remociones de furtivos. Las dataciones que se han obtenido para el nivel I han arrojado cronologías holocenas (310 ± 40 BP y 2820 ± 80 BP) (Tabla 7.4.6.1), confirmado lo antes mencionado (Casabó i Bernad, 2001).

7.4.6.5. El estudio de la fauna de Cova Foradada

A partir del estudio de la fauna continental y marina, en asociación con el análisis geoarqueológico, se ha deducido que la línea de costa en la zona de Cova Foradada durante las primeras fases del Paleolítico Superior se encontraba más alejada que en la actualidad (Casabó i Bernad, 2001). En las proximidades de Cova Foradada existió un corredor que funcionó como trampa natural, actualmente bajo las aguas (Casabó i Bernad, 1997).

A partir de los datos ofrecidos por la industria lítica, cabe destacar que los grupos humanos no ocuparon Cova Forada de una manera intensiva, sólo eventualmente en determinados momentos de tiempo (Casabó i Bernad, 2001). La misma conclusión se ha deducido a partir de la escasez de restos óseos, analizados en el estudio de la macrofauna del

Sector I (Pantoja *et al*., 2011). Se ha considerado que los resultados arrojados por la industria lítica y la macrofauna son concordantes con la condición de Cova Foradada como un asentamiento ocasional (Casabó i Bernad, 2001; Pantoja *et al*., 2011).

El estudio de los restos faunísticos del Sector I ha determinado la presencia de, al menos, nueve especies de macromamíferos. Los carnívoros representados han sido *Panthera pardus*, *Lynx pardinus y Felis silvestris*. Por su parte, los artiodáctilos identificados han sido *Bos primigenius, Capra pyrenaica, Cervus elaphus* y *Sus scrofa,* mientras que los perisodáctilos han sido *Equus ferus* y *Equus hydruntinus* (Pantoja *et al*., 2011). Además, esta lista faunística se completa con diversos taxones de avifauna y microfauna (Casabó i Bernad, 1997). Los grupos humanos completarían su dieta en determinados momentos con diversas especies de moluscos marinos, así como con gasterópodos terrestres (Casabó i Bernad, 1997).

Los restos de herbívoros presentan marcas de fracturación y de corte asociadas a consumo humano. Además, los restos de carnívoros también presentan evidencias de manipulación antrópica. En conjunto, las evidencias de aprovechamiento humano sobre estos taxones han puesto de manifiesto que el origen de la acumulación es exclusivamente antrópico (Casabó i Bernad, 1999; Pantoja *et al*., 2011). Además, a partir del estudio de los restos de conchas de molusco, se ha sugerido un posible uso estético además del gastronómico (Casabó i Bernad, 1997).

Además, en el yacimiento de Cova Foradada se han recuperado numerosos restos humanos atribuidos a *Homo sapiens*, con una antigüedad ~ 28.000 años BP (Casabó i Bernad, 2001).

7.4.6.6. Muestras de Cova Foradada seleccionadas para esta investigación

Para la realización de esta investigación se han seleccionado 12 restos de équidos y 3 restos de *Capra pyrenaica.* De los 12 restos de équidos, nueve se han identificado como *Equus ferus*, mientras que los otros tres se han asociado a *Equus hydruntinus* (Tabla 7.4.6.2).

Con la finalidad de profundizar en la descripción de las muestras, hemos llevado a cabo un reanálisis de todas las muestras con ayuda de Y. Bensaid, uno de los investigadores que ha estudiado esta fauna.

La identificación de los restos de *Equus hydruntinus* se realizó en función del tamaño en el caso de las muestras con número de laboratorio CFD06 y CFD09, y en el caso de la muestra CFD12 se tuvo en cuenta la morfología del doble bucle entre el metacónido y el metastílido. En el Capítulo 5 *Estudios sobre* Equus hydruntinus *ibéricos*, se comentan con detalle las características morfológicas que han sido utilizadas por los investigadores de manera general para clasificar restos faunísticos al taxón *Equus hydruntinus*.

Los restos de *Capra pyrenaica* se utilizaron como muestras de control negativo durante el proceso de extracción de ADN.

De las 12 muestras de équidos que se han seleccionado, 10 muestras proceden del Sector I y dos muestras del Sector II (Tabla 7.4.6.2). Las 10 muestras del Sector I se distribuyen entre los niveles estratigráficos del siguiente modo: seis muestras del nivel Va, tres muestras del nivel IV, y una muestra que corresponde a la limpieza de los niveles IV o Va (J. Casabó i Bernad, *comunicación personal*). Por otro lado, las dos muestras del Sector II proceden del nivel III (Tabla 7.4.6.2).

Tabla 7.4.6.2. ***Relación de restos faunísticos de Cova Foradada utilizados para el estudio ADN.***

YACIMIENTO	Nº LAB	CAMPAÑA	SECTOR	NIVEL	ASOCIACIÓN CULTURAL	SIGLA BOLSA
Cova Foradada (Xábia)	CFD01	1992	I	Va	Auriñaciense	CF92 H8 Nivel V -70
	CFD02	1992		IV		CF92 G8 Nivel IV - 75 (7+36)
	CFD03	1992		IV		CF92 G8 Nivel IV - 75 (7+36)
	CFD04	1992		Va		CF92 G8 Nivel V -80
	CFD05	1992		Va		CF92 G8 Nivel V -80
	CFD06	1994		Va		CF94 F7 Nivel V -90
	CFD07	1995		Va		CF95 H6 Nivel V -90
	CFD08	1995		Va		CF95 H6 Nivel V -90
	CFD09	1995	II	III		CF95 B6 Nivel III 75/70
	CFD10	1994		III		CF94 B7 Nivel III -80
	CFD11	1992	I	IV		CF92 H8 Nivel IV -65
	CFD12	1994		IV/Va		CF94 Limpieza del Sector A (Sector I)
	CFD13	1992		I	Paleolítico superior / Holoceno	CF92 F6 I -70 (4)
	CFD14	1996	II	III	Auriñaciense	CF96 C7 V 89
	CFD15	1999		I	Paleolítico superior / Holoceno	CF99 A7 I (-65 -75)

7.4.6.7. El proceso de extracción de ADN de la fauna de Cova Foradada

7.4.6.7.1. Extracción de ADN

De cada resto faunístico se obtuvieron 2 muestras con las que se realizaron 2 extracciones independientes. Las extracciones de ADN se llevaron a cabo separando las muestras en dos conjuntos:

- Conjunto 1: CFD01, CFD02, CFD03, CFD04, CFD05, CFD06, CFD013, CFD15.
- Conjunto 2:CFD07, CFD08, CFD09, CFD10, CFD11, CFD12, CFD14, CFD15.

A su vez, cada conjunto se acompañó de una muestra de ddH2O, como muestra control durante el protocolo de extracción.

Sobre cada conjunto se implementaron los protocolos de extracción de ADN número 1 y número 2.

7.4.6.7.2. Amplificación de ADN

La amplificación de ADN se llevó a cabo para todos los extractos de ADN utilizando las parejas de cebadores 15.425F – 15.625R (región 1), 15.546F – 15.708R (región 2) y 15.668F – 15.862R (región 3). Sobre los extractos de ADN del protocolo 1, se llevaron a cabo dos amplificaciones independientes (Tabla 7.4.6.3). Sobre los extractos obtenidos con el protocolo 2, se llevaron a cabo dos amplificaciones independientes con las parejas de cebadores de la región 1, y una amplificación con cada pareja de cebadores de las regiones 2 y 3.

Tabla 7.4.6.3. ***Extracciones y amplificación de las muestras de Cova Foradada.*** Se detallan las extracciones realizadas, el protocolo de extracción de ADN utilizado con cada conjunto, y la cantidad de amplificaciones independientes que se han efectuado sobre cada extracto. Para cada extracto de ADN obtenido, se amplificaron las parejas de cebadores 15.425F – 15.625R (Región 1), 15.546F – 15.708R (Región 2), 15.668F – 15.862R (Región 3).

SERIES DE MUESTRAS COVA FORADADA	PROTOCOLOS DE EXTRACCIÓN	AMPLIFICACIONES PCR		
		Región 1	Región 2	Región 3
Conjunto 1,1 - 2,1	Protocolo 2	x2	x1	x1
Conjunto 1,2 - 2,2	Protocolo 1	x2	x2	x2

7.4.7. El yacimiento de El Portalón de Cueva Mayor (sierra de Atapuerca, Burgos)

7.4.7.1. Localización del yacimiento: La sierra de Atapuerca

La sierra de Atapuerca (Figura 7.4.7.1) merece una mención especial en esta investigación, por ser el lugar donde el doctorando ha iniciado y desarrollado su labor investigadora, y por albergar tres de los yacimientos donde se han recuperado restos de équidos analizados en esta investigación (El Portalón de Cueva Mayor, la Galería de las Estatuas y el Mirador).



Figura 7.4.7.1. ***Localización geográfica de la sierra de Atapuerca en la península ibérica.***

Durante los últimos 40 años, las excavaciones sistemáticas llevadas a cabo en los yacimientos de la sierra de Atapuerca (Burgos, Castilla y León) (Figura 7.4.7.2) han convertido a estos yacimientos en un referente mundial en el campo de la paleontología, la prehistoria y la evolución humana. Su repercusión científica y social desembocó en la declaración de Patrimonio de la Humanidad por la UNESCO, en Diciembre del año 2000. La importancia de estos yacimientos ha sido recientemente ratificada en el año 2015: la UNESCO ha concedido el reconocimiento máximo que puede recibir un bien considerado Patrimonio de la Humanidad, declarándolo Lugar de Valor Universal Excepcional.

Estas excavaciones han proporcionado restos fósiles y subfósiles de especies de homínidos, de animales y vegetales que poblaron la Meseta Norte de la península ibérica desde el Pleistoceno inferior hasta épocas históricas. Entre estos hallazgos, destaca la aparición en el yacimiento de Trinchera Elefante de los restos del homínido europeo más antiguo, con una cronología de ~1,2 millones de años e identificados como *Homo* sp.

(Carbonell *et al*., 2008) (Figura 7.4.7.2; Figura 7.4.7.3). Además, se ha descrito a la especie *Homo antecessor* a partir de la colección de fósiles humanos recuperados en el nivel TD6 del yacimiento de Trinchera Gran Dolina, con una antigüedad superior a 900.000 años (Carbonell *et al*., 1999; Bermúdez de Castro *et al*., 1997; Berger *et al.,* 2008) (Figura 7.4.7.2; Figura 7.4.7.3).

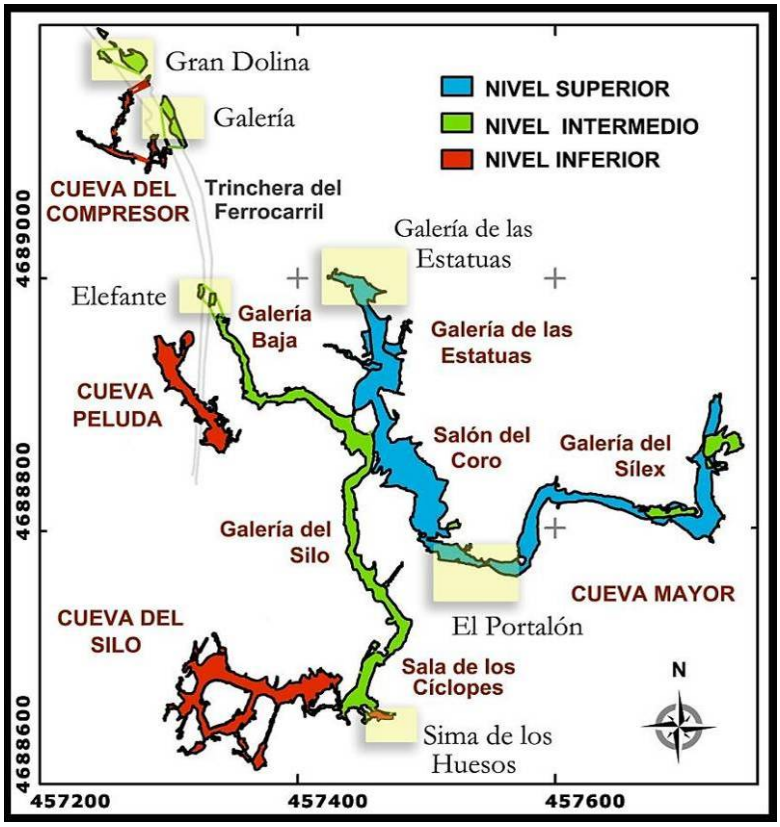


Figura 7.4.7.2. ***Planimetría del karst de la sierra de Atapuerca***. Sistema kárstico Cueva Mayor – Cueva del Silo y las cavidades de Cueva Peluda y Cueva del Compresor. Los tres niveles del sistema kárstico se detallan en color azul (nivel superior), color verde (nivel intermedio), color rojo (nivel inferior). En letra minúscula y color rojo se detallan los nombres de las principales galerías del sistema kárstico. Las ubicaciones de los yacimientos (a excepción de El Mirador) se encuentran resaltadas en color amarillo claro sobre la planimetría. En minúscula y color negro se detallan los nombres de los yacimientos [Planimetría del Grupo Espeleológico Edelweiss (GEE). Imagen modificada de Ortega *et al*. (2013)].

Por otro lado, en el yacimiento de la Sima de los Huesos se ha recuperado la colección de fósiles de homínidos más extensa de todo el registro mundial del Pleistoceno medio (Arsuaga *et al*., 1993; 1997a; 1997b) (Figura 7.4.7.2; Figura 7.4.7.3). Estos fósiles pertenecen a una población de hace unos 430.000 años asignada a la especie *Homo heidelbergensis.* Determinados caracteres morfológicos del cráneo y la mandíbula han puesto de manifiesto que esta población se encontraba en la línea evolutiva de los neandertales (Arsuaga *et al*., 2014). Además, de esta población se han podido conocer características fisiológicas asociadas a la audición y su adaptación al lenguaje (Martínez *et al*., 2004), así como características patológicas de algunos individuos con implicaciones relevantes en el comportamiento social y cuidado de los más débiles (Gracia *et al*., 2009; Bonmatí *et al*., 2010). También se ha podido recuperar el genoma mitocondrial más antiguo asociado a un homínido, y su análisis ha señalado una relación filogenética más estrecha con los Denisovanos que con los neandertales (Meyer *et al*., 2014). Sin embargo, el análisis de alelos derivados compartidos del genoma

nuclear de dos individuos de esta población de la Sima de los Huesos, ha mostrado una mayor relación filogenética con los ancestros de los neandertales (Meyer *et al*., 2016), corroborando los resultados obtenidos con el estudio de los caracteres morfológicos (Arsuaga *et al*., 2014).

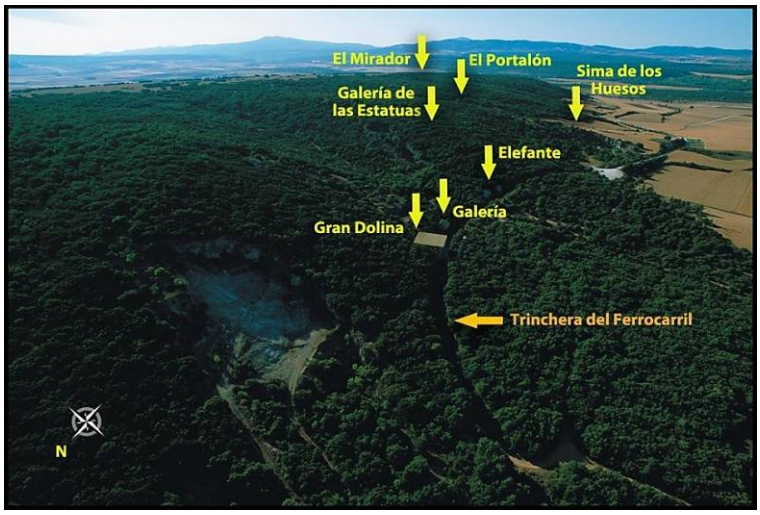


Figura 7.4.7.3. ***Imagen aérea de la sierra de Atapuerca con la proyección de la ubicación de los yacimientos.*** En primer plano aparece la Trinchera del Ferrocarril (Foto: J. Trueba / Madrid Scientific Films).

El registro arqueopaleontológico de la sierra de Atapuerca se ha recuperado en varios yacimientos, debido a la colmatación por sedimentos de cuevas y galerías. El interior de la sierra de Atapuerca está recorrido por un complejo sistema kárstico que configura uno de los entramados de galerías más grandes de la Cuenca del Duero, con 3700 metros de desarrollo topografiado. Este sistema kárstico se denomina Cueva Mayor-Cueva del Silo (Ortega *et al*., 2005) (Figura 7.4.7.2).

7.4.7.1.1. Características geográficas y geológicas de la sierra de Atapuerca

La sierra de Atapuerca está localizada a 15 km al este de la ciudad de Burgos, en el borde NE de la Cuenca hidrográfica del río Duero. Sus coordenadas son 42° 22’ 17’’ latitud N y 3° 32’ 50’’ longitud E. Su ubicación se corresponde con una zona denominada “Estrecho de Burgos” o “Corredor de la Bureba”, un pasillo natural que contacta con la cuenca hidrográfica del río Ebro, y que limita al Norte con la Cordillera Cantábrica y al Sur con el extremo noroccidental del Sistema Ibérico (Cervera *et al*., 1998; VVAA, 1999; Ortega *et al*., 2005; Gracia y Lira, 2012).

La sierra de Atapuerca está ubicada entre los términos municipales de Ibeas de Juarros y Atapuerca. Se encuentra rodeada por tres ríos, siendo el principal el río Arlanzón, que discurre por Ibeas de Juarros, y los otros dos son el río Pico y el río Vena. Por el enclave geográfico donde se encuentra situada, la sierra presenta un ecosistema con una gran diversidad de biotopos. Esto se debe a que el “Corredor de la Bureba” es una encrucijada biogeográfica

donde confluyen influencias del clima atlántico, mediterráneo y continental, permitiendo la coexistencia de gran variedad de especies de flora y fauna (VVAA, 1999)

La sierra de Atapuerca se caracteriza por ser un anticlinal tumbado con forma de arco con vergencia hacia el Norte. Presenta una orientación NNO - SSE, adoptando una dirección casi Este -Oeste en su extremo más al Norte, donde se pliega (Benito y Pérez, 2007). Su desarrollo es de aproximadamente 5 km en su eje mayor y 1 km en su eje menor (Benito y Pérez, 2007), y las cotas más elevadas de la cima de la sierra se encuentran en "Matagrande" a 1082 metros sobre el nivel del mar (msnm) y "San Vicente" a 1085 (msnm) (Ortega *et al*., 2005).

El relieve de la sierra de Atapuerca está constituido por calizas, dolomías y calcarenitas originadas durante el Cretácico superior (Era Mesozoica, hace aproximadamente 90 millones de años.) (VVAA, 1999). Posteriormente, la sierra se vio sometida a procesos tectónicos, plegándose y emergiendo entre finales del Oligoceno y comienzos del Mioceno, hace aproximadamente 25 millones de años. A partir de ese momento, las laderas de la sierra se vieron sometidas a fenómenos de erosión, precipitando el carbonato cálcico en la cuenca endorreica del Duero, formando calizas continentales y calizas arcillosas o margas. Durante la misma época en la que se empiezan a sedimentar las margas, el macizo calizo de la sierra empieza a sufrir fenómenos de disolución dando comienzo a la génesis del karst de la sierra (VVAA, 1999; Ortega, 2009).

Hace aproximadamente 6 - 5 millones de años (finales del Mioceno) se produjo la fase de colmatación de la Cuenca del Duero, quedando la sierra de Atapuerca prácticamente tapada por los sedimentos. Durante el Pleistoceno inferior (aproximadamente 1,9 millones de años) la península ibérica se inclinó, la cuenca de Duero se abrió al Océano Atlántico y este fenómeno permitió el arrastre de los sedimentos que la colmataban, originándose de esta forma la red hidrográfica actual (VVAA, 1999).

Por lo tanto, el relieve de la sierra de Atapuerca responde a una evolución de una modelado Neógeno desmantelado en parte por la imposición de la red fluvial cuaternaria (Ortega, 2009).

El sistema kárstico de la sierra de Atapuerca está distribuido en tres niveles principales vinculados a la evolución de la red fluvial del río Arlanzón. El nivel superior tiene un origen durante una fase Matuyama del Plioceno y transición al Pleistoceno, mientras que el segundo y tercer nivel se desarrollaron en diferentes fases durante el Pleistoceno inferior (Ortega *et al*.,

2009). La unidad endokárstica principal se encuentra localizada en el sector occidental del "Monte de San Vicente", y está constituido por el sistema kárstico de Cueva Mayor – Cueva del Silo y las cavidades de Cueva Peluda y Cueva del Compresor (Ortega *et al*., 2009) (Figura 7.4.7.2).

7.4.7.1.2. La sierra de Atapuerca en la Historia

El primer referente conocido de la sierra de Atapuerca data de mediados del siglo X, y se trata de un documento fechado en el año 963 que hace mención a la "serra de Adtaporka" (Arsuaga, 2006). Durante los siglos IX y X el valle del Duero adquirió un cariz especial, ya que empezó a repoblarse con motivo del avance cristiano hacia el Sur, bajo el proceso de expansión comunmente denominado como *Reconquista* (García Fitz, 2010). Bajo estos movimientos migratorios se produjo, en el año 884, la fundación de la ciudad de Burgos y el poblamiento de los terrenos colindantes. Las referencias documentales existentes para las fundaciones de las villas cercanas a Burgos, emplazarán el poblamiento de Ibeas de Juarros en el año 921, Agés en el año 944 y Atapuerca en el año 963 (VVAA, 1999), el mismo año al que pertenece la primera referencia conocida de la sierra.

Este avance cristiano y la consolidación de las tierras del valle del Duero permitirán la reactivación del tránsito de peregrinos al Santiago de Compostela por antiguas vías de comunicación dentro de la meseta castellana. En el siglo XI, el borde meridional de la Sierra de Atapuerca pasará a utilizarse como una de las vías de comunicación de la ruta jacobea, uniendo la villa de Nájera con Burgos. Este ramal septentrional del Camino de Santiago se consolidará en el siglo XII, con la fundación del Hospital de San Juan de Ortega y la inclusión de la villa de Atapuerca en el *Liber Sancti Jacobini* (VVAA, 1999).

Las cavidades de la sierra de Atapuerca serán visitadas por exploradores y curiosos a lo largo de la Historia. Muchos visitantes dejarán su firma en las paredes de diversas galerías del complejo Cueva Mayor-Cueva del Silo. Aunque P. Sampayo y M. Zuaznávar afirmaban la presencia de inscripciones árabes del siglo XIII, las más antiguas conocidas datan del año 1444, quedando a partir del siglo XVI, constancia escrita de visitas a estas cavidades (VVAA, 1999; Ortega y Martín, 2005; López Torrijos, 2006)

En la segunda mitad del siglo XIX ocurriría un suceso de vital importancia para las posteriores investigaciones arqueopaleontológicas en la sierra de Atapuerca. El incipiente desarrollo de la siderurgia vasca sería el principal motivo de la construcción de una línea férrea

para trasportar minerales desde Monterrubio de la Demanda (en la sierra de la Demanda) a Villafría, para posteriormente conectar con la red de Ferrocarriles del Norte. De este modo las minas de Pineda, Riocavado o Barbadillo de los Herreros podrían sustentar con sus minerales de hierro y vetas de hulla las demandas de los Altos Hornos de Vizcaya. Dicha construcción se realizaría entre 1896 y 1901, tendiendo una catenaria de unos 65 km de recorrido (Cervera *et al*., 1998). Pero a su paso por la sierra de Atapuerca, en lugar de bordearla la atravesó, originado un corte en su extremo suroccidental de aproximadamente 1 km de longitud. Este desfiladero de casi 20 m de altura dejaría expuestas antiguas cavidades colmatadas de sedimentos llenos de fósiles que no se reconocieron en un principio. A lo largo del siglo XX, la Trinchera del Ferrocarril sería visitada por diversos investigadores para estudiar el potencial de estas cavidades, comenzando a partir de 1978 las excavaciones sistemáticas en tres de estos rellenos, la Galería, la Gran Dolina y posteriormente la Sima del Elefante (VVAA, 1999; Cervera *et al*., 1998).

7.4.7.1.3. Historia de las intervenciones científicas en la sierra de Atapuerca

Las primeras referencias sobre descubrimientos en la sierra de Atapuerca se publicaron el 20 de mayo de 1863 en el periódico *El Eco Burgalés*, donde los autores R. Inclán y F. de Ariño y López, relataban el hallazgo de restos humanos en Cueva Ciega (VVAA, 1999).

En 1868, los ingenieros de minas P. Sampayo y M. Zuaznávar publicaron un trabajo de espeleología pionero en España titulado *Descripción con planos de la Cueva llamada de Atapuerca*, con ilustraciones de I. Gil. En dicha monografía hacían un minucioso análisis descriptivo de la morfología de las cavidades del complejo kárstico de Cueva Mayor acompañándolas con un mapa del mismo (VVAA, 1999).

El descubrimiento del Portalón de Cueva Mayor como yacimiento arqueológico tuvo lugar a comienzos del siglo XX (Figura 7.4.7.2). En 1910, J. Carballo descubrió la pintura rupestre de la cabeza de caballo localizada en una de las paredes de la cara Norte de El Portalón, y también hizo referencia a los restos arqueológicos encontrados en la propia cavidad de El Portalón (VVAA, 1999).

La noticia de este descubrimiento de la cabeza de caballo no pasó desapercibida para otros investigadores del momento, y en 1912 H. Breuil y H. Obermaier visitaron la sierra de Atapuerca. Posteriormente, H. Obermaier incluyó una referencia a dicha pintura en la lista de cuevas o abrigos con arte rupestre en su obra *El Hombre Fósil* (Obermaier, 1925).

Entre 1925 y 1930, J. Martínez Santa-Olalla incluyó el yacimiento de El Portalón en su estudio del Paleolítico y del Neolítico en la provincia Burgos.

Mientras que en la primera mitad del siglo XX las investigaciones realizadas se centraron en el interior del complejo kárstico, las cavidades de la Trinchera del Ferrocarril pasaron prácticamente desapercibidas para los ojos de los investigadores. El único trabajo de esta primera mitad del siglo XX que sí hace referencia a los rellenos de las cavidades de la Trinchera lo escribió J. Royo Gómez en 1926, con motivo de la excursión del XIV Congreso Geológico Internacional (VVAA, 1999) (Figura 7.4.7.2).

En 1962 el miembro del Grupo Espeleológico Edelweiss (GEE), J.L. Uribarri, notificó al director del Museo de Burgos el hallazgo de restos fósiles en los sedimentos de la Trinchera del Ferrocarril. Este hallazgo propició que el director del Museo de Burgos se pusiera en contacto con F. Jordá, profesor de la Universidad Salamanca, el cual realizaría las primeras excavaciones en la Sierra de Atapuerca. En 1964 excavaría sedimentos de la Trinchera del Ferrocarril, y el 1966 realizaría una excavación en el Portalón de Cueva Mayor (Figura 7.4.7.2). Como fruto de sus excavaciones asoció los sedimentos de la Trinchera al Paleolítico inferior, mientras que los excavados en el Portalón los atribuiría a la Edad del Bronce (VVAA, 1999).

En el verano de 1972, G.A. Clark y L. Strauss llevaron a cabo una serie de sondeos en el Portalón de Cueva Mayor y en la Trinchera del Ferrocarril. En el Portalón realizó una cata de más de 2 m de profundidad que dejó expuesta una importante secuencia estratigráfica. En dicha estratigrafía se detectó una secuencia arqueológica asociada a fases culturales que se prolongaban desde el Calcolítico hasta momentos de la Romanización. Por su parte, en los trabajos llevados a cabo en la Trinchera del Ferrocarril, se especificó por primera vez los rellenos que componen dichos yacimientos. De este modo, se designaría como localidad 1 al conjunto de sedimentos que hoy día se conocen como Gran Dolina, y como localidad 2 al relleno del complejo de Galería (VVAA, 1999) (Figura 7.4.7.2).

En noviembre de 1972 algunos miembros del GEE realizarían un descubrimiento singular dentro del Complejo de Cueva Mayor. En una zona al Este dentro del yacimiento de El Portalón, descubrirían una vía de acceso que les llevaría a un lugar que se bautizaría como “el santuario” de la Galería del Sílex (Figura 7.4.7.2). Este yacimiento habría sido un lugar de uso durante el Neolítico y de la Edad del Bronce, cuya boca de entrada posteriormente se colapsó, manteniéndose intacto hasta su descubrimiento en 1972 (VVAA, 1999).

Los descubrimientos realizados durante 1972 movieron a J.M. Apellániz, director del Seminario de Arqueología de la Universidad de Deusto, a desarrollar un proyecto de investigación en El Portalón de Cueva Mayor. Entre 1973 y 1983 llevó a cabo excavaciones dentro de El Portalón, dejando al descubierto una secuencia estratigráfica con estratos asociados a momentos medievales y romanos, y una importante secuencia relacionada con la Edad del Bronce (VVAA, 1999, Carretero *et al*., 2008; Pérez Romero *et al*., 2015) (Figura 7.4.7.2).

En 1976, el ingeniero de minas T. Torres realizaría excavaciones en la Trinchera del Ferrocarril y en la Sima de los Huesos, con motivo de sus investigaciones en úrsidos de la península ibérica. Trinidad Torres descubriría junto a los restos de osos de la Sima de los Huesos (Figura 7.4.7.2) una serie de fósiles humanos que pondría en conocimiento de su director de tesis, el paleontólogo E. Aguirre. Este excepcional hallazgo llevaría a E. Aguirre a plantear un proyecto de investigación bajo el título *Excavaciones en el yacimiento de fósiles humanos de la Sierra de Atapuerca (Trienio 1977-1979)*. Las excavaciones en los yacimientos de la sierra de Atapuerca comenzaron en septiembre de 1978, manteniendo su continuidad hasta hoy (VVAA, 1999).

7.4.7.2. El yacimiento de El Portalón (sierra de Atapuerca, Burgos)

El yacimiento de El Portalón de Cueva Mayor se encuentra situado en una de las dos entradas actuales al sistema kárstico de Cueva Mayor-Cueva del Silo (Figura 7.4.7.4).

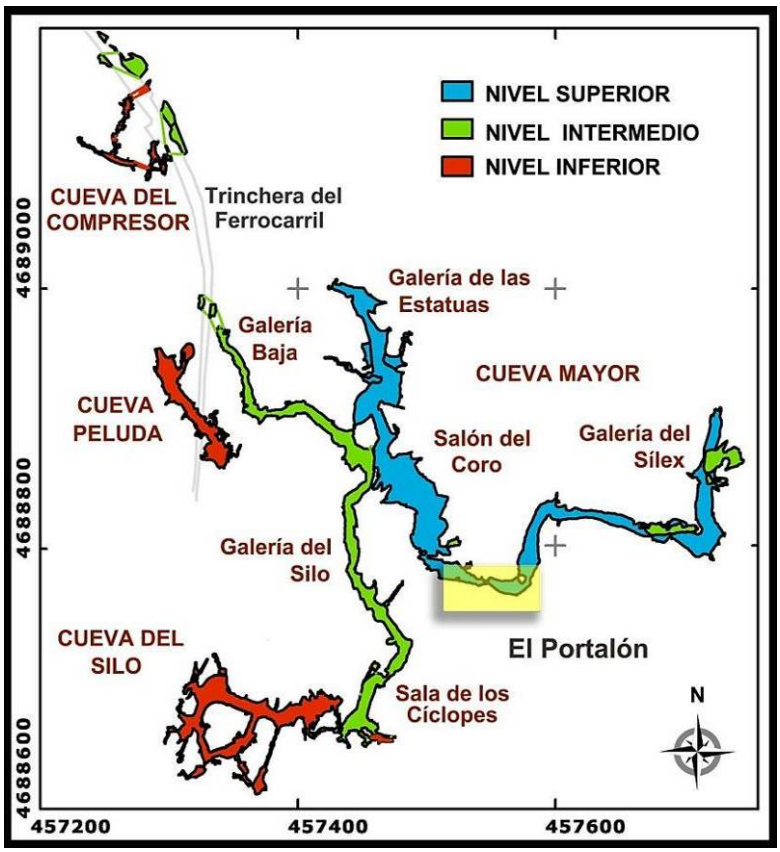


Figura 7.4.7.4. ***Localización de El Portalón en el sistema kárstico de Cueva Mayor – Cueva del Silo.*** Los tres niveles del sistema kárstico se detallan en color azul (nivel superior), color verde (nivel intermedio), color rojo (nivel inferior). En letra minúscula y color rojo se detallan los nombres de las principales galerías del sistema kárstico. La ubicación de El Portalón aparece resaltada en color amarillo claro sobre la planimetría. [Planimetría del Grupo Espeleológico Edelweiss (GEE). Imagen modificada de Ortega *et al*. (2013)].

Concretamente el yacimiento está localizado en la entrada de Cueva Mayor, a 1034 - 1036 metros sobre el nivel del mar (Ortega *et al*. 2005), siendo sus coordenadas geográficas 42° 20´ 53,68´´ latitud N y 3° 31´ 1,13´´ longitud Oeste (coordenadas obtenidas con la aplicación SIGPAC: http://sigpac.magrama.es/fega/h5visor/) (Figura 7.4.7.5).

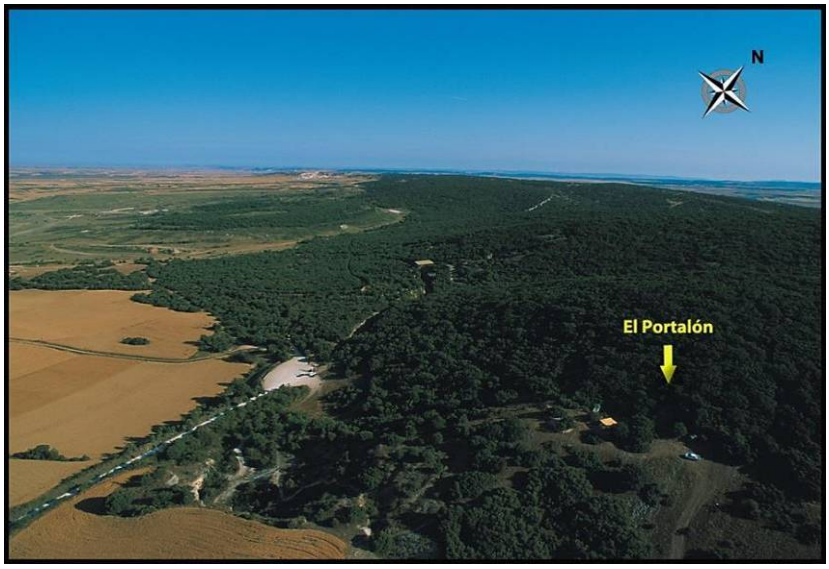


Figura 7.4.7.5. ***Imagen aérea de la sierra de Atapuerca***. Se detalla la ubicación de la entrada de El Portalón (Foto: J. Trueba / Madrid Scientific Films).

7.4.7.2.1. Historia de las excavaciones en El Portalón

Este yacimiento ha sido objeto de reiteradas excavaciones documentadas a lo largo del siglo XX. La primera tuvo lugar en 1966 por parte de F. Jordá. Esta excavación consistió en la realización de una cata cerca de la pared Norte del yacimiento (Figura 7.4.7.6) (VVAA, 1999).

Posteriormente, en julio de 1972, G. Clark y L. Strauss acometieron otra excavación esta vez cerca de la entrada al yacimiento (Clark *et al*., 1979) (Figura 7.4.7.6), prácticamente frente a la realizada por F. Jordá años antes. La excavación se llevó a cabo en dos zonas diferentes. Una de las zonas sería una cata de 2x2 m ($4m^2$) con una profundidad de 2 m, que mostró sedimentos alterados por una excavación previa. La otra zona comprendía un área de 2 m x 50 cm, donde G. Clark y L. Strauss excavaron sedimentos *in situ*. El resultado de su trabajo reflejó una potencia estratigráfica que abarcaba momentos calcolíticos en la base, distintas etapas de la Edad del Bronce y sedimentos asociados a la presencia romana en Iberia en la parte superior de la secuencia (VVAA, 1999).

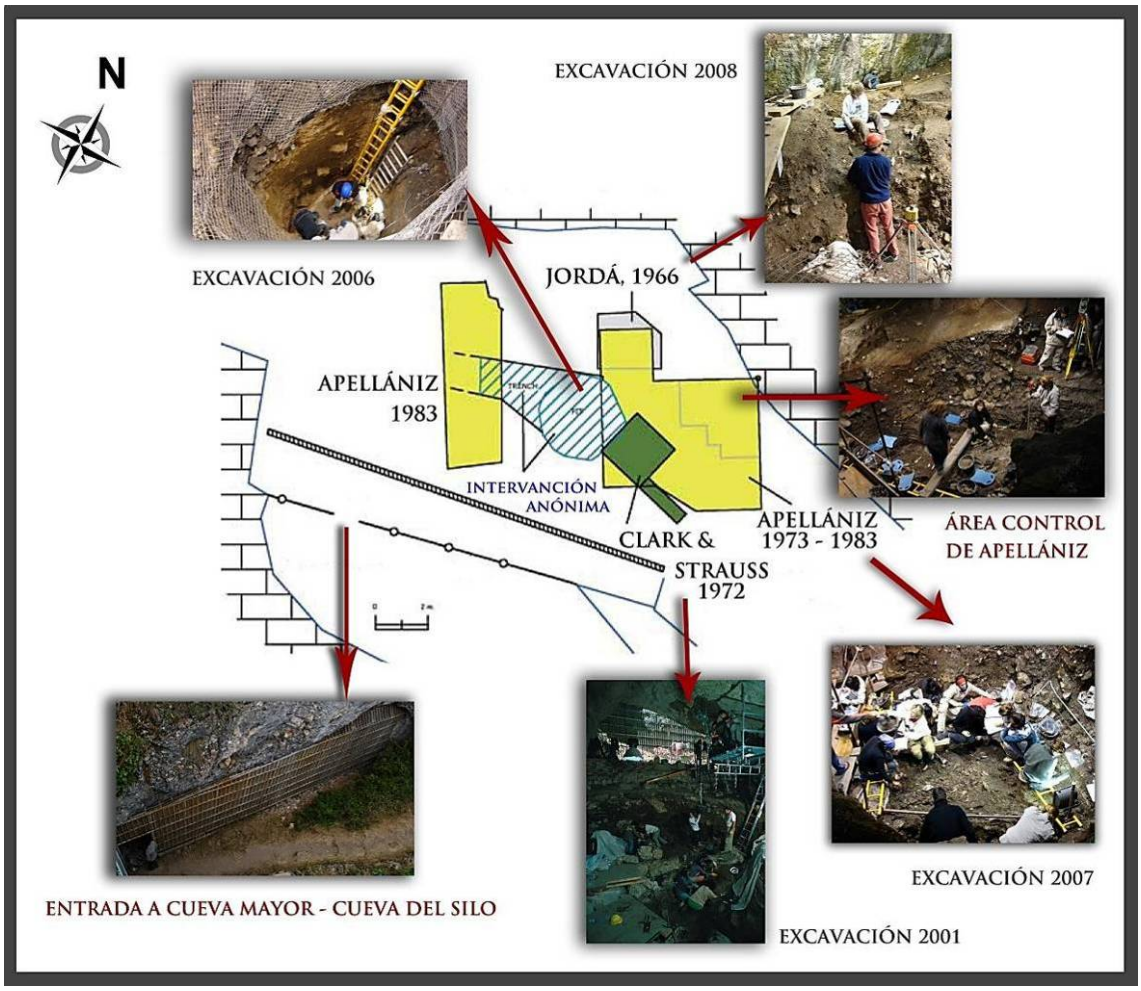


Figura 7.4.7.6. ***Planta de la excavación de El Portalón.*** Se destacan las zonas donde se han realizado las diferentes intervenciones, con fotografías de los trabajos actuales realizados por el EIA desde el año 2000 (Figura modificada de Carretero *et al*. 2008. Fotos: J. Trueba / Madrid Scientific Films; J. Lira).

A partir de 1973, J.M. Apellániz llevó a cabo una serie de campañas de excavación que continuaron hasta 1983. El equipo de J.M. Apellániz excavó en la zona central del yacimiento, entre las catas efectuadas por J. Jordá y por G. Clark y L. Strauss (Figura 7.4.7.6). La excavaciones se centraron en el denominado sector Este de esta zona central, en un área de aproximadamente 17 m^2, llegando a excavarse hasta una profundidad media de 2,2 metros. (Juez, 2005).

El profesor J.M. Apellániz dividió la zona de excavación en los sectores I y II y realizó la excavación utilizando *lechos*. Se definió el *lecho* como "La unidad de depósito de materiales en un lapso de tiempo que se establece tomando como referencia los criterios de depósito de los materiales: huesos grandes y largos, lajas de piedra, fragmentos grandes y manchas de ceniza" (Mínguez, 2005). El Sector I estaba localizado al SE del área de excavación, y se identificaron 115 lechos en este sector. Por su parte, el Sector II ocupó la zona NO de la excavación y se diferenciaron 83 lechos (Figura 7.4.7.6).



Figura 7.4.7.7. ***Imagen general del yacimiento de El Portalón.*** Fotografía tomada hacia el área Sur. La imagen muestra labores de trabajo de la campaña de excavación del año 2001 (Foto: J. Trueba / Madrid Scientific Films).

El trabajo de estas excavaciones permitió definir 3 niveles (Mínguez, 2005). El nivel I se asoció a nivel superficial alterado, el nivel II con ocupaciones tardorromanas, y el nivel III con la Edad del Bronce (Juez, 2005). El nivel III se subdivió a su vez en Bronce final, Bronce medio, Bronce antiguo y finales del Calcolítico. El último año de excavación, J.M. Apellániz realizó un sondeo de 12 m^2 en el área O de la zona central del Portalón. Este sondeo mostró unos sedimentos alterados, posiblemente debido a una excavación previa (Juez, 2005; Ortega *et al*., 2008; Carretero *et al*., 2008; Ortega, 2009; Pérez Romero *et al*., 2010; Alday *et al*., 2011) (Figura 7.4.7.6).

Tras varios años de inactividad, en el año 2000 se retomaron los trabajos de excavación en el yacimiento por parte del Equipo de Investigación de Atapuerca (EIA). En esta nueva etapa, las excavaciones de este yacimiento han estado dirigidas por el profesor J.L. Arsuaga, y los trabajos de campo coordinados por el profesor J.M. Carretero (Figura 7.4.7.7).

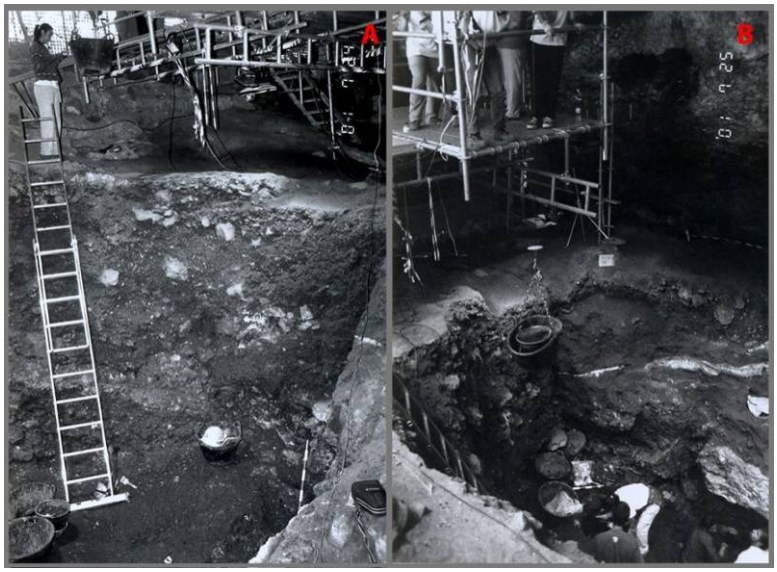


Figura* 7.4.7.8. *Imágenes del área Oeste de la zona central. Las imágenes muestran las labores de desalojo de materiales descontextualizados procedentes de una excavación anterior, no controlada. **A)** Vista del perfil Sur del área Oeste de la zona central del yacimiento. **B)** Vista del perfil Noroeste del área Oeste de la zona central del yacimiento. Imágenes de la campaña de excavación del año 2001 (Fotos: J. Lira).

El doctorando ha tenido la oportunidad de desarrollar una participación activa en las labores de campo desde la campaña del año 2000 hasta la del año 2008. Entre los años 2000 y 2007 se limpiaron las zonas de excavación de J. Jordá, G. Clark y L. Strauss y J.M. Apellániz. Además, se retomaron labores de excavación en los cortes de estas áreas y se centró el esfuerzo en la excavación del área Oeste de la zona central de El Portalón (Figura 7.4.7.8). El resultado de las excavaciones en esta zona puso al descubierto un área de sedimentos alterados cuya presencia ya había sido detectada por G. Clark y L. Strauss y por las excavaciones de J.M. Apellániz. Estos sedimentos alterados se encuentran distribuidos en 2 sectores: una zanja de 2 m de anchura y un pozo de 2 m de diámetro y más de 8 m de potencia estratigráfica (Carretero *et al*., 2008) (Figura 7.4.7.6). El desalojo de los sedimentos alterados de este pozo ha permitido estudiar la serie de niveles estratigráficos que abarcan ocupaciones desde el Neolítico hasta una fase final del Pleistoceno superior. De este modo, se ha podido definir de manera global para el Portalón una columna estratigráfica con un marco cronológico desde el Pleistoceno superior hasta la Edad Media (Figura 7.4.7.9). La descripción de los niveles se detalla en la siguiente sección.

A partir de la campaña de excavación del año 2007 se han realizado excavaciones en extensión sobre niveles *in situ*. Se retomaron las labores de excavación donde las había dejado J.M. Apellániz en el Sector II (Galindo-Pellicena, 2014a) (Figura 7.4.7.6).

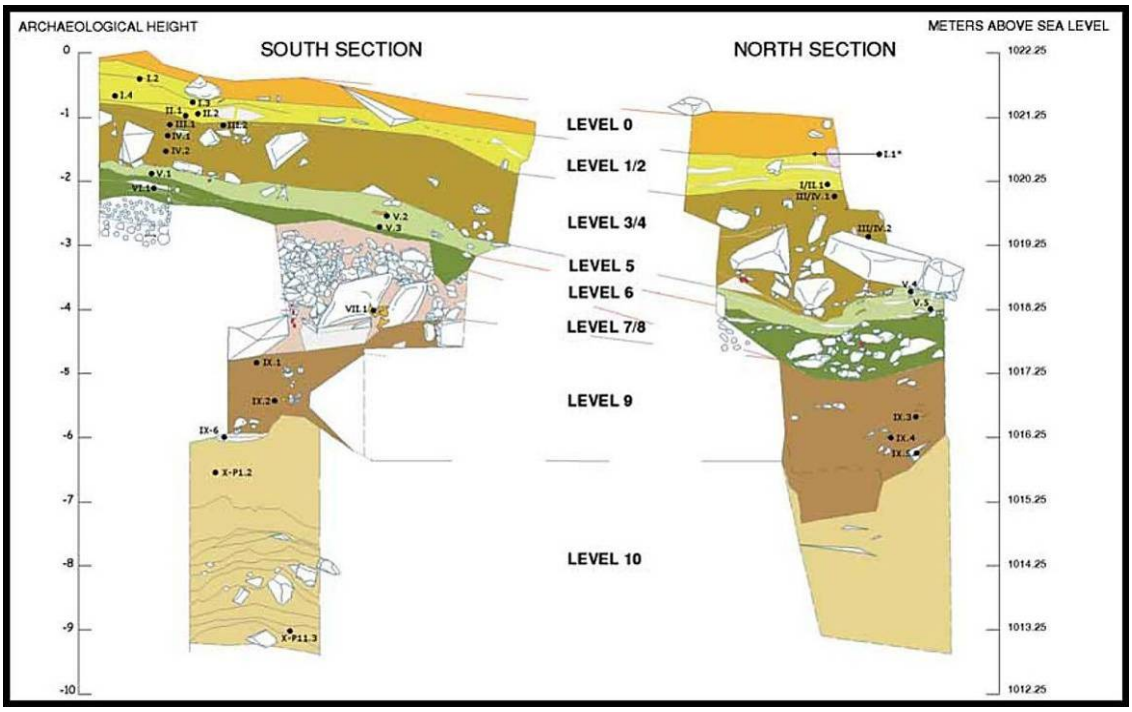


Figura 7.4.7.9*. Perfil estratigráfico de El Portalón.* Además, se detallan las zonas donde se realizaron los muestreos para los análisis de radiocarbono. (Figura tomada de Carretero *et al*. 2008).

7.4.7.2.2. Descripción de El Portalón

La entrada a El Portalón es una dolina de colapso situada en el nivel superior del sistema kárstico de Cueva Mayor – Cueva del Silo, que está constituido por la Galería del Sílex, El Portalón de entrada, el Salón del Coro y la Galería de las Estatuas. El Portalón es la continuación natural de la Galería del Sílex, y presenta una longitud proyectada de 50 m en sentido O – NO (Ortega, 2009).

7.4.7.2.3. Cronoestratigrafía de El Portalón

Como resultado de las campañas de excavación efectuadas desde el año 2000, se ha puesto al descubierto una secuencia estratigráfica de más de 10 metros de potencia, donde los niveles se diferencian en dos grandes unidades sedimentológicas principales. La unidad superior tiene cronología holocena y la unidad inferior tiene una cronología asociada al Pleistoceno superior (Carretero, *et al*., 2008; Ortega, 2009; Pérez Romero *et al*., 2010).

En la unidad holocena se han diferenciado hasta 10 niveles estratigráficos. Se caracteriza por presentar procesos de acumulación antrópica debida a una gran intensidad en el uso del entorno. En esta unidad se han determinado, de techo a muro, ocupaciones medievales, de

época romana, de la Edad del Hierro, Edad del Bronce, Calcolítico, y Neolítico (Juez, 2005; Carretero *et al*., 2008; Pérez Romero *et al*., 2010).

La unidad pleistocena constituye un conjunto homogéneo donde se han diferenciado hasta 12 subniveles (Carretero *et al*., 2008). Se caracteriza por presentar una sedimentación natural, con escasas evidencias de presencia humana (Pérez Romero *et al*., 2010).

A continuación, se detallan los aspectos principales de los 11 niveles estratigráficos (Ortega *et al.,* 2008; Carretero *et al.,* 2008; Ortega, 2009; Pérez Romero *et al.,* 2010) recientemente revisados en Pérez Romero *et al*. (2015). La Tabla 7.4.7.1 presenta información adicional sobre las dataciones que se ofrecen:

- ***Nivel 0****, Medieval*: Nivel de revuelto superficial. Se corresponde con una alteración irregular de los primeros 15 – 68 cm del techo de la secuencia. Está constituido por limos marrones con materia orgánica, carbones, cerámica a torno y restos de fauna. Se han detectado fases de ocupación asociadas a los siglos XI-XV, Edad Moderna y Edad Contemporánea.
- ***Nivel 1****, Romano*: Presenta un espesor máximo de 40 cm. Está constituido por clastos calizos, carbones dispersos y arcillas grises oscuras. Hay tres dataciones asociadas a este nivel: 1980 ± 40 BP, 2040 ± 100 BP y 2050 ± 40 BP.
- ***Nivel 2****, Hierro I*: Potencia máxima de 30 cm. Constituido por sedimentos de origen antrópico con abundantes cenizas y limos arcillosos oscuros con carbones. Se ha recuperado cerámica y restos de fauna. Hay dos dataciones asociadas a este nivel: 2510 ± 40 BP y 2490 ± 40 BP.
- ***Nivel 3****, Bronce medio*: Potencia máxima de 16 cm. Conjunto delgado de limos arcillo-arenosos de color oscuro. Se han recuperado abundantes restos de cerámica realizados a mano y restos de fauna. Dataciones asociadas a este nivel: 3330 ± 70 BP y 3560 ± 50 BP.
- ***Nivel 4*** *Bronce medio*: Presenta un paquete homogéneo de sedimentos limo - arcillo-arenosos con un espesor de entre 70 – 150 cm que incrementa su potencia hacia el interior de la cueva. Es un nivel rico en materia orgánica y carbones. En este nivel se han localizado grandes bloques procedentes del desplome de las paredes y del techo de la cueva. Se han documentado abundantes fragmentos de cerámica realizada a mano, restos de fauna, así como industria lítica y ósea. Las dataciones de este nivel comprenden una horquilla temporal desde 3490 ± 40 BP a 3680 ± 40 BP.

Tabla 7.4.7.1. ***Dataciones asociadas a los niveles estratigráficos de El Portalón*** . Información de Carretero *et al* . (2008). (1) Calibraciones a 2σ utilizando el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13. En azul se representan los resultados de calibración distribuidos en periodos históricos.

NIVEL	SECCIÓN	MUESTRA	MATERIAL	REFERENCIA DEL LABORATORIO	^{14}C BP CONVENCIONAL	^{14}C cal. BP (2σ) [1]	^{14}C cal. BC (2σ) [1]
1	Norte	I.1	Hueso	Beta-224081	1000 ± 40	976 - 796	975 - 1155 AD
	Sur	I.2	Carbón	Beta-212187	1980 ± 40	2037 - 1826	88 cal. BC. - 124 cal. AD.
	Sur	I.3	Carbón	Beta-153359	2040 ± 100	2312 - 1744	363 cal. aC. - 206 cal. AD.
	Sur	I.4	Carbón	Beta-161192	2050 ± 40	2123 - 1902	174 cal. aC. - 49 cal. AD.
1/2	Norte	I/II.1	Carbón	Beta-201763	2490 ± 40	2738 - 2380	789 - 431
2	Sur	II.1	Hueso	Beta-222335	2490 ± 40	2738 - 2380	789 - 431
	Sur	II.2	Carbón	Beta-197388	2510 ± 40	2745 - 2458	796 - 509
3	Sur	III.1	Sedimento orgánico	Beta-153360	3330 ± 70	3811 - 3395	1862 - 1446
	Sur	III.2	Hueso	Beta-222336	3560 ± 50	3979 - 3702	2030 - 1753
3/4	Norte	III/IV.1	Carbón	Beta-201761	3330 ± 60	3702 - 3405	1753 - 1456
	Norte	III/IV.2	Carbón	Beta-184840	3560 ± 40	3972 - 3721	2023 - 1772
4	Sur	IV.1	Carbón	Beta-212188	3490 ± 40	3867 - 3643	1918 - 1694
	Sur	IV.2	Carbón	Beta-153361	3680 ± 40	4145 - 3899	2196 - 1950
5	Sur	V.1	Carbón	Beta-153362	3630 ± 40	4083 - 3841	2134 - 1892
	Sur	V.2	Diente	Beta-224079	3670 ± 40	4144 - 3888	2195 - 1939
	Sur	V.3	Carbón	Beta-184843	3700 ± 70	4240 - 3850	2291 - 1901
	Norte	V.4	Carbón	Beta-184839	3740 ± 40	4234 - 3978	2285 - 2029
	Norte	V.5	Diente	Beta-184838	3760 ± 40	4242 - 3985	2293 - 2036
6	Sur	VI.1	Sedimento orgánico	Beta-153363	3910 ± 70	4525 - 4104	2576 - 2155
7/8	Sur	VIII.1	Diente	Beta-197389	4440 ± 50	5285 - 4874	3336 - 2925
9	Sur	IX.1	Carbón	Beta-184841	4990 ± 40	5890 - 5610	3941 - 3661
	Sur	IX.2	Carbón	Beta-184842	5230 ± 40	6177 - 5912	4228 - 3963
	Norte	IX.3	Carbón	Beta-201762	6070 ± 110	7240 - 6674	5291 - 4725
	Norte	IX.4	Hueso	Beta-222339	6100 ± 50	7159 - 6805	5210 - 4856
	Norte	IX.5	Carbón	Beta-197387	7790 ± 40	8637 - 8455	6688 - 6506
	Sur	IX.6	Sedimento orgánico	Beta-222340	6270 ± 40	7274 - 7025	5325 - 5076
10	Sur	X-P1.2	Hueso	Beta-209452	16980 ± 80	20713 - 20219	18764 - 18270
	Sur	X-P11.3	Hueso	Beta-212190	30300 ± 190	34687 - 33949	32738 - 32000

- ***Nivel 5*** *Bronce antiguo*: Presenta un espesor promedio de 35 cm. Constituido por limos arcillo-arenosos de tonos grisáceos con abundantes carbones y cenizas en su base. Se han recuperado de este nivel fragmentos de cerámica realizada a mano y restos de fauna. La excavación de J.M. Apellániz finalizó en este nivel, documentando cerámica campaniforme tipo Ciempozuelos. Las dataciones de este nivel comprenden una horquilla temporal desde 3630 ± 40 BP a 3760 ± 40 BP.
- ***Nivel 6*** *Calcolítico*: Presenta un espesor de 30 – 35 cm. Sedimentos limo-arcillo-arenosos de color grisáceo, de origen antrópico y con abundante materia orgánica. Se han recuperado abundantes restos de cerámica hecha a mano y restos de fauna. La excavación de G. Clark y L. Strauss finalizó en este nivel. Para este nivel se dispone de una datación de 3910 ± 70 BP.
- ***Nivel 7/8,*** *Calcolítico:* Interpretado como un túmulo funerario, con una potencia máxima de 200 cm en el perfil Sur, acuñándose hacia el Norte. Nivel de origen antrópico. Está constituido por cantos calizos angulosos y subangulosos (15 – 20 cm) sin matriz, que aumentan su tamaño hacia la base del nivel. En la base se han documentado grandes bloques, destacando dos lajas de ~70 cm de alto por 60 cm de ancho. Se han recuperado restos humanos, fauna y cerámica realizada a mano. En la base de este nivel se encontraron restos de una gran vasija decorada con perforaciones y dos caprinos en conexión anatómica, que se dataron arrojando una edad de 4440 ± 50 BP. Inicialmente se asoció este nivel a un uso sepulcral de la cavidad durante el Calcolítico, y esta hipótesis fue corroborada con nuevos descubrimientos. En la campaña de 2012 se descubrió el enterramiento de un niño 6-7 años de edad en conexión anatómica. La datación realizada sobre el individuo subadulto ha arrojado una fecha de 4350 ± 30 BP (Castilla *et al*., 2014).

  Un estudio reciente sobre el posible contexto funerario del nivel 7/8 ha confirmado el uso de El Portalón como cavidad sepulcral. Este estudio se ha acompañado de nuevas dataciones de radiocarbono, coherentes entre sí y con la información radiométrica previa disponible (Tabla 7.4.7.2) (Romero-Pérez *et al*., 2017).

- ***Nivel 9,*** *Neolítico*: Potencia promedio de 125 cm en el perfil Sur, que aumenta hacia el perfil Norte, alcanzando 170 cm. Constituye la base de la secuencia holocena. Capa homogénea de origen antrópico, constituida por un depósito arcillo-arenoso de tonos negruzcos.

En los perfiles de este nivel se ha documentado cerámica realizada a mano, restos de fauna, así como industria lítica y ósea. Las dataciones obtenidas corroboran la vinculación de estos materiales a cronologías neolíticas. El techo del perfil Sur ha arrojado una datación de 4990 ± 40 BP. En la mitad del perfil se ha obtenido otra de 5230 ± 40 BP y en la base otra de 6270 ± 40 BP. En el perfil Norte, la zona central ha ofrecido unas dataciones de 6070 ± 110 BP y 6100 ± 50 BP.

Por su parte, en la base del nivel 9 no se han encontrado restos de cerámica. En esta parte del nivel hay una datación que ha ofrecido un resultado de 7790 ± 40 BP.

- ***Nivel 9a***: Consiste en una pequeña capa de murcielaguina, con un espesor de 5 – 8 cm asociada a un sedimento areno-limoso, en principio estéril. Representa la transición entre el Holoceno (niveles 0 – 9) y el Pleistoceno (nivel 10).
- ***Nivel 10****, Pleistoceno superior*: Presenta una potencia de más de 360 cm. Es un depósito originado por sedimentación natural de coladas de clastos angulosos, mayores de 1 cm, con matriz arcillo-areno-limosa de tonos parduzcos y anaranjados. Se ha subdividido en 12 subniveles denominados P1 – P12. Se han recuperado restos de microfauna y algunos de macrofauna, junto a cuatro pequeñas lascas de sílex. Para el subnivel P1 hay una datación de 16.980 ± 80 BP y para el subnivel P11 otra de 30.300 ± 190 BP.

Durante la etapa actual de investigaciones en el yacimiento de El Portalón, se ha procedido a correlacionar la nueva secuencia estratigráfica con la información de las estratigrafías propuestas por G. Clark y L. Strauss, y J.M. Apellániz respectivamente (Pérez Romero *et al*., 2015) (Tabla 7.4.7.3). En este reanálisis, los niveles 3 y 4 están asociados a un intervalo cronológico comprendido por 3330 ± 70 BP (Beta-153360) y por 3560 ± 50 BP (Beta 222336), sin considerar la datación 3680 ± 40 BP (Beta-153361) característica de la base del nivel 4.

Tabla 7.4.7.2. ***Nuevas dataciones de carbono 14 del nivel 7/8, asociadas al contexto calcolítico de El Portalón***. Información de Pérez Romero *et al*. (2017). (1) Calibraciones a 2σ utilizando el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13.

MUESTRA	TAXÓN	CONTEXTO CULTURAL	REFERENCIA DEL LABORATORIO	^{14}C BP CONVENCIONAL	^{14}C cal. BP (2σ) [1]	^{14}C cal. BC (2σ) [1]
Hueso de fauna	*Bos* sp.	Calcolítico Precampaniforme	Beta-337299	4380 ± 30	5039 - 4862	3090 - 2913
Hueso humano	*Homo sapiens*	Calcolítico Precampaniforme	Beta-337300	4350 ± 30	5030 - 4850	3081 - 2901
Cereal	Sin información	Calcolítico Campaniforme	Beta-347579	4230 ± 30	4857 - 4649	2908 - 2700
Cereal	Sin información	Calcolítico Campaniforme	Beta-347580	4280 ± 30	4957 - 4821	3008 - 2872

Tabla Portalón 7.4.7.3. ***Correspondencia entre los diferentes niveles definidos en las tres principales intervenciones arqueológicas de El Portalón*** (Modificada de Pérez Romero *et al*., 2015).

PERÍODOS CULTURALES	INTERVENCIONES ARQUEOLÓGICAS				
	CLARK (1970)	APELLÁNIZ (1973-1983)			EIA (2000 - actualidad)
	Nivel	Nivel	Lecho	Sector	Nivel
Época histórica	1-7	I		S.I	0/1
			A, B, C, D y F	S.II	
		II	1-9	S.I	
				S.II	
Protohistoria					2
Bronce Final	8-16	III	1-38	S.I	
			1-30	S.II	
Bronce Medio	17-18		39-74	S.I	3/4
			31-69	S.II	
Bronce Antiguo	19-20		75-115	S.I	5
			70-81	S.II	
Calcolítico	21-26		82-83	S.II	6/7/8
Neolítico					9
Pleistoceno superior					10

7.4.7.3. El estudio de la fauna de El Portalón

Como resultado de las excavaciones de J.M. Apellániz se dispone de una publicación general de la fauna de El Portalón (Castaños, 2005b). Además, a partir de los materiales rescatados en las nuevas campañas de excavación realizadas desde el año 2000, se ha elaborado una tesis doctoral. En esta tesis doctoral se ha estudiado la fauna de las excavaciones de J.M. Apellániz y su asociación con la fauna, principalmente calcolítica, recuperada en contexto estratigráfico de las campañas de campo 2007 – 2010 (Galindo-

Pellicena, 2014a). Además, se han publicado resultados relativos a varios taxones, como el patrón de consumo de caprinos durante el Calcolítico y la Edad del Bronce (Galindo-Pellicena *et al.*, 2014b), documentación de lesiones y patologías que evidencian la utilización del ganado vacuno como animales de carga y tiro durante el Calcolítico (Galindo-Pellicena *et al.*, 2017a), o un estudio sobre el patrón de utilización de los caballos de los niveles del Bronce inicial y el Bronce medio (Galindo-Pellicena *et al.*, 2017b). También es posible encontrar en otras publicaciones recientes, la asociación de la fauna a temáticas concretas, como el análisis faunístico asociado al contexto funerario del nivel 7/8 calcolítico, y estudios sobre la industria ósea de los niveles de la Edad del Bronce (Romero-Pérez *et al*., 2015a; Romero-Pérez *et al*., 2015b). La Tabla 7.4.7.4 ofrece las frecuencias de los taxones asociados a la Edad del Bronce. Estos datos se han obtenido a partir de la identificación taxonómica de 2380 restos faunísticos publicados en Pérez Romero *et al*. (2015).

Tabla Portalón 7.4.7.4, *Taxones identificados en los niveles de la Edad del Bronce de El Portalón* (Pérez Romero, A., *et al*., 2015).

	% en Bronce antiguo	**% en Bronce medio**
Ovicaprinos	32,37	32,46
Bos taurus	27,28	35,74
Sus domesticus	10,09	7,54
Equus sp.	20,65	14,21
Canis familiaris	3,17	6,99
Cervus elaphus	1,06	2,19
Capreolus capreolus	0,19	0,22
Lepóridos	4,51	0,55
Sus scrofa	0,3	Ausente
Vulpes vulpes	0,4	Ausente

El estudio de la fauna de El Portalón de Cueva Mayor de Castaños (2005b) se llevó a cabo sobre 4207 restos identificables, que pertenecían a un total de 16 especies de mamíferos diferentes. Además, se identificaron 93 restos de distintas especies de aves. El material del

estudio se había recuperado de los niveles definidos por J.M. Apellániz como Bronce inicial, Bronce medio y Bronce final, Romano y nivel de revuelto. El estudio de la fauna se centró en los niveles de la Edad del Bronce, debido a que la mayor cantidad de los restos se recuperaron en dichos niveles (Castaños, 2005b). Con los nuevos trabajos de excavación, estos niveles se han redefinido como Bronce antiguo y Bronce medio (Carretero *et al*., 2008; Ortega, 2009; Pérez Romero *et al*., 2010; Alday *et al*., 2011).

Los mamíferos identificados en este yacimiento corresponden a animales domésticos, seguidos de taxones salvajes. Los animales domésticos identificados son los siguientes: perro, ganado vacuno, caprinos, ganado porcino y, posiblemente, equino (Castaños, 2005b; Galindo-Pellicena, 2014a). De éstas especies, la muestra equina junto al ganado bovino y el ovicaprino son los grupos más representados para los distintos niveles de la Edad del Bronce. En concreto, los équidos son el taxón que más número de restos (NR) ha proporcionado para el nivel del Bronce medio de las excavaciones de J.M. Apellániz (actuales niveles 3 y 4 de las nuevas excavaciones, Tabla 7.4.7.3). Esta gran cantidad de restos de caballo de las excavaciones realizadas por J.M. Apellaniz ($NR_{Bronce\ inicial}$ = 64; $NR_{Bronce\ medio}$ = 645; $NR_{Bronce\ final}$ = 91) ha convertido a El Portalón en un yacimiento singular. Los équidos de las excavaciones de J.M. Apellániz se convirtieron en el único caso publicado para el Bronce medio de la península ibérica donde el caballo era la especie más abundante (Castaños, 2005b).

En el estudio de los materiales de las excavaciones de J.M. Apellaniz, Castaños (2005b) destacó que el caballo estaba representado en El Portalón por 847 restos, donde 800 se habían recuperado en los distintos niveles de la Edad del Bronce. Uno de los principales estudios realizados sobre estos restos de caballo consistió en comprobar si correspondían a animales ya domesticados o si, por el contrario, pertenecían a ejemplares capturados en estado salvaje. Con este fin se analizó el porcentaje de restos con respecto a otras especies recuperadas en el yacimiento, las edades de muerte de los individuos y los patrones de fracturación (Castaños, 2005b). El NR alcanzó unos valores tan altos que sólo eran comparable al de los caprinos y al del ganado vacuno, especies consideradas domésticas. Además, a partir de los restos de équidos se realizó la estimación de la edad en 11 ejemplares, comprobando que murieron sin haber alcanzado el estado adulto. De hecho, la mitad murió antes de los 4 años de edad. En otros yacimientos de la misma época se ha comprobado que no se repite este patrón, siendo los individuos adultos los más abundantes. Por este motivo, se atribuyó un aprovechamiento de carácter mixto a los équidos de El Portalón (Castaños, 2005b).

En cuanto al estado de los restos, se observó un alto grado de fracturación y se asoció al posible uso del ganado caballar como fuente de proteínas. El patrón de descuartizamiento era similar al del ganado vacuno y al de los caprinos. El análisis de los 11 ejemplares anteriormente mencionados concluyó que al menos nueve se habían utilizado como fuente de carne (Castaños, 2005b).

Debido al alto grado de fracturación de los huesos no se pudo inferir la altura en la cruz de ningún ejemplar. No obstante, los datos biométricos ofrecieron unas medidas menores a las de los équidos pleistocenos. La reducción de la talla es una característica que se ha asociado a las especies que están empezando a ser sometidas a presión de selección artificial. Y, aunque los caracteres biométricos que presentaban los équidos de El Portalón podrían ser interpretados como resultado de una domesticación incipiente, se comprobó que una reducción de talla similar había ocurrido en otras especies que siempre se han mantenido salvajes, como el caso del ciervo (Castaños, 2005b).

En este estudio no se encontraron evidencias directas e inequívocas de caballos domésticos en la fauna de la Edad del Bronce de El Portalón. De acuerdo a los resultados obtenidos, se interpretó que la cabaña equina del yacimiento de El Portalón estaba ya controlada de alguna manera por los grupos humanos que habitaron El Portalón durante la Edad del Bronce (Castaños, 2005b).

Recientemente se ha vuelto a analizar bajo criterios taxonómicos, zooarqueológicos y tafonómicos el papel que jugaron los caballos en la economía de subsistencia de las sociedades de la Edad del Bronce del norte de la península ibérica (Galindo-Pellicena *et al.*, 2017b). Entre otras características, se analizó la posible presencia en el yacimiento de diferentes taxones de équidos, confirmando al caballo como único taxón de équido presente en los niveles de la Edad del Bronce del yacimiento, y descartando de este modo la presencia de *Equus asinus* o de *Equus hydruntinus*. Además, se destacó que El Portalón es uno de los pocos yacimientos ibéricos que presenta una proporción significativamente alta de caballos tanto en el Bronce inicial como en el Bronce medio (Galindo-Pellicena *et al.*, 2017b). En relación a los restos de caballo, la muestra faunística analizada comprendió 162 restos asociados al Bronce inicial y 98 restos asociados al Bronce medio, todos recuperados durante las excavaciones de J.M. Apellaniz. Entre los restos del Bronce inicial se diferenciaron, como mínimo a seis individuos, mientras que entre los restos del Bronce medio se diferenciaron como mínimo a cuatro ejemplares. Según el NMI el caballo es el segundo taxón mejor representado tanto para los niveles del Bronce inicial y como del Bronce medio (Galindo-Pellicena *et al.*, 2017b).

Los análisis tafonómicos pusieron de manifiesto que los restos del Bronce inicial y del Bronce medio están asociados a un proceso de fracturación intensa. Las marcas de corte, las señales de alteración térmica y los daños producidos por percusión indican un procesamiento antrópico (Galindo-Pellicena *et al.*, 2017b).

Cuando se comparó la muestra de El Portalón con otros yacimientos ibéricos coetáneos, se destacó la alta frecuencia de restos encontrados así como el perfil de mortalidad de los caballos consumidos, remarcando la exclusividad de los niveles de la Edad del Bronce de El Portalón. La razón principal descansa en que en otros yacimientos con cronologías similares, los caballos suelen consumirse solo después de haberse explotado previamente en otros ámbitos, mientras que en El Portalón el consumo está centrado en individuos menores de cuatro años (Galindo-Pellicena *et al.*, 2017b).

Se ha propuesto de manera tentativa que estos restos pertenecen a animales domésticos. A esta conclusión se ha llegado basándose en las medidas de un metacarpo III completo recuperado de niveles del Bronce inicial, y que se asocia más con poblaciones domésticas que con salvajes. Además, también se ha propuesto este posible estatus doméstico para estos caballos a partir de criterios indirectos como el aumento de la frecuencia de los restos de équidos desde el Calcolítico a la Edad del Bronce, y un perfil de mortalidad que está orientado hacia potros e individuos inmaduros, con la mayoría de individuos sacrificados con menos de 4 años de edad, en consonancia con lo publicado por Castaños (2005b). Además, se ha documentado la presencia de dos machos y una hembra. No obstante, ante la carencia de evidencias sólidas para confirmar el carácter doméstico de esta población, se ha optado por denominarla *Equus* sp. gr. *Equus caballus*/*Equus ferus* (Galido-Pellicena *et al.*, 2017b).

Por otro lado, el estudio reciente del contexto funerario calcolítico precampaniforme del nivel 7/8 (Romero-Pérez *et al*., 2015a), ha puesto de manifiesto que el grupo humano que ocupó la cueva estuvo utilizando la cavidad con fines funerarios durante casi 200 años. Se han identificado hasta ocho individuos humanos de ambos sexos y de distintas edades. Uno de ellos es un individuo infantil recuperado en conexión anatómica en un enterramiento primario (Castilla *et al*., 2014), mientras que los otros siete individuos se han recuperado en enterramientos secundarios. Estos restos se han caracterizado por aparecer parcialmente articulados y por presentar diferentes grados de conservación (Pérez Romero *et al*., 2017). En este contexto se han recuperado numerosos restos de fauna, esqueletos completos, parciales y restos aislados que se han interpretado como ofrendas. Además, estos animales se han recuperado junto a cerámicas y otros elementos de ajuar. En el espectro faunístico de este

contexto han destacado bovinos y caprinos inmaduros, junto a restos de cerdo (*Sus domesticus*), perro (*Canis familiaris*) y caballo (*Equus* sp.). De estos taxones, el caballo es el menos representado en este contexto funerario (Pérez Romero *et al*., 2017).

Los análisis de la fauna publicados en el contexto de la industria ósea de la Edad del Bronce (Pérez Romero *et al*., 2015), han puesto de manifiesto que el grupo humano que habitó la cueva durante esta etapa elaboró herramientas y objetos de adorno utilizando materias primas a partir taxones domésticos y salvajes. Para la elaboración de esta industria se utilizaron como materias primas de origen animal huesos, astas, piezas dentales y malacofauna. Se ha observado un leve predominio de las especies domésticas frente a los taxones salvajes. Los huesos más frecuentemente utilizados fueron los de caprinos y, en frecuencias más bajas, huesos de bovinos, équidos y cérvidos. Se ha sugerido una correlación entre el porcentaje de especies de animales del espectro faunístico y el origen de los soportes (Pérez Romero *et al*., 2015).

Durante la nueva etapa de investigación sobre los materiales de El Portalón también se han llevado a cabo estudios de ADN sobre restos faunísticos, con la finalidad de profundizar en los procesos de domesticación de algunos taxones.

Por una lado, se ha estudiado el ADN mitocondrial de un conjunto de 13 muestras de *Bos* sp. de la Edad del Bronce recuperados durante las primeras campañas de excavación del EIA (Anderung, *et al*., 2005). Se identificaron cuatro haplogrupos, uno asociado a uros y los otros tres característicos de ganado doméstico taurino. Entre estos haplogrupos taurinos se identificó a un individuo perteneciente al haplogrupo T1. Este haplogrupo es característico de poblaciones norteafricanas y, generalmente, se había propuesto que su presencia en la península ibérica se debía a movimientos migratorios durante la Edad Media, con motivo de la dominación musulmana en Al-Andalus. La identificación de este haplogrupo en un individuo de El Portalón, datado por radiocarbono en ~1800 años cal. aC., permitió sugerir contactos poblacionales entre ambos lados del estrecho de Gibraltar en momentos muy anteriores, por lo menos desde la Edad del Bronce (Anderung *et al*., 2005). Recientemente se han publicado análisis genéticos de ganado vacuno neolítico del poblado de la Draga (Girona) donde se han documentado individuos pertenecientes al haplogrupo T1 (Colominas *et al*., 2015). Es probable que la presencia del haplogrupo T1 en Iberia se deba a la introducción de animales domésticos durante el Neolítico, o a que los uros ibéricos pudieran pertenecer a este haplogrupo. De confirmarse esta hipótesis, el área de distribución natural de los uros con haplogrupo T1 se extendería desde Próximo Oriente hasta la península ibérica.

El caballo es el otro taxón sobre el que se han realizado análisis genéticos (Lira *et al*., 2010). Los resultados que se obtuvieron de esta investigación ya se comentaron en el Capítulo 6*,* en el apartado que trataba los estudios sobre la domesticación del caballo en la península ibérica a partir del ADN mitocondrial antiguo.

7.4.7.4. Muestras de El Portalón seleccionadas para esta investigación

Se seleccionaron 54 muestras de équidos: nueve de las excavaciones de J.M. Apellániz entre 1973 – 1983 y 45 de las excavaciones del EIA. A su vez, 13 de estas últimas muestras pertenecían a las primeras campañas de excavación de 2001 – 2002. Las restantes 32 muestras se recuperaron entre los años 2006 – 2011 (Tabla 7.4.7.5; Tabla 7.4.7.6; Tabla 7.4.7.7).

Durante el proceso de extracción de ADN se han utilizado 10 muestras de bovinos como controles negativos (Tabla 7.4.7.8). Además, cuatro muestras se sometieron a amplificaciones de PCR utilizando cebadores específicos de *Bos taurus* para la región del ADN mitocondrial comprendida entre las posiciones 16.022 – 16.334 utilizando dos parejas de cebadores: 16.022F – 16.178R y 16.159F – 16.334R, (Anderung *et al*., 2005; Bollongino *et al*., 2006) (Tabla 7.1.6).

De manera simultánea a nuestros análisis genéticos, otros compañeros del EIA estaban trabajando en la elaboración de la columna estratigráfica de El Portalón (Juez, 2005; Carretero *et al*., 2008; Ortega, 2008, Pérez Romero *et al*., 2015). En esta columna además, estaban integrando los lechos definidos por J.M. Apellániz durante sus excavaciones (Pérez Romero *et al*., 2015). Gracias a este trabajo hemos podido correlacionar la información de los lechos donde se encontraron las muestras que analizamos, y los resultados se presentan en la Tabla 7.4.7.6.

Tabla 7.4.7.5. ***Relación de muestras de las campañas de J.M. Apellániz y del EIA (campañas 2001 – 2002) seleccionadas para análisis genéticos*** **.** (1) Determinaciones taxonómicas y anatómicas realizadas por J. Lira.

YACIMIENTO	CAMPAÑA	EQUIPO	SIGLA	LOCALIZACIÓN/NIVELES APELLÁNIZ		TAXÓN	DETERMINACIÓN ANATÓMICA [1]	NºLAB
El Portalón (Burgos)	2002	EIA	ATP02 Exc W N43 T1 29	Descontextualizado		*Equus* sp.	P3/P4 superior derecho	ATA01
			ATP02 Exc W II 1963			*Equus* sp.	M2 inferior derecho	ATA02
	2001		ATP01 Exc W II			*Equus* sp.	M3 superior izquierdo	ATA03
	2002		ATP02 Exc W perfil N 228			*Equus* sp.	Fragmento de diente	ATA04
	2001		ATP01 Exc W II Techo			*Equus* sp.	P4/M1 superior derecho	ATA05
			ATP01 Exc W I			*Equus* sp.	dP2 superior izquierdo	ATA06
			ATP01 Exc W II			*Equus* sp.	Diente yugal inferior derecho	ATA07
			ATP01 Exc W II Techo			*Equus* sp.	P4 superior izquierdo	ATA08
	2001		ATP01 Exc W II			*Equus* sp.	M3 superior izquierdo	ATA09
	2002		ATP02 Exc W II 1964			*Equus* sp.	M1/M2 superior derecho	ATA10
	1983	Apellániz	CMI –B2 96 1	Sector I	Bronce antiguo	*Equus* sp.	P4 superior derecho	ATA11
			CMI –A10-72 14	Sector II		*Equus* sp.	dP2 inferior izquierdo con fragmento mandibular	ATA12
			CMI –Z8-60 2	Sector II	Bronce medio	*Equus* sp.	P2 inferior izquierdo	ATA13
			CMI-A10-72 1	Sector II	Bronce antiguo	*Equus* sp.	P3/P4 superior derecho	ATA14
			CMI-B6-72 15	Sector II		*Equus* sp.	Fragmento de hemimandíbula con dP3 inferior derecho y P2 no erupcionado	ATA15
			CMI D2 248/2062	Sector I		*Equus* sp.	P3/P4 superior derecho	ATA16
			CMI D2 243/2067	Sector I		*Equus* sp.	Fragmento de hemimandíbula con M2 y M3 inferior derecho	ATA17
			CMI A8 70	Sector II		*Equus* sp.	dP2 inferior derecho	ATA18
			CMI-Z8-73 4	Sector II		*Equus* sp.	Fragmento distal de Metápodo III	ATA19
	2001	EIA	ATP01 Exc W II	Descontextualizado		*Equus* sp.	M1/M2 superior izquierdo	ATA20
			ATP01 Exc W I			*Equus* sp.	Diente yugal superior derecho	ATA 21
	2002		ATP02 Limpieza General 40			*Equus* sp.	M1 superior derecho	ATA22

7.4.7.5. El análisis de radiocarbono sobre la fauna de El Portalón

El estudio de estos restos faunísticos se complementó con pruebas de radiocarbono sobre 15 muestras de la Tabla 7.4.7.5. Por un lado, se dataron las 13 muestras procedentes de las campañas de excavación 2001 – 2002, que se habían recuperado en el área denominada excavación Oeste y que habían ofrecido resultados genéticos positivos. Como en la zona Oeste se documentó un área de excavación no controlada que había dejado alterados los niveles estratigráficos, esta fue la razón para que se efectuaran análisis de radiocarbono sobre esas muestras. Además, y para correlacionar los niveles estratigráficos de las excavaciones de J.M. Apellániz con la información que estaba generando el EIA, también se realizaron análisis de radiocarbono sobre otras dos muestras procedentes de las excavaciones de J.M. Apellániz.

El análisis de todas las muestras se llevó a cabo en los laboratorios de Beta Analytic Inc., Miami, Florida, USA.

Tabla 7.4.7.6. Muestras analizadas de El Portalón de las campañas 2006 - 2011 que han ofrecido resultados positivos. (1) Determinación taxonómica y anatómica realizada por M.A. Galindo Pellicena y por J.Lira. (2) Datación directa de la muestra. (3) Datación sobre industria ósea procedentes de la Unidad Estratigráfica (UE) 4 de este nivel. (4) Muestra estratigráficamente situada entre estas dataciones. (5) Datación realizada sobre restos de cereales situados bajo la muestra, en el mismo nivel. (6) Calibrado a 2σ con el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13.

YACIMIENTO	CAMPAÑA	SIGLA	TAXÓN	DETERMINACIÓN ANATÓMICA [1]	NºLAB	ASOCIACIÓN CULTURAL (EIA)	NIVEL ESTRATIGRÁFICO (EIA)	^{14}C BP CONVENCIONAL	^{14}C cal. BP. (2σ) [6]	^{14}C cal. BC. (2σ) [6]
El Portalón (Burgos)	2006	ATP'06-8-N5	*Equus* sp.	Metacarpo III derecho fusionado	**ATA23**	Bronce Antiguo	5	(Beta-224079) 3670 ± 40 [2]	4144 - 3888	2195 - 1939
	2007	ATP'07 M45 UE4 94	*Equus* sp.	Astrágalo derecho	**ATA24**	Calcolítico Final - Campaniforme	6	(Beta-269494) 3900 ± 40 [3]	4430 - 4161	2481 - 2212
		ATP'07 M46 11	*Equus* sp.	Fragmento proximal de fíbula derecha	**ATA25**					
		ATP'07 M46 UE4 60	*Equus* sp.	Navicular	**ATA26**					
		ATP'07 M47 T2 38	*Equus* sp.	P2 inferior derecho	**ATA27**					
		ATP'07 N45 UE4 102	*Equus* sp.	Epífisis distal fusionada de húmero derecho	**ATA28**					
		ATP'07 N46 UE4 119	*Equus* sp.	Navicular	**ATA29**					
		ATP'07 N46 UE4 157	*Equus* sp.	Costilla derecha casi completa	**ATA30**					
		ATP'07 O45 UE4 54	*Equus* sp.	Gran sesamoideo	**ATA35**					
		ATP'07 M45 UE4 145	*Equus* sp.	Vértebra caudal	**ATA36**					
		ATP'07 N45 UE4 98	*Equus* sp.	Fragmento de costilla izquierda	**ATA37**					
		ATP'07 O45 UE16 110	*Equus* sp.	Epífisis distal sin fusionar de tibia izquierda	**ATA38**					
	2008	ATP'08 N46 UE4 8	*Equus* sp.	Epífisis proximal sin fusionar de Falange 1	**ATA39**					
		ATP'08 O46 UE9 21	*Equus* sp.	Falange 2 sin fusionar	**ATA40**					
		ATP'08 N7 UE21 F67	*Equus* sp.	dI2 Superior izquierdo	**ATA41**	Calcolítico Precampaniforme	7	(Beta-347579) 4230 ± 30 [5]	4857 - 4649	2908 - 2700
	2009	ATP'09 N-O47 UE4 F159	*Equus* sp.	Fragmento dorsal de costilla (cabeza)	**ATA42**	Calcolítico Final - Campaniforme	6	(Beta-269494) 3900 ± 40 [3]	4430 - 4161	2481 - 2212
		ATP'09 415	*Equus* sp.	Fragmento de fíbula derecha	**ATA43**					
		ATP'09 420	*Equus* sp.	Calcáneo derecho fusionado	**ATA44**	Calcolítico Precampaniforme	6	(Beta-269494) 3900 ± 40; (Beta-347579) 4230 ± 30 [4]	4430 - 4161; 4857 - 4649	2481 - 2212; 2908 - 2700
	2011	ATP'11 UE Silo 240	*Equus* sp.	Falange 1 sin fusionar	**ATA45**		7	(Beta-347579) 4230 ± 30; (Beta-347580) 4280 ± 30 [4]	4857 - 4649; 4957 - 4821	2908 - 2700; 3008 - 2872
		ATP'11 UE23 249	*Equus* sp.	Fragmento dorsal de costilla izquierda	**ATA46**					
		ATP'11 372	*Equus* sp.	Calcáneo derecho sin fusionar	**ATA47**					
		ATP'11 UE61 658	*Equus* sp.	Gran cuneiforme derecho	**ATA48**					

Tabla 7.4.7.7. Muestras de El Portalón de las campañas 2008 - 2011 que no han ofrecido ADN. (1) Determinación anatómica y taxonómica realizada por M.A. Galindo Pellicena.

YACIMIENTO	CAMPAÑA	TAXÓN	SIGLA	DETERMINACIÓN ANATÓMICA [1]
El Portalón (Burgos)	2008	*Equus* sp.	ATP'08 O45 UE16 38	Falange segunda
		Equus sp.	ATP'08 M46 UE4 F29	Fragmento de húmero
		Equus sp.	ATP'08 O46 UE16 70	Fragmento proximal de costilla
		Equus sp.	ATP'08 UE23 126	Fragmento de diáfisis de tibia
		Equus sp.	ATP'08 UE20 N7 F117	Fragmento de diente yugal inferior
	2009	*Equus* sp.	ATP'09 241	Fragmento de costilla
	2010	*Equus* sp.	ATP'10 UE26 257	Fragmento de diente yugal superior
	2011	*Equus* sp.	ATP'11 UE23-A 116	Diente yugal inferior
		Equus sp.	ATP'11 762	Fragmento de epífisis proximal de húmero izquierdo
		Equus sp.	ATP'11 UE23-A 832	Diente yugal inferior

Tabla Portalón 7.4.7.8. Muestras de El Portalon utilizadas como controles negativos en los análisis genéticos. (1) Determinación taxonómica y anatómica realizada por M.A. Galindo Pellicena y J. Lira.

YACIMIENTO	CAMPAÑA	TAXÓN	SIGLA	DESCRIPCIÓN [1]	NºLAB
El Portalón (Burgos)	2001	*Bos* sp.	ATP'01 Exc WI	P2/P3 superior derecho	P-5
	1983	*Bos* sp.	CMI C2 76 1	P4 superior izquierdo	B11
	1983	*Bos* sp.	CMI C4 69 3	M3 inferior derecho	B12
	2007	*Bos* sp.	ATP'07 124	Epífisis proximal de metatarso derecho	ATA33
	2007	*Bos* sp.	ATP'07 41	Fragmento de coxal	ATA34
	2011	*Bos* sp.	ATP'11 167	Falange 1	14 EL 26
	2011	*Bos* sp.	ATP'11 809	Vértebra	14 EL 27
	2011	*Bos* sp.	ATP'11 898	Axis	14 EL 28
	2011	*Bos* sp.	ATP'11 853	Vértebra	14 EL 29
	2011	*Bos* sp.	ATP'11 862	Atlas	14 EL 30

7.4.7.6. El proceso de extracción de ADN de la fauna de El Portalón.

7.4.7.6.1 Extracción de ADN

De estos restos faunísticos se han obtenido entre 2 – 6 muestras diferentes por resto. Las extracciones se hicieron en diversos conjuntos de 6 – 7 muestras de équidos. Cada muestra se acompañó de una muestra de *Bos* sp. y además una muestra de ddH_2O.

La extracción de ADN se llevó a cabo utilizando el protocolo de extracción número 1. Sobre las muestras ATA01 – ATA22 se llevó a cabo, además, el protocolo de extracción de ADN número 2.

7.4.7.6.2. Amplificación de ADN

Sobre los extractos de ADN se han amplificado las parejas de cebadores 15.425F – 15.625R (región 1), 15.546F – 15.708R y 15.537F – 15.728R (región 2) y 15668F – 15862R (región 3) (Tabla 7.1.2; Figura 7.1.4). A su vez, sobre los extractos de ADN se han realizado entre 2 y 9 amplificaciones diferentes.

7.4.8. El yacimiento de Jarama VI (Valdesotos, Guadalajara)

7.4.8.1. Localización del yacimiento

El yacimiento de Jarama VI forma parte de un conjunto de yacimientos localizados en el Alto Valle del Jarama, término municipal de Valdesotos, en el borde noroccidental de la provincia de Guadalajara (Castilla-La Mancha) (Figura 7.4.8.1) (Adán *et al*., 1995). Sus coordenadas son 40° 56' 50,56'' latitud N y 3° 19' 1,06'' longitud O (Wood *et al*., 2013). Desde una perspectiva geográfica, esta zona se encuentra en la vertiente meridional del extremo oriental del Sistema Central (Jordá Pardo, 2001).



Figura 7.4.8.1. ***Localización geográfica del yacimiento de Jarama VI en la península ibérica.***

Este abrigo rocoso es el resultado de los fenómenos de karstificación sufridos por las dolomías, calizas dolomíticas y calizas del Cretácico superior (Santoniense) situadas en el Alto Valle del Jarama, entre las localidades de Puebla de Vallés y Retiendas. Este sistema kárstico ha sido atravesado por el río Jarama y, como resultado, se ha originado un cañón que presenta en sus laderas numerosas cuevas y abrigos rocosos, testigos de las diferentes etapas del desarrollo kárstico y del encajamiento fluvial. Algunas de estas cavidades contienen en sus depósitos registro arqueopaleontológico, como en el caso de Jarama I, Jarama II y Jarama VI (Adán *et al*., 1995; Jordá Pardo, 2001).

7.4.8.2. Historia de las excavaciones de Jarama VI

La historia de las excavaciones de Jarama VI se engloba dentro del desarrollo de las campañas de prospección y excavación de los yacimientos del Alto Valle del Jarama (Valdesotos, Guadalajara) (Adán *et al*., 1995). Los trabajos de investigación en esta zona se

iniciaron de la mano del profesor F. Jordá Cerdá en 1983, cuando se descubrieron los yacimientos de Jarama I y Jarama II (Jordá Pardo *et al*., 2014). Posteriormente en 1988, y dentro del proyecto de prospecciones del Alto Valle del Jarama, se descubriría Jarama VI. El yacimiento de Jarama VI se excavó bajo la dirección de los profesores J.F. Jordá Pardo y M.A. García durante cinco campañas entre 1989 – 1993 (Adán *et al*., 1995).



Figura 7.4.8.2. ***Aspecto del sistema kárstico donde se encuentra localizado el yacimiento de Jarama VI.*** El abrigo de Jarama VI se localiza en el centro de la imagen (Foto: J. Jordá Pardo).

7.4.8.3. Descripción de Jarama VI

El yacimiento de Jarama VI está localizado en un abrigo rocoso situado en la margen izquierda del río Jarama (Jordá Pardo, 2001), a 22 m sobre el río y 822 metros sobre el nivel del mar (msnm) (Jordá Pardo, 2007). La abertura del abrigo rocoso está orientada hacia el norte (Figura 7.4.8.2) (Jordá Pardo, 2001).



Figura 7.4.8.3. ***Aspecto general de la entrada al yacimiento de Jarama VI*** (Foto: J. Jordá Pardo).

Jarama VI se encuentra parcialmente colmatada de sedimentos (Figura 7.4.8.3). Fruto de las labores de excavación, se realizó una intervención en un área de 16 m^2 (Wood *et al*., 2013). Se ha diferenciado una secuencia litoestratigráfica con cinco niveles diferentes que descansan sobre la roca del sustrato. Estos niveles se han denominado de muro a techo del siguiente

modo: Unidad JVI.4, Unidad JVI.3, Unidad JVI.2, Unidad JVI.1, Unidad JVI.K (Jordá Pardo, 2001; 2007; Lorenzo *et al*., 2012; Jordá Pardo *et al*., 2014) (Figura 7.4.8.4, Figura 7.4.8.5):

- La **unidad JVI.4**, con una potencia comprendida entre 10 - 15 cm, está constituida por arenas carbonatadas originadas por la alteración de la roca del sustrato. Es un nivel estéril en materiales arqueopaleontológicos.
- La **unidad JVI.3**, con una potencia comprendida entre 5 – 60 cm, está constituida mayoritariamente por clastos de caliza autóctona con gravas de pizarra y cantos rodados de cuarcita y pizarra. Su origen se ha asociado a procesos de gelifracción del techo de la cavidad. Es un nivel rico en materiales arqueológicos y restos paleontológicos.
- La **unidad JVI.2**, con una potencia comprendida entre 10 – 160 cm, está compuesta de arenas y lutitas de origen fluvial y está estructurada, a su vez, en tres subunidades. La subunidad inferior (JVI.2.3) se ha relacionado con una facies de desbordamiento, donde predominan arenas con alternancia de lutitas. Este tramo es estéril. La subunidad intermedia JVI.2.2 consiste en un depósito de llanura de inundación con limos y arcillas. En esta subunidad se ha identificado una pequeña hoguera con restos arqueopaleontológicos. La subunidad superior (JVI.2.1) se ha identificado hacia el interior del abrigo. Esta subunidad está constituida por arenas lutíticas que presentan intercalaciones de clastos y materiales arqueopaleontológicos. Además, en el nivel 2 se han detectado materiales arqueológicos intrusivos del nivel 1, originados por actividad biológica postdeposicional.
- La **unidad JVI.1** descansa sobre el nivel 2 formando un hiato estratigráfico debido a un evento erosivo. El nivel 1 presenta una potencia comprendida entre 20 – 50 cm. Está formado por arenas rojizas y limos con cantos de caliza autóctonos, junto a gravas de pizarra de morfología planar. Se ha sugerido para estos materiales un origen dual. Algunos materiales se habrían originado por procesos de gelifracción del techo, mientras que otros tienen un origen en una arroyada difusa de materiales finos. En este nivel se ha recuperado una abundante cantidad de materiales arqueopaleontológicos.
- La **unidad JVI.K** es una brecha y un espeleotema, con un origen en la precipitación química de carbonatos en un momento templado y húmedo.

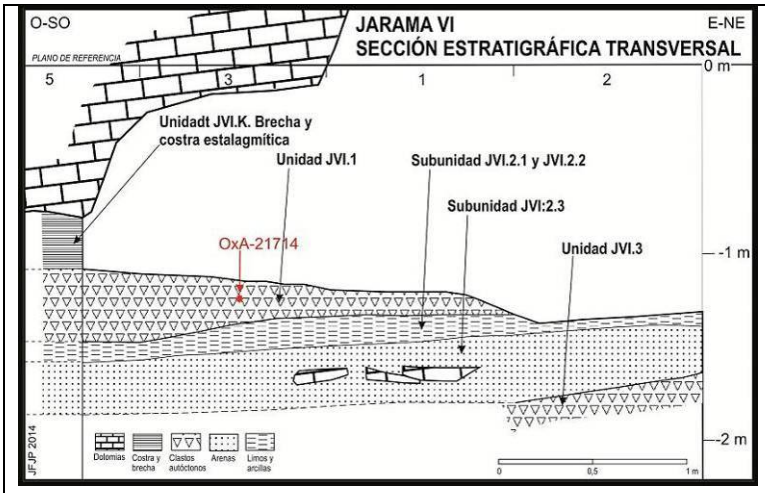


Figura 7.4.8.4. ***Estratigrafía de Jarama VI***. Se detalla la ubicación de la muestra de radiocarbono OxA-21714 [Figura tomada de Jordá Pardo *et al*. (2014)].

Por encima de la unidad JVI.K, hay un último nivel donde han aparecido restos de cerámica, industria lítica y restos faunísticos descontextualizados, mezclados con excrementos de ovicaprinos.

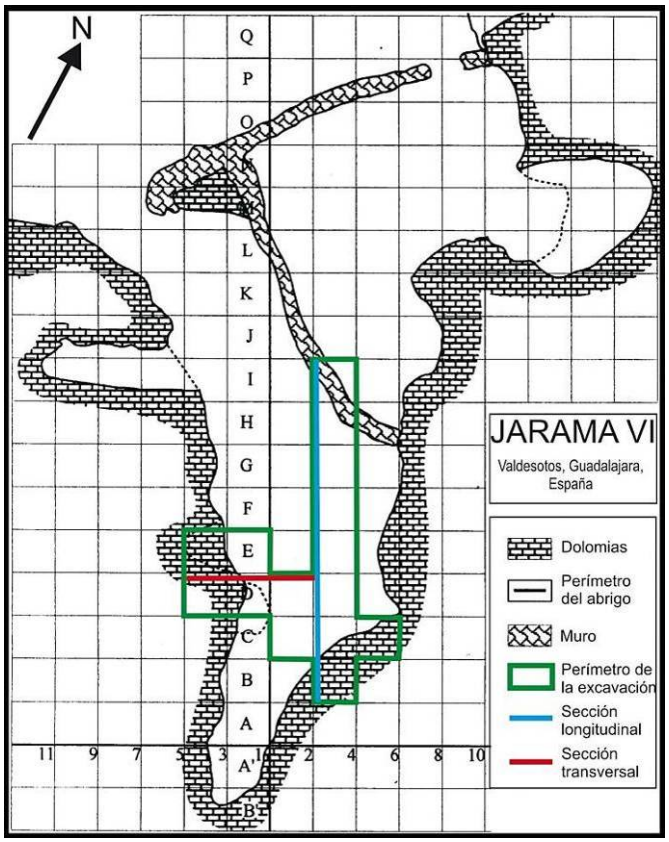


Figura 7.4.8.5. ***Planta de la excavación del yacimiento de Jarama VI*** [Figura tomada de Jordá Pardo *et al*. (2014)].

7.4.8.4. Cronoestratigrafía de Jarama VI

Los niveles ricos en materiales arqueopaleontológicos han resultado ser las unidades JVI.1 y JVI.3. En la unidad JVI.2 se ha documentado la presencia de un hogar, y se ha identificado algunos restos líticos junto a restos de fauna (Jordá Pardo, 2001).

Entre la industria lítica, en las unidades JVI.1, JVI.2 y JVI.3 se ha recuperado una abundante cantidad de núcleos, lascas de descortezado y restos de talla, fruto de la ejecución de la cadena operativa dentro del abrigo (Jordá Pardo, 2001).

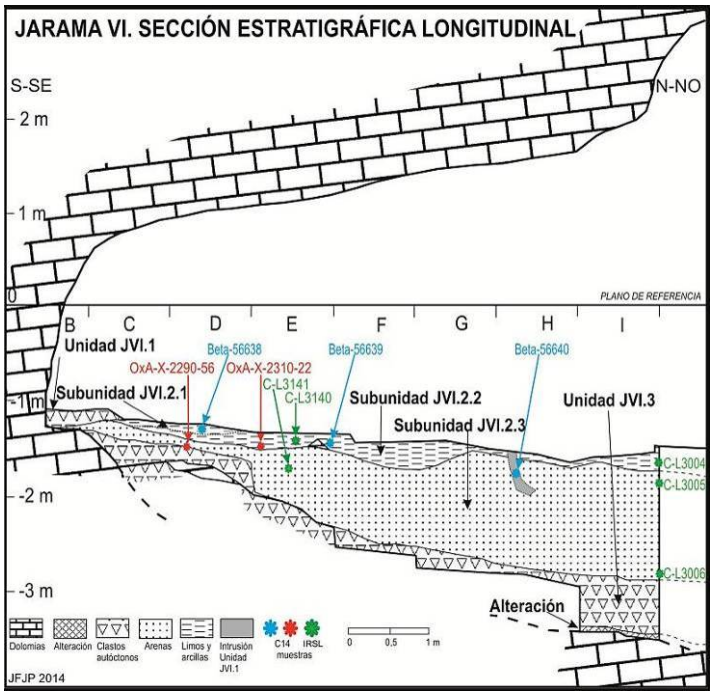


Figura 7.4.8.6. ***Estratigrafía de Jarama VI y localización de las muestras utilizadas para radiocarbono (C14) y luminiscencia estimulada por infrarrojos (IRSL)*** [Figura tomada de Jordá Pardo *et al.* (2014)

Las unidades JVI.1 – JVI.3 han sido objeto de análisis de radiocarbono mediante técnicas de radiocarbono convencionales y de radiocarbono aplicando ultrafiltración, y han ofrecido resultados contradictorios (Figura 7.4.8.4; Figura 7.4.8.6; Tabla 7.4.8.1).

7.4.8.4.1. El análisis de la industria lítica y las dataciones de radiocarbono convencionales

En un principio la unidad JVI.1 se asoció al Paleolítico Superior Antiguo, a partir de la recuperación de algunas piezas de industria lítica (Jordá Pardo, 2001). Para esta unidad litoestratigráfica se disponía de una datación de radiocarbono, procedente de un resto de carbón intrusivo de la unidad JVI.2. El análisis de radiocarbono arrojó un resultado de 23.380 ± 500 BP (Beta-56640)[19] (Figura 7.4.8.6; Tabla 7.4.8.1). Este resultado se asoció al Paleolítico Superior y, en un principio, se consideró coherente con los primeros análisis efectuados sobre la industria lítica de este nivel.

[19] Calibrado a 2σ con el programa OxCal 4,2 y la curva de calibración IntCal13: 28.590 – 26.605 años cal. BP.

Método	Unidad	Código	Fecha BP	Referencia
^{14}C	JVI.1	Beta-56640	23.380 ± 500	Jordá-Pardó, 2001
	JVI.2.1	Beta-56638	29.500 ± 2700	
	JVI.2.2	Beta-56639	32.600 ± 1860	
^{14}C AMS	JVI.1	OxA-21714	>50 200	Wood, *et al*. 2013
	JVI.2.2	OxA-X-2310-22	49.400 ± 3700	
	JVI.3	OxA-X-2290-56	>47 000	
IRSL	JVI.2.2	C-L3140	52,5 ± 4,9 ka	Kehl, *et al*. 2013
	JVI.2.2	C-L3004	58,8 ± 6,8 ka	
	JVI.2.3	C-L3141	53,0 ± 5,2 ka	
	JVI.2.3	C-L3005	58,6 ± 5,1 ka	
	JVI.3.3	C-L3006	57,2 ± 4,9 ka	

Tabla 7.4.8.1. ***Detalle de las muestras utilizadas para radiocarbono (^{14}C) y luminiscencia estimulada por infrarrojos (IRSL)*** [Tabla tomada de Jordá-Pardo *et al*. (2014)].

No obstante, los recientes reanálisis desarrollados sobre la industria lítica de la unidad JVI.1, han sugerido su asociación al Musteriense (Kelh *et al*., 2013).

Por su parte, los materiales de industria lítica de las unidades JVI.2 y JVI.3 se asociaron al Paleolítico Medio. Para la unidad JVI.2 se obtuvieron dos dataciones de radiocarbono a partir de restos vegetales, que arrojaron las siguientes fechas: 32.600 ± 1860 BP (Beta-56639)[20] y 29.500 ± 2700 BP (Beta-56638)[21] (Figura 7.4.8.6; Tabla 7.4.8.1).

La primera datación (Beta-56639, 32.600 ± 1860 BP) procedía de una muestra de la zona del hogar de la unidad JVI.2. Esta zona tenía un contexto arqueológico perfectamente definido y sellado, no afectado por alteración postdeposicional (Jordá Pardo, 2001). En un principio, esta datación resultó ser de una gran importancia en el estudio de la persistencia del Paleolítico Medio en el interior peninsular, ya que mostraba la pervivencia del Musteriense en el centro de la Península. La razón se debía a que esta datación era más moderna que los niveles musterienses más modernos datados en el Abric Romaní (Barcelona) y también más moderna que los niveles auriñacienses de l'Arbreda (Girona) y El Castillo (Cantabria), y en consonancia con las fechas obtenidas por entonces para la Cueva del Boquete de Zafarraya (Málaga) (Jordá Pardo, 2001).

La segunda datación (Beta-56638, 29.500 ± 2700 BP) procedía de una muestra del techo de la unidad JVI.2. Se había recuperado en un contexto con industrias del Paleolítico Medio, y junto al resultado de radiocarbono anterior, había permitido sugerir una perduración de estas industrias Musterienses hasta ~30.000 BP en la Meseta Central ibérica (Jordá Pardo, 2001). De

[20] Calibrado a 2σ con el programa OxCal 4,2 y la curva de calibración IntCal13: 41.956 – 33.750 años cal. BP.

[21] Calibrado a 2σ con el programa OxCal 4,2 y la curva de calibración IntCal13: 43.915 – 29.049 años cal. BP.

este modo, se sugería para el centro de la península ibérica la supervivencia de poblaciones neandertales en un momento en el que los humanos anatómicamente modernos ya estaban explotando los recursos del norte peninsular.

7.4.8.4.2. Los análisis de radiocarbono con ultrafiltración

No obstante, a partir de nuevos análisis se ha podido comprobar que las fechas de estos niveles estaban rejuvenecidas. Estos nuevos análisis se han llevado a cabo sobre una segunda serie de materiales. En esta ocasión se analizaron restos óseos con evidencias de modificaciones antrópicas, y se desarrollaron protocolos de ultrafiltración del colágeno del hueso (Wood. *et al*., 2013).

La ultrafiltración del colágeno del hueso sigue un riguroso protocolo implementado para la eliminación de las fuentes exógenas de carbono, causantes de los problemas de contaminación (Santamaría y de la Rasilla, 2013). Se actúa sobre el colágeno porque es la fracción seleccionada para las dataciones por radiocarbono, y se desarrolla como paso previo para los análisis de carbono 14. Con esta técnica se eliminan sobre todo contaminantes jóvenes, que actúan rejuveneciendo las fechas. De hecho, se ha comprobado que el efecto provocado por un 1% de carbono moderno contaminante sobre una muestra con una antigüedad de 50.000 BP, puede provocar que su resultado de radiocarbono sea *ca*. 37.000 BP (Wood *et al*., 2013). De este modo, el análisis radiométrico mediante ultrafiltración proporciona edades que son significativamente más antiguas que las conseguidas mediante la extracción y purificación del colágeno mediante otros mecanismos.

Se analizaron 30 muestras, comprobando que solamente dos de ellas podían datarse con seguridad (procedentes de las unidades JVI.1 y JVI.3) (Wood *et al*., 2013). Este resultado destacaba la baja preservación del colágeno en estas muestras, característica que ya se había descrito previamente para los primeros análisis de radiocarbono (Jordá Pardo, 2001). En otras cinco muestras obtuvieron resultados marginales en cuanto a la presencia de colágeno, por lo que sus resultados de radiocarbono podían no ser robustos. De estas cinco muestras, analizaron la única procedente de la unidad JVI.2 (Wood *et al*., 2013).

Las muestras de las unidades JVI.1 y JVI.3 aportaron edades infinitas. En concreto, la muestra de la unidad JVI.1 ofreció una edad de >50.000 años BP (OxA-21714) (Figura 7.4.8.4; Tabla 7.4.8.1), mientras que la de la muestra de la unidad JVI.3 fue de >47.000 años BP (OxA-X-2290-56) (Figura 7.4.8.6; Tabla 7.4.8.1). La muestra de la subunidad JVI.2.2 arrojó un resultado

de 49.400 ± 3700 años BP (OxA-X-2310-22) (Figura 7.4.8.6; Tabla 7.4.8.1). Las dataciones de las muestras de las unidades JVI.1 y JVI.3 sobrepasaban el límite de esta técnica de datación. Por su parte, la datación de la muestra de la unidad JVI.2 podía considerarse mínima, ya que ésta era la muestra que presentó una cantidad baja de colágeno. Además, el límite de edad de 50.000 años BP de esta técnica, entraba dentro del intervalo de error que presentaba este resultado (Wood *et al*., 2013). Por lo tanto, se ha considerado como muy probable que este último resultado también cayera fuera del límite cronológico de la datación por radiocarbono (Kelh *et al*., 2013).

La principal conclusión que se extrajo de este nuevo análisis fue que estos tres resultados subestimaban de manera significativa las fechas de los restos de carbones analizados mediante dataciones de radiocarbono convencionales. Estos resultados se han utilizado para plantear que las dataciones convencionales antes comentadas sean definitivamente rechazadas (Kelh *et al*., 2013). Los restos datados presentaban unas fechas cercanas al límite de esta técnica de datación o la sobrepasaban. De este modo, ya no se podía considerar el Musteriense de Jarama VI como inusualmente más moderno, y envejecía por lo tanto la fecha de los supuestos últimos neandertales ibéricos (Wood *et al*., 2013).

Además, los resultados obtenidos por ultrafiltración se han visto corroborados por análisis realizados mediante luminiscencia estimulada por infrarrojos (*Infrared Stimulated Luminiscence* - IRSL). Estos análisis han sugerido para la formación de las subunidades JVI.2.2 – JVI.2.3 unas edades comprendidas entre 60.000 – 50.000 años (Kelh *et al*., 2013) (Figura 7.4.8.6; Tabla 7.4.8.1).

De este modo, Jarama VI habría sido un abrigo ocupado por neandertales de manera reiterada, finalizando su ocupación durante la primera mitad del *Marine Isotope Stage* (MIS) 3 (Kelh *et al*., 2013).

7.4.8.5. El estudio de la fauna de Jarama VI

En el yacimiento de Jarama VI se ha recuperado una abundante cantidad de restos de macromamíferos, micromamíferos, aves, reptiles, anfibios y peces (Adán *et al*., 1995). De esta colección destaca el grupo de los macromamíferos, debido a su mayor presencia en cuanto al Número de Restos (NR) (Jordá Pardo, 2001).

A partir de un total de 77 restos de macromamíferos, se han identificado los siguientes taxones: un gran bovino *Bos* sp./*Bison* sp., *Rupicapra rupicapra* (rebeco), *Cervus elaphus*

(ciervo), *Equus ferus* (caballo salvaje), y restos de Rhinocerontidae y Canidae (Adán, *et al*., 1995; Jordá Pardo, 2001).

En cuanto a la distribución de estos restos por niveles, la unidad JVI.3 es la más rica (NR = 44). Todos los taxones excepto el cánido están representados, destacando el ciervo con NR=29 y un Número Mínimo de Individuos (NMI)=4. Por su parte, el caballo está representado en este nivel por 15 restos (Adán *et al*., 1995; Jordá Pardo, 2001).

La unidad JVI.2 es la que menos cantidad de restos faunísticos presenta. Se han identificado cinco restos, asociados a ciervo y rebeco (Adán *et al*., 1995; Jordá Pardo, 2001).

Por su parte la unidad JVI.1 vuelve a tener representados a todos los taxones, algunos de manera residual, como *Bos* sp./*Bison* sp., Rhinocerontidae indeterminado, y Canidae indeterminado. Con respecto al caballo, este taxón aparece representado por siete restos en este nivel (Adán, *et al*., 1995; Jordá Pardo, 2001).

Los restos de herbívoros predominan sobre los de carnívoros en todas las unidades de la secuencia litoestratigráfica, aunque el NMI siempre es bajo (Jordá Pardo *et al*., 2014). Los animales predominantes son ciervos, cabras, grandes bovinos y caballos, y además generalmente adultos (Jordá Pardo *et al*., 2014). A partir del análisis de los huesos largos se ha concluido que presentan un tipo de fracturación intencional, por lo que se ha deducido una acumulación en el yacimiento de carácter antrópico (Jordá Pardo, 2001; Adán, *et al*., 1995).

Además, cabe destacar la recuperación en la subunidad JVI.2.2 (Kelh *et al*., 2013) de un primer metatarsiano humano casi completo, cuyas características han sugerido su adscripción tentativa a *Homo neanderthalensis* (Lorenzo *et al*., 2012).

7.4.8.6. Muestras de Jarama VI seleccionadas para esta investigación

Para este análisis se seleccionaron 20 muestras de *Equus ferus* de Jarama VI (Tabla 7.4.8.2). Siete de estas muestras procedían del nivel 1, mientras que las 13 restantes se recuperaron del nivel 3. Además, se seleccionaron dos muestras de *Bos* sp. /*Bison* sp. y una muestra de *Cervus elaphus* para ser utilizadas como control negativo durante el proceso de extracción de ADN.

7.4.8.7. El proceso de extracción de ADN de la fauna de Jarama VI

7.4.8.7.1. Extracción de ADN

De cada resto faunístico se obtuvo una muestra. Las muestras se separaron en dos conjuntos y se realizó la extracción de ADN utilizando el protocolo de extracción número 1:

- **Conjunto 1**: JVI01; JVI02; JVI03; JVI04; JVI05; JVI06; JVI08; JVI09; JVI10; JVI11; JVI12.

- **Conjunto 2:** JVI13; JVI14; JVI15; JVI16; JVI17; JVI18; JVI19; JVI07; JVI20; JVI21, JVI22; JVI23.

7.4.8.7.2. Amplificación de ADN

La amplificación de ADN se llevó a cabo para todos los extractos de ADN utilizando las parejas de cebadores 15.425F – 15.625R (región 1), 15.537F – 15.728R (región 2) y 15.668F – 15.862R (región 3). Sobre los extractos de ADN se llevó a cabo una amplificación con cada pareja de primers.

Por otro lado, las muestras de los dos conjuntos se sometieron además a amplificación con las parejas de cebadores 15.425F - 15.520R y 15.470F – 15.583R, diseñadas para amplificar fragmentos de ADN de tamaño de 96 pb y 114 pb, respectivamente (Tabla 7.3). Sobre las muestras del conjunto 1 se llevaron a cabo dos amplificaciones independientes con cada pareja de estos cebadores. Sobre las muestras del conjunto 2 se llevó a cabo una amplificación con cada pareja de cebadores.

Tabla 7.4.8.2. Relación de muestras de Jarama VI utilizadas en esta investigación.

YACIMIENTO	CAMPAÑA	CUADRO	NIVEL	LEVANTAMIENTO	NÚMERO DE MATERIAL	ASOCIACIÓN CULTURAL	TAXÓN	DESCRIPCIÓN	Nº LAB
Jarama VI	1989	C-2	3	Sin información	75	Musteriense	*Equus ferus*	M1/M2 superior izquierdo	JVI01
				Sin información	239		*Equus ferus*	Falange 3 anterior izquierda	JVI02
				Sin información	271		*Equus ferus*	M1/M2 superior izquierdo	JVI03
				Sin información	Sin información		*Cervus elaphus*	M3 inferior derecho	JVI04
		D-3	1	II	87/89		*Equus ferus*	M2 superior derecho	JVI05
				II	91		*Equus ferus*	Fragmento de Falange 1	JVI06
				II	98		Bos sp. / *Bison* sp.	M1-M2 inferior izquierdo	JVI07
				III	257		*Equus ferus*	M1/M2 superior derecho	JVI08
				Sin información	Sin información		*Equus ferus*	M1 superior derecho	JVI09
		E3	1	II	42		*Equus ferus*	Fragmento de húmero	JVI10
				II	50		*Equus ferus*	M2 inferior izquierdo	JVI11
				Sin información	Sin información		*Equus ferus*	M1/M2 superior izquierdo	JVI12
	1991	F4	3	IX	62		Bos sp. / *Bison* sp.	M3 inferior izquierdo	JVI13
				IX	87		*Equus ferus*	M3 inferior derecho	JVI14
	1992	I4	3	IV	Sin información		*Equus ferus*	M3 superior izquierdo	JVI15
				V	Sin información		*Equus ferus*	P3/P4 superior derecho	JVI16
	1992			V	Sin información		*Equus ferus*	Gérmen de molariforme inferior izquierdo	JVI17
	1992			VI	Sin información		*Equus ferus*	Gérmen de P2 inferior izquierdo	JVI18
	1992			VI	Sin información		*Equus ferus*	Fragmento de M3 inferior izquierdo	JVI19
	1992			VI	Sin información		*Equus ferus*	Fragmento de molariforme inferior izquierdo	JVI20
	1992			VI	Sin información		*Equus ferus*	P2 inferior derecho	JVI21
				VI	Sin información		*Equus ferus*	M3 inferior derecho	JVI22
	1993	D4 / I4	3	Sin información	Sin información		*Equus ferus*	P2 inferior derecho	JVI23

7.4.9. El yacimiento de Cancho Roano (Zalamea de la Serena, Badajoz)

7.4.9.1. Localización del yacimiento

El yacimiento de Cancho Roano está localizado entre los pueblos de Zalamea de la Serena y de Quintana de la Serena (provincia de Badajoz, Extremadura) (Figura 7.4.9.1). Se encuentra situado en una vaguada a 50 metros del arroyo Cigancha, el cual desemboca a un kilómetro al norte en el arroyo Ortigas, que a su vez acaba desembocando en el río Guadiana (Celestino, 2001). Sus coordenadas son 38° 42' 15,98'' latitud Norte y 5° 40' 56,70'' longitud Oeste, y se encuentra a una altura de 410 metros sobre el nivel del mar (msnm) (coordenadas obtenidas con la aplicación SIGPAC: http://sigpac.magrama.es/fega/h5visor/, y altura msnm obtenida con la aplicación www.coordenadas-gps.com).



Figura 7.4.9.1. ***Localización geográfica del complejo arquitectónico de Cancho Roano en la península Ibérica*.**

7.4.9.2. Historia de las excavaciones en Cancho Roano

El yacimiento se encontraba sepultado en una pequeña elevación rodeada de encinas. Sus labores de excavación comenzaron en 1978 bajo la dirección de J. Maluquer. Después de 25 campañas de excavación los trabajos arqueológicos en Cancho Roano finalizaron en el año 2001, bajo la dirección de equipo de la Universidad Autónoma de Madrid y del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (Maluquer, 1981; Maluquer *et al*., 1986; Celestino y Cabrera, 2008).

7.4.9.3. Descripción de Cancho Roano y cronología

Cancho Roano es un complejo arquitectónico con una superficie en planta de 500 m^2 (Celestino, 2008) (Figura 7.4.9.2). En este yacimiento se han podido diferenciar tres grandes fases de construcción, denominadas de más moderno a más antiguo: Cancho Roano "A", Cancho Roano "B" y Cancho Roano "C", con concepciones arquitectónicas diferentes. Además, se ha diferenciado una pequeña construcción anterior a todas las demás, que se ha denominado Cancho Roano "D" (Celestino, 2001).

Todo este complejo arquitectónico se encuentra rodeado por un foso perimetral. Este foso está excavado sobre la roca natural, y cierra el complejo arquitectónico dejando un único acceso desde el lado Este (Celestino y Cabrera, 2008). Se ha considerado que este foso pertenece a la fase de construcción Cancho Roano "B" (Celestino, 2001). Sus dimensiones son de casi 160 m de perímetro, profundidad media de 2,5 m y ancho de 4 m (Celestino y Cabrera, 2008) (Figura 7.4.9.2).

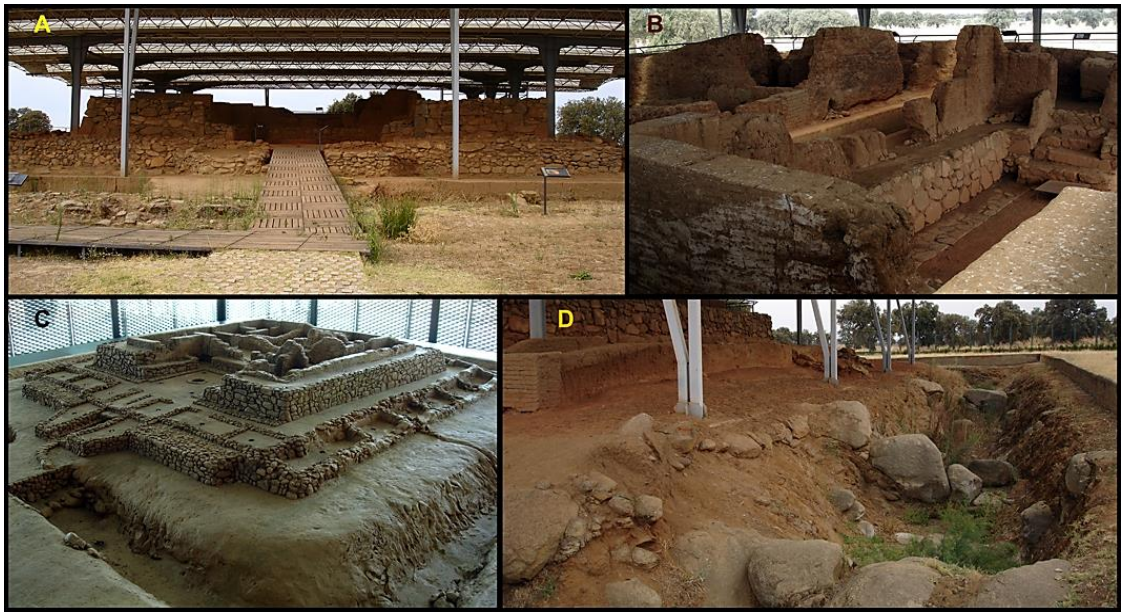


Figura 7.4.9.2. ***Complejo arquitectónico de Cancho Roano.*** **A)** Lado Este y entrada principal, **B)** Restos de las habitaciones dentro del complejo, **C)** Vista general del complejo arquitectónico (reproducción a escala), **D)** Detalle del foso perimetral en su tramo Oeste.

La fase de construcción más antigua denominada Cancho Roano "D", es una pequeña construcción con tendencia oval, de origen indígena, y que se ha asociado a los inicios del periodo Orientalizante. Esta cronología se ha visto sustentada por las formas arcaicas de las cerámicas junto a otros fragmentos realizados a torno, y por el descubrimiento entre el nivel que cubría esta construcción y el suelo de Cancho Roano "C" de una cazuela carenada típica de

inicios del siglo VI aC (Celestino, 2001), así como otros fragmentos de cerámica realizada a mano, indígena, y fechada a finales del siglo VII aC (Celestino, 2008).

Posteriormente, a mediados del siglo VI aC, se levantó sobre esta pequeña construcción el complejo arquitectónico Cancho Roano "C", que se ha considerado el primer edificio monumental del yacimiento. Cancho Roano "C" se ha asociado al periodo Orientalizante. Debido a su posible coincidencia cronológica con la crisis sufrida en Tartessos a mediados del siglo VI aC, se ha sugerido que su construcción fuera realizada por inmigrantes procedentes del territorio tartésico (Celestino, 2001; 2008).

Sobre esta fase arquitectónica se levantó posteriormente la fase constructiva Cancho Roano "B". Mediante dataciones por radiocarbono de muestras procedentes del altar de la habitación H-7, se ha situado esta fase a mediados del siglo VI aC, aunque puede remontarse hasta el siglo VII aC (Celestino, 2001).

El complejo más reciente y mejor conocido es el denominado Cancho Roano "A", levantado sobre las fases constructivas anteriores, y con más de 500 metros^2 de superficie (Celestino, 2008) (Figura 7.4.9.2A, Figura 7.4.9.2C). Se ha propuesto que Cancho Roano "A" debió construirse durante la primera mitad del siglo V aC, y su destrucción tuvo lugar a finales del siglo V aC (Celestino, 2008) o principios del siglo IV aC (Celestino, 2001). La fecha de la destrucción se ha obtenido mediante el estudio tipológico de la colección de cerámica griega recuperada en el complejo. La cronología inferida oscila entre finales del siglo V aC – principios del siglo IV aC (López Domech, 1999; Jiménez, 2005). Además, la fecha de su destrucción coincide con el final de la Primera Edad del Hierro en la cuenca media del río Guadiana a su paso por la provincia de Extremadura (Jimenez, 2005). Los estudios sobre las analogías arquitectónicas de este edificio, han propuesto un origen para la planta del edificio en la arquitectura del Mediterráneo Oriental, sugiriendo a su vez la posibilidad de que derivara de las construcciones localizadas en el área tartésica (Celestino, 2001).

Los complejos arquitectónicos de Cancho Roano (A, B y C) han sido interpretados como construcciones con una funcionalidad religiosa (Celestino, 2001). Se ha sugerido que el complejo Cancho Roano "C" y posiblemente los posteriores, hubiesen estado asociado a una diosa indígena relacionada con el culto al agua (Celestino, 2001). Por otro lado, debido a la presencia de arreos, arneses y otros objetos considerados como ofrendas relacionados con el caballo, también se ha propuesto que este animal fuera la divinidad del yacimiento en Cancho Roano "A" o, al menos, que estuviera relacionado con ella (Celestino, 2001).

No se han recuperado materiales procedentes de las fases Cancho Roano "C" y "D". Se sugiere que es consecuencia de una cuidadosa limpieza y el desmantelamiento previo a la construcción de Cancho Roano "A". En cambio, el tipo de destrucción ocurrida en Cancho Roano "A" fue totalmente diferente. Cancho Roano "A" fue incendiado, sepultado por el derrumbe de la techumbre de vigas de madera de fresno del piso superior y, posteriormente, sellado bajo una capa de arcilla, incluyendo al foso que rodeaba el recinto (Celestino, *et al.,* 2003; Celestino, 2001). Los trabajos de excavación han permitido recuperar una gran variedad de objetos, tanto en el edifico principal, como en las capillas perimetrales y en el foso. Se ha considerado que estos objetos se dejaron en su interior a modo de ofrendas. Entre los objetos recuperados se han documentado materiales relacionados con la industria textil, una veintena de ánforas que contenían alimentos (aceite, vino, miel, cebada, piñones, habas o bellotas), joyas y objetos de prestigio, objetos de bronce, jarros, recipientes, platos y calderos. Entre esta rica colección de materiales destacan numerosos objetos relacionados con arreos y atalaje ecuestre elaborados en bronce y en hierro, así como una escultura de un caballo votivo (Celestino, 2001; 2008; Blech, 2003; Celestino *et al.,* 2003; Celestino y Cabrera, 2008).

En relación al estudio de los atalajes ecuestres, se ha argumentado que los bocados recuperados de Cancho Roano "A" pertenecen a dos "fases" de fabricación cronológicamente diferentes, aun habiendo aparecido en el mismo contexto "tardo-orientalizante". Estas "fases" se han denominado "arcaica" y "clásica" (Blech, 2003). Se ha propuesto que ambas fases tendrían su origen en influencias orientales. La "fase arcaica" presenta influencias de los bocados del Luristán, mientras que la "fase clásica" se ha vinculado con Asiria y la Grecia clásica. La "fase arcaica" está caracterizada por bocados con camas rectangulares y figurativas (Blech, 2003). A esta fase pertenecen los bocados elaborados en bronce (Blech, 2003). A partir del estudio de la iconografía de las camas de estos bocados, se ha sugerido un origen en Próximo Oriente alrededor del siglo VIII aC (Blech, 2003). Además, en los objetos de bronce fundido relacionados con el atalaje de los caballos (tanto los funcionales - camas y filetes-, como los decorativos -cascabeles, discos o campanillas-) no se ha apreciado signos de su utilización, por lo que se los ha considerado tesoros depositados en el complejo (Blech, 2003), reforzando así su interpretación como un santuario. Por otro lado, la "fase clásica" se caracteriza por presentar bocados de hierro, y se ha considerado que en ellos prima el valor funcional sobre el figurativo (Blech, 2003). Con respecto al posible uso destinado a cada tipo de bocado, se ha interpretado que los bocados de la "fase arcaica" estarían relacionados con caballos de tiro, mientras que los bocados de la "fase clásica" pertenecerían a monturas (Blech, 2003).

7.4.9.4. El estudio de la fauna de Cancho Roano

En las excavaciones del foso se destacó la ausencia de objetos de importación o de lujo (Figura 7.4.9.2D), así como objetos de bronce y de hierro; en cambio se recuperaron numerosos restos de cerámica indígena pertenecientes a pequeños platos, vasos y ollas, junto a una gran cantidad de restos de animales (Celestino, 2001; 2008; Celestino y Cabrera, 2008). La fauna recuperada mostraba evidencias de haber sido sacrificada, presentando marcas de corte y despiece (Celestino y Cabrera, 2008). Entre la fauna recuperada se han identificado taxones salvajes y domésticos. Se han documentado cuatro cerdos, 10 vacas, 14 corderos, una cabra, seis ciervos, un jabalí, un zorro y 17 équidos. Mediante el examen de las diferencias de tamaño, seis de estos 17 équidos se han clasificado como burros. Estos burros se han denominado como "tipo Cancho Roano" en función de su tamaño y esbeltez, diferente de la del burro actual común (Celestino y Cabrera, 2008). Los caballos se encontraron en posición anatómica sobre el fondo del foso del sector Oeste (Figura 7.4.9.2D), con sus cabezas decapitadas y localizadas en el foso del sector Sur (Celestino, 2001; Celestino *et al*. 2003, Celestino y Cabrera, 2008).

Además, se ha observado que estos caballos no se utilizaron para labores de carga ni de tracción, y tampoco presentaron evidencias de haber sido montados de manera continuada, por lo que su presencia en el yacimiento se ha asociado con fines rituales (Celestino, 2001; Celestino y Cabrera, 2008).

En el interior del edificio también se han hallado restos óseos de animales (Figura 7.4.9.2B), entre los que se han reconocido restos de caballo, aunque en un número mucho menor que los documentados en el foso (Celestino, 2001).

7.4.9.5. Muestras de Cancho Roano seleccionadas para esta investigación

Para esta investigación se seleccionaron siete muestras de équidos y una muestra de caprino (Tabla 7.4.9.1). La muestra de caprino se utilizó como muestra de control negativo durante el proceso de extracción.

Tabla.7.4.9.1. ***Relación de muestras de Cancho Roano utilizadas para esta investigación***.

YACIMIENTO	SIGLA	OTROS	TAXÓN	DESCRIPCIÓN	NºLAB
Cancho Roano	D.5788	UE 1007? / Bolsa 40	*Equus* sp.	P2 Inferior Izquierdo	CR63
	D.5788	UE 1007? / Bolsa 40	*Equus* sp.	P3/4 inferior izquierdo	CR64
	D.5788	UE 1007? / Bolsa 40	*Equus* sp.	Metacarpo III derecho	CR65
	D.5788	UE 1007? / Bolsa 40	*Equus* sp.	Falange 1	CR66
	D.5789	CR98 UE 1039 / Foso / Tramo 2W	*Equus* sp.	Fragmento de maxilar con M2 superior izquierdo	CR67
	D.5789	CR98 UE 1028 / Tramo 3 / Foso W	*Equus* sp.	M1 superior izquierdo	CR68
	D.5789	CR98 UE 1028 / Tramo 3 / Foso W	*Equus* sp.	P4 superior izquierdo	CR69
	D5786	Sin información	Ovicáprido	M3 superior derecho	CR70

7.4.9.6. Análisis de radiocarbono sobre las muestras de Cancho Roano.

Con el objeto de concretar la antigüedad de algunas muestras, se realizaron dataciones de radiocarbono sobre la muestra CR63, CR65 y CR69.

Los análisis de radiocarbono de las muestras CR63 y CR69 se llevaron a cabo en los laboratorios de de Beta Analytic Inc., Miami, Florida, USA. El análisis de la muestra CR65 se llevó a cabo en el Oxford Radiocarbon Acelerator Unit (ORAU) Research Laboratory for Archaeology, Oxford, Reino Unido.

7.4.9.7. El proceso de extracción de ADN de las muestras de Cancho Roano

7.4.9.7.1. Extracción de ADN

De cada resto se obtuvieron dos muestras para extracciones independientes. Las extracciones de ADN se efectuaron con el protocolo de extracción número 1. La primera extracción independiente se realizó sobre las siete muestras de équidos y se acompañó de la muestra de caprino CR70 y de una muestra de ddH_2O como controles negativos. La segunda extracción independiente se realizó separando las muestras en dos conjuntos: el conjunto CR65, CR66 y CR67 por un lado y el conjunto CR63, CR64, CR68 y CR69 por otro lado. En ambos se utilizaron como controles negativos una muestra de bóvino de El Portalón y una muestra de ddH_2O.

7.4.9.7.2. Amplificación y purificación de ADN

En la primera extracción independiente, sobre todas las muestras CR63, CR64, CR65, CR66, CR67, CR68, CR69 y CR70 se realizó una primera amplificación con los cebadores

15.425F - 15.625R (región 1). Posteriormente se amplificaron las muestras CR65, CR66 y CR67 con las parejas de cebadores 15.546F – 15.708R, 15.537F – 15.728R (región 2) y 15.668F – 15.862R (región 3).

La amplificación de las muestras CR63, CR64, CR68 y CR69 se completó en un conjunto separado, utilizando los cebadores 15.663F – 15.857R (región 3) y la pareja de cebadores 15.544F - 15.717R, específica para la amplificación de ADN mitocondrial de *Equus asinus*.

En la segunda extracción independiente, el conjunto CR65, CR66 y CR67 se amplificó con las parejas de cebadores: 15.425F - 15.625R (región 1), 15.537F – 15.728R (región 2) y 15.668F – 15.862R (región 3). El conjunto CR63, CR64, CR68 y CR69 se amplificó con los cebadores de las regiones 1 y 3 y, para la región 2, los cebadores específicos de *Equus asinus*.

7.4.10. Descripción de la muestra utilizada como comparativa

7.4.10.1. Muestra de comparativa de ADN antiguo

El material de ADN mitocondrial antiguo de caballos ibéricos publicado y disponible en GenBank hasta la fecha (octubre de 2015) procede de tres investigaciones. En Seco Morais *et al*. (2007) consiguieron recuperar ADN de seis restos óseos. Posteriormente en Lira *et al*. (2010) analizaron el ADN de 22 secuencias y, finalmente, en Cieslak *et al*. (2010) presentaron 19 secuencias ibéricas en su trabajo sobre diversidad genética del caballo en Eurasia. En total, hay publicadas y disponibles 47 secuencias de ADN mitocondrial antiguo de caballos ibéricos, pertenecientes a diferentes momentos cronológicos y contextos culturales (Tabla 7.4.10.1).

Tabla 7.4.10.1. ***Secuencias de ADN mitocondrial antiguo de caballos ibéricos.*** Relación de secuencias de ADN mitocondrial antiguo de caballos ibéricos, representadas por publicaciones y por periodos cronoestratigráficos o contextos culturales. En color rojo aparecen resaltadas las secuencias publicadas y asociadas a esta investigación.

CABALLOS	Seco-Morais, J. *et al*. (2007) *J Archaeol Sci* 34: 1713-1719	Lira, J. *et al*. (2010) *Mol Ecol* 19: 64-78	Cieslak, M. *et al*. (2010) *PLoS One* 5(12): E15311	TOTAL
Pleistoceno Superior	**1**	0	0	**1**
Mesolítico / Neolítico	0	**2**	**10**	**12**
Calcolítico	0	**1**	**3**	**4**
Edad del Bronce	0	**18**	**4**	**22**
Edad del Hierro	**2**	0	**1**	**3**
Edad Media	**3**	**1**	**1**	**5**
TOTAL	**6**	**22**	**19**	**47**

Recientemente se ha publicado un cuarto trabajo donde se analiza el ADN mitocondrial antiguo de caballos de diferentes cronologías, desde finales del Pleistoceno superior hasta la Edad Media (Matoso Silva *et al*., 2015). Además, en este trabajo estudian material procedente de yacimientos ibéricos y del norte de África. Se analizaron 106 muestras y se obtuvo ADN de 29 de ellas. Sin embargo, ese estudio no ofrece accesibilidad a las secuencias de ADN, ni tampoco ofrece información sobre las mutaciones que caracterizan a esas secuencias. Por ese motivo, no se han podido utilizar en este trabajo.

Además, las muestras antiguas ibéricas de esta investigación las hemos comparado con otras secuencias de ADN antiguo de *Equus ferus* / *Equus caballus*. En total, considerando las secuencias ibéricas y no ibéricas, hemos utilizado 348 secuencias. El número de secuencias de ADN antiguo de caballos publicadas en el GenBank es ligeramente superior a éste (con fecha a octubre de 2015), pero hemos utilizado las 348 secuencias que más información genética

presentan. Aun así, no hemos podido utilizar las 348 secuencias a la vez siempre en todos los análisis que hemos realizado.

Estas 348 secuencias se distribuyen del siguiente modo (Tabla 7.4.10.2): 138 secuencias de caballos salvajes pleistocenos, 207 secuencias de caballos holocenos, y 3 secuencias de caballos de los que no se tiene conocimiento preciso de su antigüedad.

La muestra pleistocena de comparativa procede de seis países: Portugal, Irlanda, Alemania, Rusia, Canadá y Estados Unidos.

Tabla 7.4.10.2. ***Secuencias de ADN mitocondrial antiguo de caballos*****.** Se presentan las secuencias publicadas de ADN antiguo de caballos (excepto las de Lira *et al*., 2010) distribuidas por regiones geográficas y la serie cronoestratigráfica a la que pertenecen.

	PLEISTOCENOS	PLEISTOCENOS / HOLOCENOS	HOLOCENOS			TOTAL
			SALVAJES	¿SALVAJES?	DOMÉSTICOS ANTIGUOS	
Iberia	1	0	10	2	12	**25**
Resto de Europa, Asia Menor y Urales	21	0	11	3	91	**126**
Asia: sector sur y occidente	0	0	0	0	8	**8**
Asia: sector oriental (China, Mongolia y Korea)	0	0	0	0	66	**66**
Asia: norte y este de Siberia	15	1	1	1	2	**20**
América	101	2	0	0	0	**103**
TOTAL	**138**	**3**	**22**	**6**	**179**	**348**

A su vez, las 207 secuencias de caballos holocenos se han dividido en 22 secuencias de caballos salvajes, 179 secuencias de caballos domésticos y 6 secuencias de individuos para los que no se ha podido determinar su carácter salvaje o doméstico (Tabla 7.4.10.2). La muestra de comparativa holocena procede de 13 países europeos, de Asia Menor y cinco asiáticos. En Europa y Próximo Oriente: Armenia, España, Hungría, Inglaterra, Irlanda, Islandia, Italia, Moldavia, Portugal, Rumania, Suecia, Turquía y Ucrania. En Asia: China, Corea del Sur, Kazajistán, Mongolia y la región siberiana de Rusia.

Por último, las tres muestras de las que se desconoce su antigüedad proceden de Canadá y el norte de Siberia.

En el Anexo I y Anexo Ib se presenta una relación detallada sobre cada secuencia: números de acceso, determinación salvaje o doméstica de la muestra, procedencia, yacimiento, cronología y publicación.

7.4.10.2. Muestra de comparativa de caballos modernos.

Como muestra de comparativa moderna hemos utilizado 1952 secuencias obtenidas en el GenBank. Estas secuencias corresponden a caballos de, por lo menos, 124 razas o variedades, así como a caballos de Przewalski, y las hemos dividido en dos grandes bloques: **1)** 524 secuencias de razas ibéricas o de origen ibérico y, **2)** 1428 secuencias de razas de origen no ibérico.

7.4.10.2.1. Caballos modernos ibéricos o de origen ibérico

Este grupo está constituido por 524 secuencias de caballos procedentes de 43 razas. Siguiendo las denominaciones del Catálogo Oficial de Razas de España del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente – MAGRAMA, así como las denominaciones de Sánchez Belda (2012) para las razas ganaderas caballares españolas, todas estas razas se caracterizan por presentar un origen ibérico. Algunas razas se han originado en la península ibérica (como las *arcaicas* – residentes y desplazadas- y las *autóctonas*) (Tabla 7.4.10.3), otras se caracterizan por presentar un origen ibérico y se han constituido como raza en la península ibérica en los últimos 200 años (las consideradas *emergentes*) (Tabla 7.4.10.3). También se han diferenciado a aquellas razas originadas en suelo ibérico como fruto del cruce de razas autóctonas con razas importadas (las *integradas*) (Tabla 7.4.10.3) y además, razas que se han desarrollado fuera de España pero el núcleo fundacional se ha constituido con efectivos ibéricos (como es el caso de las *segregadas*) (Tabla 7.4.10.4). También hemos incluido en este grupo caballos que hemos denominado como "ibéricos" que, si bien no aparecen en el registro del Catálogo Oficial de Razas Españolas del MAGRAMA, se han desarrollado en suelo ibérico y su núcleo fundacional ha sido, teóricamente en su mayoría, efectivos ibéricos (las razas Cartujana y Caballo de Corro) (Tabla 7.4.10.3).

Las 43 razas/variedades ibéricas o de origen ibérico se distribuyen en las categorías comentadas en el párrafo anterior del siguiente modo; por un lado, tenemos 354 caballos distribuidos en 20 razas/variedades: arcaicas (*n*=8), autóctonas (*n*=7), emergentes (*n*=2), integradas (*n*=1), grupo ibérico (*n*=2) (Tabla 7.4.10.3). Por otro lado, disponemos de 170 caballos distribuidos en 23 razas segregadas: europeas (*n*=3) y americanas (*n*=20) (Tabla 7.4.10.4).

Tabla 7.4.10.3. ***Relación de razas de caballos ibéricos I.*** Se presentan los caballos de razas arcaicas, autóctonas, emergentes, integradas y grupo ibérico de los que se han utilizado secuencias de ADN mitocondrial de comparativa, así como el número de secuencias utilizadas por raza.

CATEGORÍA	RAZA	N
Autóctona	Asturcón	19
Autóctona	Asturcón/Mallorquina	5
Ibérica	Caballo de Corro	14
Ibérica	Cartujano	10
Arcaica	Curly	2
Integrada	Hispano-Bretón	35
Autóctona	Losino	12
Emergente	Lusitano	43
Autóctona	Mallorquina	6
Emergente	Marismeño	12
Autóctona	Menorquina	2
Arcaica	Mustang	36
Arcaica	Kiger Mustang	27
Arcaica	Pryor Mountain Mustang	2
Arcaica	Sulphur Mustang	6
Arcaica	Sulphur Springs Mustang	17
Arcaica	Warm Springs Mustang	1
Arcaica	Poni de Chincoteague	1
Autóctona	Pottoka	15
Autóctona	Pura Raza Española	68
Arcaica	Sorraia	21
TOTAL		**354**

En el Anexo II se presenta una relación más completa de las características de cada una de las secuencias ibéricas o de origen ibérico que hemos recuperado del GenBank y utilizado en este estudio.

Tabla 7.4.10.4. ***Relación de razas de caballos ibéricos II.*** Se presentan los caballos de razas segregadas de los que se han utilizado secuencias de ADN mitocondrial de comparativa, así como el número de secuencias utilizadas por raza.

CATEGORÍA	RAZA	N
Segregada americana	Appaloosa	1
Segregada americana	Campolina	6
Segregada americana	Chilote	4
Segregada americana	Corralero	4
Segregada americana	Criollo Argentino	6
Segregada americana	Criollo Argentino - Caballo Peruano de Paso	2
Segregada americana	Criollo Brasileño	6
Segregada americana	Cuarto de Milla	1
Segregada americana	Español Venezolano	5
Segregada americana	Florida Cracker	3
Segregada europea	Garrano	16
Segregada europea	Kladruber	3
Segregada europea	Lipizano	60
Segregada americana	Mangalarga	5
Segregada americana	Mangalarga-Marchador	4
Segregada americana	Mustang Español	4
Segregada americana	Paint Horse	2
Segregada americana	Pantaneiro	6
Segregada americana	Paso Fino	5
Segregada americana	Paso Fino de Puerto Rico	4
Segregada americana	Peruana de Paso	9
Segregada americana	Saddlebred	1
Segregada americana	Trotador americano	13
TOTAL		**170**

A diferencia del Mustang Español, que es una raza de caballo doméstico, el resto de caballos Mustang representan a poblaciones de caballos asilvestrados. Estas poblaciones de caballos Mustang asilvestrados se crían en territorios públicos del oeste de los Estados Unidos,

que se denominan HMA (Herd Management Areas) y se encuentran bajo el control de la BLM (Boreau of Land Managenement). Bajo el término "Mustang" se reúnen distintas poblaciones de caballos distribuidos en diferentes HMA. Muchas de estas poblaciones pueden presentar un grado elevado de intercambio genético con otras poblaciones de caballos Mustang, en episodios ocurridos en diferentes momentos históricos. Incluso algunas poblaciones de Mustang asilvestrados pueden haber recibido contribuciones genéticas de caballos domésticos (P. Griffin, BLM, comunicación personal).

En la literatura hemos encontrado representados de manera diferente a los Sulphur Springs Mustang (Jansen *et al*. 2002) y a los Sulphur Mustangs (Luìs *et al*. 2006). Aunque estas yeguadas son sinónimas y pertenecen a la misma población asilvestrada y controlada en el HMA del estado de Utah (N. Nield, administradora del Sulphur Springs Mustang Registry, comunicación personal), en los análisis las hemos considerado como entidades distintas, con el fin de identificar alguna posible diferencia entre ellas.

7.4.10.2.2. Caballos modernos no ibéricos

La colección de comparativa de caballos no ibéricos alcanza un total de 1428 secuencias distribuidas de la siguiente manera: 12 secuencias corresponden a caballos de Przewalski, 1390 secuencias se distribuyen entre 81 razas, variedades o poblaciones internacionales y, 26 secuencias no están asociadas a ninguna raza conocida.

La Tabla 7.4.10.5 presenta una relación del número de caballos utilizados de cada una de estas razas. En el Anexo III se presenta una relación más completa de las características de cada una de las secuencias no ibéricas que hemos recuperado del GenBank y utilizado en este estudio.

Tabla 7.4.10.5. ***Relación de razas de caballos no ibéricos.*** Se presentan los caballos de razas no ibéricas de los que se han utilizado secuencias de ADN mitocondrial de comparativa, así como el número de secuencias utilizadas por raza. Se presentan, además, el número total de secuencias de *Equus przewalskii*.

	NOMBRE	N			NOMBRE	N
RAZA	Akhal Teke	31		RAZA	Maremmano	40
	Altái	2			Mesenskay	18
	Árabe	135			Mongol	27
	Árabe -Polaco	14			Murgesse	23
	Ardenner	1			Ningqiang	27
	Bardigiano	18			Noriker	5
	Bereber	15			Oldenburg	3
	Caballo Belga de Tiro	1			Orlov	19
	Caballo de Deporte Alemán	1			Percherón	1
	Caballo de la montaña de Guan	10			Poni Caspiano	22
	Caballo de la Selva Negra	1			Poni Connemara	12
	Caballo de Silla Ruso	1			Poni de Dales	12
	Caballo de Suffolk	1			Poni de Dartmoor	12
	Caballo de Tiro del Rin	26			Poni de Eriskay	12
	Caballo de Tiro Irlandés	59			Poni de Exmoor	24
	Caballo de Tiro Vladimir	1			Poni de Fell	26
	Caballo de Westfalia	2			Poni de Fjord	24
	Caballo Húngaro	1			Poni de Gales	15
	Cabardino	1			Poni de Kerry Bog	49
	Camargue	1			Poni de Lac La Croix	10
	Canadiense	12			Poni de las Highlands	42
	Clydesdale	12			Poni de las Shetlands	64
	cruce Árabe-Bereber	8			Poni de Liebenthaler	2
	Duelmener	10			Poni de Manipuri	11
	Frisón	3			Poni de New Forest	5
	Giara	7			Poni de Newfoundland	17
	Guanzhong	25			Poni de Silla Alemán	1
	Guizhou	62			Poni islandés	45
	Haflinger	29			Pura Sangre Inglés	46
	Hannoveriana	1			Rottaler	9
	Holsteiner	11			Sable Island / asilvestrado	21
	Iraní	44			San Pedro y Miquelón / asilvestrado	11
	Islas Turcas y Caicos / Asilvestrado	11			Sarcidano	5
	Italiano de Tiro Pesado	27			Senner	19
	Jakuto	21			Shire	10
	Kazajo	18			Silesiano	1
	Kinsky	2			Tibetano	3
	Konik	6			Trakehner	7
	Kustanai	1			Ventasso	36
	Kuznet	2			Viatka	19
	Lewitzer	1			Sin información	26
					Equus przewalskii	12
				TOTAL		**1428**

7.4.11. Alineamiento de secuencias

Se descargaron del GenBank 2300 secuencias de caballos modernos y antiguos (Anexos I, Ib, II y III), que se compararon con las secuencias generadas en esta investigación. Se llevó a cabo un primer análisis exploratorio de las secuencias con el programa BioEdit 7.2.5 (Hall, 1999). Posteriormente, el análisis de caracteres y alineamiento global de las secuencias se llevó a cabo con ClustalX 2.1 (Larkin *et al*., 2007). Cada una de las posiciones nucleotídicas se analizó como una hipótesis independiente de homología (González, 1996). En la maximización de la correspondencia entre las secuencias del alineamiento se tuvieron en cuenta los parámetros asociados a la generación de inserciones o deleciones (*indels*). Los valores escogidos para los parámetros de penalización por apertura de huecos y penalización por extensión de huecos fueron los siguientes: penalización por apertura de huecos = 15 y penalización por extensión de huecos =6,66.

7.4.12. Selección de modelos evolutivos

Los modelos evolutivos son descripciones matemáticas sobre el modo y la probabilidad de que una secuencia de caracteres cambie a otra secuencia de caracteres homóloga a lo largo del tiempo (Abascal *et al*., 2014; Aguado *et al*., 2014). Los modelos describen para cada una de las posiciones nucleotídicas de la matriz la probabilidad de que se produzca el cambio de un nucleótido a otro a lo largo de las ramas de un árbol filogenético (Aguado *et al*., 2014). Los modelos se definen mediante cuatro parámetros que determinan el cambio. Dos clases principales de estos parámetros son: 1) tipos de sustituciones y sus correspondientes tasas de sustitución (probabilidades relativas de cambio entre nucleótidos) y 2) las frecuencia relativas de nucleótidos (Abascal *et al*., 2014; Aguado *et al*., 2014).

Además, hay otros parámetros adicionales que consideran el hecho de que distintas partes del alineamiento de secuencias de ADN puedan evolucionar con tasas diferentes. Este aspecto refleja la posibilidad de que no todas las posiciones nucleotídicas de la matriz de ADN evolucionen al mismo ritmo (Abascal *et al*., 2014), permitiendo que haya regiones con tasas de cambio heterogéneas entre las posiciones nucleotídicas (Aguado *et al*., 2014). En muchos casos, la adición de estos parámetros en los análisis incrementa la capacidad del modelo para explicar nuestros datos, mejorando de este modo la inferencia filogenética (Abascal *et al*., 2014). La variación de tasas entre posiciones nucleotídicas se puede considerar con dos maneras diferentes (Strimmer y von Haeseler, 2009; Abascal *et al*., 2014):

1. Contemplando al parámetro gamma (+G, Γ, *gamma shape*, *alpha shape* o *rate variation among sites*) que modela la variación o heterogeneidad de las tasas relativas de cambio entre las posiciones nucleotídicas del alineamiento. Esta variación de tasas se describe o modela mediante una distribución discreta gamma (Γ), y se especifica con el parámetro *alpha* (α). La distribución gamma es una distribución de probabilidad cuya forma depende del valor del parámetro *alpha*, con valores comprendidos desde 0 a infinito. El parámetro *alpha* controla la heterogeneidad en las tasas de cambio entre posiciones nucleotídicas o sitios. Cuando los valores de *alpha* son menores a 1 ($\alpha < 1$), la distribución gamma adquiere una forma en L, indicando que hay mucha diferencia en los ritmos de cambio entre sitios. Esto implica que algunas posiciones nucleotídicas presentan unas marcadas tasas de sustitución, mientras que la mayoría de las posiciones nucleotídicas son prácticamente invariables; algunas posiciones nucleotídicas varían mucho, mientras que la mayoría de los sitios presentan poca variación. Cuando los valores de *alpha* son mayores a 1 ($\alpha > 1$), la distribución gamma adquiere forma de campana, presentando una débil señal de heterogeneidad de tasas de cambio entre las posiciones nucleotídicas. Valores de *alpha* cercanos a infinito indican que la mayoría de las posiciones nucleotídicas tienen casi idénticas tasas de sustitución.

   Desde la perspectiva computacional, se ha comprobado que en lugar de utilizar una distribución continua gamma (Γ), presenta una mayor eficiencia asumir una distribución discreta gamma (Γ) con un número finito de categorías de tasas de variación, todas con la misma probabilidad. Esta variante solamente requiere de la utilización de un parámetro, arroja estimaciones más precisas, y ofrece una interpretación más sencilla de los resultados (Yang, 1994). Se ha comprobado que un número de 4 categorías discretas es suficiente para conseguir un ajuste óptimo del modelo a los datos, y obtener una buena aproximación a la función continua (Yang, 1994).

2. La otra manera de considerar la variación de tasas entre posiciones viene determinada por el parámetro +I (o *proportion of invariable sites*), y contempla que hay una fracción de nuestro alineamiento que no varía (estamos ante un fragmento completamente conservado).

En función de estos parámetros, se han definido ocho modelos evolutivos básicos y teniendo en cuenta todas las combinaciones posibles de los parámetros, se han descrito más de 1600 modelos. Bajo esta premisa, se realizaron análisis sobre el proceso de sustitución nucleotídica y los modelos evolutivos subyacentes a los datos (Posada, 2009). Los modelos de sustitución nucleotídica que mejor se ajustaban al conjunto de datos que se analizaron en cada matriz fueron seleccionados con el programa jMoldelTest 2.1.5 (Posada, 2008a; Darriba *et al*., 2012). Este programa informático permite seleccionar el/los modelos que mejor se ajustan a la matriz de ADN observada mediante criterios de selección diferentes, (como AIC – *Akaike Information Criterion* o BIC – *Bayesian Information Criterion*) y compara el grado de ajuste de los diferentes modelos a la matriz de datos.

Las matrices de secuencias se contrastaron con 56 modelos de sustitución nucleotídica. Se utilizó un esquema que contenía 7 tipos de sustituciones diferentes, definidas por los siguientes modelos: JC, HKY, TrN, TPM1, TIM1 TVM y GTR (Posada, 2008b). Sobre estos modelos se consideraron los siguientes parámetros: frecuencia de nucleótidos similar para los cuatro tipos o diferente entre los nucleótidos de la matriz (+F), la condición de presentar una proporción de posiciones que varían, y de presentar una proporción de posiciones que son invariables (+I), así como modelos que no asumen ningún tipo de tasa de cambio entre posiciones, como otros que sí asumen una heterogeneidad entre las tasas de cambio entre posiciones. Estas tasas relativas cambian según una distribución gamma (+G) para la que se fijaron 4 categorías (Posada, 2008a).

El grado de ajuste a nuestros datos de los modelos analizados se ha calculado mediante una función de verosimilitud (*Likelihood*, L) que requiere de la optimización de una topología inicial y unas longitudes de rama asociadas a esa topología. Hemos utilizado la opción optimizada de Máxima Verosimilitud (*ML optimized*) para estimar la topología más óptima cada vez que se han calculado los valores de *L* y evaluado un modelo de sustitución nucleotídica. En el caso en el que la opción optimizada de ML no se utilizó debido al gran volumen de muestras analizadas, hemos usado la opción BIONJ-JC y se detalla de manera expresa. BIONJ-JC utiliza la misma topología fija para evaluar todos los modelos, utilizando un algoritmo basado en Neighbor-Joining y las distancias de Jukes-Cantor. El programa jModelTest ha realizado estos cálculos utilizando la opción integrada que tiene del programa PhyML (Guindon y Gascuel, 2003). El algoritmo heurístico de intercambio de ramas aplicado para obtener la topología óptima para la estimación del valor de *L* de los modelos ha sido NNI (*Nearest-Neighbor Interchanges*) (Posada, 2008a).

El programa jMoldelTest 2.1.5 se ha implementado en ordenadores de mesa y también bajo la plataforma CIPRES (Miller *et al*., 2010; http://www.phylo.org/index.php/). El criterio de selección de modelos que hemos aplicado ha sido el Criterio de Información de Akaike corregido (AICc, *corrected Akaike Information Criterion*), escogiendo aquel modelo que presentaba los valores de AICc más bajos (Posada y Crandall, 1998). Cuando jModelTest ha ofrecido un tipo de modelo que no se podía implementar posteriormente por PhyML o MrBayes, se escogió para las inferencias filogenéticas el siguiente mejor modelo implementado por estos programas, de modo análogo a los análisis de selección de modelos evolutivos en équidos realizados por Vilstrup *et al*. (2013).

7.4.13. Análisis con gráficos de redes o *networks*

Las genealogías poblacionales, como los fenómenos de radiación evolutiva explosiva que ocurren cuando un virus infecta a una persona sana, representan a menudo multifurcaciones (Moulton y Huber, 2009). Fenómenos como recombinaciones, hibridaciones, transferencia lateral de genes, homoplasias o "lineage sorting" pueden reflejar historias que no sean bien explicadas por un método filogenético tradicional (Huber y Moulton, 2005; Huson y Scornavacca, 2011), que muestra la evolución mediante un árbol bifurcado, con nodos internos que representan los ancestros y ramas externas donde están localizados los taxones actuales (Posada y Crandall, 2001; Moulton y Huber, 2009). Por otro lado, estos fenómenos poblacionales pueden generar relaciones genealógicas caracterizadas por la aparición de eventos de reticulación entre los miembros de una población (Posada y Crandall, 2001; Morrison, 2005). Además, pueden ocurrir situaciones en las que en la misma población estén representados los haplotipos ancestrales y los haplotipos derivados de éstos (Posada y Crandall, 2001; Moulton y Huber, 2009). Como resultado de estos fenómenos, es posible encontrar en una población una representación de caracteres conflictivos o ambiguos por un lado, o una representación de la polaridad de estados de un carácter entre ancestros y descendientes con unas relaciones complejas, debido a que no siguen un patrón de evento histórico dicotómico (Morrison, 2005). En estas situaciones la evolución intraespecífica no siempre puede representarse a partir de los métodos filogenéticos tradicionales (Posada y Crandall, 2001). Las aproximaciones basadas en *networks*, grafos, gráficos de divisiones o gráficos de redes tienen en cuenta estos fenómenos ocurridos a nivel poblacional que limitan el poder de resolución de los árboles tradicionales (Huber y Moulton, 2005; Moulton y Huber, 2009; Huson y Scornavacca, 2011). Se presentan como una función complementaria a otros métodos de análisis filogenéticos (Huson y Scornavacca, 2011), por lo que se han considerado

como representaciones apropiadas de la variación genética intraespecífica y, permiten estimar este tipo de genealogías con más exactitud (Posada y Crandall, 2001).

Los *networks* o gráficos de redes se pueden utilizar para detectar en los datos cualquier desviación de la topología bifurcada tradicional, o incluso para confirmar que un árbol es la mejor estructura que permite explicar a los datos. De este modo, permiten explorar y entender mejor los datos (Moulton y Huber, 2009), detectar visualmente señales ambiguas o conflictivas o incluso historias genealógicas alternativas, cuando la historia evolutiva de los datos no sigue un patrón en forma de topología tradicional (Huber y Moulton, 2005).

Los *networks* o gráficos de redes no asumen de manera implícita que la evolución deba ser en forma de árbol, por lo que no "fuerzan" a los datos a estar representados de ese modo. Incluso, aunque los datos se ajustaran a un proceso evolutivo en forma de árbol, los fenómenos de evolución paralela o los errores de muestreo en el análisis filogenético pueden dar lugar a un conjunto de datos que se expliquen mejor por una estructura diferente a un árbol (Moulton y Huber, 2009).

Es necesario que los métodos de análisis de las genealogías poblacionales tengan en cuenta algunos de los fenómenos que pueden ocurrir en las poblaciones intraespecíficas: la presencia de nodos ancestrales, las multifurcaciones y las reticulaciones. (Morrison, 2005). En este sentido, los gráficos de redes se muestran especialmente efectivos para mostrar y evaluar procesos a nivel poblacional, refinar las relaciones existentes entre los haplotipos y analizar las predicciones ofrecidas por la teoría de genética de poblaciones (Posada y Crandall, 2001).

En las poblaciones naturales, es común encontrar juntos haplotipos ancestrales y variantes que se han originado a partir de ellos, y por lo tanto, muestrearlos juntos. En los estudios de filogenias intraespecíficas, se ha propuesto que existe una relación directa entre las frecuencias de los haplotipos y su antigüedad, destacando que aquellos haplotipos más frecuentes sean además los que más tiempo llevan en la población (Posada y Crandall, 2001). Además, la mayoría de las nuevas mutaciones se reflejarán como variantes derivadas de haplotipos considerados comunes en la población de estudio, y están más relacionados con haplotipos comunes que con otras variantes raras. Además, es común que a partir de los haplotipos ancestrales se hayan originado múltiples haplotipos descendientes. La teoría de la genética de poblaciones propone que, cuanto más viejo sea un haplotipo, más descendientes tendrá asociados con él. Con los métodos filogenéticos tradicionales esta situación se representa como una multifurcación (Posada y Crandall, 2001). En cambio, los gráficos de

redes permiten diferenciar a los haplotipos ancestrales y sus variantes, desarrollando un conjunto de predicciones teóricas que han resultado tener validez empírica bajo evolución neutral y ausencia de subdivisión poblacional, y que se resumen a continuación (Posada y Crandall, 2001):

1. Las variantes antiguas ocuparán con más probabilidad haplotipos interiores, y que a su vez presentarán más conexiones mutacionales que los haplotipos jóvenes.
2. Los haplotipos con grandes frecuencias, presentarán más conexiones mutacionales con otros haplotipos.
3. Los haplotipos con grandes frecuencias, generalmente presentarán rangos de distribución geográfica amplios.
4. Los haplotipos constituidos por una única secuencia (un único individuo), y por lo tanto con frecuencias mínimas, presentarán con más probabilidad conexiones mutacionales con haplotipos con frecuencias mayores, que con otros haplotipos con frecuencias mínimas.
5. Es mucho más probable que los haplotipos constituidos por una única secuencia, estén conectados a otros haplotipos de su misma población que a haplotipos de poblaciones diferentes.

Como se ha comentado anteriormente, distintos procesos evolutivos que actúan a nivel poblacional van a generar relaciones de reticulación en la población, que no son toleradas por los métodos de análisis tradicionales (Posada y Crandall, 2001). En cambio, los gráficos de redes permiten diferenciar los eventos de reticulación (Woolley *et al*., 2008), que se pueden interpretar por tres causas diferentes (Morrison, 2005): a) representaciones de incertidumbre o ambigüedad, debidas a imprecisiones en los datos provocadas por homologías erróneas al seleccionar homólogos, alineamientos desacoplados o datos que no se ajusten al modelo evolutivo adecuado (heterogeneidad de modelos), b) representaciones de eventos de analogía, normalmente denominados como homoplasias (convergencias, paralelismos y reversiones) y c) representaciones de eventos de homología donde ocurran fenómenos de intercambio de genes entre organismos no relacionados (recombinación, hibridaciones entre linajes y transferencia horizontal de genes). No obstante, puede ser complicado distinguir entre estas tres posibilidades al analizar un gráfico de redes (Morrison, 2005).

La mayoría de los métodos de gráficos de redes son métodos basados en distancias, que buscan la manera de minimizar las distancias o número de mutaciones entre haplotipos (Posada y Crandall, 2001). Entre estos métodos de distancias, destacamos el denominado

como Median Joining Networks (MJ) (Bandelt *et al*., 1999). El algoritmo de MJ trabaja sobre un alineamiento múltiple de secuencias intrapoblacionales que no presentan recombinación, y ha sido ampliamente utilizado en estudios filogeográficos y poblacionales con ADN mitocondrial y sobre el cromosoma Y (Huson *et al*., 2011). Además, es un método muy rápido, que permite analizar cientos de haplotipos en una cantidad de tiempo razonable (Posada y Crandall, 2001).

El algoritmo de MJ utiliza la información de las secuencias como carácter multiestado (Bandelt *et al*., 1999; Posada y Crandall, 2001). Para elaboración de estos gráficos de redes, MJ analiza los *Minimum Spanning Trees* obtenidos a partir del algoritmo de Kruskal sin generar ciclos o inferir nodos ancestrales, y construye con ellos el *Minimum Spanning Network* (Bandelt *et al*., 1999). El algoritmo de MJ combina esta información con la operación de generación del *quasi-median network* que podría obtenerse a partir de los datos, pero añadiendo al gráfico de redes una serie de nodos o vértices nuevos, denominados "*median vectors*" (Bandelt *et al*., 1999). El *quasi-median network* suele representar todos los árboles óptimos y numerosos árboles subóptimos (Bandelt *et al*., 1999). Generalmente es demasiado complejo para su visualización, incluso cuando el número de secuencias es pequeño (Huson *et al*., 2011). Por ese motivo los "*median vectors*" van a rebajar esta complejidad, al representarse únicamente aquellos vértices que tienen más probabilidad de aparecer como nodos de ramificación. La interpretación biológica de estos "*median vectors*" puede ser la de individuos actuales no muestreadas, o muestras ancestrales extintas (Bandelt *et al*., 1999). De este modo, los gráficos de MJ van a ser tan informativos como los *quasi-median networks,* pero menos complejos, ya que durante la elaboración del gráfico de MJ, el algoritmo va a ser guiado por la construcción del *Minimum Spanning Network* (Huson *et al*., 2011).

Además, en la elaboración del gráfico de MJ es posible regular el grado de complejidad de representación de homoplasias. Esta labor se realiza ajustando los valores del parámetro ε durante la elaboración del *Minimum Spanning Network*, de manera que a medida que aumenta el valor de ε, se generan nuevos "*median vectors*" (Bandelt *et al*., 1999). De este modo, el cálculo de *quasi-median network* se realiza solamente sobre un conjunto de secuencias que se encuentre próximas en el *Minimum Spanning Network*, y que todavía no están conectadas entre sí por ramas cortas (Huson *et al*., 2011).

En nuestra investigación hemos ejecutado los gráficos de MJ con valores ε = 0, que solamente tienen en cuenta las conexiones con longitudes mínimas, ofreciendo una significativa disminución de ruido, de modo similar a los análisis realizados sobre la región control de *Homo sapiens* en Bandelt *et al*. (1999).

Aunque este tipo de gráficos suelen interpretarse como filogenias, los gráficos de redes realizados en esta investigación no se han considerado como tal en el sentido más estricto del término, al no presentar raíz debido a la dificultad del proceso de enraizado en este tipo de análisis (Posada y Crandall, 2001; Morrison, 2005; Huson y Scornavacca, 2011). Entre otras cuestiones, las secuencias consideradas como grupos externos pueden estar separadas por muchos pasos mutacionales del resto de secuencias de la muestra poblacional (Posada y Crandall, 2001). Además, no se puede determinar inequívocamente la evolución de los estados del carácter de la relación ancestro descendiente entre muchos haplotipos (Morrison, 2005). En este caso, los gráficos de redes se han utilizado como herramientas exploratorias y no como análisis filogenéticos definitivos (Morrison, 2005). Este tipo de gráficos de redes son los que se han denominado "redes de visualización de caracteres" (Morrison, 2005) o redes "abstractas" (Huson y Scornavacca, 2011) o, en todo caso, filogenias de tipo intraespecífico.

7.4.13.1. Análisis de las secuencias de nuestra investigación

Las secuencias de ADN antiguo recuperadas en esta investigación comprenden las posiciones nucleotídicas 15.444 – 15.842 del ADN mitocondrial. Con la finalidad de conocer las relaciones haplotípicas entre estas secuencias, y la persistencia de determinados haplotipos a lo largo del tiempo, se han llevado a cabo análisis comparativos maximizando, en todo momento, la longitud del fragmento recuperado para cada secuencia.

En función de la longitud del fragmento recuperado para cada muestra, hemos realizado hasta seis análisis comparativos de gráficos de redes, distribuidos del siguiente modo (las posiciones nucleotídicas en relación a la nueva secuencia de referencia de *Equus caballus* JN398377, Achilli *et al*., 2012):

- **Análisis comparativo 1**: realizado sobre todas las muestras para las que se recuperó la totalidad del fragmento de estudio, np. 15.444 – 15.842 (regiones 1, 2 y 3).
- **Análisis comparativo 2**: realizado sobre todas las muestras de las que se recuperó, al menos, el fragmento de ADN mitocondrial comprendido entre las posiciones 15.444 – 15.688 (regiones 1 y 2).
- **Análisis comparativo 3**: realizado sobre todas las muestras de las que se pudo obtener, al menos, el fragmento de ADN mitocondrial comprendido entre las posiciones 15.565 – 15.842 (regiones 2 y 3).

- **Análisis comparativo 4**: realizado sobre todas las muestras para las que se puedo recuperar, al menos, el fragmento de ADN mitocondrial comprendido entre las posiciones 15.444 – 15.605 (región 1).
- **Análisis comparativo 5**: realizado sobre todas las muestras para las que se pudo obtener, al menos, el fragmento de ADN mitocondrial comprendido entre las posiciones 15.565 – 15.688 (región 2).
- **Análisis comparativo 6**: realizado sobre todas las muestras para las que se pudo recuperar, al menos, el fragmento de ADN mitocondrial comprendido entre las posiciones 15.687 – 15.842 (región 3).

Todos los análisis comparativos se han llevado a cabo con los programas DNA Alignment 1.3.3.2 (Fluxus Technology) y Network 4.6.1.3 (Fluxus Technology). Se llevaron a cabo análisis implementando el algoritmo MJ, que contempla los diferentes estados presentes en los nucleótidos (Bandelt *et al*., 1999). Con este algoritmo se obtuvieron gráficos de redes de haplotipos, que presentaban todas las posibles relaciones existentes entre los haplotipos de nuestra muestra. Los análisis se llevaron a cabo fijando el valor de $\varepsilon = 0$. Se reconocieron aquellas posiciones nucleotídicas caracterizadas por acumular una gran cantidad de mutaciones (hotspots): 15.585, 15.597 y 15.650, previamente identificadas por Jansen *et al*. (2002), así como la posición nucleotídica 15.604 descrita por Cieslak *et al*. (2010).

Los gráficos de redes se realizaron teniendo en cuenta las siguientes consideraciones. Siguiendo las directrices ofrecidas por el manual de usuario de Network (Fluxus Technology, 2012), las posiciones nucleotídicas con inserciones o deleciones (indels) se consideraron como eventos con muy poca posibilidad de ocurrir. Su presencia se consideró significativa y esas posiciones se ponderaron con un valor doble al valor máximo presente en otras posiciones nucleotídicas. Para el resto de posiciones nucleotídicas, se mantuvieron los valores por defecto atribuidos para cada posición. A su vez, cuando en las posiciones nucleotídicas 15.585, 15.597, 15.604 y 15.650 el número de mutaciones > 3, se anularon otorgándoles un valor de 0 (Fluxus Technology, 2012).

Adicionalmente, para cada diagrama se incorporó al cálculo el valor global de la relación Transiciones / Transversiones (Ti /Tv) de la matriz de secuencias. El análisis de la relación Ti/Tv se calculó con el programa MEGA 6 (Tamura *et al*., 2013). Para cada caso se aplicó a la matriz de secuencias el modelo de sustitución nucleotídica que mejor se ajustaba a los datos observados. Estos modelos probabilísticos de sustitución nucleotídica se calcularon con jModeltest 2.1.5 bajo la aproximación del Criterio de Información de Akaike corregido (AICc,

Akaike Information Criterion) (Posada y Crandall, 1998; Posada, 2008a; Darriba *et al*., 2012). Network 4.6.1.3 (Fluxus Technology) permite especificar valores de Ti/Tv desde 1:1 hasta 50:1 ó 1:50. Cuando MEGA6 ofreció un valor de la relación Ti/Tv >50, en Network 4.6.1.3 (Fluxus Technology) se especificó en la relación el valor de 50. Posteriormente, sobre los gráficos de redes obtenidos se realizaron correcciones de Máxima Parsimonia (Polzin y Daneshmand, 2003).

7.4.13.2. Análisis comparativo con las secuencias del GenBank

El análisis comparativo de las secuencias de nuestra investigación y las descargadas el GenBank se llevó a cabo para el fragmento de ADN comprendido entre las posiciones nucleotídicas 15.494 – 15.740 (en relación a la secuencia de referencia de *Equus caballus* JN398377, Achilli *et al*., 2012). La razón principal por la que el estudio se ha ajustado a este fragmento se debe a que la mayoría de secuencias (modernas, y sobre todo antiguas) de ADN mitocondrial de caballos disponibles en el GenBank, corresponden a estas posiciones de HVR-I de la región control (Cieslak *et al*., 2010).

Para esta investigación, hemos dividido la muestra de comparativa en tres conjuntos: **a)** secuencias antiguas (ibéricas y no ibéricas), **b)** caballos modernos ibéricos o de origen ibérico y **c)** caballos modernos no ibéricos. Para conocer el grado de relación haplotípica entre las secuencias de nuestra investigación y las secuencias de caballos descargadas del GenBank, se llevó a cabo una estrategia de análisis progresiva, en la que se fueron elaborando nuevos análisis de redes a medida que aumentaba la muestra de comparativa.

Para los análisis comparativos se elaboraron tres gráficos de redes con todas las secuencias que permitían analizar las posiciones nucleotídicas 15.494 – 15.740: ***Gráfico de redes 1)*** constituido por las secuencias de nuestro estudio y secuencias antiguas de otras publicaciones; ***Gráfico de redes 2)*** constituido por las secuencias del gráfico de redes 1 y las secuencias de caballos modernos ibéricos o de origen ibérico, ***Gráfico de redes 3)*** constituido por las secuencias del gráfico de redes 2 y las secuencias de caballos modernos no ibéricos.

Como en el apartado anterior, todos los gráficos de redes se han llevado a cabo con los programas DNA Alignment 1.3.3.2 (Fluxus Technology) y Network 4.6.1.3 (Fluxus Technology), implementando el algoritmo MJ (Bandelt *et al*., 1999), con ε = 0, y anulando el efecto de las mutaciones hotspots 15.585, 15.597, 15.604 y 15.650 (Jansen *et al*., 2002; Cieslak *et al*., 2010).

Se realizó una ponderación del efecto de las mutaciones para cada posición nucleotídica, de manera análoga a Cieslak *et al*. (2010) donde a los indels se les otorgó un valor doble al valor máximo presente en otras posiciones nucleotídicas (Fluxus Technology, 2012).

Para cada matriz de secuencias se calculó el valor global de la relación Ti/Tv de la matriz de secuencias con el programa MEGA 6 (Tamura *et al*., 2013), a partir de los modelos de evolución nucleotídica propuestos por jMoldelTest 2.1.5 bajo la aproximación del Criterio de Información de Akaike corregido (AICc*, corrected Akaike Information Criterion*) (Posada, 2008a; Darriba *et al*., 2012). Cuando MEGA6 ofreció un valor de la relación Ti/Tv >50, en Network 4.6.1.3 (Fluxus Technology) se especificó en la relación el valor de 50. A cada uno de los gráficos de redes obtenidos se aplicó correcciones de Máxima Parsimonia (Polzin y Daneshmand, 2003).

7.4.14. Análisis filogenéticos con métodos probabilísticos

7.4.14.1. Filogenias basadas en métodos probabilísticos

Las filogenias, árboles filogenéticos o topologías que se han generado en esta investigación utilizando grupos externos, se han desarrollado mediante los métodos de análisis filogenéticos de Máxima Verosimilitud (ML, *Maximum Likelihood*) e Inferencia Bayesiana (BI, *Bayesian Inference*). Ambos métodos están basados en el análisis de caracteres y sus estados y además, ambos son métodos probabilísticos (Aguado *et al*., 2014). Los métodos probabilísticos consideran la reconstrucción filogenética como un problema estadístico, y utilizan modelos concretos de evolución molecular para el cálculo de las probabilidades (Aguado *et al*., 2014; Abascal *et al*., 2014). De este modo, exploran todos los espacios posibles que han podido generar las secuencias observadas y establecen sus probabilidades.

Un aspecto importante de estos métodos de análisis filogenéticos, es que permiten evaluar los árboles obtenidos implementando criterios de optimización (Abascal *et al*., 2014; Aguado *et al*., 2014): se generan topologías atendiendo a determinados algoritmos heurísticos y, esas topologías se evalúan utilizando una función objetiva. De este modo se elige la mejor topología de todas las generadas (Abascal *et al*., 2014).

7.4.14.2. Análisis de Máxima Verosimilitud

El método filogenético de ML trabaja sobre la verosimilitud de que un modelo de evolución dado y una historia evolutiva hipotética (la topología) hayan dado lugar a un conjunto de datos observados (la matriz de secuencias) (Felsenstein, 2004; Abascal *et al*., 2014). El concepto de verosimilitud hace referencia a aquellas situaciones en las que, dado un conjunto de datos concretos, es necesario seleccionar la explicación más adecuada para esos datos (Schmidt y von Haeseler, 2009). La verosimilitud mide cómo se ajustan los datos a las predicciones realizadas por el modelo evolutivo y la topología (Holder y Lewis, 2003).

Siendo D = los datos y H= la hipótesis (la topología con sus longitudes de ramas y el modelo evolutivo propuesto), el algoritmo de ML se expresa como

$$P(D|H)$$

y se lee como la estimación de la probabilidad de obtener los datos observados (D) dado un árbol filogenético con una topología y sus longitudes de rama, y un modelo evolutivo (H)

(Felsenstein, 2004; Abascal, *et al*., 2014). El método de ML trata de inferir la historia evolutiva más probable (Abascal *et al*., 2014). De entre todas las explicaciones posibles para los datos (es decir, todos los árboles y longitudes de ramas), ML escogerá como la mejor (aplicando el criterio de optimización) aquella que convierte a los datos observados en los más probables, es decir, maximiza la verosimilitud de los datos (Nei y Kumar, 2000; Holder y Lewis, 2003; Aguado *et al*., 2014).

Al trabajar con modelos evolutivos, ML incorpora información sobre cómo de probable es cada uno de los reemplazamientos de nucleótidos a lo largo del tiempo. En una matriz de ADN, para cada posición nucleotídica se calculan todas las posibles reconstrucciones, todos los posibles escenarios que han podido dar lugar a los datos observados para esa posición. Para cada posición, esto implica realizar las reconstrucciones hipotéticas de todos los estados ancestrales (los nodos internos) y las longitudes de rama, y sumar las probabilidades de cada combinación única de reconstrucciones posibles. De este modo obtenemos un valor de verosimilitud para esa posición nucleotídica concreta. Posteriormente, el árbol final se calcula como el producto de las verosimilitudes de cada una de las posiciones nucleotídicas (Felsenstein, 2004; Abascal, *et al*., 2014).

Desde una perspectiva teórica, el valor de verosimilitud de un escenario concreto, de entre todos los posibles, es muy pequeño. Además, los valores de verosimilitud totales se obtienen a partir del producto de las verosimilitudes de cada una de las posiciones nucleotídicas. Por ese motivo, normalmente en la práctica se trabaja con logaritmos naturales de las verosimilitudes (ln*L*). De este modo, una vez calculado el valor de ln*L* para cada posición nucleotídica de la matriz de ADN, la verosimilitud del árbol se calcula como la suma de los logaritmos naturales de las verosimilitudes de cada una de las posiciones nucleotídicas, y se expresa como el valor ln*L* total (Nei y Kumar, 2000; Abascal *et al*., 2014).

Desafortunadamente, los métodos de inferencia filogenética que tienen implícito un criterio de optimización (como ML), no presentan algoritmos eficientes (algoritmos exactos) que garanticen el análisis de todos los árboles de todo el espacio de topologías posibles que se pueden analizar. Esto se debe a que calcular el valor de ML de todos los posibles árboles es prohibitivo, ya que representa un serio problema de cómputo (Schmidt y von Haeseler, 2009). Como en la práctica es imposible poder analizar todos los árboles, la búsqueda del árbol más probable para los datos observados se realiza mediante estrategias de búsqueda heurística (Nei y Kumar, 2000). Los algoritmos heurísticos tiene la ventaja de obtener una topología en un tiempo de cálculo razonable (Aguado *et al*., 2014). Pero como la búsqueda heurística se

caracteriza por examinar únicamente una pequeña porción de todos las posibles topologías que se pueden generar, no se tiene la certeza de haber obtenido el mejor árbol (Nei y Kumar, 2000).

No obstante, los algoritmos de búsqueda heurística buscan soluciones óptimas en un espacio limitado de todo el universo muestral de topologías existentes (Aguado *et al*., 2014). La búsqueda de estas soluciones óptimas se basan en el mismo principio: la obtención de una primera topología provisional, y la posterior modificación de esta topología mediante procedimientos de reordenamiento o intercambio de ramas. Estos procedimientos de intercambio de ramas tienen como objetivo explorar el espacio de posibles topologías obtenidas sobre el conjunto de datos, y localizar la topología con mayor verosimilitud (Nei y Kumar, 2000, Guindon *et al*., 2010; Aguado *et al*., 2014; Abascal *et al*., 2014).

La cantidad de árboles que se generen dependerá del criterio de reordenamiento de ramas que se haya seleccionado (Schmidt y von Haeseler, 2009). Los algoritmos más populares de intercambio de ramas son: *Nearest neighbor interchange* (NNI), 2) *Subtree pruning regrafting* (SPR) y 3) *Tree bisection-reconnection* (TBR) (para obtener una explicación detallada de cada uno de estos algoritmos, remitimos a Nei y Kumar, 2000).

A medida que se va realizando el reordenamiento de ramas se va aplicando el criterio de optimización sobre los árboles generados. Se selecciona el árbol que presente el mayor valor de verosimilitud (menor ln*L*), y sobre éste se repite el proceso. Este proceso se repetirá hasta que no se recuperen árboles con valores de verosimilitud mayores. De este modo, el reordenamiento de árboles finalizará cuando se encuentre la topología con mayor verosimilitud (Schmidt y von Haeseler, 2009; Guindon *et al*., 2010; Abascal *et al*., 2014).

Es importante no confundir verosimilitud con probabilidad, a pesar de que la verosimilitud se define en términos probabilísticos (Schmidt, y von Haeseler, 2009; Abascal *et al*., 2014). La verosimilitud es la probabilidad del evento observado, que se ha calculado utilizando un modelo evolutivo considerado correcto. Por tanto, el árbol de *máxima verosimilitud* es aquel que tiene la mayor probabilidad de haber generado los datos observados a partir de un modelo evolutivo concreto (Schmidt y von Haeseler, 2009), y por lo tanto se prefiere como hipótesis filogenética (Abascal *et al*., 2014). El método filogenético de ML trata de inferir la historia evolutiva más probable a partir de un modelo evolutivo. Por ese motivo es importante elegir correctamente el modelo evolutivo que mejor representa a los datos (Schmidt y von Haeseler, 2009). En este tipo de metodología filogenética, la longitud de

las ramas es una estimación de los cambios evolutivos que han sucedido (Nei y Kumar, 2000; Aguado *et al*., 2014).

7.4.14.2.1. Inferencia filogenética de Máxima Verosimilitud con PhyML

Las inferencias filogenéticas de ML de esta investigación se han llevado a cabo utilizando el algoritmo de PhyML (Guindon y Gascuel, 2003; Guindon *et al*., 2005), implementado a partir de la plataforma PhyML 3.0 (Guindon *et al*., 2010; http://www.atgc-montpellier.fr/phyml/). PhyML 3.0 es una derivación de PhyML, que entre otras características, presenta mejoras en el criterio de reordenamiento de ramas de las topologías iniciales, así como variantes de los análisis de soporte de ramas de las topologías obtenidas (Guindon *et al*., 2010).

El algoritmo de PhyML permite obtener la topología inicial de una manera rápida, a partir de un método basado en distancias rápidas denominado BioNJ (Gascuel, 1997). Posteriormente, este árbol se optimiza explorando el espacio de topologías mediante una aproximación rápida de NNI (fastNNI) o una aproximación modificada de SPR (PhyML-SPR) (Hordijk y Gascuel, 2005; Guindon *et al*., 2010).

En los análisis comparativos entre intercambios de ramas de los algoritmos de NNI y de SPR, se ha considerado SPR como una mejor alternativa. Por un lado, a partir de una topología de partida, el conjunto de topologías vecinas definidas mediante movimientos de SPR es mucho mayor que el originado por cambios de NNI. Por otro lado, en análisis de rendimiento se ha comprobado que SPR es más eficiente que NNI, ya que es más improbable que quede atrapado en máximo locales subóptimos durante la exploración del espacio de topologías (Guindon *et al*., 2010).

La optimización de SPR consiste en seccionar un conjunto de ramas del árbol original, que posteriormente se reubican en todas las posibles zonas de la topología donde se puedan reinsertar, y se calcula para esa topología alternativa su verosimilitud global (Felsenstein, 2004). La optimización de topologías realizada por SPR permite analizar muchos más árboles que la estrategia de NNI, muestreando de este modo el espacio de árboles de manera más extensa (Felsenstein, 2004). Además, como se ha comentado anteriormente, este tipo de estrategias disminuye la posibilidad de que la topología quede atrapada en un óptimo local (Hordijk y Gascuel, 2005).

La aproximación de PhyML-SPR presentada por W. Hordijk y O. Gascuel (2005) utiliza una aproximación de distancias basada en el principio de mínima evolución para descartar

aquellos movimientos de SPR no óptimos. A su vez, se ha publicado una nueva aproximación (PhyML 3.0-SPR) presentada por Guindon *et al*. (2010) con diferencias respecto a PhyML-SPR. La principal diferencia descansa en que PhyML 3.0-SPR descarta aquellos movimientos subóptimos de SPR a partir de los resultados de las puntuaciones de parsimonia, aproximación utilizada como filtro en esta ocasión. Este cambio permite mejorar la optimización de la verosimilitud de las topologías.

En la realización de nuestras topologías, la estrategia de reordenación de ramas utilizada fue PhyML 3.0-SPR con las modificaciones de Guindon *et al*. (2010).

7.4.14.2.2. Soporte de ramas con PhyML

Existen diferentes pruebas estadísticas para determinar la confianza del resultado de un análisis filogenético. Estas pruebas ofrecen medidas de apoyo a las ramas de los árboles que se han obtenido (Abascal *et al*., 2014; Aguado *et al*., 2014).

El algoritmo de PhyML 3.0 lleva a cabo un análisis de soporte de ramas utilizando la técnica clásica de bootstrap no paramétrico, así como otras aproximaciones diferentes.

El método estadístico de bootstrap no paramétrico es un procedimiento común en la evaluación de la confianza de los análisis filogenéticos, interpretándose generalmente como una medida de la probabilidad de que una estimación filogenética represente la verdadera filogenia (Hillis y Bull, 1993). Este método consiste en el re-muestreo con reemplazamiento de caracteres de una matriz original de ADN, para posteriormente generar "pseudoréplicas" de esa matriz, con la misma longitud que la matriz original (Felsenstein, 1985; Holder y Lewis, 2003; van de Peer, 2009). Se considera que cada carácter ha evolucionado de manera independiente de los otros caracteres de la matriz de ADN, de acuerdo a un proceso estocástico que tiene entre sus parámetros la topología y la longitud de las ramas (Felsenstein, 1985). Durante el proceso de re-muestreo con reemplazamiento, puede ocurrir que algunas de las posiciones nucleotídicas se representen en más de una ocasión, mientras que otras no estén representadas (Felsenstein, 1985).

Con las "pseudoréplicas" se obtendrán topologías utilizando un método concreto de inferencia filogenética (en este caso ML), y sobre esas topologías resultantes se analizará la proporción de veces que una estimación de bootstrap contiene al correspondiente grupo monofilético, es decir, el número de veces que se repite un clado determinado de la topología original (Felsenstein, 1985; Abascal *et al*., 2014). El valor obtenido se representará como un

porcentaje de bootstrap sobre los nodos de un árbol final originado como un árbol de consenso por mayoría (Felsenstein, 1985; Aguado *et al*., 2014). La proporción de bootstrap de cada clado es considerada como la confianza estadística que apoya la monofilia de cada nodo (van de Peer, 2009).

Bajo circunstancias normales, se ha considerado que una proporción de bootstrap con valores iguales o superiores a 70% representan soportes elevados (van de Peer, 2009). Sin embargo, aunque como norma general se considera que valores de bootstrato de 70% - 80% son una evidencia suficiente para evaluar el soporte de ramas, esta interpretación ha sido objeto de un intenso debate desde la década de los 90 del siglo XX (Guindon *et al*., 2010).

Los valores bajos en las proporciones de bootstrap representan una falta de robustez en los nodos, y suelen asociarse a la presencia de un patrón conflictivo entre los caracteres analizados para ese nodo. En estos casos, bootstrap ofrece información sobre la presencia de un conflicto, pero no permite determinar visualmente la localización de las posiciones nucleotídicas donde se encuentra ese o esos caracteres conflictivos, ni tampoco permite conocer la naturaleza del carácter conflictivo ni tampoco otros patrones alternativos de relaciones entre las secuencias (Morrison, 2005).

El análisis del soporte de ramas mediante bootstrap de las inferencias de esta investigación se realizó mediante 500 pseudoreplicaciones de bootstrap, que se llevaron a cabo utilizando las plataformas PhyML y e-biothon (www.e-biothon.fr), esta última diseñada especialmente para realizar análisis de soporte de ramas mediante bootstrap.

Además, el algoritmo de PhyML 3.0 lleva a cabo un análisis de soporte de ramas utilizando la técnica clásica de bootstrap no paramétrico, así como otras aproximaciones diferentes. Una de estas aproximaciones consiste en implementar el método paramétrico de *approximate Likelihood Ratio Test* (aLRT) (Anisimova y Gascuel, 2006), y su variante optimizada para desarrollarse bajo una aproximación no paramétrica tipo Shimodaira-Hasegawa bajo entorno de PhyML 3.0: SH-aLRT (Guindon *et al*., 2010).

El método de *Approximate likelihood ratio test* (aLRT) utiliza un enfoque comparativo. A partir de una zona concreta de ramas internas de la topología, aLRT compara su configuración con dos subconjuntos alternativos que se pueden sugerir para esa misma zona mediante NNI. Posteriormente calcula la verosimilitud de esas dos alternativas locales y lleva a cabo el cálculo de aLRT, que se basa en el logaritmo de la proporción entre el valor de verosimilitud de la

topología actual y el valor de verosimilitud de la topología considerada como mejor alternativa (Guindon *et al*. 2010).

En las topologías de ML obtenidas en esta investigación, hemos analizado el soporte de ramas utilizando, además, la aproximación de SH-aLRT (Guindon *et al*. 2010). Esta prueba no paramétrica se caracteriza por ser un análisis robusto y aconsejable para ser usado en situación que se alejan bastante de las asunciones del modelo evolutivo. Además, en más conservador que aLRT, y la más potente de las pruebas no paramétricas (comparada con el bootstrap y una versión rápida de bootstrap, según Guindon *et al*., 2010; Anisimova *et al*., 2011). Se ha considerado que valores comprendidos entre 0,8 – 0,9 son suficientemente adecuados para considerarlos como umbrales de selección de ramas (Anisimova *et al*., 2011).

7.4.14.2.3. Análisis de datos

Los análisis filogenéticos de ML se han llevado a cabo de manera secuencial sobre 3 grupos de matrices de secuencias (Tabla 7.4.10.6):

- **Análisis filogenético 1:** Una matriz con todas las secuencias antiguas de esta investigación utilizadas en esta sección (*n*=80), donde se maximizó la longitud de la secuencia de ADN mitocondrial recuperada. Se han analizado 399 nucleótidos comprendidos entre las posiciones nucleotídicas 15.444 - 15.842.
- **Análisis filogenético 2:** Una matriz acondicionada a las posiciones nucleotídicas 15.494 – 15.740 (247 nucleótidos) con todas nuestras secuencias antiguas de esta sección, y 113 secuencias antiguas de otras investigaciones. Estas 113 secuencias antiguas contienen las 34 secuencias eliminadas en los gráficos de redes. Las 79 secuencias restantes representan haplotipos observados en el gráfico de redes 1.
- **Análisis filogenético 3:** Una matriz acondicionada a las posiciones nucleotídicas 15.494 – 15.740 (247 nucleótidos) con todas nuestras secuencias antiguas de esta sección y 216 secuencias de caballos antiguos y modernos ibéricos o de origen ibérico. Estas secuencias representan a las 34 secuencias eliminadas y a haplotipos observados en el gráfico de redes 2.

Tabla 7.4.10.6. ***Características de los tres grupos de matrices analizados.***

ANÁLISIS FILOGENÉTICO	SECUENCIAS						
	Jansen	Achilli	Esta investigación	Antiguas	Modernas	Grupo externo	TOTAL
1	17	81	80	0	0	4	182
2	17	81	80	113	0	4	295
3	17	81	80	216		4	398

Todas las matrices se acompañaron con las secuencias sintéticas de Jansen *et al*. (2002) y las secuencias de Achilli *et al.* (2012). Como grupo externo se han utilizado la secuencia de Referencia para *Equus asinus* X97337 y cuatro secuencias de *Hippidion saldiasi* (KM881671, KM881672, KM881673) (Xu *et al*., 1996; Der Sarkissian *et al*., 2015a).

Posteriormente, todas las topologías se analizaron con el programa informático para visualización de árboles filogenéticos FigTree 1.4.2 (http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/).

7.4.14.3. Análisis bayesianos

El método de análisis filogenético de inferencia bayesiana (IB) está basado en el cálculo de la probabilidad *a posteriori* o de probabilidad posterior, en probabilidades que son estimadas después de adquirir un conocimiento previo de los datos (Huelsenbeck y Ronquist, 2001; Aguado *et al*., 2014). El criterio de optimización implementado en inferencia bayesiana propone que la mejor estima filogenética es aquella que maximiza la probabilidad *a posteriori* de que un árbol sea el correcto (Holder y Lewis, 2003; Aguado *et al*., 2014). Por lo tanto, el árbol con el mayor valor de probabilidad posterior puede ser considerado como la mejor estimación de una filogenia (Huelsenbeck *et al*., 2001).

El cálculo de la probabilidad *a posteriori* se obtiene a partir del principio matemático del reverendo T. Bayes, y posteriormente desarrollado por P. S. Laplace (Bertsch, 2012). Este principio matemático se denominó en un comienzo la probabilidad de las causas, término que con el tiempo derivaría en el principio de probabilidad inversa, estadística bayesiana, regla de Bayes o teorema de Bayes (Bertsch, 2012).

La inferencia bayesiana se basa en el cálculo de la probabilidad posterior de un árbol, o dicho de otro modo, la probabilidad de que un árbol sea el correcto, dados unos datos, un

modelo evolutivo y una información previa (Huelsenbeck *et al*., 2001; Holder y Lewis, 2003; Abascal *et al*., 2014). La expresión matemática de la regla de Bayes fue desarrollada por P. S. Laplace (Bertsch, 2012), y presenta el siguiente desarrollo:

$$P(H|D) = [P(D|H)xP(H)]/P(D)$$

donde D = datos, H = Hipótesis, y cada componente de la fórmula representa la siguiente función (Huelsenbeck y Ronquist, 2001; Huelsenbeck *et al*., 2001; Ronquist *et al*., 2009; Bertsch, 2012; Abascal, *et al*., 2014; Aguado *et al*., 2014):

1. P(H|D) es la probabilidad posterior o *a posteriori*. Es la probabilidad de que una hipótesis sea correcta asumiendo una información dada (los datos o matriz de ADN) asociada a una información previa. Cuando los datos son informativos, la mayoría de la probabilidad posterior se concentra en un árbol o un pequeño subconjunto de árboles de todo el espacio muestral.
2. P(D|H) es la verosimilitud o la probabilidad de los datos de acuerdo con la hipótesis (topología con su longitud de ramas y modelo evolutivo).
3. P(H) es la probabilidad de la hipótesis *a priori* o prior, la probabilidad previa de parámetros como la topología, o las longitudes de las ramas, o parámetros del modelo de sustitución. Es la estimación inicial que hayamos hecho de la probabilidad de esa hipótesis, o probabilidad previa de una filogenia.
4. P(D) es un factor de normalización que se corresponde con la probabilidad marginal de los datos. Es la suma de todas las topologías posibles (todas las hipótesis posibles) independientes para nuestro conjunto de taxones, y para cada topología una integral sobre todas las combinaciones de longitudes de rama y los parámetros de sustitución del modelo evolutivo, ponderando cada valor en función de su probabilidad *a priori*. Se calcula como el sumatorio de la probabilidad de cada evento si sucediera independientemente, es decir, el sumatorio de la probabilidad de nuestros datos para cada uno de los árboles (todas las hipótesis posibles).

Desde una perspectiva matemática, en la inferencia bayesiana el cálculo de la probabilidad posterior de un árbol implica evaluar todos los árboles posibles y para cada árbol, analizar todas las combinaciones posibles de longitudes de rama y parámetros del modelo evolutivo (Huelsenbeck *et al*., 2001; Abascal *et al*., 2014; Aguado *et al*., 2014). Como este análisis es imposible de resolver analíticamente (Huelsenbeck y Ronquist, 2001), se utiliza una aproximación a través de un método estocástico multidimensional, que evita el cálculo directo

de probabilidades posteriores y además, permite aproximarnos a la distribución de la probabilidad posterior (Huelsenbeck *et al*., 2001; Holder y Lewis, 2003; Abascal *et al*., 2014; Aguado *et al*., 2014). Este método estocástico consiste en la utilización del algoritmo de cadenas de Markov de Montecarlo (MCMC, *Monte Carlo Markov Chains*) (Huelsenbeck *et al*., 2001; Huelsenbeck y Ronquist, 2001).

El algoritmo de MCMC muestrea topologías y sus parámetros asociados de acuerdo a sus probabilidades posteriores (Aguado *et al*., 2014). Las MCMC buscan al azar a través de un espacio muestral multidimensional hasta estabilizarse en una distribución en equilibrio de árboles y sus parámetros asociados, sin importar cual haya sido el punto de comienzo (Ronquist *et al*., 2009; Aguado *et al*., 2014). Esta distribución representa una muestra de la distribución de probabilidad posterior. De este modo podemos aproximar el área bajo la curva que representa la distribución de densidad probabilística posterior para inferencias complejas (Aguado *et al*., 2014; Abascal *et al*., 2014).

La técnica de MCMC se desarrolla sobre una serie de pasos que originan una cadena conceptual (Holder y Lewis, 2003). MCMC comienza seleccionado al azar un árbol (se realiza una combinación al azar de topologías, longitudes de ramas y parámetros de modelo) sobre el que se llevarán a cabo modificaciones, generando nuevos árboles que serán evaluados (Huelsenbeck *et al*., 2001; Ronquist *et al*., 2009). Estos nuevos árboles recibirán el nombre de generaciones (Ronquist *et al*., 2009; Abascal *et al*., 2014). Los MCMC modifican ligeramente de manera aleatoria una de las variables del árbol inicial (asociada a la topología, a una longitud de rama concreta o al valor de un parámetro del modelo evolutivo), generando un nuevo árbol que se somete a evaluación. Después de cada generación, el árbol propuesto se acepta o rechaza en función del valor de la razón de las probabilidades posteriores del estado propuesto y del actual (Huelsenbeck *et al*., 2001; Holder y Lewis, 2003; Ronquist *et al*., 2009; Abascal *et al*., 2014). Cuando el valor de la razón es mayor que 1, el estado nuevo es el más probable y se acepta la nueva distribución posterior de parámetros inferidos, continuando entonces MCMC desde este nuevo árbol o generación (Ronquist *et al*., 2009; Abascal *et al*., 2014). Si el valor de la razón es menor que 1, el cambio se aceptará o rechazará según el valor que tome la razón entre las probabilidades posteriores del estado propuesto y del actual (Abascal *et al*., 2014). En este caso, el nuevo cambio se puede aceptar con una probabilidad proporcional al empeoramiento producido (Ronquist *et al*., 2009; Aguado *et al*., 2014). Resultados que ofrecen pequeñas disminuciones en las probabilidades posteriores a menudo son aceptados, pero no resultados que tienen asociados grandes disminuciones de la

probabilidad posterior (Holder y Lewis, 2003). Si no se acepta el cambio, la próxima generación de la cadena estará caracterizada por el estado actual. De este modo, las dos últimas generaciones serán idénticas (Holder y Lewis, 2003). Las cadenas de Markov son procesos estocásticos que no tienen memoria, la probabilidad de cambio en un estado depende solo del estado actual, y no de los estados anteriores (Aguado *et al*., 2014; Abascal *et al*., 2014).

De manera general, este proceso se lleva a cabo durante miles o millones de generaciones (Huelsenbeck y Ronquist, 2001), hasta un momento en el que MCMC llegue a muestrear cada valor de topologías, longitudes de ramas y parámetros del modelo evolutivo un número de veces proporcional a la probabilidad posterior de ese valor (Huelsenbeck *et al*., 2001; Holder y Lewis, 2003; Ronquist *et al*., 2009). De este modo, si una rama de la topología presenta un valor de probabilidad posterior de 0,9, MCMC habrá muestreado durante el 90% del tiempo (o de las generaciones) esa topología durante la fase estacionaria (Ronquist *et al*., 2009; Abascal *et al*., 2014). La aproximación a la probabilidad posterior será más exacta cuanto mayor sea el número de generaciones evaluadas por MCMC (Abascal *et al*., 2014).

La primera fase de generaciones iniciales se denomina *fase de burnin* (o *burn in*) o *calentamiento*. Esta fase se caracteriza porque los árboles resultantes se van a originar a partir de combinaciones aleatorias de topologías, longitudes de ramas y valores para los parámetros del modelo evolutivo, presentando por lo tanto valores bajos de probabilidad posterior (Ronquist *et al*., 2009; Abascal *et al*., 2014). Esta fase es seguida por la *fase estacionaria*, donde los árboles arrojados por estas generaciones se caracterizarán por presentar probabilidades posteriores elevadas.

Para evitar que las cadenas de Markov de Montecarlo queden atrapadas en máximos locales, el análisis de inferencia bayesiana se lleva a cabo utilizando varias cadenas en paralelo (Huelsenbeck *et al*., 2001; Abascal *et al*., 2014). Para este proceso se utiliza el algoritmo de "Metropolis Coupling" vía cadenas de Markov de Montecarlo (MCMCMC o MC^3) (Huelsenbeck *et al*., 2001; Huelsenbeck y Ronquist, 2001; Ronquist *et al*., 2009; Aguado *et al*., 2014). Esta técnica de utilización de varias cadenas simultáneas mejora el proceso de exploración del espacio muestral, facilitando la convergencia (Ronquist *et al*., 2009). En las inferencias bayesiana llevadas a cabo con el software MrBayes (Huelsenbeck y Ronquist, 2001; Ronquist y Huelsenbeck 2003; Ronquist *et al*., 2012), utilizan *n* cadenas, donde *n* - 1 se denominan cadenas "calientes" (Huelsenbeck y Ronquist, 2001). Generalmente se implementan de manera simultánea cuatro cadenas MCMC, una denominada cadena "fría" y las tres restantes denominadas cadenas "calientes". La cadena "fría" se caracteriza por presentar en cada

momento una mayor probabilidad posterior. En el espacio multidimensional a explorar por las MCMC, las cadenas "calientes" se encargan de suavizar el relieve del entorno (Huelsenbeck, y Ronquist, 2001), elevando la probabilidad posterior de los árboles visitados a una potencia entre 0 y 1 (Abascal, *et al*., 2014). De este modo, las cadenas "calientes" van a favorecer una exploración más exhaustiva del espacio muestral multidimensional, ya que van a permitir saltos entre picos locales de probabilidad posterior elevada entre la cadena "fría" y las "calientes", reduciendo la posibilidad de que la cadena "fría" quede atrapada en máximos locales del espacio muestral multidimensional (Huelsenbeck y Ronquist, 2001; Aguado *et al*., 2014; Abascal *et al*., 2014). Al ser la cadena "fría" la que presenta en cada momento los valores de probabilidad posterior más elevados, será aquella de la que se tomen las muestras para el cálculo final de la probabilidad posterior (Huelsenbeck y Ronquist, 2001; Aguado *et al*., 2014; Abascal *et al*., 2014).

Para llevar a cabo un muestreo más exhaustivo del espacio multidimensional, el análisis de inferencia bayesiana se realiza por duplicado de manera simultánea, interviniendo generalmente en cada análisis simultáneo las cuatro cadenas mencionadas en el párrafo anterior (ocho cadenas en total). El análisis de la convergencia de las cadenas "frías" de cada una de las dos ejecuciones simultáneas, permitirá conocer si MCMC ha explorado de manera eficiente el espacio muestral multidimensional (Abascal *et al*., 2014). Un diagnóstico de convergencia habitual consiste en analizar las diferencias entre los promedios de las desviaciones estándar de las frecuencias de bifurcaciones de las ramas de los árboles "*average standar deviation of split frequencies*". Un valor menor a 0,01 para las desviaciones estándar medias se asocia a una convergencia entre las dos ejecuciones simultáneas de la inferencia bayesiana (Ronquist *et al*., 2009; Abascal *et al*., 2014).

En esta investigación para evaluar la convergencia a fase estacionaria también hemos considerado la distribución aleatoria de los valores de log*L* asociados a cada generación, y hemos analizado la convergencia de parámetros escalares continuos estudiando el *Potential Scale Reduction Factor* – PSRF. La función de PSRF consiste en comparar la varianza entre los dos análisis de inferencia bayesiana con la varianza dentro de cada uno de los análisis. Si en los análisis las cadenas se originan a partir de puntos muy distantes, la varianza entre los dos análisis será mayor que la varianza dentro de cada análisis. A medida que las cadenas convergen, las varianzas serán muy similares, y los valores de PSRF estarán cercanos a 1,0 (Ronquist *et al*., 2009).

Para la estimación final del árbol, se descartan todos los árboles de la *fase de burnin* que se caracterizaban por presentar probabilidades posteriores bajas. Los árboles de esta etapa van a estar muy influenciados por sus arbitrarios puntos de inicio (Ronquist *et al*., 2009). Con los árboles de la *fase estacionaria* se genera un árbol definitivo mediante un consenso de mayoría, donde se combinan aquellos clados que aparecen en, por lo menos, un 50 % de las topologías de la *fase estacionaria* (Ronquist *et al*., 2009; Aguado *et al*., 2014). Ese árbol consenso incluirá la incertidumbre que se haya generado en la determinación de la topología, las longitudes de las ramas y en los parámetros del modelo evolutivo.

La robustez del árbol final se determina por las probabilidades posteriores obtenidas por el proceso de búsqueda por MCMC (Abascal *et al*., 2014). Se utilizan los árboles recuperados durante la fase estacionaria, y se analiza la frecuencia de aparición de los nodos, expresando la frecuencia mediante valores de probabilidad posterior (Abascal *et al*., 2014). Se ha considerado que valores de probabilidad posterior por debajo de 0,9 no son valores fiables (Aguado *et al*., 2014), llegando a considerar la robustez de un nodo con valores superiores a 0,95 (Abascal *et al*., 2014).

Se han realizado múltiples estudios comparativos sobre la robustez del árbol mediante probabilidad posterior y proporciones de bootstrap En algunos casos se ha propuesto que los resultados de probabilidad posterior pueden presentar valores demasiado altos, considerándolos liberales y susceptibles de aumentar la probabilidad de selección de falsos positivos (Suzuki *et al*., 2002). En cambio, se ha observado que los valores de bootstrap de los análisis no paramétricos ofrecen una estimación más conservadora de la confianza estadística (Hillis y Bull, 1993; Suzuki *et al*., 2002).

A diferencia de la Máxima Verosimilitud, donde se recupera una única topología, con la inferencia bayesiana no se va a determinar un único árbol filogenético con la máxima probabilidad posterior. En su lugar, incorpora una gran muestra de árboles con probabilidad posterior elevada (con sus topologías y longitudes de rama) (Huelsenbeck *et al*., 2001; Abascal *et al*., 2014). Este conjunto de árboles, generalmente va a incluir al árbol de máxima verosimilitud, pero también contemplará otros árboles cuyo valor de verosimilitud es ligeramente menor (Abascal *et al*., 2014). La ventaja de integrar varios árboles en la inferencia bayesiana, es que se tiene en cuenta la incertidumbre presente en la estimación de la topología, las longitudes de rama y los parámetros del modelo evolutivo (Abascal *et al*., 2014).

Otra diferencia importante señala que en la inferencia bayesiana es necesario especificar la distribución previa de todos los parámetros, característica que nos permite incorporar cierto conocimiento previo en el análisis (Holder y Lewis, 2003; Abascal, *et al*., 2014). Cuando este conocimiento no está al alcance del investigador, generalmente se utilizan distribuciones previas equiprobables (no informativas o *flat priors*). De este modo las diferencias observadas de probabilidad posterior dependerán principalmente del valor de verosimilitud (Holder y Lewis, 2003; Abascal *et al*., 2014).

7.4.14.3.1. Análisis de datos

Los análisis filogenéticos bayesianos se han llevado a cabo de manera secuencial sobre 3 grupos de matrices de secuencias, de manera similar a ML (Tabla 7.4.10.6):

- **Análisis filogenético 1 con IB:** El análisis se llevó a cabo bajo el modelo evolutivo K80. Se realizaron dos ejecuciones en paralelo con 4 cadenas cada una (tres "calientes" y una "fría") durante 22.000.000 de generaciones, con una frecuencia de muestreo cada 2200 generaciones. Para la *fase de burn in* se descartó el 25% de las topologías iniciales.
- **Análisis filogenético 2 con IB:** Análisis realizado bajo el modelo evolutivo GTR + G (0,404), con dos ejecuciones en paralelo con tres cadenas "calientes" y una "fría" en cada ejecución. El espacio multidimensional se muestreó durante 32.000.000 de generaciones con una frecuencia de muestreo cada 2200 generaciones. Para la *fase de burn in* se descartó el 25% de las topologías iniciales.
- **Análisis filogenético 3 con IB:** Análisis realizado con el modelo evolutivo GTR + I (0,0510) + G (0,5590). Se ejecutaron dos análisis en paralelo con tres cadenas "calientes" y una "fría" en cada uno. El espacio multidimensional se muestreó durante 50.000.000 de generaciones con una frecuencia de muestreo cada 2200 generaciones. Para la *fase de burn in* se descartó el 25% de las topologías iniciales.

Posteriormente, todas las topologías se analizaron con el programa informático para visualización de árboles filogenéticos FigTree 1.4.2 (http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/).

7.4.15. Análisis de Componentes Principales

El Análisis de Componentes Principales (PCA*, Principal Component Analysis*) es un método de reducción de la dimensión que intenta explicar la varianza existente en un conjunto de datos multivariantes, utilizando solamente un conjunto reducido de nuevas variables que van a explicar las principales direcciones de variación en los datos. Este conjunto reducido de variables son los denominados componentes principales (CP o PC, *Principal Component*), que son combinaciones lineales de las variables originales (Cardinali *et al*., 2016). En nuestros análisis, las variables originales son los porcentajes de las frecuencias relativas observadas de los haplogrupos de las poblaciones ibérica, europea, asiática y americana. De este modo, los haplogrupos son considerados como variables discretas y, después de la reducción de variables, los componentes principales explican la mayor cantidad de variación que está presente en los haplogrupos (Cardinali *et al*., 2016). El PCA se ha llevado a cabo utilizando la información consenso obtenida de los gráficos de redes y de los análisis ML para las muestras antiguas de las poblaciones ibérica, europea, asiática y americana (Anexo XIX). De 425 secuencias antiguas, se han podido utilizar para el PCA un total de 327 (Anexo XIX).

El objetivo del análisis de PCA ha sido la caracterización de las poblaciones ibéricas antiguas en base a su composición de haplogrupos, e indicar su afinidad dentro de la diversidad del ADN mitocondrial, comparándolas con otras poblaciones euroasiáticas y americanas. Respecto a la nomenclatura de los haplogrupos de los caballos modernos, para una mayor facilidad de lectura del análisis bidimensional, se ha utilizado únicamente la nomenclatura de Achilli *et al*. (2012). En total se han utilizado 20 haplogrupos para realizar el PCA. Los haplogrupos definidos por Achilli *et al* (2012) fueron A-B, D, E, G, H, I, J, K, L, C1/M, N, O-P, Q y R, donde A-B y O-P son cuatro haplogrupos fusionados en dos conjuntos (y considerados cada uno como un haplogrupo). Además, se ha utilizado el haplogrupo Lusitano C (Lopes *et al*., 2005) y cinco nuevos haplogrupos identificados en este trabajo y definidos por las muestras CFo2, CDS04, CDS21, CDS26 y 168. Para no confundirlos con las muestras, se han denominado con las siglas Hg (haplogrupo) delante del nombre de que define al haplogrupo.

Los análisis de PCA se han llevado a cabo usando la función *prcomp* y el paquete *factoextra* implementados en el software R 3.3.1 (R Development Core Team, 2017, http://www.r-project.org). La reducción de la dimensión se ha representado en un espacio bidimensional en función de los componentes principales 1 y 2 (CP1 y CP2), que han representado las dos direcciones con los mayores valores de variación.

Las poblaciones que se han diferenciado para realizar este análisis han sido, para América: Pleistoceno (AmPle); para Europa: Pleistoceno (EurPle), Calcolítico (EurC), Edad del Bronce (EurBr), Edad del Hierro (EurHie), momentos históricos (EurHist); para Asia: Pleistoceno (AsPle), Edad del Bronce (AsBr), Edad del Hierro (AsHie), momentos históricos (AsHist).

En estos análisis no hay muestras europeas ni asiáticas mesolíticas/neolíticas, porque no se pudieron seleccionar para la realización de los PCA. Por su parte, no hay muestras asiáticas calcolíticas porque no se han encontrado entre la muestra de comparativa descargada del GenBank.

En relación a la península ibérica, las poblaciones que se han definido han sido: Pleistoceno (IbPle), Mesolítico/Neolítico (IbMeNe), Calcolítico precampaniforme (IbCPr), Calcolítico campaniforme (IbCmp), Calcolítico (IbC), Bronce antiguo (IbBrA), Bronce medio (IbBrM), Edad del Bronce (IbBr), Edad del Hierro (IbHie) y momentos históricos (IbHist). Debido a que el momento considerado como más probable para la presencia de caballos domésticos en Iberia tuvo lugar durante el Calcolítico (Precampaniforme o Campaniforme) o la Edad del Bronce (Bronce antiguo, Bronce medio o Bronce final), se ha intentado asociar con mayor precisión a estas etapas culturales a las muestras ibéricas de estos análisis. La mayoría de las muestras ibéricas calcolíticas y de la Edad del Bronce proceden de El Portalón y, la asociación cultural se ha realizado atendiendo a la estratigrafía de este yacimiento y a la información de radiocarbono obtenida de las propias muestras (Tabla 7.4.7.1, Tabla 7.4.7.6, Tabla 8.1.7.3). Las poblaciones calcolíticas se han analizado considerando su asociación cultural Precampaniforme o Campaniforme y, para las muestras de la Edad del Bronce se ha tenido en cuenta su vinculación con el Bronce antiguo o el Bronce medio. En los casos en los que no se ha podido concretar con más exactitud la asociación cultural de las muestras, éstas aparecen como muestras calcolíticas o de la Edad del Bronce.

7.4.16. Análisis de diversidad nucleotídica

Las poblaciones que se han diferenciado para realizar este análisis han sido, para América: Pleistoceno (AmPle); para Europa: Pleistoceno (EurPle), Calcolítico (EurC), Edad del Bronce (EurBr), momentos históricos (EurHist); para Asia: Pleistoceno (AsPle), Edad del Bronce (AsBr), Edad del Hierro (AsHie).

En estos análisis no hay muestras europeas mesolíticas/neolíticas ni de la Edad del Hierro, debido al reducido número de secuencias de estos momentos culturales recuperadas del GenBank (Anexo I). Por el mismo motivo, tampoco se ha podido analizar la diverisdad nucleotídica de muestras asiáticas mesolíticas/neolíticas, calcolíticas o de momentos históricos debido a la ausencia completa o presencia muy reducida de muestras de estas poblaciones en el GenBank.

En relación a la península ibérica, las poblaciones que se han definido han sido nuevamente: Pleistoceno (IbPle), Mesolítico/Neolítico (IbMeNe), Calcolítico precampaniforme (IbCPr), Calcolítico campaniforme (IbCmp), Calcolítico (IbC), Bronce antiguo (IbBrA), Bronce medio (IbBrM) y Edad del Bronce (IbBr). Debido a que el momento considerado como más probable para la presencia de caballos domésticos en Iberia tuvo lugar durante el Calcolítico (Precampaniforme o Campaniforme) o la Edad del Bronce (Bronce antiguo, Bronce medio o Bronce final), se ha intentado asociar con mayor precisión a estas etapas culturales a las muestras ibéricas de estos análisis, atendiendo a los criterios comentados en el apartado anterior *7.4.15*. *Análisis de Componentes Principales*. La diversidad nucleotídica no se pudo analizar para las muestras ibéricas de la Edad del Hierro y de momentos históricos, debido a su escasa representación.

En relación a las muestras de las poblaciones no ibéricas, las localizaciones o países de las que proceden son las siguientes (Anexo I):

- **América**: Pleistoceno, *n*=87 (Canadá y Estados Unidos).
- **Europa y Asia Menor:** Pleistoceno, *n*=17 (Alemania, Irlanda y Rusia – Urales)**;** Calcolítico, *n*=9 (Moldavia, Rumania y Ucrania)**;** Edad del Bronce, *n*=15 (Armenia, Moldavia, Rumania y Turquía)**;** Momentos históricos, *n*=74 (Hungría, Irlanda, Islandia, Italia, Suecia y Reino Unido).
- **Asia:** Pleistoceno, *n*=15 (Rusia - Siberia); Edad del Bronce, *n*=13 (China y Mongolia); Edad del Hierro, *n*=59 (China, Kazajistán, Mongolia y Rusia – Siberia)**.**

Los análisis se llevaron a cabo para el segmento de ADN comprendido entre las posiciones nucleotídicas 15.494 – 15.740. El análisis de posiciones polimórficas y sus características se realizó con DnaSP v5.10 (Librado y Rozas, 2009). El análisis de determinación de haplotipos y diversidad nucleotídica se llevó a cabo con el paquete *pegas* (Paradis, 2010) implementado en el software R 3.3.1 (R Development Core Team, 2017, http://www.r-project.org). La diversidad nucleotídica se calculó para cada grupo muestral realizando 10.000 repeticiones de bootstrap, recogiendo el valor promedio y el intervalo de confianza al 95%.

7.4.17. Dinámica del tamaño efectivo poblacional de los caballos ibéricos

7.4.17.1. Análisis de la variación en el tamaño efectivo de la población

El estudio de la historia demográfica de los caballos ibéricos se ha realizado analizando la fluctuación en el tamaño efectivo de la población a lo largo de los últimos 50.000 años. El tamaño efectivo tiene en cuenta a aquellos individuos que contribuyen con descendencia en la siguiente generación y por lo tanto, su número es casi siempre más pequeño que el censo poblacional total (Ho y Shapiro, 2011; Rieux y Balloux, 2016). La inferencia de la dinámica poblacional efectiva permite detectar variaciones en los tamaños poblacionales, y estas variaciones permiten formular hipótesis sobre el impacto de factores climáticos o antrópicos sobre esas poblaciones a lo largo del tiempo (Ho y Shapiro, 2011).

Durante los últimos años, los estudios relativos a la historia demográfica de determinadas poblaciones se han llevado a cabo utilizando métodos de gráficos skyline (*Skyline Plot Methods*) basados en inferencias bayesianas. Estos métodos se caracterizan por ser mucho más flexibles que los primeros modelos paramétricos que se utilizaron para realizar estos análisis, y que asumían que la historia demográfica poblacional se ajustaba a distribuciones exponenciales o curvas de crecimiento logístico. En su lugar, los métodos de gráficos skyline permiten explicar patrones complejos en la historia demográfica de las poblaciones (Ho y Shapiro, 2011). Una de las grandes ventajas de los métodos de gráficos skyline es la de poder estudiar los cambios en el tamaño efectivo de una población directamente a partir de una genealogía y sin la necesidad de limitarse a las restricciones impuestas por modelos demográficos previamente elegidos (Ho y Shapiro, 2011). Para llevar a cabo este proceso, los métodos de gráficos skyline fundamentan su desarrollo en el modelo de coalescencia (Kingman, 1982). Aunque el modelo de coalescencia fue inicialmente desarrollado para trabajar con una población analizada en un momento temporal concreto, también puede utilizarse sobre poblaciones asociadas a distintos momentos temporales (Drummond *et al*., 2003).

El modelo de coalescencia describe la relación existente entre la historia demográfica de una población y la ascendencia compartida por individuos muestreados aleatoriamente en esa población y representados por un árbol genealógico (Kingman, 1982; Drummond *et al*., 2003; Ho y Shapiro, 2011). Los eventos de coalescencia describen los procesos estocásticos que

generan genealogías, determinando el momento en el que dos linajes comparten un ancestro común y relacionando por tanto las secuencias muestreadas (Kingman, 1982; Minin *et al*., 2008). El proceso comienza en el tiempo de muestreo *t*=0 y continúa hacia atrás a medida que el tiempo aumenta. En cada tiempo concreto *t*, se produce la coalescencia de una pareja de individuos hasta que todas las secuencias coalescen y, de este modo, se alcance el momento del ancestro común más reciente (*Time to the Most Recent Common Ancestor*, TMRCA) (Minin *et al*., 2008). Moviéndose desde las poblaciones actuales hacia atrás en el tiempo, es posible identificar en una genealogía el número de linajes presentes en cada generación y además cuantificar sus eventos de coalescencia intergeneracional (Minin *et al*., 2008; Ho y Shapiro, 2011). Debido a que la probabilidad de que ocurra un evento de coalescencia en un momento temporal concreto es inversamente proporcional al tamaño poblacional en ese momento temporal, los patrones de coalescencia observados se pueden utilizar para estimar la historia demográfica de una población (Drummond *et al*., 2003). De este modo, los eventos de coalescencia ocurridos en una sucesión rápida, suelen ser indicativos de tamaños efectivos poblacionales pequeños (Ho y Shapiro, 2011).

El estudio de la historia demográfica de las poblaciones se han llevado a cabo sobre una gran cantidad de taxones, desde virus hasta macromamíferos (Rieux y Balloux, 2016). Los análisis con mamíferos se han realizado mayoritariamente sobre el ADN mitocondrial, debido a su elevada tasa de evolución, aparente ausencia de recombinación y trasmisión materna (Ho y Shapiro, 2011). Los métodos de gráficos skyline se han utilizado sobre poblaciones actuales de animales domésticos como cabras (Naderi *et al*., 2008) y caballos (Lippold *et al*., 2011b; Achilli *et al*., 2012), donde se han inferido los momentos temporales asociados a sus procesos de domesticación. Además, se ha comprobado que el poder estadístico de esta prueba aumenta analizando múltiples loci independientes y/o secuencias de distintos momento temporales. Por ese motivo, también se han utilizado los métodos de gráficos skyline con individuos de poblaciones antiguas pertenecientes a taxones actuales o incluso a taxones extintos (Chang y Shapiro, 2015). En estos estudios, el análisis de este tipo de secuencias heterócronas permite obtener estimaciones más precisas del tamaño poblacional y de la tasa de cambio (Drummond *et al*., 2003). De este modo, se ha podido profundizar en el conocimiento y las causas de los cuellos de botella poblacionales y los procesos de extinción que ocurrieron sobre algunos taxones a finales del Pleistoceno. Estos estudios se han realizado analizando principalmente poblaciones procedentes de latitudes septentrionales, y han tenido como protagonistas bisontes (Shapiro *et al*., 2004), osos de las cavernas y osos pardos (Stiller *et al*., 2010) o caballos, renos y bueyes almizcleros (Lorenzen *et al*., 2011), entre otros. Para el caso de los

caballos antiguos, podemos destacar los análisis realizados sobre la región control de *n*= ~35 caballos de raza islandesa datados en 1863 (Campana *et al*., 2012), la región control de *n*=~130 caballos pleistocenos de Europa, Asia y América, siendo los más meridionales unas muestras alemanas (Lorenzen *et al*., 2011), y los mitogenomas completos de *n*=~30 caballos pleistocenos también de Europa, Asia y América, siendo los más meridionales unas muestras de Holanda y Alemania (Orlando *et al*., 2013).

Otra de las ventajas de los métodos de gráficos skyline reside en que no es necesario estimar primero la genealogía de las secuencias para, posteriormente, estimar la historia poblacional sobre la genealogía conseguida. En su lugar, utilizando inferencia bayesiana, los métodos de gráficos skyline combinan estas dos estimaciones en un único marco de análisis. A partir de la matriz de secuencias, se coestima de manera conjunta la genealogía y la historia demográfica (Drummond *et al*., 2005, Ho y Shapiro, 2011). Además, la representación gráfica de la trayectoria del tamaño efectivo ofrece intervalos de credibilidad que incluyen la incertidumbre combinada de la inferencia filogenética y la del proceso de coalescencia. Las estimaciones de estas dos incertidumbres están calculadas bajo el intervalo del 95% de Máxima Densidad Posterior (*Highest Posterior Density*, HPD) (Drummond *et al*., 2005; Ho y Shapiro, 2011), que es el intervalo más corto que contiene al 95% de los valores muestreados (Drummond y Rambaut, 2009).

La historia demográfica de los caballos ibéricos se ha analizado bajo reloj molecular estricto, que es la opción aconsejada para los análisis intraespecíficos (Peterson, 2006; Ho y Duchêne, 2014). El método de gráficos skyline utilizado ha sido *Bayesian skyride* (Minin *et al*., 2008), desarrollado como variante del método *Bayesian Skyline Plot* (Drummond *et al*., 2005). El método de *Bayesian Skyline Plot* utiliza un modelo constante a intervalos, que considera que el tamaño poblacional se mantiene constante en los intervalos de coalescencia, pero puede cambiar de manera instantánea entre intervalos sucesivos y, además, asume que hay una correlación entre los tamaños poblacionales de los sucesivos intervalos de coalescencia. Para cada intervalo, el tamaño poblacional se muestrea a partir de una distribución exponencial que está centrada en el tamaño poblacional del intervalo de coalescencia inmediatamente anterior. De este modo se reduce la probabilidad de que se produzcan grandes cambios poblacionales entre intervalos sucesivos (Ho y Shapiro, 2011). Una de las principales características de *Bayesian Skyline Plot*, es que permite agrupar intervalos de coalescencia en un mismo grupo. Cada grupo puede albergar una cantidad determinada de intervalos de coalescencia, asociados a eventos de coalescencia consecutivos que se encuentran agrupados

bajo un mismo valor de tamaño efectivo de la población (Drummond *et al*., 2005). Esta concentración en grupos de los intervalos de coalescencia reduce el ruido producido por los intervalos de coalescencia cortos (Ho y Shapiro, 2011). El número de grupos debe ser mayor o igual a 1 y, además, menor o igual al número de eventos de coalescencia (definido como número de secuencias genéticas menos 1) (Drummond *et al*., 2005). Sin embargo, en *Bayesian Skyline Plot* el número de grupos no se puede calcular de manera empírica, siendo necesario definirlos previamente a partir de una elección subjetiva (Drummond *et al*., 2005). La determinación del número de grupos es un parámetro crítico en el modelo a analizar, ya que ese número controla el ruido que se genera en la forma de la trayectoria de la dinámica de las poblaciones a lo largo del tiempo (Minin *et al*., 2008).

El método de *Bayesian Skyride* también utiliza un modelo constante a intervalos y asume un grado de correlación entre intervalos consecutivos (Ho y Shapiro, 2011), pero elimina el ruido de la trayectoria de la dinámica poblacional (Minin *et al*., 2008). *Bayesian Skyride* utiliza un Campo aleatorio de Markov Gausiano (*Gaussian Markov Random Field*, GMRF) como información *a priori* de eliminación de ruido, lo que permite generar una trayectoria suavizada del tamaño poblacional entre los intervalos de coalescencia consecutivos y penalizar las grandes diferencias de tamaño entre estos intervalos (Minin *et al*., 2008). Además, esta penalización puede realizarse teniendo en cuenta la longitud del intervalo de coalescencia, y por lo tanto, se puede asociar al factor tiempo. La penalización se ve reducida en los intervalos de coalescencia largos, y en cambio aumenta para las grandes diferencias observadas en el tamaño efectivo de la población entre intervalos de coalescencia cortos y consecutivos (Minin *et al*., 2008; Ho y Shapiro, 2011). Esta situación es equivalente a asumir que el cambio en el tamaño poblacional se produce de manera gradual a lo largo del tiempo (Ho y Shapiro, 2011).

En esta investigación hemos utilizado el método de Bayesian Skyride para analizar la historia demográfica de los caballos ibéricos.

7.4.17.2. Entorno informático utilizado

En la actualidad existen diferentes herramientas informáticas para estimar la dinámica de las fluctuaciones del tamaño efectivo de las poblaciones a partir de secuencias de ADN (Ho y Shapiro, 2011). Uno de los programas informáticos más ampliamente utilizados debido a su enorme versatilidad es BEAST (*Bayesian Evolutionary Analysis by Sampling Trees*) (Drummond

y Rambaut, 2007; Drummond *et al*., 2012). Además, bajo esta plataforma se pueden desarrollar métodos de gráficos skyline (*Skyline Plot Methods*) (Ho y Shapiro, 2011). Bajo la aproximación estadística bayesiana empleada por BEAST, todos los parámetros a analizar presentan una distribución *a priori* que se puede alterar por los datos observados para producir la distribución posterior (o *a posteriori*) (Ho, 2012). En realidad, podríamos considerar a BEAST como un paquete informático, porque para implementar y analizar una matriz de secuencias de ADN en BEAST, es necesario utilizar otros programas asociados (Sauquet, 2013). Para la realización y visualización de fluctuaciones del tamaño efectivo de las poblaciones hemos utilizado los programas asociados BEAUti (*Bayesian Evolutionary Analysis Utility*), Tracer y LogCombiner (Tracer se distribuye por separado) (Drummond y Rambaut, 2007; Drummond *et al*., 2012; Drummond y Buckaert, 2015).

Como BEAST ha sido el marco informático sobre el que hemos analizado las matrices de ADN de este estudio, a continuación pasamos a explicar de manera concisa las labores realizadas con cada uno de los programas informáticos.

La arquitectura del paquete informático BEAST está constituida por varios programas que permiten generar y analizar archivos XML (*eXtensible Markup Language*). Este tipo de archivos ofrece una gran flexibilidad en las especificaciones analíticas, en la selección de las secuencias genéticas, de los modelos, de los priors o información *a priori*, el tipo de calibraciones usadas o de los detalles técnicos del algoritmo de MCMC (relacionados con la distribución de operadores, longitud de la cadena, o diversas opciones sobre los ficheros de salida producidos por BEAST) (Drummond y Rambaut, 2007).

Para generar los ficheros XML con los que se ejecutará BEAST y el posterior análisis de los nuevos ficheros que se obtengan, se dispone de una serie de programas informáticos adicionales (Drummond y Rambaut, 2007):

- El programa BEAUti es una plataforma que permite generar los archivos XML que posteriormente ejecutará BEAST. Con BEAUti se pueden importar datos, seleccionar modelos, definir las distribuciones de los priors para cada parámetro individual del análisis y especificar los ajustes de MCMC.

- El programa BEAST es el que da nombre al paquete informático y la plataforma sobre la que se realizan los análisis de filogenia bayesiana. BEAST produce dos tipos de ficheros: el

fichero ".log" con información de los parámetros analizados y el fichero ".tree" que contiene los resultados obtenidos.

- El programa Tracer (Rambaut y Drummond, 2003; 2009, http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/), es una herramienta gráfica para el análisis de los resultados de MCMC sobre los parámetros y además, permite comprobar el rendimiento y la precisión de los resultados de BEAST al analizar la convergencia en las cadenas MCMC asociadas a los parámetros del fichero ".log".

- El programa LogCombiner permite generar un fichero combinado con la información de varios ficheros de BEAST que representan ejecuciones independientes sobre la misma matriz de secuencias con los mismos parámetros.

El análisis de las cadenas de Markov (MCMC) se utiliza para estimar la distribución posterior de los parámetros estudiados (Ho, 2012). El objetivo consiste en obtener una cantidad de muestras grande en el menor número de pasos y que, además, este muestreo sea lo suficientemente infrecuente como para considerar a las muestras sucesivas independientes unas de otras (Ho, 2012). El programa Tracer permite analizar si el muestreo en cada parámetro ha sido óptimo, evaluando dos criterios capitales de los análisis con BEAST (Ho, 2012): 1) convergencia de la distribución estacionaria en los análisis de MCMC para cada parámetro y 2) los valores alcanzados de tamaño efectivo de la muestra (*Effective Sample Size*, ESS) en la probabilidad posterior de cada parámetro.

Con el programa Tracer inspeccionamos la convergencia de las cadenas de Markov en una distribución estacionaria, se evalúa la mezcla o eficiencia en el proceso de muestreo y además, se obtienen los valores de los estadísticos asociados a los parámetros analizados (Drummond y Rambaut, 2009). En términos de análisis de cadenas de Markov bajo este entorno bayesiano, el proceso de mezcla se refiere a la eficiencia con la cual el algoritmo de MCMC muestrea un parámetro o un conjunto de parámetros. Cuando una cadena de MCMC se ha mezclado bien, las estimaciones obtenidas son precisas. La representación gráfica de una cadena MCMC que se ha mezclado bien se caracteriza por describir fluctuaciones rápidas alrededor de un equilibrio sin mostrar ninguna tendencia obvia. Después de un periodo inicial descartado como *burn-in*, las señales que se observan son variaciones estocásticas alrededor de un valor estable (Kuhner, 2009).

En cada fichero ".log" generado por BEAST y en el fichero combinado generado por LogCombiner, la convergencia en las cadenas de Markov se analiza considerando unos valores

de *burn-in,* que generalmente se ofrecen asociados del 10% respecto al total de pasos desarrollados. El valor de *burn-in* refleja el número de pasos iniciales excluidos del análisis debido a imprecisiones que pueden sesgar los resultados y que sin embargo son necesarias para alcanzar la posterior fase de equilibrio en la distribución estacionaria. Se ha utilizado el valor ofrecido por defecto del 10%, y que no se han utilizado para computar los valores estadísticos de los parámetros (Drummond *et al*. 2007).

Por otro lado, el grado de muestras independientes de la distribución marginal posterior se evaluó cuantificando el valor del tamaño efectivo de la muestra (*Effective Sample Size*, ESS). Este valor es una medida de la correlación entre los pasos de la cadena de Markov y el número de extracciones o muestras independientes de la distribución marginal posterior (Drummond y Buckaert, 2015). ESS es un estadístico que se obtiene del cociente entre la longitud de la cadena (excluyendo el valor de *burn-in*) y el valor del tiempo de autocorrelación (*Auto-correlation time*, ACT). ESS ofrece información sobre el número de muestras independientes que se obtienen de la distribución marginal posterior de cada parámetro. Los valores altos de ESS indican que ha habido un muestreo suficiente de la distribución estacionaria. Con propósitos de publicación, se ha considerado que los valores de ESS asociados a los parámetros deben ser >200, ya que los valores bajos de ESS reflejan un proceso de mezcla deficiente con una cantidad significativa de muestras correlacionadas y que pueden no representar una óptima distribución posterior. Además, cuando un parámetro tiene valores bajos de ESS, el error estándar de la media de ese parámetro es alto (Drummond *et al*. 2007).

7.4.17.3. Utilización de muestras heterócronas

La posibilidad de obtener ADN de muestras asociadas a poblaciones de distintos momentos cronológicos, ha permitido explorar con más profundidad las fluctuaciones poblacionales en su dimensión temporal (Ho, 2012). Estas muestras que pertenecen a distintos momentos temporales reciben el nombre de muestras heterócronas. A diferencia de las muestras obtenidas en un mismo momento temporal, donde no ha habido tiempo suficiente para la acumulación de mutaciones entre esas muestras, las muestras heterócronas pertenecen a poblaciones donde se han ido acumulando mutaciones a lo largo de un intervalo de tiempo determinado y con las que se puede estudiar con más detalle procesos microevolutivos (Drummond *et al*., 2003).

El análisis de dinámica del tamaño efectivo de la población (Ne) se ha llevado a cabo utilizando como únicos puntos de calibración las señales temporales de las secuencias

heterócronas, denominadas en ocasiones como calibraciones de nodos terminales (Rieux y Balloux, 2016). Las inferencias realizadas con este tipo de calibraciones solamente son válidas cuando las dataciones de las muestras heterócronas presentan una señal temporal lo suficientemente amplia como para capturar entre las secuencias de ADN antiguo una cantidad cuantificable de cambio evolutivo (Drummond *et al*., 2003; Rieux y Balloux, 2016), de manera que esa población pueda ser tratada como una *measurably evolving population* (MEP) (Drummond *et al*., 2003), requisito indispensable para utilizar de manera adecuada calibraciones de nodos terminales. En situaciones en las que el intervalo temporal de muestreo es muy corto y la población no se comporta como una MEP, la señal temporal de este tipo de calibraciones se considera inapropiada, ofreciendo estimaciones de tiempos de divergencia o de tasas de evolución incorrectas (Duchêne *et al*. 2015; Rieux y Balloux, 2016).

Por ese motivo, se ha evaluado si las dataciones asociadas a las secuencias están distribuidas en un intervalo temporal lo suficientemente extenso como para considerarlas puntos de calibración correctos (Rieux y Balloux, 2016). Esta prueba se ha llevado a cabo analizando si las secuencias datadas pueden pertenecer a poblaciones que albergan cantidades detectables de cambios nucleotídicos nuevos, detectados entre las secuencias de ADN antiguo obtenidas en distintos momentos temporales (Drummond *et al*., 2003; Duchêne *et al*. 2015). Esta prueba se ha realizado como análisis preliminar al estudio de la dinámica en la variación del tamaño efectivo de las poblaciones.

7.4.17.4. Preparación de las matrices de datos

El estudio de la variación en el tamaño efectivo de las poblaciones de caballos ibéricos se llevó a cabo analizando 1) poblaciones de caballos antiguos, 2) poblaciones de caballos antiguos y modernos ibéricos de razas segregadas y emergentes, 3) poblaciones de caballos antiguos y modernos ibéricos de razas arcaicas y autóctonas y 4) poblaciones de caballos antiguos y los caballos de Achilli *et al*. (2012), que son caballos modernos no ibéricos en su mayoría (Tabla 7.4.10.7).

Tabla 7.4.10.7. ***Matrices de ADN utilizadas en los análisis demográficos***.

MATRIZ	CARACTERÍSTICAS	MUESTRAS	*n*	TOTAL MUESTRAS
n79	Antiguas	Esta investigación	77	**79**
		Otras antiguas	2	
n150	Antiguas y modernas ibéricas segregadas y emergentes	Antiguas	79	**150**
		Garrano	16	
		Marismeño	12	
		Pura Sangre Lusitana	43	
n222	Antiguas y modernas ibéricas arcaicas y autóctonas	Antiguas	79	**222**
		Sorraia	21	
		Asturcón	19	
		Losino	12	
		Mallorquina	6	
		Menorquina	2	
		Pottoka	15	
		PRE	68	
n160	Antiguas y caballos de Achilli	Antiguas	79	**160**
		Achilli	81	

7.4.17.4.1. Matriz de datos con secuencias antiguas

La matriz de caballos antiguos está constituida por 79 secuencias (Tabla 7.4.10.7): 77 de nuestra investigación y dos muestras del Genbank para las que disponemos de dataciones de radiocarbono convencional sin calibrar. Una es la secuencia 169 asociada al caballo paleolítico de Seco Morais *et al*. (2007) y la otra es la muestra 105 de un caballo neolítico de Cieslak *et al*. (2010) (Anexo I). Las únicas secuencias de nuestra investigación no usadas en este análisis fueron las tres secuencias de Bora Gran, debido a que no se puede asegurar con confianza su asociación a la datación pleistocena del yacimiento [ver apartado 8.1.4. *Muestras de Bora Gran d'En Carreras (Serinyà, Girona)*]. El resto de nuestras muestras presentan fechas de radiocarbono convencionales sin calibrar a excepción de la muestra de Jarama JVI03, cuya fecha asociada se obtuvo mediante luminiscencia estimulada por infrarrojos (IRSL)

Aunque en la matriz de 79 secuencias de nuestra investigación hay secuencias con ausencia de información para determinadas secciones de la región control analizada, esta característica no supone una limitación para los análisis con BEAST. Recientemente se ha comprobado que la opción de eliminar las regiones genéticas con datos ausentes ofrece peores resultados en la precisión (amplitud del 95% HPD) de los resultados y en los valores de las probabilidades posteriores (Zheng y Wiens, 2015). Por ese motivo es más adecuado conservar para el análisis las regiones con ausencia de datos, ya que el impacto en las

estimaciones es menor. Además se ha comprobado que, independientemente de los datos ausentes, el principal factor negativo de estos análisis es la inclusión de pocos puntos de calibración y la calidad de los mismos (Zheng y Wiens, 2015).

7.4.17.4.2. Matriz de datos con secuencias antiguas y modernas ibéricas segregadas y emergentes

Esta matriz contiene a las 79 secuencias antiguas comentadas anteriormente y 71 caballos modernos ibéricos de razas segregadas y emergentes (Tabla 7.4.10.7) distribuidos del siguiente modo: Garrano, *n*=16; Marismeño *n*=12 y Pura Sangre Lusitana, *n*=43. En total, esta matriz está constituida por 150 secuencias.

7.4.17.4.3. Matriz de datos con secuencias antiguas y modernas ibéricas arcaicas y autóctonas

Esta matriz está formada por 222 secuencias: las 79 antiguas antes mencionadas y 143 modernas de caballos ibéricos exclusivamente de razas arcaicas y autóctonas (Tabla 7.4.10.7). La raza arcaica ibérica utilizada fue Sorraia, *n*= 21 y los caballos de razas autóctonas se distribuyen entre las razas: Asturcón, *n*=19; Losino, *n*=12; Mallorquina, *n*=6; Menorquina, *n*=2; Pottoka, *n*=15 y Pura Raza Española, *n*=68.

7.4.17.4.4. Matriz de datos con secuencias antiguas y los caballos de Achilli et al. (2012)

Esta matriz está constituida por 160 secuencias: las 79 antiguas ibéricas y los 81 caballos de Achilli *et al*. (2012).

7.4.17.5. Selección del modelo de sustitución nucleotídica

Sobre todas matrices se evaluó el mejor modelo de sustitución nucleotídica que se ajustaba a esos datos mediante jModelTest 2.1.5 (Posada, 2008; Darriba *et al*., 2012). El análisis se llevó a cabo considerando 88 modelos evolutivos teniendo en cuenta la opción de frecuencia desigual entre nucleótidos (+F), la proporción de sitios sin variación (+I) y la posibilidad de heterogeneidad en la tasa de variación (+G) modelada a partir de 4 categorías. Se utilizó la opción optimizada de Máxima Verosimilitud para el cálculo de la topología más

óptima y un análisis de intercambio de ramas combinando NNI y SPR (Posada, 2008). El modelo se seleccionó bajo el Criterio de Información de Akaike corregido (AICc).

7.4.17.6. Análisis de aleatorización de fechas de radiocarbono

El análisis se ha realizado teniendo en cuenta la información de radiocarbono de las secuencias genéticas obtenidas en diferentes momentos temporales. Con la finalidad de evaluar si la señal temporal de estas secuencias presentaba suficiente poder para ser utilizadas como puntos de calibración internos, se ha realizado un análisis de aleatorización (*Date Randomization Test*, DRT) de fechas de radiocarbono como fase previa al estudio de la dinámica poblacional. Este análisis se ha llevado a cabo sobre la matriz con 79 secuencias de ADN antiguo.

Además, se tuvo en cuenta la distribución temporal no uniforme de las secuencias, situación que en otros escenarios ha dado lugar a errores de Tipo II y, ha reflejado casos donde matrices de secuencias con suficiente señal temporal no pasan el análisis (Duchêne *et al*. 2015). Esta situación se produce cuando un conjunto o conjuntos de secuencias de la matriz de datos presentan la misma fecha (asociada a la datación de un nivel estratigráfico, por ejemplo) o fechas muy similares, de tal modo que las secuencias de los conjuntos aleatorizados finales pueden llegar a presentar las mismas fechas que en el conjunto original. Este problema se puede solventar agrupando las secuencias en "grupos de muestreo" que se caracterizan por albergar secuencias con fechas muy similares (Duchêne *et al*. 2015). Posteriormente se realiza el proceso de aleatorización entre las secuencias de los grupos de muestreo, pero no se produce la aleatorización entre las secuencia de un mismo grupo (Duchêne *et al*. 2015; Rieux y Balloux, 2016).

El análisis de DRT se llevó a cabo con el paquete TipDatingBeast (Rieux y Khatchikian, 2017) bajo entorno de R 3.3.1 (R Development Core Team, 2017, http://www.r-project.org). Este análisis se efectuó aplicando la función *RandomCluster* sobre las 79 secuencias distribuidas en 7 grupos (Tabla 7.4.10.8) observándose que hay dos grupos que albergan el ~27 y ~52% de las muestras analizadas. Se han realizado 20 aleatorizaciones siguiendo las recomendaciones de Duchêne *et al*. (2015), con la finalidad de minimizar el error de Tipo I y evitar de este modo que una matriz de datos originales sin señal temporal pase la prueba.

Tabla 7.4.10.8. ***Grupos muestrales del análisis de aleatorización de fechas de radiocarbono***.

GRUPOS MUESTRALES		MARCO CRONOLÓGICO (miles de años BP)	NÚMERO DE MUESTRAS	PORCENTAJE
Características	Número			
Pleistoceno Musteriense	1	57 - 56	1	1,27
Pleistoceno Auriñaciense	2	27,2- 26,5	3	3,80
Pleistoceno Solutrense	3	19 - 17,8	4	5,06
Pleistoceno Magdaleniense	4	14,1 - 12,8	21	26,58
Mesolítico/Neolítico	5	6,25 -6,1	6	7,59
Calcolitico/Bronce	6	4,3 - 3,3	41	51,90
Hierro/Medieval	7	2,5 - 1,0	3	3,80
TOTAL			**79**	**100,00**

Sobre los 20 ficheros XML aleatorizados se ejecutaron análisis con BEAST, y con los 20 ficheros ".log" generados, se llevó a cabo el análisis comparativo mediante la función *PlotDRT* (Rieux y Khatchikian, 2017). La función *PlotDRT* permitió comparar el valor estimado del parámetro asociado a la tasa de evolución (clock.rate en BEAST) entre la matriz de datos original y los 20 conjuntos con las fechas aleatorizadas, aplicando un valor de burnin de 10% para la exclusión de los primeros muestreos en la cadena de Markov (MCMC) (Rieux y Khatchikian, 2017). Los análisis se llevarona cabo utilizando los servicios multicore remotos de CIPRES (Miller *et al*., 2010; http://www.phylo.org/index.php/).

7.4.17.7. Selección de modelos demográficos con Stepping Stone (SS)

Con la finalidad de analizar el rendimiento del modelo de coalescencia de *GMRF Bayesian Skyride*, para todas las matrices de secuencias se repitió el análisis de coalescencia asumiendo en esta ocasión el modelo de tamaño poblacional constante. Posteriormente, se analizó la idoneidad del modelo *GMRF Bayesian Skyride* comparándolo con el modelo de tamaño poblacional constante, calculando con el estimador de Stepping Stone (SS) los valores de verosimilitud marginal de ambos modelos (Baele *et al*., 2012), y contrastando qué modelo es el que mejor se ajusta a los datos (Xie *et al*., 2011).

La selección de modelos se llevó a cabo mediante la evaluación de factores bayes (*Bayes Factor,* BF), que representa la relación entre las verosimilitudes marginales de dos modelos M_1 y M_2 (Xie *et al*., 2011; Baele *et al*., 2012; Ho y Duchêne, 2014):

$$BF = p(D|M_1) / p(D|M_2)$$

Donde p (D| M) es la probabilidad de unos datos bajo un modelo concreto. A esta probabilidad también se la conoce como la verosimilitud marginal del modelo M (Ho y Duchêne, 2014), y mide el ajuste promedio de un modelo a los datos que estamos analizando

(Baele *et al*., 2012). El análisis mediante BF evalúa dos modelos que se están contrastando para un mismo conjunto de datos, donde la verosimilitud marginal penaliza aquellos modelos que presenten características más complejas (Baele *et al*., 2012). De este modo, los valores de BF >1 se consideran evidencias a favor de M_1, mientras que valores de BF <1 se consideran evidencias a favor de M_2. Generalmente, el cálculo suele realizar utilizando el logaritmo de BF y sus resultados se expresan en escala logarítmica. Se ha considerado que las diferencias entre valores de unidades logarítmicas comprendidas entre 1 y 3 ofrecen una evidencia positiva a favor de M_1, valores entre 3 y 5 se consideran como evidencias sólidas a favor de M_1 y valores de diferencias de unidades logarítmicas por encima de 5 se consideran evidencias decisivas a favor de M_1 (Baele *et al*., 2012). De este modo, se pueden tomar decisiones sobre el modelo que mejor se ajusta a unos datos, y usarlo para estimar otros parámetros.

La obtención precisa de estimaciones de verosimilitud marginal es capital para llevar a cabo una posterior selección de modelos. En este contexto se han propuesto varias metodologías para calcular las verosimilitudes marginales de los modelos y evaluar el BF. Uno de los estimadores de verosimilitud marginal más utilizado ha sido el *posterior harmonic mean estimator* (HME) debido a su facilidad de cálculo. No requiere de una significativa demanda de cálculo computacional, debido a que muestrea directamente la distribución posterior para llevar a cabo el cálculo de la selección de modelos (Baele *et al*., 2012). Sin embargo, se ha observado que HME es una estimador fuertemente sesgado, ya que suele sobreestimar la verosimilitud marginal favoreciendo a modelos más complejos y que representan una mayor cantidad de parámetros (Xie *et al*., 2011; Baele *et al*., 2012; Ho y Duchêne, 2014).

Este inconveniente reflejado en HME se ha visto solventado por el desarrollo e implementación de los estimadores *Path Sampling* (PS) -también denominado *Thermodynamic Integration* (TI)- y *Stepping Stone* (SS) (Xie *et al*., 2011; Baele *et al*., 2012). Mediante el análisis de escenarios simulados y casos reales, se ha puesto de manifiesto que ambos métodos superan al método de HME al seleccionar de manera más precisa modelos más realistas y coherentes con las características de los datos analizados (Baele *et al*., 2012). Además, entre PS y SS se ha observado que SS es más rápido que PS en la obtención de estimaciones precisas de la verosimilitud marginal asociada a un modelo (Xie *et al*., 2011). Sin embargo, tanto PS como SS son estimadores mucho más costosos de desarrollar computacionalmente que HME, ya que para calcular las verosimilitudes marginales es necesario implementar cadenas de MCMC adicionales a las cadenas que ya se generaron previamente para desarrollar un modelo demográfico concreto (Baele *et al*., 2012).

Las estimaciones de verosimilitud marginal de este estudio se llevaron a cabo para cada matriz de datos, aplicando SS sobre el modelo *GMRF Bayesian Skyride* y sobre el modelo de tamaño poblacional constante que se utilizó para analizar el rendimiento del primer modelo. Se ejecutaron cadenas de Markov con 1.000.000 iteraciones por *path step*, y se analizaron 100 *path steps*, con una distribución Beta (α; 1,0). Para α se ha utilizado α=0,3, valor considerado como óptimo en el cálculo de la verosimilitud marginal los modelos, al aumentar de manera sustancia la eficiencia de los estimadores (Xie *et al*., 2011).

7.4.17.8. Parámetros implementados en los modelos demográficos

Para poder explicar con detalle los parámetros que se han implementado en BEASTv1.8.1, es necesario que en este apartado ofrezcamos los resultados de selección de modelos evolutivos con jModelTest.

Los análisis se llevarona cabo en ocho ordenadores personales con procesadores IntelCore i5 – i7 y además, se usaron los servicios multicore remotos de CIPRES (Miller *et al*., 2010; http://www.phylo.org/index.php/).

7.4.17.8.1. Matriz de datos con las 79 secuencias antiguas

Los análisis se llevaron a cabo sobre una matriz de 79 secuencias (Tabla 7.4.10.7) bajo el modelo de sustitución nucleotídica de K80+I (0,7680) obtenido con jModelTest bajo AICc.

El análisis de *Bayesian Skyride* sobre la matriz de 79 secuencias se llevó a cabo con BEAST v1.8.1 utilizando las dataciones asociadas a las secuencias como puntos de calibración.

Las distribuciones *a priori* iniciales se han definido de manera ajustada, con la finalidad de conseguir unas distribuciones iniciales con la menor varianza posible y concentrando cerca de la moda los valores que los datos puedan sugerir para los parámetros a analizar (Xie *et al*., 2011). De este modo, se ha buscado que los modelos se ajusten bien a los datos en los análisis bayesianos. Además, la selección de distribuciones *a priori* informativas para los valores de los parámetros provoca que la convergencia de las cadenas de Markov tenga lugar antes, se evita el muestreo de valores no realistas para los parámetros del análisis y, de este modo, se optimiza la inferencia de la probabilidad posterior de los parámetros estudiados.

El análisis se llevó a cabo utilizando el modelo de reloj molecular estricto. La tasa de sustitución se estimó utilizando como distribución *a priori* una distribución normal logarítmica

con valores para la media de 5 x 10^{-4} y para la desviación estándar 1,0. Se ha considerado a este tipo de distribución como la más adecuada para la estimación de la tasa de sustitución, debido a que no permite valores negativos, sitúa la mayor parte de la distribución cerca de 0 y además permite valores mayores con densidades de probabilidad mucho más bajas, convirtiéndose en una distribución *a priori* apropiada para la tasa de sustitución (Drummond y Buckaert, 2015). Para el resto de parámetros y su información *a priori* utilizada en el análisis, el parámetro kappa se estimó a partir de una distribución normal logarítmica con media en 1 y desviación estándar en 1,25, ya que se ha considerado que esta distribución encaja con las evidencias empíricas observadas en el rango de valores de la relación entre transiciones y transversiones (Drummond y Buckaert, 2015). La proporción de posiciones no variables se moduló a partir de una distribución normal con media en 0,768 y desviación estándar en 0,1. La precisión del análisis de *Bayesian skyride* se modeló a partir de una distribución gamma (0,001; 1000).

Sobre esta matriz con 79 secuencias con las características descritas, se llevó a cabo un análisis por duplicado, considerando y sin considerar el *Postmortem Damage Model* (PMD). El modelo PMD es un análisis que nos permite evaluar la probabilidad de que una secuencia observada sea el resultado de un evento de daño *post mortem* (Rambaut *et al*., 2009).

Para implementar el modelo PMD, hemos asumido que una posición nucleotídica se mantiene inalterada con una probabilidad que disminuye de manera exponencial a una tasa *r*. El proceso se ha simulado considerando una probabilidad de $1 - e^{-rt}$ de generarse una transición en cada posición nucleotídica, donde *r* es la tasa de daño *post mortem* y *t* la edad asociada a la secuencia (Rambaut *et al*., 2009). El análisis se realizó ajustando para *r* un valor inicial de 0,7 x 10^{-7} errores por posición nucleotídica y por año, considerando una distribución *a priori* uniforme comprendida entre 0 y 1, de manera similar a Rambaut *et al*. (2009), a partir de la cual se han obtenido los valores de probabilidad marginal posterior de este parámetro.

El análisis se efectuó activando la opción "Auto Optimize" de los operadores asociados a los pasos de las cadenas de Markov de los parámetros estudiados El desarrollo de las cadenas de Markov se llevó a cabo con 100 millones de pasos, muestreando cada 10.000 pasos y consiguiendo 10.000 muestras.

Por defecto, las ambigüedades se tratan como datos desconocidos por razones de eficiencia y de este modo, los cálculos de verosimilitud se pueden realizar el doble de rápidos que considerando las ambigüedades. Sin embargo, en nuestros análisis las ambigüedades se

han modelado teniendo en cuenta cada tipo de ambigüedad. Previamente a la ejecución con BEAST se editaron los ficheros XML para este propósito, modificando el elemento "tree likelihood" y destacando useAmbiguities="true".

Además, cada uno de estos análisis (con PMD y sin PMD) se ejecutó por segunda vez de manera independiente, con la finalidad de comparar los resultados y analizar la convergencia y mezcla de las cadenas de Markov (Drummond *et al*. 2007). Posteriormente, los ficheros obtenidos de las ejecuciones independientes se visualizaron con Tracer v1.5 (Rambaut y Drummond, 2003) y se combinaron en archivos finales con LogCombiner v1.8.1 (Drummond *et al*. 2007).

El programa Tracer v1.5 permitió inspeccionar la convergencia de las cadenas de Markov en una distribución estacionaria y el grado de muestras independientes. En cada fichero ".log" generado por BEAST y en el fichero combinado generado por LogCombiner, la convergencia en las cadenas de Markov se analizó considerando unos valores de *burn-in* asociados del 10% respecto al total de pasos desarrollados. El grado de muestras independientes de la distribución marginal posterior se evaluó cuantificando el valor del tamaño efectivo de la muestra (*Effective Sample Size*, ESS).

7.4.17.8.2. Matriz de datos con 150 secuencias antiguas y modernas ibéricas segregadas y emergentes

Los análisis se llevaron a cabo sobre una matriz de 150 secuencias (Tabla 7.4.10.7) bajo el modelo de sustitución nucleotídica de K80+G (0,198) obtenido con jModelTest bajo AICc.

El análisis se realizó teniendo en cuenta los mismos parámetros detallados en la matriz de 79 muestras antiguas, utilizando las dataciones asociadas a esas secuencias como puntos de calibración. En este análisis, el parámetro *alpha* asociado a la distribución *gamma* se ha modelado a partir de una distribución *a priori* gamma con media en 0,198. Se ejecutaron cadenas de Markov con 100 millones de pasos, muestreando las cadenas cada 10.000 pasos y generando 10.000 muestras.

Se llevaron a cabo cuatro análisis independientes: dos con PMD y otros dos sin PMD. Después de analizarse de manera independiente, se fusionaron con LogCombiner v1.8.1, de manera similar a los análisis realizados sobre la matriz de 79 secuencias antiguas.

7.4.17.8.3. Matriz de datos con 222 secuencias antiguas y modernas ibéricas arcaicas y autóctonas

Los análisis se llevaron a cabo sobre una matriz de 222 secuencias (Tabla 7.4.10.7) bajo el modelo de sustitución nucleotídica de TrN+I (0,477) +G (0,81) obtenido con jModelTest bajo AICc.

El análisis se realizó de manera similar a las matrices de 79 ó 150 muestras, utilizando las dataciones asociadas a las secuencias antiguas como puntos de calibración y con las mismas distribuciones *a priori* para los parámetros de tasa de sustitución, modelo PMD y parámetro de precisión de Skyride. Los parámetros kappa1 y kappa2 asociados al modelo evolutivo TrN se modelaron bajo una distribución *a priori* normal logarítmica con media 1 y desviación estándar 1,25. La variación en las frecuencias del modelo TrN se estimaron a partir de una distribución *a priori* normal con media 0,25 y desviación estándar 0,05. El parámetro *alpha* asociado a la función *gamma* se modeló a partir de una distribución *a priori* gamma con media 0,81. La proporción de sitios que no varían se modeló a partir de una distribución *a priori* normal con media 0,477 y desviación estándar 0,06. Para llevar a cabo este análisis se ejecutaron cadenas de Markov con 300 millones de pasos, muestreando las cadenas cada 30.000 pasos y generando 10.000 muestras.

Se llevaron a cabo cuatro análisis independientes: dos con PMD y otros dos sin PMD que se analizaron por separado y posteriormente se unificaron con LogCombiner v1.8.1, de manera similar a los dos casos anteriores.

7.4.17.8.4. Matriz de datos con 160 secuencias antiguas y los caballos de Achilli et al. (2012)

Los análisis se llevaron a cabo sobre una matriz de 160 secuencias (Tabla 7.4.10.7) bajo el modelo de sustitución nucleotídica de TrNef+ G (0,2050) obtenido con jModelTest bajo AICc.

El análisis se realizó de manera similar a las matrices de 79, 150 ó 222 muestras, utilizando las dataciones asociadas a las secuencias antiguas como puntos de calibración y con las mismas distribuciones *a priori* para los parámetros de tasa de sustitución, modelo PMD y parámetro de precisión de Skyride. Los parámetros kappa1 y kappa2 asociados al modelo evolutivo TrNef se modelaron bajo una distribución *a priori* normal logarítmica con media 1 y desviación estándar 1,25. El parámetro *alpha* asociado a la función *gamma* se modeló a partir

de una distribución *a priori* gamma con media 0,205. Para llevar a cabo este análisis se ejecutaron cadenas de Markov con 100 millones de pasos, muestreando las cadenas cada 10.000 pasos y generando 10.000 muestras.

Se llevaron a cabo cuatro análisis independientes: dos con PMD y otros dos sin PMD, que examinaron por separado y posteriormente se combinaron LogCombiner v1.8.1, de manera similar a los casos anteriores.

7.5. Análisis sobre *Equus hydruntinus*

7.5.1. La muestra del yacimiento de Galería de las Estatuas (sierra de Atapuerca, Burgos)

7.5.1.1. El yacimiento de la Galería de las Estatuas (sierra de Atapuerca, Burgos)

El material de cronología pleistocena que se ha utilizado para los análisis de ADN se ha recuperado del yacimiento de la Galería de las Estatuas. Este es uno de los yacimientos que actualmente se están excavando en la sierra de Atapuerca (Burgos) (Figura 7.5.1). La Galería de las Estatuas forma parte del sistema kárstico de la Cueva Mayor – Cueva del Silo (Arsuaga *et al*., 2017) (Figura 7.5.2).



Figura 7.5.1. ***Localización geográfica del yacimiento de la Galería de las Estatuas (sierra de Atapuerca, Burgos).***

La Galería de las Estatuas es un yacimiento de interior de cueva, y su entrada actual se realiza a través del yacimiento de El Portalón de Cueva Mayor. Sus coordenadas aproximadas son 42° 21’ 2,61’’ latitud Norte y 3° 31’ 3,89’’ longitud Oeste (obtenidas con la aplicación http://www.coordenadas-gps.com/). La Galería de las Estatuas se encuentra ubicada en el nivel superior del karst constituido por la Galería del Sílex-Portalón-Salón del Coro-Galería de las Estatuas (Ortega, 2009) (Figura 7.5.2). El yacimiento está ubicado en el extremo noroeste al final de la Galería, y está aislado del exterior por colmatación de sedimentos detríticos y espeleotemas (Ortega, 2009; Martínez Pillado *et al*., 2010) (Figura 7.5.3). Esta zona se corresponde con una antigua entrada natural hacia el interior de la Galería de las Estatuas, que se colmató de sedimentos y se selló en el Pleistoceno superior (Arsuaga *et al*., 2017).

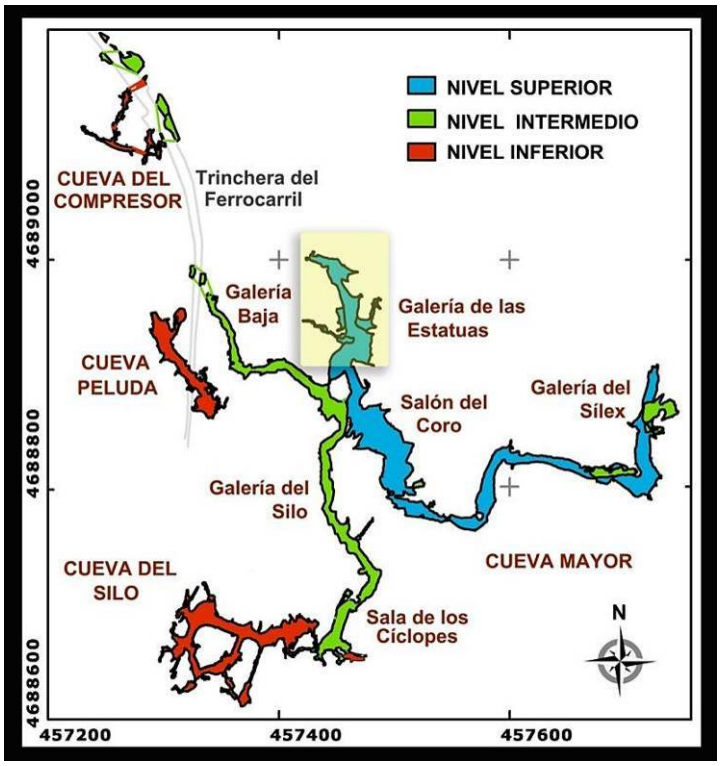


Figura 7.5.2. Planimetría del karst de la sierra de Atapuerca. Se detalla el sistema kárstico Cueva Mayor – Cueva del Silo y las cavidades de Cueva Peluda y Cueva del Compresor. En azul el nivel superior, en verde el nivel intermedio y en rojo el nivel inferior. En letras minúsculas se presentan los nombres de las principales galerías de sistema kárstico. Resaltado sobre fondo amarillo se presenta la Galería de las Estatuas [Imagen modificada de Ortega *et al*. (2013) y Arsuaga *et al*. (2017)].

Toda la superficie del tramo donde está ubicado el yacimiento está cubierta de un espeleotema. Este espeleotema habría sellado el suelo, protegiendo el yacimiento de alteraciones posteriores (Arsuaga *et al*., 2017). Además, en los análisis efectuados sobre la parte superior del espeleotema se han encontrado evidencias de actividades antrópicas realizadas en diferentes momentos de la Prehistoria reciente (Martínez Pillado *et al*., 2010). Estos resultados concuerdan con las evidencias de ocupación humana en el tramo final de la Galería de las Estatuas, documentadas durante las labores de estudio de la evolución geomorfológica del karst de la sierra de Atapuerca (Ortega, 2009).

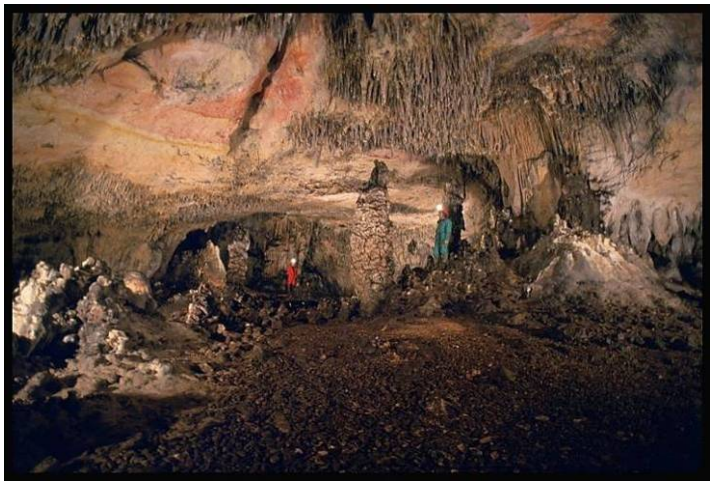


Figura 7.5.3. ***Imagen de la Galería de las Estatuas.*** (Foto: J. Trueba / Madrid Scientific Films).

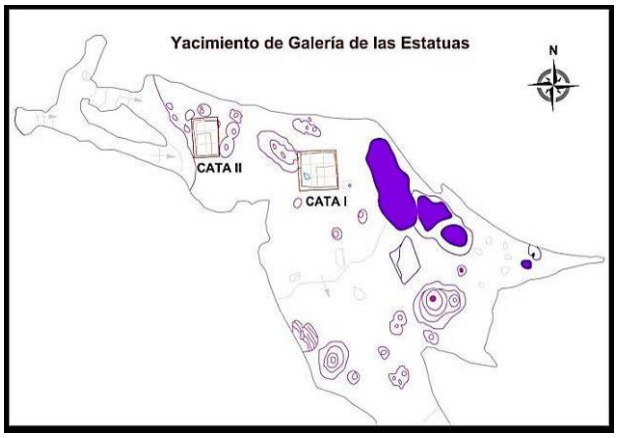


Figura 7.5.4. ***Diagrama del yacimiento de la Galería de las Estatuas, al final de la galería*** (ver Figura 7.5.2). Se detalla la localización de las catas donde se han efectuado las intervenciones arqueopaleontológicas. [Figura modificada de Ortega (2009) y Arsuaga *et al*. (2017)].

Las excavaciones sistemáticas comenzaron en el año 2008 bajo la dirección del profesor J.L. Arsuaga, coordinando los trabajos de campo el Dr. A. Gómez y el investigador A. Bonmatí (Arsuaga *et al*., 2017) (Figura 7.5.4, Figura 7.5.5). Estas labores comenzaron con una intervención arqueopalontológica en un sector denominado Cata I (Figura 7.5.4), localizado a 1013 - 1014 metros sobre el nivel del mar (msnm) (Ortega, 2009). En los trabajos de campo del año 2009, se amplió la excavación con la apertura de la Cata II (Arsuaga *et al*., 2017) (Figura 7.5.4). Desde el año 2009 en adelante, el doctorando ha tenido la oportunidad de participar en todas las campañas de excavación.



Figura 7.5.5. ***El yacimiento de la Galería de las Estatuas. Excavación de la Cata I*** (Foto: Javier Trueba/Madrid Scientific Films)

7.5.1.2. Descripción morfológica de la muestra AT-GE-189

Para este estudio se ha utilizado una muestra recuperada durante la campaña de excavación del año 2008. Esta muestra se recuperó en el nivel 3 de la Cata I, y presenta la sigla AT-GE-189.



Figura 7.5.6. ***Fósil AT-GE-189, atribuido a*** **Equus hydruntinus.**

El fósil AT-GE-189 es una pieza dental (Figura 7.5.6). Para la identificación de esta muestra se ha utilizado la nomenclatura de Eisenmann (1981). Además, se ha realizado una descripción morfológica de la superficie oclusal y de la superficie de la pared externa (Davis, 1980; Eisenmann *et al*., 1988; Eisenmann, 1981; Arceredillo, 2008).

7.5.1.3. El análisis de radiocarbono sobre la muestra AT-GE-189

La muestra AT-GE-189 se recuperó en el nivel 3. Con la finalidad de obtener información radiométrica del nivel 3, se efectuó un muestreo sobre AT-GE-189 para su posterior análisis por Carbono 14.

El análisis de radiocarbono se llevó a cabo en el Oxford Radiocarbon Acelerator Unit (ORAU) Research Laboratory for Archaeology, Oxford, Reino Unido.

7.5.1.4. El proceso de extracción de ADN de la muestra AT-GE-189

7.5.1.4.1. Extracción de ADN

Se obtuvieron dos muestras diferentes: muestra 1 (170 mg) y muestra 2 (180 mg). La obtención de ADN se llevó a cabo a partir de la extracción independiente de las muestras 1 y 2 con el protocolo número 1. La extracción de ADN de las muestras 1 y 2 se realizó conjuntamente con muestras de bovinos (*Bos primigenius* / *Bos taurus*) recuperadas del yacimiento de El Portalón de Cueva Mayor (Atapuerca) durante la campaña de 2007, usadas como blancos de extracción. La extracción de ADN de la muestra 1 se acompañó de la muestra

de *Bos* sp. M45-131, descrita como falange 1. La extracción de ADN de la muestra 2 se acompañó de la muestra de *Bos* sp. M45-151, también descrita como falange 1. A su vez, cada conjunto de extracción se acompañó de una muestra que contenía todos los reactivos necesarios para la extracción, pero en lugar de muestra de ADN contenía ddH_2O (distribuida por SIGMA).

7.5.1.4.2. Amplificación, purificación y secuenciación de ADN

La región diana de estudio fue un fragmento de 452 pares de bases (excluyendo cebadores) localizado en la Región Hipervariable I (HVR-I) del ADN mitocondrial (Figura 7.5.7). Este fragmento se encuentra comprendido entre las posiciones nucleotídicas 15.444 – 15.926 (posiciones relativas a la nueva secuencia de Referencia para *Equus caballus* JN398377, Achilli *et al*., 2012) (Figura 7.5.7, Tabla 7.4).

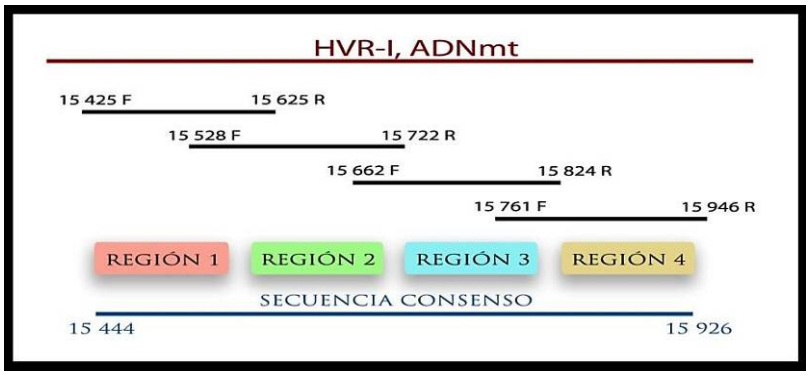


Figura 7.5.7. ***Estrategia de amplificación del ADN mitocondrial de*** **Equus hydruntinus.** La longitud de la secuencia consenso se presenta sin los cebadores.

En la primera extracción independiente, se realizó una primera amplificación exploratoria con los cebadores 15.425F – 15.625R (Figura 7.5.7, Tabla 7.4). Una vez analizada la secuencia obtenida, se procedió a amplificar el resto de la región HVR-I con los cebadores específicos de *Equus hydruntinus*. Con la segunda extracción independiente se amplificaron las regiones 1 (15.425F-15.625R) y 3 (15.662F-15.824R).

La purificación y secuenciación del material genético se llevó a cabo siguiendo el apartado 7.1. *Protocolos de laboratorio*.

7.5.2. El yacimiento de El Mirador (sierra de Atapuerca, Burgos).

7.5.2.1. Localización del yacimiento

El Mirador es uno de los yacimientos del sistema kárstico de la sierra de Atapuerca, en el término municipal de Ibeas de Juarros (Burgos) (Figura 7.5.8). La cueva domina visualmente el valle medio del río Arlanzón (Vergès *et al*., 2008; 2016). Se encuentra localizada a 1033 metros sobre el nivel del mar (msnm), en la vertiente más meridional de la sierra, y sus coordenadas son 42° 20’ 32,11’’ latitud N y 03° 30’ 25,32’’ longitud O (obtenidas con la aplicación SIGPAC, http://sigpac.magrama.es/fega/h5visor/) (Figura 7.5.9, Figura 7.5.10).



Figura 7.5.8. ***Localización geográfica de El Mirador en la península ibérica.***

7.5.2.1.1. Historia de las excavaciones en El Mirador

A principios de los años 70 del siglo XX, el Grupo Espeleológico Edelweiss (GEE) llevó a cabo una pequeña intervención en la zona central de la cavidad, localizándose una serie de materiales que se atribuyeron al Calcolítico y a la Edad del Bronce (Vergès *et al*., 2002). Después de esta intervención El Mirador ha estado expuesto a excavaciones clandestinas, que han actuado sobre la zona norte de la cavidad (Vergès *et al*., 2002).

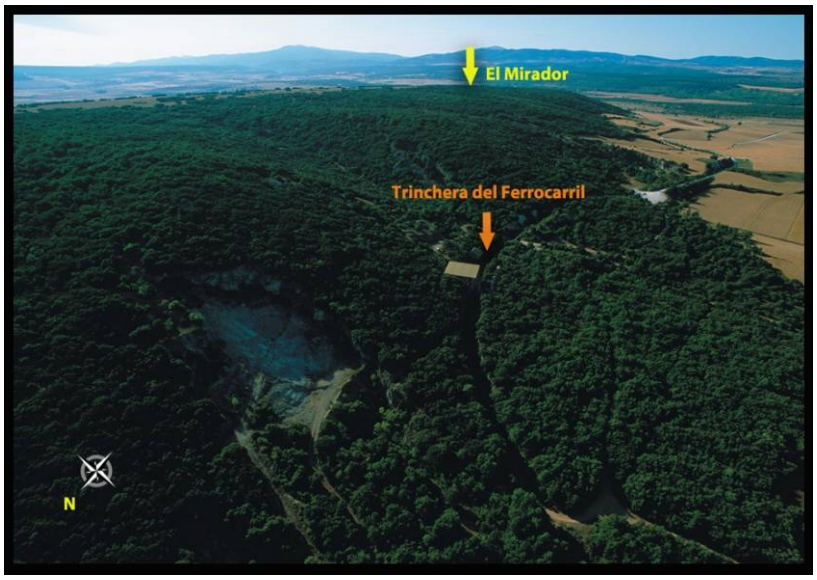


Figura 7.5.9. ***Imagen aérea de la sierra de Atapuerca con referencia a El Mirador***. En primer plano aparece la Trinchera del Ferrocarril (Foto: J. Trueba / Madrid Scientific Films)

El yacimiento de El Mirador se ha estado excavando de manera sistemática desde 1999 hasta la actualidad bajo la dirección del profesor E. Carbonell y, coordinando las labores de campo el profesor J.M. Vergès. Los primeros trabajos se desarrollaron en la excavación de un sondeo de 6 m^2 de extensión en la zona central de la mitad oeste de la cueva (Figura 7.5.10), un área que aún conserva la bóveda y que no fue objeto de la acción de las excavaciones no controladas (Vergès *et al*., 2002; Martín *et al*., 2009). A partir del año 2009, la excavación de este yacimiento se ha desplazado a los sectores denominados 100 y 200 (Martín *et al*., 2014). El sector 100 se encuentra localizado en la esquina noroccidental de la cavidad. El sector 200 es una cámara separada de la zona del sondeo de 6 m^2, que está emplazada en la esquina noreste de El Mirador (Martín *et al*., 2014).

7.5.2.1.2. Descripción de El Mirador

El yacimiento de El Mirador presenta en la actualidad una morfología de abrigo rocoso, debido al hundimiento de parte de su bóveda (Figura 7.5.10A). Como se ha comentado anteriormente, esta cavidad forma parte del sistema kárstico de la sierra de Atapuerca. En concreto, es una de las cavidades del grupo endokárstico situado en el sector meridional del monte de San Vicente (Ortega, 2009). No obstante, todavía no ha sido posible averiguar su relación con el grupo endokárstico principal de la sierra de Atapuerca, localizado en el sector occidental y compuesto por el sistema kárstico de Cueva Mayor - Cueva del Silo y las cavidades localizadas en la Trinchera del Ferrocarril (Vergès *et al*., 2008; Ortega, 2009). Se ha considerado a El Mirador como una antigua dolina colapsada que habría constituido uno de los antiguos sumideros de este sistema (Vergès *et al*., 2002). En su interior se abren una serie de

galerías que probablemente no estén totalmente colmatadas, de las que todavía no se conoce su desarrollo (Vergès *et al*., 2008).

La entrada de El Mirador está orientada al sur y tiene 23 m de ancho, 4 m del alto y 15 m de profundidad (Figura 7.5.10A) (Vergès *et al*., 2002).



Figura 7.5.10. ***El Mirador*** **A)** Vista general de la entrada a El Mirador antes de las excavaciones. **B)** Excavación del sondeo de 6m^2 de El Mirador (Foto: J. Trueba / Madrid Scientific Films).

7.5.2.1.3. Cronoestratigrafía de El Mirador

Las excavaciones del sondeo de 6 m^2 (Figura 7.5.10B) han permitido documentar una sucesión estratigráfica constituida por 24 niveles arqueológicos holocenos, distribuidos entre la Edad del Bronce medio / Bronce tardío y el Neolítico (Vergès *et al*., 2002; Vergès *et al*., 2008) (Figura 7.5.11). Mientras que el nivel MIR1 se ha asociado a un revuelto reciente, el nivel MIR2 se ha identificado como madrigueras actuales y subactuales de conejos y zorros (Vergès *et al*., 2002). Los niveles MIR3 y MIR4 se originaron durante la Edad del Bronce medio / Bronce tardío y el nivel MIR5 se formó durante un momento de abandono de la cavidad. Por último, se ha considerado que los niveles MIR6 – MIR24 se formaron durante el Neolítico, y las evidencias inequívocas de ocupaciones humanas se han fechado entre el último tercio del VI milenio y la mitad del IV milenio aC (Vergès *et al*., 2002; 2008; 2016)

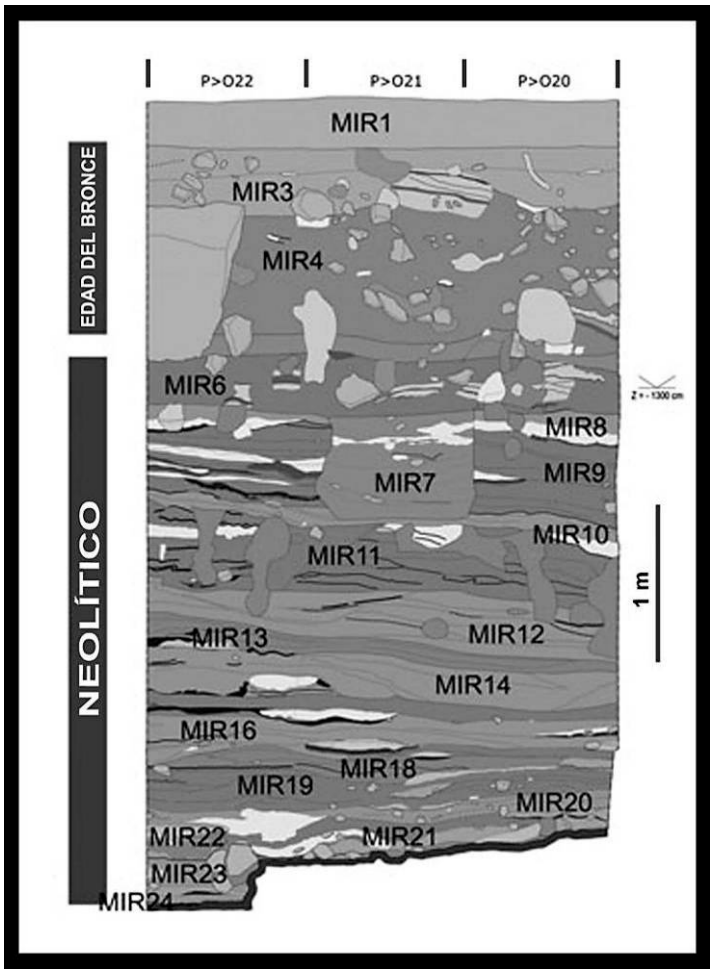


Figura 7.5.11. ***Secuencia estratigráfica del sondeo de 6m^2 de El Mirador***. Niveles MIR3-MIR4 asociados a la Edad del Bronce. Niveles MIR6-MIR24 asociados al Neolítico [Figura tomada de Martín *et al*. (2014)].

Las dataciones de radiocarbono del nivel MIR4 han arrojado las siguientes edades: 3040 ± 40 BP (Beta-154894); 3400 ± 40 BP (Beta-153366) y 3670 ± 40 BP (Beta-153365) (Vergès *et al*., 2002) (Tabla 7.5.1). La datación de 3670 ± 40 BP procede de un resto humano recuperado en una fosa excavada en este nivel, que se comentará más adelante. La fase de abandono caracterizada por MIR5 se ha situado cronológicamente entre 4780 ± 40 BP (Beta-153367) y 3400 ± 40 BP (Beta-153366) (Vergès *et al*., 2002). Por su parte, las cronologías asociadas a los niveles neolíticos ocupan una horquilla temporal comprendida entre 4780 ± 40 BP (Beta-153367) del nivel MIR6, hasta 7060 ± 40 BP (Beta-197386) y 6110 ± 40 BP (Beta-220914) del nivel MIR24 (Vergès *et al*., 2008) (Tabla 7.5.1). La datación de 7060 ± 40 BP se ha asociado a una posible ocupación a comienzos del VI milenio cal. aC., cuya atribución cultural todavía no se ha podido precisar (Vergès *et al*., 2008).

Tabla 7.5.1. ***Relación de dataciones de radiocarbono de los niveles del sondeo de 6m^2 de El Mirador*** (Vergès *et al*. 2002; 2008). (1) Calibración a 2 σ utilizando el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13.

NIVEL ESTRATIGRÁFICO	LABORATORIO - CÓDIGO	^{14}C BP CONVENCIONAL	^{14}C cal. BP (2σ) [1]	^{14}C cal. BC (2σ) [1]
MIR4 (techo)	Beta-154894	3040 ± 40	3361 - 3083	1412 - 1134
MIR4 (fosa)	Beta-153365	3670 ± 40	4144 - 3888	2195 - 1939
MIR4 (base)	Beta-153366	3400 ± 40	3825 - 3560	1876 - 1611
MIR6	Beta-153367	4780 ± 40	5597 - 5332	3648 - 3383
MIR8	Beta-181086	4970 ± 40	5878 - 5603	3929 - 3654
MIR9	Beta-220912	5090 ± 40	5918 - 5743	3969 - 3794
MIR11	Beta-181087	5360 ± 50	6277 - 6002	4328 - 4053
MIR13	Beta-208131	5470 ± 40	6391 - 6189	4442 - 4240
MIR14	Beta-220913	5480 ± 40	6395 - 6200	4446 - 4251
MIR16	Beta-181088	5700 ± 70	6628 - 6405	4679 - 4456
MIR18	Beta-208132	6120 ± 40	7158 - 6902	5209 - 4953
MIR19	Beta-182040	6130 ± 50	7165 - 6890	5216 - 4941
MIR20	Beta-197384	6100 ± 50	7159 - 6805	5210 - 4856
MIR21	Beta-197385	6380 ± 40	7420 - 7253	5471 - 5304
MIR22	Beta-208133	6150 ± 40	7165 - 6942	5216 - 4993
MIR23	Beta-208134	6320 ± 50	7415 - 7161	5466 - 5212
MIR24	Beta-220914	6110 ± 40	7157 - 6891	5208 - 4942
	Beta-197386	7060 ± 40	7965 - 7796	6016 - 5847

Por otro lado, el sector 100 presenta una potencia estratigráfica de 4 m donde se han diferenciado 4 niveles de la Edad del Bronce (MIR103-MIR106). En el sector 200 se ha documentado un enterramiento colectivo calcolítico con al menos 22 individuos (Martín *et al*., 2014) contemporáneos a la cultura campaniforme (Figura 7.5.12). Junto a estos restos humanos se ha documentado cerámica sin decoración, puntas de asta de cérvidos y gasterópodos de origen fluvial, pero no se ha podido reconocer cerámica campaniforme,

armas, o cualquier otro elemento diagnóstico asociado al Campaniforme (Gómez Sánchez *et al*., 2014). Este enterramiento colectivo presenta una antigüedad comprendida entre 4760 – 4200 años cal. BP (Gómez Sánchez *et al*., 2014) (dataciones de radiocarbono convencionales: 4100 ± 30 BP y 4220 ±30 BP, J.M. Vergès, comunicación personal).

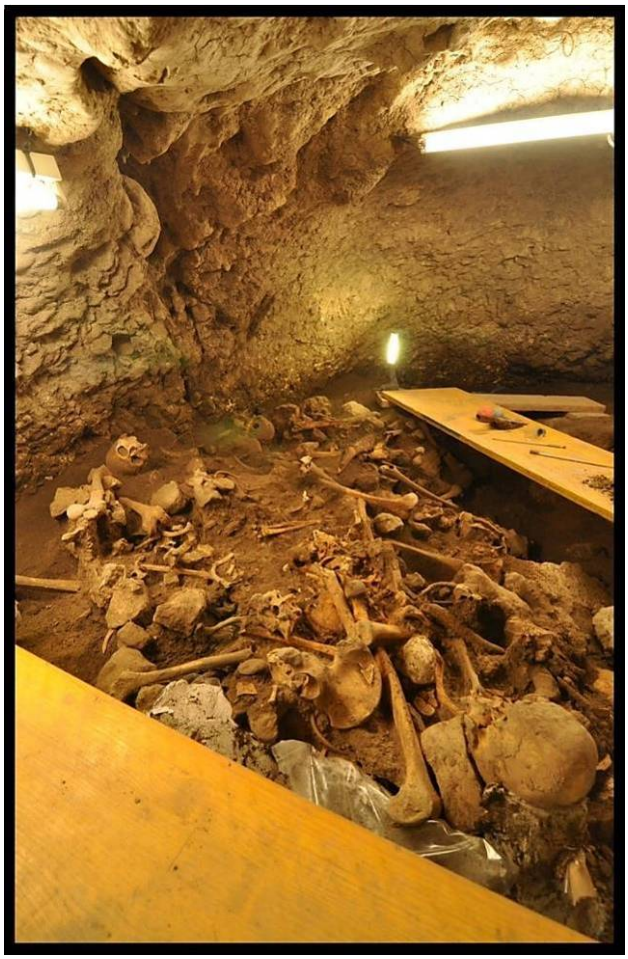


Figura 7.5.12. ***Enterramiento colectivo calcolítico del sector 200 de El Mirador*** [Figura tomada de Gómez Sánchez *et al*. (2014)].

Los análisis genéticos realizados sobre 19 de estos 22 individuos calcolíticos que ofrecieron resultados positivos, pusieron de manifiesto en esta población de El Mirador una composición de haplogrupos diferente a la de poblaciones ibéricas actuales, siendo similar en cambio a la de poblaciones actuales de Próximo Oriente (Gómez Sánchez *et al*., 2014).

Además, el análisis comparativo con otras poblaciones europeas holocenas antiguas, permitió comprobar una asociación entre la población calcolítica de El Mirador y otras poblaciones alemanas del Neolítico medio y Neolítico final. Sorprendentemente, también se documentó una ausencia de afinidad entre la población de El Mirador y otras poblaciones calcolíticas campaniformes europeas (Gómez Sánchez *et al*., 2014).

Estos resultados permitieron sugerir que hubo una continuidad genética homogénea entre las poblaciones de la zona central y occidental de Europa durante el Neolítico medio y final. Dentro de esta homogeneidad, la composición genética de la población de El Mirador podía corresponder a un sustrato genético previo, que posteriormente se enriqueció con una contribución de linajes procedentes de Próximo Oriente. Además, se ha propuesto que esta población de El Mirador no estuvo influenciada genéticamente por una supuesta expansión migratoria de los grupos campaniformes ibéricos hacia Europa, a pesar de convivir en la misma área geográfica que los grupos que migraron. De este modo, se ha concluido que la población de El Mirador apoya la hipótesis de la continuidad de la composición genética en las poblaciones desde el Neolítico medio hasta el Calcolítico, al menos en el seno de los grupos no campaniformes (Gómez Sánchez *et al*., 2014).

7.5.2.2. El estudio de la fauna de El Mirador

El Mirador fue una cavidad ocupada intensamente por un grupo de personas que desarrolló una economía mixta basada en la agricultura y en la ganadería, y emplearon El Mirador como redil para el ganado y también como espacio doméstico (Vergès *et al*., 2002; Martín *et al*., 2009). Sorprendentemente, la zona del sondeo de 6 m^2 mantuvo su funcionalidad como redil durante toda la serie neolítica conocida, así como durante la mayor parte de la sucesión de los niveles de la Edad del Bronce (Vergès *et al*., 2002; 2008).

La representación faunística de los niveles de la Edad del Bronce (NR_{MIR3} = 263; NR_{MIR4} = 559), ha puesto de manifiesto un claro predominio de los ovicaprinos, acompañados de grandes bovinos, cerdos domésticos, y pocos restos de caballos y perros. Además, Este espectro se ha visto completado con algunos taxones de fauna salvaje como *Cervus elaphus* o *Sus scrofa*, en niveles de Número de Restos (NR) muy bajos (Vergès *et al*., 2002).

El estudio zooarqueológico de los niveles neolíticos se ha focalizado en MIR19 y MIR20. Estos niveles están cronológicamente asociados a finales del VI milenio – principios del V milenio aC. A partir del análisis de 1150 restos faunísticos (NR_{MIR19} = 728; NR_{MIR20} = 422), se ha documentado un predominio de ovicaprinos en ambos niveles. Otros taxones aparecen representados de manera residual, entre los que destacan restos de especies salvajes como *Felis sylvestris*, *Vulpes vulpes* y *Capreolus capreolus*. Aparte, la diferenciación de algunos restos entre taxones salvajes o domésticos ha resultado ser complicada. Esta situación ha ocurrido con los restos de suidos, bovinos o équidos (Martín *et al*., 2009), aunque en posteriores

análisis con los restos de équidos, se ha intentado profundizar en esta problemática (Martín *et al*., 2014), como veremos más adelante.

A partir de estos resultados, se ha deducido que la explotación ganadera habría recaído principalmente sobre los ovicaprinos. La cría de ganado vacuno habría tenido un papel secundario. Además, estas actividades ganaderas las habrían completado con actividades cinegéticas (Martín *et al*., 2009).

Entre los restos óseos recuperados en la base de MIR4 (Edad del Bronce medio / Bronce tardío), cabe destacar una acumulación intencional formada por unos 200 restos humanos. Estos restos se habrían depositado en el interior de una fosa de 40 cm de longitud, 25 cm de anchura y una profundidad mínima de 20 cm (Vergès *et al*., 2002). En esta fosa se diferenciaron a seis individuos de ambos sexos y diferentes edades. Además, se documentaron diversas marcas de descarnado, fracturación de huesos, dentelladas y señales de cocción, que se asociaron a un episodio de canibalismo gastronómico (Vergès *et al*., 2002; Cáceres *et al*. 2007). La datación de uno de estos restos humanos ha arrojado una edad de 3670 ± 40 BP, y se ha asociado a la Edad del Bronce antiguo (Tabla 7.5.1). Esta cronología es anterior a la formación del nivel MIR4 donde posteriormente se excavó la fosa. Para explicar el desfase entre las fechas de formación del nivel MIR4 y la edad del resto humano se ha sugerido que la inhumación sea de tipo secundario. De este modo, se habrían enterrado restos de la Edad del Bronce antiguo en un momento posterior, durante la Edad del Bronce medio / Bronce tardío (Vergès *et al*., 2002).

7.5.2.3. Los estudios con équidos de El Mirador

Recientemente, se ha publicado un estudio específico sobre los équidos recuperados en once niveles asociados al Neolítico y cuatro niveles de la Edad del Bronce. Se analizaron casi un centenar de restos de équidos procedentes del sondeo central de 6m^2 y del sector 100 (Martín *et al*., 2014).

Los niveles estratigráficos asociados al Neolítico donde se han documentado restos de équidos han sido MIR22, MIR21, MIR20, MIR19, MIR18, MIR16, MIR13, MIR12, MIR11, MIR10 y MIR9. Por su parte, los niveles estratigráficos asociados a la Edad del Bronce con restos de équidos han sido MIR4, MIR3, MIR104 y MIR105 (Martín *et al*., 2014). En conjunto, estos restos presentan un intervalo cronológico comprendido entre 6150 ± 40 BP (Beta-208133)

asociado a MIR22 (Neolítico) y 3040 ± 40 BP (Beta-154894) asociado al techo de MIR4 (Edad del Bronce medio / Bronce tardío) (Vergès *et al*., 2008; Martín *et al*., 2014) (Tabla 7.5.1).

Una de las principales conclusiones obtenidas fue la diferenciación entre los restos de équidos de dos especies diferentes. Mientras que la mayoría de los restos pertenecían a caballo, además se identificaron dos restos de *Equus hydruntinus* (Martín *et al*., 2014) (Figura 7.5.13). Estos restos se habían recuperado del nivel neolítico MIR11 y del nivel MIR4 asociado a la Edad del Bronce. La muestra neolítica es un M2 superior izquierdo (MIR11-Q21-171) con ausencia de pliegue caballino y, además, presentaba unas medidas para el protocono y el índice protocónico que entraban dentro de la variabilidad descrita para *Equus hydruntinus* (Martín *et al*., 2014). La muestra de la Edad del Bronce recuperada en el nivel MIR4 (MIR4-P20-251) se había determinado como un M1/M2 superior izquierdo. Carecía de pliegue caballino, presentaba fosetas simples y unos valores del índice protocónico que entraban en el rango de variabilidad de los asnos salvajes y domésticos (Martín *et al*., 2014).

Este estudio ha puesto nuevamente de manifiesto la gran dificultad asociada a la distinción entre caballos salvajes y domésticos. El alto grado de fragmentación de los huesos dificultó la determinación taxonómica. No obstante, ésta pudo llevarse a cabo a partir de diferenciación morfológica de la dentición, y se completó con información osteométrica cuando fue posible.

Se utilizaron diferentes criterios para identificar caballos domésticos: criterios métricos, análisis de las edades de muerte, análisis de patologías asociadas al uso de este animal como montura, y el análisis comparativo de la abundancia de restos y patrón de descuartizamiento similar a otros animales domésticos (Martín *et al*., 2014).



Figura 7.5.13. ***Équidos de El Mirador***. Muestras atribuidas a *Equus hydruntinus*: MIR4-P20-251, vista oclusal y MIR11-Q21-171 **a)** vista bucal; **b)** vista distal; **c)** vista oclusal.

Las medidas sobre las longitudes de los protoconos y los índices protocónicos de los dientes yugales superiores, así como las longitudes y anchuras oclusales de los dientes yugales inferiores no permitieron diferenciar entre taxones salvajes y domésticos. El análisis de las edades de muerte tampoco permitió una diferenciación clara de los animales domésticos respecto a los salvajes (Martín *et al*., 2014).

Las patologías que se buscaron para identificar una explotación controlada de este animal fueron posibles desgastes de los premolares inferiores por el uso de bocados, y lesiones en las vértebras debido al uso del animal como montura. No obstante, no se observaron patologías que permitieran diferenciar caballos domésticos (Martín *et al*., 2014).

Previamente, con los caballos de El Portalón de Cueva Mayor ya se habían realizado los análisis comparativos de abundancia taxonómica y patrón de marcas de carnicería en relación a otros taxones domésticos (Castaños, 2005b). Se había sugerido que unos resultados similares en abundancia taxonómica y en procesado culinario indicaría que los caballos también eran animales domésticos (Castaños, 2005b). En El Mirador los restos de caballo se encontraron

distribuidos de manera desigual entre los niveles estratigráficos. En la mayoría de los niveles el caballo tenía una representación residual, el número de restos identificados generalmente no superaba el 3%. La excepción se observó en los niveles MIR11 y MIR10 (asociados al Neolítico) y en MIR4 y MIR105 (asociados a la Edad del Bronce), donde el porcentaje de équidos en relación con el de otros taxones alcanzaba el 20,8% (MIR11); 10,2% (MIR10); 10,8% (MIR4) y 5,8% (MIR105) respectivamente. Este aumento en el número de restos identificados coincidía en los niveles MIR11 y MIR4 con una disminución en los restos de ovicaprinos, pero no era una evidencia sólida para argumentar un estado doméstico en las poblaciones caballares (Martín *et al*., 2014).

Por otro lado, las marcas de carnicería y de fracturación intencionada de los huesos se observaron en casi todos los niveles, presentando un patrón de consumo muy parecido al del ganado vacuno (Martín *et al*., 2014).

De este modo, a partir de evidencias indirectas como la representación anatómica y el patrón de procesado culinario, se ha sugerido que los restos de caballo recuperados en el nivel MIR11 asociado al Neolítico se podrían interpretar como caballos domésticos o al menos, sometidos a algún tipo de selección (Martín *et al*., 2014). No obstante, Martín *et al*. (2014) también destacan que la diferenciación de caballos domésticos en la muestra de El Mirador ha resultado ser de difícil determinación, debido a la ausencia de evidencias directas de caballos domésticos.

7.5.2.4. Muestras de El Mirador seleccionadas para este estudio

Para llevar a cabo esta investigación fueron seleccionadas las muestras adscritas a *Equus hydruntinus* (Figura 7.5.13, Tabla 7.5.2). Una muestra procedía del nivel MIR11, asociada al Neolítico y con un resultado de radiocarbono asociado de 5360 ± 50 BP (Tabla 7.5.1). La otra muestra se había recuperado en el nivel MIR4 (Edad del Bronce), y se había asociado a unas dataciones comprendidas entre 3400 ± 40 BP y 3040 ± 40 BP La muestra neolítica es un M2 superior izquierdo (MIR11-Q21-171), mientras que la muestra de la Edad del Bronce se había determinado como un M1/M2 superior izquierdo (MIR4-P20-251).

Junto a estas muestras se seleccionaron, además, cuatro muestras de bovinos (*Bos primigenius/Bos taurus*) de El Mirador recuperadas de los niveles MIR-4, MIR-20, MIR-21 y MIR-105 (Tabla 7.5.2). Estas muestras se utilizaron como controles negativos durante el proceso de extracción.

Es necesario destacar que la muestra neolítica (MIR11-Q21-171) presenta en su superficie una coloración oscura, compatible con haber estado sometida a altas temperaturas (Figura 7.5.13. a, b, c). Esta característica podría haber degradado el material genético de la muestra, condicionando el éxito en el proceso de obtención de ADN.

7.5.2.5. El proceso de extracción de ADN de las muestras de El Mirador

7.5.2.5.1. Extracción de ADN

De cada resto faunístico se obtuvieron dos muestras de ~130 mg con las que se llevaron a cabo dos extracciones independientes aplicando el protocolo de extracción de ADN número 1.

7.5.2.5.2. Amplificación, purificación y secuenciación de ADN

Con la primera extracción independiente, se llevó a cabo una primera amplificación de con la pareja de cebadores 15.425F – 15.625R (región 1). Este fragmento genético se puede amplificar tanto en *Equus hydruntinus* como en *Equus caballus*, y se utilizó como primer avance exploratorio.

La purificación y secuenciación de ADN se llevó a cabo siguiendo el apartado 7.1 *Protocolos de laboratorio*.

Una vez analizada la secuencia que se obtuvo de la amplificación de los cebadores 15.425F – 15.625R mediante el algoritmo heurístico de alineamiento BLAST (*Basic Local Aligment Search Tool*) y la aplicación (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi), se realizaron nuevas amplificaciones de la región comprendida entre las posiciones nucleotídicas 15.537 – 15.862 de HVR-I (en comparación con las secuencia de Referencia para *Equus caballus* JN398377, Achilli *et al*., 2012). Se utilizaron tres parejas de cebadores, las cuales ya se habían utilizado con los extractos de ADN antiguo de los análisis de caballos comentados anteriormente: 15.537F – 15.728R; 15.546F – 15.708R*;* 15.668F – 15.862R, bajo el programa de amplificación de ADN para caballos.

Posteriormente, sobre una nueva serie de muestras de El Mirador, se realizó una nueva extracción de ADN y nuevas amplificaciones.

Tabla 7.5.2. ***Relación de muestras de El Mirador utilizadas en esta investigación***

YACIMIENTO	SIGLA	NIVEL	ASOCIACIÓN CULTURAL	TAXÓN	DESCRIPCIÓN	Nº LAB
El Mirador	ATA00-MIR4-P20-251	MIR4	Edad del Bronce	*Equus hydruntinus*	M1/M2 Superior izquierdo	14EL60
	ATA00-MIR4-Q20-175	MIR4		*Bos* sp.	P3 Inferior izquierdo	14EL61
	ATA05-MIR21-P21-47	MIR21	Neolítico	*Bos* sp.	M2 Inferior derecho	14EL62
	ATA05-MIR20-Q20-172	MIR20		*Bos* sp.	Fragmento de diente. Posible M1 inferior izquierdo	14EL63
	ATA12-MIR105-V14-36	MIR105	Edad del Bronce	*Bos* sp.	P3 Inferior Izquierdo	14EL64
	ATA02-MIR11-Q21-171	MIR11	Neolítico	*Equus hydruntinus*	M2 Superior izquierdo	14EL68

7.5.3. Descripción de la muestra utilizada como comparativa

Para la realización de las filogenias globales, las secuencias de los restos faunísticos asociados a *Equus hydruntinus* de esta investigación se compararon con secuencias de todos los taxones actuales del género *Equus (Equus caballus,* caballos de Przewalski*, Equus asinus, Equus africanus, Equus grevyi, Equus zebra, Equus quagga, Equus hemionus* y *Equus kiang*), así como con secuencias de équidos de taxones extintos (*Equus ferus*, *Equus hydruntinus*, *Equus ovodovi*, *Hippidion saldiasi*) (Anexo IV, Anexo V, Tabla 7.5.3).

Entre los taxones actuales del género *Equus*, se utilizaron secuencias de individuos modernos, de individuos históricos (*Equus africanus africanus, Equus africanus somaliensis, Equus hemionus, Equus kiang, Equus quagga*) y de muestras antiguas (*Equus asinus*, *Equus hemionus*). Las características de cada uno de estos grupos de secuencias de detallarán a continuación.

7.5.3.1. Selección de muestras de asnos domésticos y salvajes

Para tener un mayor conocimiento de las relaciones filogenéticas de las muestras de *Equus hydruntinus* con *Equus asinus* y las subespecies de asnos salvajes africanos, y de este modo balancear la muestra de asnos en los análisis filogenéticos, previamente se realizó un análisis de diversidad haplotípica entre estos taxones de asnos.

Según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (*International Union for Conservation of Nature*, IUCN), el asno salvaje somalí *Equus africanus somaliensis,* es un taxón amenazado considerado en peligro crítico de extinción, que posiblemente cuente con menos de 600 individuos en libertad en estado salvaje (Kimura *et al*., 2011). Por su parte, el asno salvaje nubio *Equus africanus africanus*, está considerado posiblemente extinto desde finales del siglo XX (Kimura *et al*., 2011). Se reunió un conjunto de 89 secuencias distribuidas del siguiente modo: asno salvaje nubio *Equus africanus africanus* (*n*=8 muestras históricas), asno salvaje somalí *Equus africanus somaliensis* (*n*=38 muestras modernas e históricas) y asno doméstico *Equus asinus* (*n*=43 muestras modernas) (Xu *et al*., 1996; Beja-Pereira *et al*., 2004; Chen *et al*., 2006; Lei *et al*., 2007; Kimura *et al*., 2011) (Anexo IV). La finalidad de este análisis consistió en diferenciar los principales clados que se han identificado entre los asnos domésticos y los asnos salvajes, y seleccionar individuos de cada uno de esos grupos para el posterior análisis filogenético.

Además, a este conjunto de muestras modernas y muestras históricas, se añadieron las secuencias asociadas a *Equus asinus* recuperadas del yacimiento de Cancho Roano (secuencias con número de laboratorio CR63, CR64, CR68 y CR69).

La distribución haplotípica de los asnos se estudió con un gráfico de redes. Se realizó un alineamiento con el programa DNA Alignment 1.3.3.2 (Fluxus Technology). Posteriormente se implementó el algoritmo *Median Joinin*g con el programa Network 4.6.1.3 (Fluxus Technology) (Bandelt *et al*., 1999) sobre las posiciones nucleotídicas 15.439 - 15.837 de la secuencia de referencia de *Equus asinus*, X97337 (Xu *et al*., 1996). El gráfico de redes se realizó con una valor de ε = 0, y con todas las posiciones nucleotídicas ponderadas con el mismo valor por defecto, ofreciendo la misma cantidad de información en la elaboración de la red.

7.5.3.2. Selección de otras muestras de équidos para análisis filogenéticos globales

Las muestras de Galería de las Estatuas y El Mirador se han comparado con individuos actuales de *Equus caballus*, caballos de Przewalski, *Equus hemionus* (y sus subespecies *Equus hemionus kulan* y *Equus hemionus onager*), *Equus kiang*, *Equus quagga* (y sus subespecies *Equus quagga chapmani*, *Equus quagga burchelli* y *Equus quagga boehmi*), *Equus grevyi*, *Equus zebra* y su subespecie *Equus zebra hartmannae* (Anexo Va; Tabla 7.5.3).

Adicionalmente, se han utilizado muestras del taxón doméstico *Equus asinus*, y de los taxones salvajes *Equus africanus somaliensis* y *Equus africanus africanus* obtenidas del análisis de diversidad haplotípica detallado en el apartado anterior (Tabla 7.5.3).

Aparte, junto a las cuatro secuencias publicadas de *Equus hydruntinus* y *Equus* cf. *hydruntinus*, se han utilizado muestras históricas y muestras antiguas de *Equus quagga quagga*, *Equus asinus*, *Equus hemionus, Equus ferus y Equus ovodovi* (Anexo Va, Tabla 7.5.3).

Tabla 7.5.3. ***Comparativa en los análisis filogenéticos de*** **Equus hydruntinus**. Taxones utilizados en los análisis filogenéticos de *Equus hydruntinus*. Los detalles de cada una de estas secuencias se encuentran en los Anexos IV y V.

TAXÓN	N
Equus hydruntinus	2
Equus cf *hydruntinus*	2
Equus ferus	2
Equus caballus	2
Equus przewalskii	3
Equus africanus somaliensis	1
Equus africanus africanus	1
Equus asinus	3
Equus hemionus	3
Equus hemionus kulan	4
Equus hemionus onager	2
Equus kiang	5
Equus quagga boehmi	4
Equus quagga burchelli	5
Equus quagga quagga	1
Equus quagga chapmani	1
Equus grevyi	7
Equus zebra	5
Equus zebra hartmannae	4
Equus ovodovi	3
Hippidion saldiasi	3
Ceratotherium simum	1
Rhinoceros unicornis	1
TOTAL	**65**

Con la finalidad de analizar cualquier relación entre las muestras de Galería de las Estatuas o El Mirador con poblaciones de caballos o asnos ibéricos, hemos utilizado en la comparativa muestras de *Equus ferus* de Lira *et al*. (2010) y las muestras de *Equus asinus* de la Edad del Hierro de Cancho Roano comentadas en el apartado anterior (ver también *Resultados*, apartado *8.1.9. Muestras de Cancho Roano*).

Además, se han utilizado en el análisis tres secuencias asociadas a *Hippidion saldiasi* (Anexo Va, Tabla 7.5.3). En los primeros estudios con fragmentos parciales del ADN mitocondrial, se había propuesto que *Hippidion saldiasi* era un taxón perteneciente al género *Equus* (Orlando *et al*., 2003). Un estudio publicado recientemente sobre los mitogenomas completos de ocho individuos asociados al género *Hippidion* ha puesto de manifiesto que se trata de un género diferente, constituyendo un clado monofilético, externo y basal a todos los individuos del género *Equus* (Der Sarkissian *et al*., 2015a).

Además, estas muestras se han acompañado de secuencias de rinoceronte indio (*Rhinoceros unicornis*, X97336) y rinoceronte blanco (*Ceratotherium simum*, Y07726), utilizadas como grupo externo (Xu y Arnason, 1997) (Anexo Va, Tabla 7.5.3).

De este modo, se han reunido una matriz con 71 secuencias (65 publicadas y las muestras de nuestra investigación).

7.5.3.3. Identificación de clados de *Equus kiang*/*Equus hemionus*/*Equus hydruntinus* con las muestras de Bennett *et al*. (2017)

Un reciente trabajo realizado con muestras de diferentes poblaciones de *Equus kiang* y *Equus hemionus* ha destacado a los clados H1 y H2 como los característicos de *Equus hydruntinus* (o *Equus hemionus hydruntinus*) (Bennett *et al*., 2017). Con la finalidad de conocer a qué clados pertenecen nuestras muestras, hemos realizado una filogenia con ML con las muestras utilizadas en Bennett *et al*. (2017) donde hemos añadido, además, las muestras GQ324611, DQ464012 y DQ464009 de *Equus hydruntinus* y *Equus* cf. *hydruntinus* de Orlando *et al.* (2006; 2009). Como grupo externo, hemos utilizado la secuencia de referencia de *Equus asinus* (X97337) (Xu *et al*., 1996) (Anexo Vb).

7.5.4. Análisis filogenéticos globales

7.5.4.1. Alineamiento de secuencias

Se realizó análisis exploratorio de homologías de las 71 secuencias utilizando Clustal X2.1 (Larkin *et al*., 2007). Con la finalidad de maximizar la información recuperada de las secuencias de *Equus hydruntinus* publicadas, el alineamiento se realizó para las posiciones nucleotídicas comprendidas entre 15.444 – 15.063 de la secuencia de referencia JN398377 de *Equus caballus* (Achilli *et al*., 2012). Los parámetros seleccionados para la penalización por apertura y extensión de huecos en las secuencias fueron 15 y 6,66 respectivamente. La matriz obtenida se inspeccionó en busca de incongruencias, y posteriormente se utilizó para realizar análisis filogenéticos.

7.5.4.2. Selección de modelos de sustitución nucleotídica

Los análisis filogenéticos se llevaron a cabo mediante los modelos probabilísticos de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana. Bajo estas premisas, se realizaron análisis sobre el proceso de sustitución nucleotídica y los modelos evolutivos subyacentes a los datos. El modelo de sustitución nucleotídica que mejor se ajustaba al conjunto de datos analizados se seleccionó con jMoldelTest 2.1.5 (Darriba *et al*., 2012). Se analizaron 88 modelos de sustitución nucleotídica utilizando un esquema con hasta 11 tipos de sustituciones diferentes (JC, HKY, TrN, TPM1, TPM2, TPM3, TIM1, TIM2, TIM3, TVM y GTR) (Posada 2008a; Posada, 2008b). Los parámetros que se consideraron en el análisis tuvieron en cuenta modelos con la misma frecuencia o frecuencia desigual entre los nucleótidos de la matriz (+F), la proporción de posiciones que varían como las que son invariables (+I), así como modelos que no asumen ningún tipo de tasa de cambio entre posiciones, como otros que sí asumen una tasa de heterogeneidad entre posiciones. Estas tasas relativas cambian según una distribución gamma (+G) para la que se fijaron cuatro categorías (Posada, 2008a).

El grado de ajuste de los modelos analizados a nuestros datos se ha calculado mediante una función de verosimilitud (Likelihood, *L*) que requiere de la optimización de una topología inicial y unas longitudes de rama asociadas a esa topología. Hemos utilizado la opción optimizada de Máxima Verosimilitud (ML optimized) para estimar la topología más óptima cada vez que se han calculado los valores de *L* y evaluado un modelo de sustitución nucleotídica. El programa jModelTest ha realizado estos cálculos utilizando la opción integrada que tiene del programa PhyML (Guindon y Gascuel, 2003). El algoritmo heurístico de

intercambio de ramas aplicado para obtener la topología óptima para la estimación del valor de *L* de los modelos ha sido SPR (*Subtree pruning regrafting*) (Posada, 2008a).

El criterio de selección de modelos que hemos aplicado ha sido el Criterio de Información de Akaike corregido (AICc, *corrected Akaike Information Criterion*), escogiendo aquel modelo que presentaba los valores de AICc más bajos.

7.5.4.3. Tratamiento de los indels

Las investigaciones sobre *Equus hydruntinus* han puesto de manifiesto la presencia de una delección de 28 pares de bases en la región HVR-I de la región control (posiciones nucleotídicas 15.533 - 15.560). Por ese motivo, hemos considerado el tratamiento de indels (inserción o deleción) en las relaciones filogenéticas.

Los indels son los espacios generados entre distintas posiciones nucleotídicas a la hora de realizar un alineamiento. Cuando entre dos nucleótidos se genera un espacio, se consideran indels simples, y cuando se generan dos o más espacios contiguos se denominan indels múltiples (González, 1996).

La presencia de los indels en los alineamientos de secuencias no está exenta de dificultades en su tratamiento posterior. Desde el punto de vista teórico un indel se puede interpretar como un artificio del alineamiento sin ningún valor filogenético, o como una hipótesis de homología (González, 1996). Desde el punto de vista metodológico, hay programas de búsqueda de árboles y de optimización de caracteres que consideran los indel como posiciones no informativas y otros en cambio, evalúan los indels como hipótesis de homología potencial para esa posición (González, 1996).

En el caso de los indels simples, cuando los indels se consideran como un artificio del alineamiento, se codifican como ambiguos (?) o se excluyen de la matriz y del análisis. Cuando se tienen en cuenta como una hipótesis de homología, se codifican como un quinto estado del carácter o como un carácter adicional donde se detalla su presencia / ausencia mediante un código binario (0,1) (González, 1996; Simmons y Ochoterena, 2000; Warnow, 2012). Cuando son los indels dobles los que se tienen en cuenta y presentan varias posiciones contiguas pero con diferentes longitudes entre los taxones analizados, además se consideran las diferencias longitud/estado y la longitud/carácter.

El tratamiento específico de los indels pueden provocar diferencias en los resultados filogenéticos finales, y en las hipótesis que ofrecen las topologías de los árboles (Simmons y Ochoterena, 2000). Algunos autores han considerado que las filogenias estimadas con Máxima Verosimilitud que contemplan los indels como datos inexistentes, pueden ofrecer resultados estadísticamente inconsistentes (Warnow, 2012).

La codificación de indels simples es una aproximación más conservadora que la codificación de un quinto carácter, y bastante fácil de implementar. La codificación de indels simples se fundamenta en: 1) los indels de varias secuencias se consideran un carácter único, si comienzan y finalizan en la misma posición, 2) el solapamiento de indels se consideran caracteres separados, 3) cuando un indel de gran tamaño de una secuencia puede albergar indels más pequeños de otras secuencias, el indel grande no se codifica como presencia/ausencia respecto a los más pequeños, sino como carácter no aplicable (Simmons y Ochoterena, 2000; Ogden y Rosenberg, 2007).

En diversos análisis sobre simulaciones computacionales se ha observado una mejora en la estimación de las topologías cuando se han codificado los indels (Ogden y Rosenberg, 2007).

En los análisis filogenéticos se ha considerado la información aportada por los indels de dos maneras. Los análisis bayesianos realizados sobre la matriz de secuencias se ha realizado por duplicado: 1) excluyendo los indels de la matriz y 2) codificándo su estado de presencia / ausencia. La consideración de los indels como hipótesis de homología potencial para sus posiciones concretas se ha realizado con el programa IndelCoder (Ogden y Rosenberg, 2007), generando un fichero de formato Nexus sobre el que posteriormente se han realizado los análisis bayesianos.

7.5.4.4. Análisis filogenéticos de Máxima Verosimilitud (ML)

Las filogenias de ML se han realizado de manera análoga a lo descrito para las investigaciones con caballos. Se ha utilizado la plataforma PhyML 3.0 (Guindon *et al*., 2010; http://www.atgc-montpellier.fr/phyml/) implementado el modelo evolutivo asociado a nuestra matriz de datos. El algoritmo de PhyML obtuvo la topología inicial a partir del método basado en distancias rápidas BioNJ (Gascuel, 1997). Posteriormente, el árbol se optimizó explorando el espacio de topologías mediante una aproximación PhyML 3.0-SPR (Guindon *et al*. (2010).

Los análisis de soporte de ramas se realizaron utilizando la técnica clásica de bootstrap no paramétrico con 1000 pseudoréplicas (Felsenstein, 1985) y mediante el método de Shimodaira-Hasegawa *approximate Likelihood Ratio Test* (SH-aLRT), optimizado para desarrollarse bajo entorno de PhyML 3.0 (Anisimova y Gascuel, 2006; Guindon *et al*., 2010).

7.5.4.5. Análisis de Inferencia Bayesiana (IB) sobre *Equus hydruntinus*

Los análisis bayesianos sobre las muestras de *Equus hydruntinus* de realizaron bajo el modelo de sustitución nucleotídica seleccionado por jMoldelTest 2.1.5, y utilizando como información previa los valores asociados al parámetro *alpha* (α) vinculado a la distribución gamma con cuatro categorías discretas, así como los valores asociados a la proporción de sitios invariables (+I) de nuestro alineamiento. Se han realizado dos ejecuciones en paralelo con cuatro cadenas de Markov en cada ejecución (una "fría" y tres "calientes"), durante 12.000.000 de generaciones, con una frecuencia de muestreo cada 1200 generaciones y una fase de *burn-in* del 25%.

La convergencia de las ejecuciones se evaluó teniendo en cuenta el patrón de distribución de los valores de log*L* a lo largo de las generaciones, considerando también que los valores de PSRF fueran cercanos a 1 para todos los parámetros y, que el valor de las diferencias del promedio de la desviación estándar de las frecuencias de bifurcaciones de las ramas fuera <0,01.

Posteriormente, todas las topologías se analizaron con el programa informático para visualización de árboles filogenéticos FigTree 1.4.2 (http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/).

7.5.5. Identificación de clados de *Equus kiang/Equus hemionus/Equus hydruntinus* con las muestras de Bennett *et al.* (2017)

La identificación de clados *de Equus kiang*/*Equus hemionus*/*Equus hydruntinus* se realizó sobre una matriz de 151 secuencias. El alineamiento se realizó con ClustalW bajo la plataforma CIPRES (Miller *et al*., 2010; http://www.phylo.org/index.php/) utilizando la matriz de ponderado de ClustalW. Los parámetros seleccionados para la penalización por apertura y extensión de huecos en las secuencias fueron: gap opening penalty= 10; gap extension penalty= 0,20. Para el resto de parámetros se utilizaron los valores por defecto. El alineamiento obtenido se examinó visualmente buscando incongruencias y se editó para los análisis posteriores.

El análisis filogenético se realizó para el fragmento de ADN de 329 pares de bases [posiciones nucleotídicas 15.512 - 15.839 de la secuencia de referencia de *Equus asinus* X97337 (Xu *et al*., 1996)]. Bennett *et al*. (2017) desarrollaron los análisis filogenéticos sobre un fragmento de 229 pares de bases.

La búsqueda del modelo de sustitución nucleotídica que mejor se ajusta a los datos se realizó con jMoldeltest2 bajo plataforma CIPRES (Miller *et al*., 2010; http://www.phylo.org/index.php/). Se examinaron 88 modelos evolutivos con un esquema de cuatro categorías asociadas a la variación entre posiciones nucleotídicas. Los cálculos se realizaron utilizando una topología inicial de máxima verosimilitud optimizada con SPR. El criterio de selección de modelos aplicado fue el Criterio de Información de Akaike corregido (AICc, *corrected Akaike Information Criterion*).

La filogenia de ML se realizó utilizando la plataforma PhyML 3.0 (Guindon *et al*., 2010; http://www.atgc-montpellier.fr/phyml/) implementado el modelo evolutivo asociado a nuestra matriz de datos. El algoritmo de PhyML obtuvo la topología inicial a partir del método basado en distancias rápidas BioNJ (Gascuel, 1997). Posteriormente, el árbol se optimizó explorando el espacio de topologías mediante una aproximación PhyML 3.0-SPR (Guindon *et al*. (2010). El análisis de soporte de ramas se realizó mediante el método de Shimodaira-Hasegawa *approximate Likelihood Ratio Test* (SH-aLRT), optimizado para desarrollarse bajo entorno de PhyML 3.0 (Anisimova y Gascuel, 2006; Guindon *et al*., 2010). La topología resultante se visualizó y editó con FigTree 1.4.2 (http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/).

CAPÍTULO 8

Una última pregunta: supongamos profesor Russell… que esta grabación sea vista por nuestros descendientes, como los Manuscritos del Mar Muerto, en un período de cientos de años. ¿Qué piensa usted que valdría la pena decirle a esa generación sobre la vida que usted vivió y las lecciones que usted de ella aprendió?

Me gustaría ver dos cosas: una intelectual y una moral.

Lo intelectual que me gustaría decirles es esto: cuando estés estudiando cualquier tema o considerando cualquier filosofía, pregúntate a ti mismo únicamente: ¿cuáles son los hechos? ¿y cuál es la verdad que los hechos sostienen? Nunca te dejes desviar, ya sea por lo que tú deseas creer o por lo que crees que te traería beneficio si así fuese creído. Observa únicamente e indudablemente cuáles son los hechos. Eso es lo intelectual que quisiera decir.

Entrevista de la BBC a Bertrand Russell en 1959.

8. RESULTADOS

Para esta investigación se han analizado 225 restos de équidos procedentes de 20 yacimientos ibéricos (Tabla 8.1). Hemos conseguido recuperar ADN mitocondrial de 86 restos fósiles o subfósiles, procedentes de 11 yacimientos (Tabla 8.1). Treinta y dos muestras se han recuperado de niveles estratigráficos asociados al Pleistoceno superior y proceden de 7 yacimientos distribuidos por: el Principado de Asturias (*n*=2), Cantabria (*n*=1), Cataluña (*n*=1), La Comunidad Valenciana (*n*=1), Castilla y León (*n*= 1) y Castilla-La Mancha (*n*=1). La cronología de estas muestras comprende desde finales del Paleolítico Medio hasta finales del Pleistoceno superior.

Tabla 8.1. ***Relación de yacimientos estudiados en esta investigación***. Se identifican aquellos yacimientos en los que se ha podido recuperar ADN de sus muestras, el número total de restos (NR) de équidos estudiados por yacimiento, el número total de muestras fósiles o subfósiles que han ofrecido resultados positivos, y el porcentaje de éxito en cada yacimiento. Se detalla también la asociación pleistocena/holocena de las muestras analizadas. Los yacimientos están presentados en función de su localización geográfica, de Norte a Sur. (1) Coordenadas aproximadas.

YACIMIENTO	COMUNIDAD AUTÓNOMA	SERIE	LATITUD	LONGITUD	NR	RESULTADOS	NR $_{resultados}$	%
La Garma	Cantabria	Pleistoceno	43° 25′ 50′′ N [1]	3° 39′ 57′′ O [1]	10	**SI**	7	70,0
Cueva Oscura de Ania	Asturias	Pleistoceno	43° 25′ 29,22′′ N [1]	5° 59′ 17,63′′ O [1]	12	**SI**	2	16,7
Las Caldas	Asturias	Pleistoceno	43° 20′ 4,53′′ N	5° 54′ 47,61′′ O	30	**SI**	16	53,3
Cueva del Conde	Asturias	Pleistoceno	43° 17′ 23′′ N	5° 58′ 54′′ O	2	*NO*	0	0,0
Galería de las Estatuas	Castilla y León	Pleistoceno	42° 21´ 2,61´´ N [1]	3° 31´ 3,89´´ O [1]	1	**SI**	1	100,0
Bora Gran d'En Carreras	Cataluña	Pleistoceno	42° 10′ 22,85′′ N	2° 44′ 38,50′′ E	20	**SI**	3	15,0
La Peña de Estebanvela	Castilla y León	Pleistoceno	41° 21´27,9´´ N [1]	3° 19´ 15,99´´ O [1]	10	*NO*	0	0,0
Jarama VI	Castilla-La Mancha	Pleistoceno	40° 56′ 50,56′′ N	3° 19′ 1,06′′ O	20	**SI**	1	5,0
Portalón de Tejadilla	Castilla y León	Pleistoceno	40° 55′ 9,06′′ N [1]	4° 08′ 2,20′′ O [1]	5	*NO*	0	0,0
Cueva de la Zarzamora	Castilla y León	Pleistoceno	40° 55′ 9,06′′ N	4° 08′ 2,20′′ O	2	*NO*	0	0,0
Cueva del Camino	Madrid	Pleistoceno	40° 55′ 26,73′′ N	3° 48′ 33,78′′ O	3	*NO*	0	0,0
Cova Negra	Comunidad Valenciana	Pleistoceno	38° 57′ 56,77′′ N	29′ 49,24′′ O	3	*NO*	0	0,0
Cova Beneito	Comunidad Valenciana	Pleistoceno	38° 48′ 03′′ N	3° 12′ E	9	*NO*	0	0,0
Cova Foradada	Comunidad Valenciana	Pleistoceno	38° 48´ 18,5´´ N	11´ 53,35´´ E	12	**SI**	2	16,7
Cova de les Cendres	Comunidad Valenciana	Pleistoceno	38° 40′ 47,41′′ N [1]	8′ 53,52′′ E [1]	3	*NO*	0	0,0
La Carihuela	Andalucía	Pleistoceno	37° 26′ 26,25′′ N [1]	3° 25′ 48,07′′ O [1]	12	*NO*	0	0,0
El Portalón de Cueva Mayor	Castilla y León	Holoceno	42° 20' 53,68" N	3° 31´ 1,13´´ O	54	**SI**	42	77,8
El Mirador	Castilla y León	Holoceno	42° 20′ 32,11′′ N	3° 30′ 25,32′′ O	2	**SI**	1	50,0
Cova Fosca	Comunidad Valenciana	Holoceno	40° 25′ 5′′ N	5′ 1,10′′ E	8	**SI**	5	62,5
Cancho Roano	Extremadura	Holoceno	38° 42′ 15,98′′ N	5° 40′ 56,70′′ O	7	**SI**	6	85,7

Por su parte, los 54 restos faunísticos restantes de los que se ha recuperado ADN presentan cronologías holocenas. Estas muestras proceden de 4 yacimientos distribuidos por la Comunidad Valencia (*n*=1), Castilla y León (*n*=2) y Extremadura (*n*=1). Cronológicamente, están asociados al Neolítico, Calcolítico, Edad del Bronce, Edad del Hierro y Edad Media.

Un total de 139 restos no han ofrecido ADN. En nueve yacimientos no hemos podido recuperar ADN de ninguno de los restos faunísticos asociados a esos yacimientos (Tabla 8.1). El número de restos de estos yacimientos con ningún resultado positivo asciende a 49 fósiles.

De manera global, estos 86 restos faunísticos que han ofrecido resultados positivos representan un 38,2 % de éxito en el proceso de recuperación de ADN, respecto al total de los restos analizados. Sin embargo, este porcentaje varía mucho a la hora de analizar la tasa de éxito para cada yacimiento (Figura 8.1). Excluyendo el yacimiento de Galería de las Estatuas, del que solo estudiamos un fósil y ha ofrecido ADN, en el resto de yacimientos el porcentaje de éxito ha variado desde el 85,7% hasta el 5%.

En los siguientes apartados 8.1 *Análisis sobre Equus ferus / Equus caballus* y 8.2 *Análisis sobre Equus hydruntinus*, se presentan detalladamente los resultados obtenidos para cada yacimiento, así como características de las secuencias que se han recuperado de cada resto fósil o subfósil.

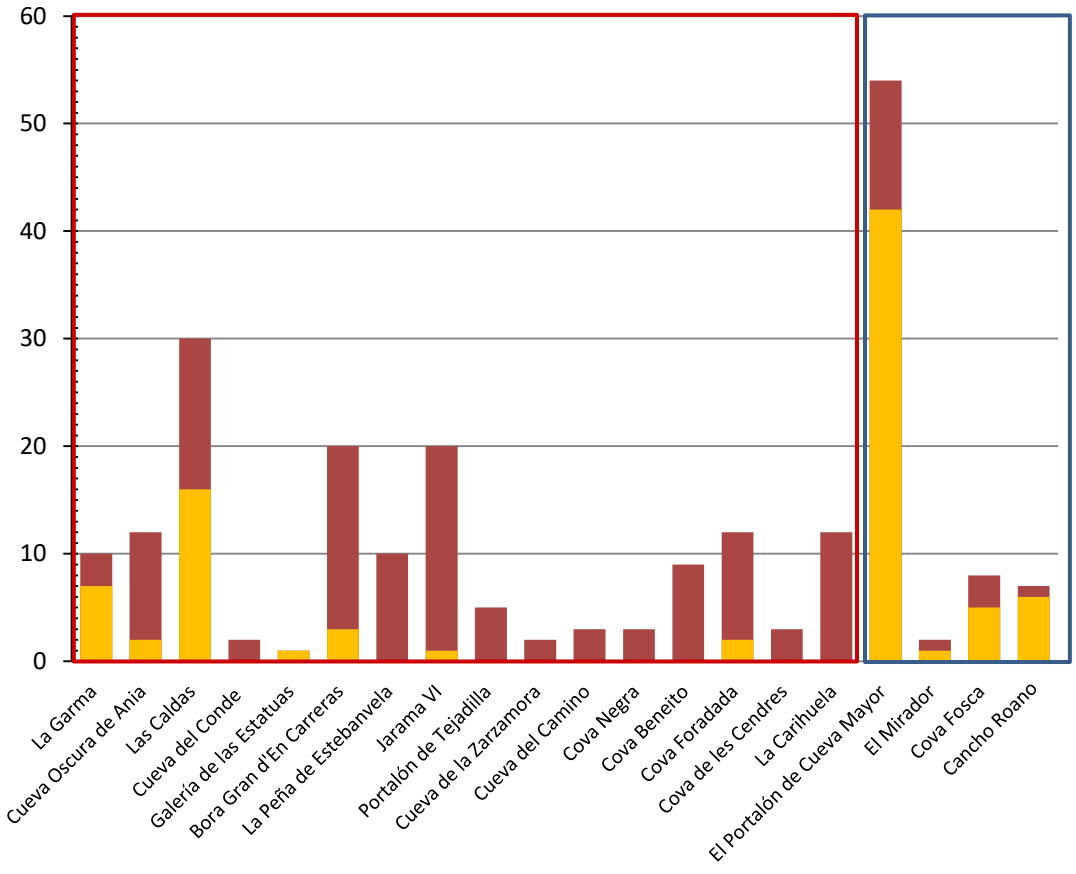


Figura 8.1. ***Frecuencia de éxito en la recuperación de ADN para cada yacimiento estudiado*.** En amarillo, los resultados positivos; en rojo, los negativos. Marco rojo: Yacimientos pleistocenos. Marco azul: yacimientos holocenos.

Además, en el *Apartado 8.1.10* se presenta la relación de yacimientos de los que no se pudo recuperar ADN en ninguna de las muestras seleccionadas.

8.1. Análisis sobre *Equus ferus / Equus caballus*

8.1.1. Muestras de Las Caldas (San Juan de Priorio, Asturias)

8.1.1.1. Resultados genéticos obtenidos

Analizamos 30 muestras de la cueva de Las Caldas y 16 ofrecieron resultados positivos (Figura 8.1.1.1). Las muestras asociadas a niveles solutrenses que ofrecieron ADN fueron CDS04, CDS11, CDS12 y CDS14. Las muestras asociadas a niveles magdalenienses fueron: CDS19, CDS21, CDS22, CDS23, CDS24, CDS25, CDS26, CDS27, CDS29, CDS30, CDS31 y CDS32. Las muestras de las que se ha extraído ADN, así como las regiones del ADN mitocondrial que se han podido recuperar para cada muestra aparecen detalladas en la Tabla 8.1.1.1.

Tabla 8.1.1.1. ***Resultados genéticos en las muestras de Las Caldas.*** Muestras de La Caldas que han ofrecido resultados positivos, y regiones del ADN mitocondrial que se han recuperado para cada muestra.

Muestra	REGIÓN 1			REGIÓN 2			REGIÓN 3		
	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse
CDS 04	1	0	0	1	0	0	1	1	1
CDS11	1	2	2	1	2	2	1	2	2
CDS 12	1	0	0	1	1	1	1	0	0
CDS 14	1	0	0	1	1	1	1	0	0
CDS 19	1	1	1	1	2	2	1	0	0
CDS 21	1	0	0	1	1	1	1	0	0
CDS 22	1	0	0	1	1	1	1	0	0
CDS 23	1	2	2	1	2	2	1	0	0
CDS 24	1	1	1	1	1	1	1	0	0
CDS 25	1	0	0	1	0	0	1	1	1
CDS 26	1	1	1	1	2	2	1	2	2
CDS 27	1	0	0	1	1	1	1	1	1
CDS 29	1	0	0	1	1	1	1	1	1
CDS 30	1	0	0	1	1	1	1	0	0
CDS 31	1	0	0	1	2	2	1	0	0
CDS 32	1	0	0	1	1	1	1	1	1

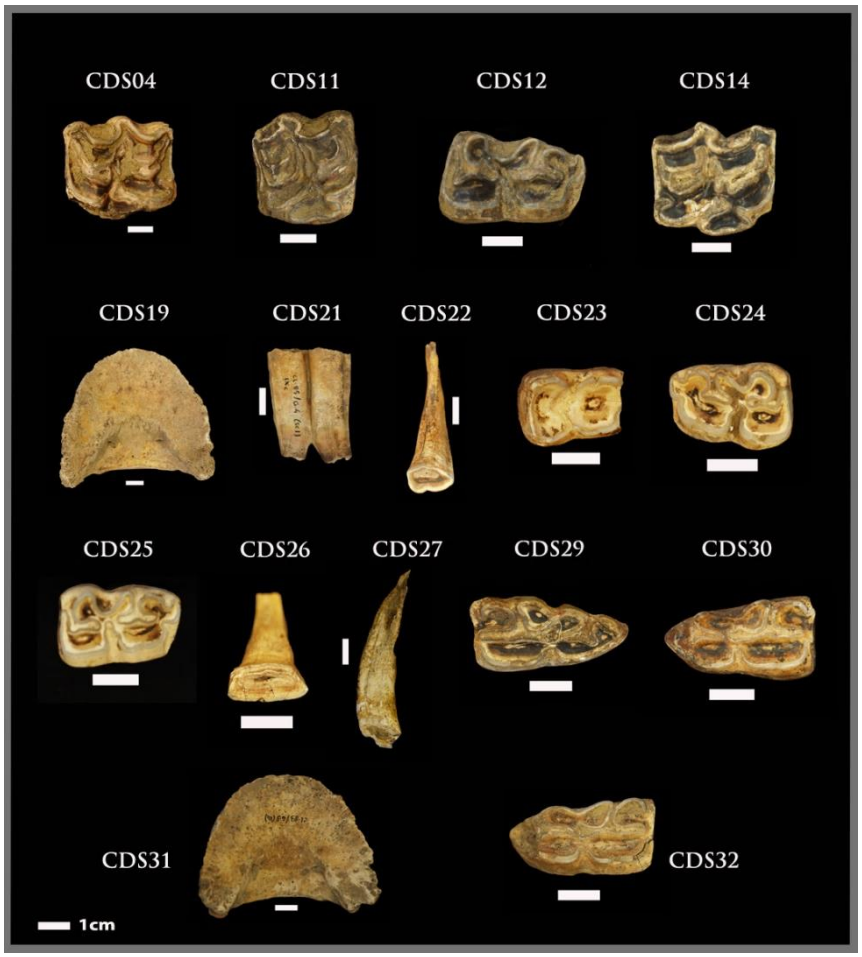


Figura 8.1.1.1. ***Relación de muestras de Las Caldas que han ofrecido resultados positivos.***

La tasa de éxito en la recuperación de ADN a partir de todas las muestras analizadas en este yacimiento asciende al 53,3%. Separando las muestras por periodos culturales, se observa una tasa de éxito diferencial entre estos periodos (Tabla 8.1.1.2). Las tasas de éxito más bajas están asociadas a los periodos Solutrense medio (16,7%) y Magdaleniense inferior (ningún resultado). Por el contrario, en el horizonte Solutrense superior y en el resto de horizontes asociados al Magdaleniense (Magdaleniense medio antiguo, Magdaleniense medio evolucionado, Magdaleniense medio transicional y Magdaleniense superior), la tasa de éxito en la recuperación de ADN oscila entre el 42,9 – 100% (Tabla 8.1.1.2). Es necesario destacar que el total de muestras analizadas es bajo para los periodos culturales Magdaleniense medio, evolucionado, Magdaleniense medio transicional y Magdaleniense superior. Desconocemos si al aumentar el número de las muestras de estos niveles, se mantendrían estos porcentajes en la obtención de resultados positivos.

Tabla 8.1.1.2. ***Muestras positivas de Las Caldas asociadas a sus horizontes culturales***.

PERIODO	NR	RESULTADOS	MUESTRAS	% ÉXITO
Solutrense medio	6	1	CDS04	16,7
Solutrense superior	7	3	CDS11, CDS12, CDS14	42,9
Magdaleniense inferior	3	0	0	0
Magdaleniense medio antiguo	10	8	CDS19, CDS21, CDS22, CDS23, CDS24, CDS25, CDS26, CDS27,	80
Magdaleniene medio evolucionado	1	1	CDS29	100
Magdaleniense medio transicional	2	2	CDS30, CDS31	100
Magdaleniense superior	1	1	CDS32	100
TOTAL	**30**	**16**		

El análisis exploratorio realizado con el algoritmo heurístico de alineamiento BLAST (*Basic Local Aligment Search Tool*) (Altschul *et al*., 1990) y la aplicación (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi), ha puesto de manifiesto que todas las secuencias de los équidos de Las Caldas pertenecen a *Equus caballus* / *Equus ferus*. Previamente, se había sugerido que las muestras CDS23 y CDS24 fueran de *Equus hydruntinus*. Estas muestras han dado resultados positivos y, sin embargo, el análisis de BLAST ha ofrecido homología con caballos.

En las Tablas 8.1.1.3 – 8.1.1.7, se presentan las posiciones nucleotídicas polimórficas de las muestras de Las Caldas en relación a la nueva secuencia de Referencia para *Equus caballus* JN398377 (Achilli *et al*., 2012).

Tabla 8.1.1.3 ***Posiciones nucleotídicas variables de las muestras de Las Caldas, np. 15.444-15.842***. Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la nueva secuencia de Referencia JN398377, para las muestras de las que se ha recuperado toda la secuencia entre 15.444 – 15.842 (regiones 1, 2 y 3). El símbolo "." refleja identidad nucleotídica, Y (C o T).

	Posición nucleotídica																							
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Muestras	4	4	5	5	5	6	6	6	6	6	6	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	8	8	
	9	9	6	8	9	0	0	3	4	5	6	0	0	2	3	4	6	7	7	8	8	0	2	
	1	5	6	5	7	2	4	5	9	0	9	3	9	0	6	2	7	1	5	4	5	6	6	
JN398377	**A**	**T**	**T**	**G**	**A**	**C**	**G**	**C**	**A**	**A**	**C**	**T**	**C**	**G**	**C**	**C**	**C**	**C**	**C**	**C**	**C**	**C**	**A**	
CDS11	.	C	C	.	.	.	.	.	.	G	.	C	.	A	.	T	Y	.	T	.	.	.	G	
CDS26	G	C	.	A	G	T	A	T	G	.	Y	.	Y	A	Y	.	.	T	.	Y	Y	T	.	

Tabla 8.1.1.4. ***Posiciones nucleotídicas variables de las muestras de Las Caldas, np. 15.444-15.708.*** Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la nueva secuencia de Referencia JN398377, para las muestras de las que se ha recuperado la secuencia parcial entre 15.444 – 15.708 (regiones 1 y 2). Para la muestra CDS24 no se tiene información desde la posición 15.689 hasta 15708, debido a que se amplificó con la pareja de cebadores 15.546F – 15.708R, que tiene un desfase de 20 nucleótidos en la región *Reverse* con respecto a la otra pareja de cebadores de la región 2. El símbolo "." refleja identidad nucleotídica, Y (C o T), H (A o C o T), R (A o G).

Muestras	Posición nucleotídica																			
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6	6	6	6	6	7
	5	9	0	1	3	4	4	4	5	8	0	0	0	1	1	4	5	6	7	0
	0	5	7	9	0	1	6	7	0	5	2	4	6	1	2	9	0	7	0	3
JN398377	**C**	**T**	**C**	**C**	**C**	**C**	**C**	**C**	**C**	**G**	**C**	**G**	**C**	**G**	**A**	**A**	**A**	**A**	**G**	**T**
CDS19	.	C	.	.	T	.	.	.	T	A	T	.	.	.	G	G	.	G	.	C
CDS23	.	C	.	Y	.	Y	Y	Y	.	A	T	.	H	R	G	G	.	R	R	C
CDS24	T	C	T	.	.	.	.	.	.	.	T	A	.	.	.	.	G	.	.	?

Tabla 8.1.1.5. ***Posiciones nucleotídicas variables de las muestras de Las Caldas, np. 15.556-15.842.*** Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la nueva secuencia de Referencia JN398377, para las muestras de las que se ha recuperado la secuencia parcial entre 15.556 – 15.842 (regiones 2 y 3). El símbolo "." refleja identidad nucleotídica, R (A o G), K (G o T).

Muestras	Posición nucleotídica															
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	5	5	6	6	6	7	7	7	7	7	7	7	8	8	8	8
	5	8	0	1	4	2	2	4	6	7	8	9	1	1	2	3
	8	5	2	7	9	0	8	2	4	1	0	6	7	8	5	2
JN398377	**G**	**G**	**C**	**T**	**A**	**G**	**T**	**C**	**A**	**C**	**T**	**C**	**G**	**G**	**C**	**A**
CDS27	.	.	T	C	G	A	.	.	.	T	.	.	R	R	T	.
CDS29	A	.	T	C	G	A	K	T	R	T	K	.	.	.	.	R
CDS32	.	R	T	C	G	A	.	.	.	T	.	T	.	.	.	.

Tabla 8.1.1.6. ***Posiciones nucleotídicas variables de las muestras de Las Caldas, np. 15.556-15.708***. Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la nueva secuencia de Referencia JN398377, para las muestras de las que se ha recuperado la secuencia parcial entre 15.556 – 15.708 (región 2). Para las muestras CDS12 y CDS14 no se tiene información entre las posiciones nucleotídicas 15.556 – 15.564 y 15.689 – 15.708, debido a que se amplificaron con la pareja de cebadores 15.546F – 15.708R. El símbolo "." refleja identidad nucleotídica, R (A o G), Y (C o T), S (G o C), M (A o C), K (G o T).

| Muestras | Posición nucleotídica | | |

8.1.2. Muestras de Cueva Oscura de Ania (Las Regueras, Asturias)

8.1.2.1. Resultados genéticos obtenidos

Hemos realizado análisis de ADN sobre 12 restos de équidos de Cueva Oscura de Ania. Ocho restos pertenecían a *Equus ferus* y cuatro restos estaban clasificados como *Equus* (*Asinus*) sp. (Tabla 7.4.2.2). Hemos obtenido resultados positivos en dos restos (Figura 8.1.2.1). Estas muestras han sido las etiquetadas con nuestros números de laboratorio COA10 y COA16.



Figura 8.1.2.1. ***Relación de muestras de Cueva Oscura de Ania que han ofrecido ADN***. a) COA16, Vista bucal; b) COA16, vista oclusal.

El porcentaje de éxito en la recuperación de ADN de Cueva Oscura de Ania alcanza el 16,7% de resultados positivos. La muestra COA10 procede de un resto faunístico taxonómicamente adscrito a *Equus hydruntinus*, y la muestra COA16 de un resto faunístico asociado a *Equus ferus*.

En ambas muestras se ha podido recuperar el fragmento de estudio comprendido entre las posiciones nucleotídicas 15.444 – 15.842 (Tabla 8.1.2.1).

Se realizó un primer análisis exploratorio utilizando el algoritmo de alineamiento de secuencias BLAST (*Basic Local Aligment Search Tool*) a partir de la aplicación (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi). Todas las secuencias similares a COA10 y COA16 que recuperó BLAST están taxonómicamente asociadas a *Equus caballus* / *Equus ferus*. Ninguna de las muestras ha presentado homología con *Equus hydruntinus*.

Tabla 8.1.2.1. ***Resultados de ADN obtenidos en las muestras de Cueva Oscura de Ania***. Se señalan las regiones amplificadas y, para cada región, la cantidad de extractos de los que se ha recuperado ADN y la cantidad de secuencias Forward y Reverse obtenidas.

Muestra	REGIÓN 1			REGIÓN 2			REGIÓN 3		
	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse
COA10	1	1	1	1	1	1	1	1	1
COA16	2	2	2	2	1	1	2	2	2

La Tabla 8.1.2.2 presenta las posiciones nucleotídicas polimórficas de las muestras de Cueva Oscura de Ania en relación a la nueva secuencia de Referencia para *Equus caballus* JN398377 (Achilli *et al*., 2012).

Tabla 8.1.2.2. ***Posiciones nucleotídicas variables de las muestras de Cueva Oscura de Ania, np. 15.444-15.842***. Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la nueva secuencia de Referencia JN398377. El símbolo "." refleja identidad nucleotídica, Y (C o T), R (A o G), H (A o C o T).

Muestras	Posición nucleotídica													
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	4	5	5	5	6	6	6	6	6	6	7	7	7	8
	9	4	5	8	0	1	2	4	5	6	2	7	7	2
	5	1	5	5	2	7	6	9	1	7	0	0	1	7
JN398377	**T**	**C**	**C**	**G**	**C**	**T**	**A**	**A**	**G**	**A**	**G**	**C**	**C**	**A**
COA10	C	.	.	.	T	C	.	G	.	.	A	.	T	.
COA16	C	Y	Y	A	T	C	G	.	R	G	A	H	T	G

8.1.2.2. Resultados de las dataciones de radiocarbono

Los análisis de radiocarbono realizados sobre las muestras COA10 y COA16 las asocian a finales del Pleistoceno. Para la muestra COA10 se ha obtenido un resultado de 13.420 ± 65 BP (OxA-21521) y para COA16 el resultado es de 14.140 ± 70 BP (OxA-21522) (Tabla 8.1.2.3). Además, estos resultados de radiocarbono se aproximan a las cronologías magdalenienses de Cueva Oscura de Ania y de otros yacimientos como la Cueva de Las Caldas, por lo que sirven para concretar la cronología del estrato III de Cueva Oscura de Ania.

Tabla 8.1.2.3. ***Resultados de radiocarbono obtenidos de las muestras de Cueva Oscura de Ania analizadas en este estudio*****.** (1) Calibración a 2σ utilizando el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13.

Nº LAB	REFERENCIA DEL LABORATORIO	^{14}C BP CONVENCIONAL	^{14}C cal. BP. (2σ) [1]	^{14}C cal. BC. (2σ) [1]
COA10	OxA-21521	13420 ± 65	16360 - 15910	14411 - 13961
COA16	OxA-21522	14140 ± 70	17467 - 16972	15518 - 15023

8.1.3. Muestras de La Garma A (Omoño, Cantabria)

8.1.3.1. Resultados genéticos obtenidos

Se seleccionaron 10 restos faunísticos de *Equus ferus* procedentes del nivel L3 de La Garma A, y se ha obtenido ADN de siete de las muestras: GAR01, GAR03, GAR04, GAR06, GAR07, GAR08 y GAR09 (Figura 8.1.3.1).

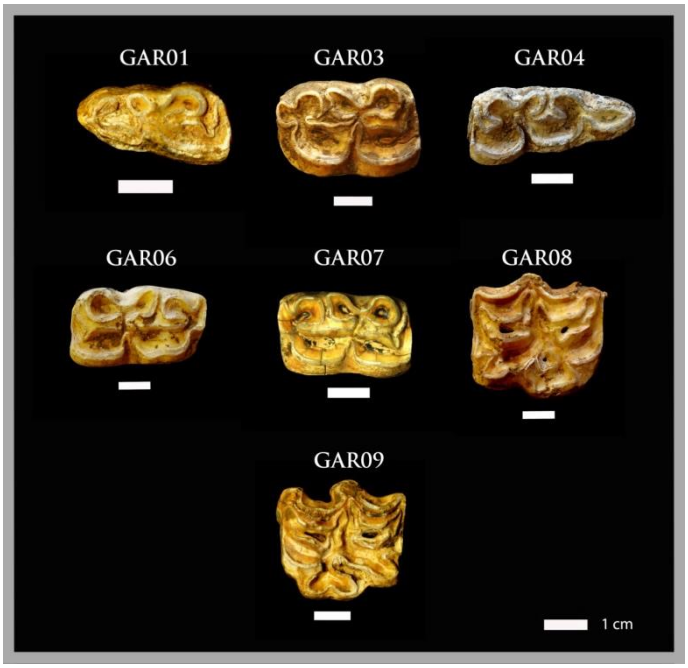


Figura 8.1.3.1. ***Relación de muestras de La Garma A de las que se ha recuperado ADN.***

El porcentaje de éxito en la recuperación de ADN en el yacimiento de La Garma A ha alcanzado el 70%. En cuatro muestras se ha podido recuperar completamente la región comprendida entre las posiciones nucleotídicas 15.444 – 15.842 (GAR01, GAR03, GAR06 y GAR08). En tres muestras se han recuperado fragmentos parciales: en GAR04 la región 2, en GAR07 las regiones 2 y 3, y en GAR09 la región 1 (Tabla 8.1.3.1).

Tabla 8.1.3.1. ***Resultados obtenidos en las muestras de La Garma A*.** Se indican las regiones amplificadas y, para cada región, la cantidad de extractos se los que se ha recuperado ADN y la cantidad de secuencias Forward y Reverse obtenidas.

Muestra	REGIÓN 1			REGIÓN 2			REGIÓN 3		
	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse
GAR1	2	1	1	2	2	2	2	1	1
GAR3	2	1	1	2	2	2	2	1	1
GAR4	1	0	0	1	1	1	1	0	0
GAR6	2	2	2	2	2	2	2	2	2
GAR7	1	0	0	1	1	1	1	1	1
GAR8	1	1	1	1	1	1	1	1	1
GAR9	1	1	1	1	0	0	1	0	0

El análisis exploratorio realizado con BLAST (*Basic Local Aligment Search Tool*) y la aplicación (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi), ha puesto de manifiesto que todas las secuencias de La Garma A son similares a *Equus caballus* / *Equus ferus*.

A continuación, se presentan en las Tablas 8.1.3.2 – 8.1.3.5 las posiciones nucleotídicas polimórficas de las muestras de La Garma A en relación a la nueva secuencia de Referencia para *Equus caballus* JN398377 (Achilli *et al*., 2012).

Tabla 8.1.3.2. ***Posiciones nucleotídicas variables de las muestras de La Garma A, np. 15.444-15.842***. Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la nueva secuencia de Referencia JN398377, para las muestras de las que se ha recuperado toda la secuencia entre 15.444 – 15.842 (regiones 1, 2 y 3). El símbolo "." refleja identidad nucleotídica, "-" representa un hueco en la secuencia, Y (C o T), R (A o G).

Muestras	Posición nucleotídica																																							
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	7	7	7	7	7	7	7	8	8	8	8	8	8	8	8
	7	9	9	2	3	3	3	3	4	5	8	8	9	0	0	0	0	0	3	4	5	7	7	8	0	2	5	5	7	7	9	0	1	1	1	4	5	6	7	8
	5	5	9	8	3	5	6	9	6	5	4	5	7	2	4	5	6	7	5	9	1	0	8	0	0	0	0	3	1	8	4	6	4	5	6	1	2	3	4	5
JN398377	T	T	C	C	A	A	T	C	C	C	C	C	G	A	C	G	C	C	C	C	C	A	G	G	C	C	C	G	C	G	C	C	C	C	C	G	G	G	G	G
GAR01	C	C	.	.	-	C	C	T	T	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
GAR03	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	Y	A	G	T	A	.	Y	.	T	R	R	R	.	.	Y	A	.	.	T	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.
GAR06	.	C	Y	Y	.	.	.	.	.	Y	.	.	.	T	.	.	.	Y	.	G	.	.	Y	.	.	A	Y	R	T	Y	Y	.	.	.	.	R	.	.	.	.	.
GAR08	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	G	T	A	Y	.	.	T	G	.	.	.	Y	.	A	.	.	T	.	.	T	R	R	R	R	.	.	.	.	.

Tabla 8.1.3.3. ***Posiciones nucleotídicas variables de la muestra de La Garma A GAR07, np. 15.565-15.842***. Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la nueva secuencia de Referencia JN398377, para el fragmento comprendido entre 15.565 – 15.842 (regiones 2 y 3). N (A, C, G o T).

Muestra	Posición nucleotídica											
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	5	5	5	5	6	6	6	6	7	7	8	8
	8	9	9	9	0	0	3	4	2	7	0	1
	5	0	2	7	2	4	5	9	0	1	6	1
JN398377	**G**	**G**	**A**	**A**	**C**	**G**	**C**	**A**	**G**	**C**	**C**	**C**
GAR07	A	A	N	G	T	A	T	G	A	T	T	T

Tabla 8.1.3.4. ***Posiciones nucleotídicas variables de la muestra de La Garma A GAR09, np. 15.444-15.606***. Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la nueva secuencia de Referencia JN398377, para el fragmento comprendido entre 15.444 – 15.606 (región 1).

Muestra	Posición nucleotídica				
	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5
	4	4	5	5	6
	6	9	3	8	0
	5	5	4	5	2
JN398377	**C**	**T**	**C**	**G**	**C**
GAR09	T	C	T	A	T

Tabla 8.1.3.5. ***Posiciones nucleotídicas variables de la muestra de La Garma A GAR04, np. 15.565-15.688***. Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la nueva secuencia de Referencia JN398377, para el fragmento comprendido entre 15.565 – 15.688 (región 2). Y (C o T).

Muestra	Posición nucleotídica		
	1	1	1
	5	5	5
	5	6	6
	8	5	7
	4	0	8
JN398377	**C**	**A**	**C**
GAR04	Y	G	Y

8.1.4. Muestras de Bora Gran d'En Carreras (Serinyà, Girona)

8.1.4.1. Resultados genéticos obtenidos

Hemos analizado un total de 20 muestras de équidos de Bora Gran, obteniendo resultados positivos solo de cuatro muestras. La Tabla 8.1 se detallan únicamente tres restos fósiles, debido a que el cuarto resto ha resultado ser contemporáneo a la época actual (ver más adelante). Las muestras con resultados positivos han sido las etiquetadas con los números de laboratorio BG4, BG12, BG13 y BG14. Entre todas hemos alcanzando un 20% de resultados positivos (Tabla 8.1.4.1). Las cuatro muestras proceden de restos faunísticos taxonómicamente adscritos a *Equus hydruntinus*.

Tabla 8.1.4.1. ***Relación de resultados de ADN de las muestras de Bora Gran*.** Se indican las regiones amplificadas y, para cada región, la cantidad de extractos se los que se ha recuperado ADN y la cantidad de secuencias Forward y Reverse obtenidas.

Muestra	REGIÓN 1			REGIÓN 2			REGIÓN 3		
	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse
BG 04	**1**	2	2	**1**	1	1	**1**	0	0
BG 12	**1**	1	1	**1**	1	1	**1**	1	1
BG 13	**2**	2	2	**2**	2	2	**2**	2	2
BG 14	**1**	2	2	**1**	1	1	**1**	2	2



Figura 8.1.4.1. ***Muestras BG4, BG12 y BG14 de Bora Gran que han ofrecido resultados positivos***.

El análisis previo realizado con el algoritmo de alineamiento de secuencias BLAST (*Basic Local Aligment Search Tool*) y la aplicación (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi), ha puesto de manifiesto que las secuencias de Bora Gran BG4, BG12 y BG14 presentan similitud con secuencias de *Equus caballus* / *Equus ferus* (Figura 8.1.4.1), mientras que la muestra BG13 presenta similitud con *Equus asinus* (Figura 8.1.4.2).

La homología de BG13 con *Equus asinus* se obtuvo al contrastar, primero, el fragmento de la región 1 y, posteriormente, el fragmento de la región 3. Con los cebadores de la región 2 específicos para la amplificación de ADN de *Equus caballus* / *Equus ferus* no se obtuvieron

resultados positivos. Este resultado no era esperable para el contexto cronológico del yacimiento, debido a que *Equus asinus* no es un taxón endémico de la península ibérica. Su aparición en Iberia ha estado tradicionalmente vinculada a una supuesta introducción por los fenicios. Sin embargo, recientemente este escenario se ha visto modificado por la publicación del mitogenoma de un resto de asno asociado a cronologías calcolíticas (Cardoso *et al*., 2013).

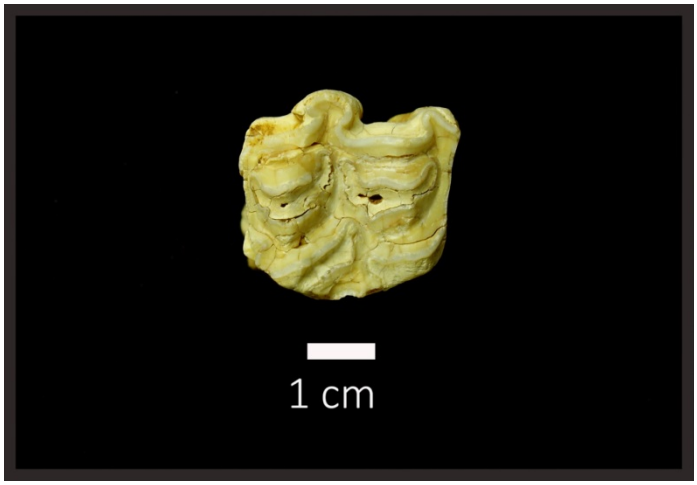


Figura 8.1.4.2. ***Muestra BG13 de Bora Gran que ha ofrecido resultados positivos***.

La extracción de ADN de la muestra BG13 se repitió en 2 ocasiones, y en la amplificación de las regiones 1 y 3 se obtuvo el mismo resultado. Además, se diseñó una pareja de cebadores específicos para la región 2 del ADN mitocondrial de *Equus asinus*, que se amplificaron siguiendo un protocolo específico (ver apartado *7.1.4.3. Relación de cebadores y programa de PCR utilizados en la amplificación de ADN mitocondrial de* Equus asinus). De este experimento se obtuvieron resultados positivos para la región 2.

8.1.4.2. Resultados de las dataciones de radiocarbono

Con la finalidad de determinar la antigüedad de la muestra BG13, llevamos a cabo un análisis de radiocarbono en Beta Analytic Inc. (Florida, USA) (Figura 8.1.4.2; Tabla 8.1.4.2).

La datación de radiocarbono de la muestra BG13 ha arrojado un resultado de 110 ± 40 años BP (Beta-247629), cuya calibración al 95% de probabilidad ofrece un rango temporal entre los años 1677 - 1940 AD. Este dato pone de manifiesto la presencia de materiales descontextualizados entre las colecciones óseas de Bora Gran atribuidas al Magdaleniense, una sospecha que ya había sido sugerida por Uerpmann (2005) en su estudio sobre los *Equus*

ferus y *Equus hydruntinus* en la península ibérica, y que también se comentó por parte de Nadal *et al*. (2005).

Tabla 8.1.4.2. ***Resultados de radiocarbono de la muestra BG13 de Bora Gran***. (1) Calibración de la muestra a 2σ utilizando el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13.

Nº LAB	LABORATORIO - CÓDIGO	^{14}C BP CONVENCIONAL	^{14}C cal. BP. (2σ) [1]	^{14}C cal. AD. (2σ) [1]
BG 13	Beta - 247629	110 ± 40	273 - 10	1677 - 1940

A la luz de estos resultados hemos retirado la muestra BG13 de análisis posteriores. Y aunque Nadal *et al*., (1997) supusieron que la presencia de restos faunísticos postpaleolíticos en la muestra de Bora Gran debía ser muy pequeña, nos hemos visto obligados a considerar los resultados ofrecidos por las muestras BG4, BG12 y BG14 con extrema cautela.

Retirando esta muestra, el resto de análisis los hemos llevado a cabo con las tres muestras restantes (BG4, BG12 y BG14), reduciéndose el porcentaje de éxito en la recuperación de ADN antiguo del 20% al 15% del total de la muestra de équidos (Tabla 8.1).

Las Tablas 8.1.4.3 y 8.1.4.4 presentan la relación de las posiciones nucleotídicas polimórficas de las muestras de Bora Gran BG4, BG12 y BG14, en relación a la nueva secuencia de Referencia para *Equus caballus* JN398377 (Achilli *et al*., 2012).

Tabla 8.1.4.3. ***Posiciones nucleotídicas variables de las muestras de Bora Gran BG12 y BG14, np. 15.444 - 15.842***. Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la nueva secuencia de Referencia JN398377, para el fragmento comprendido entre 15.444 – 15.842. El símbolo "." refleja identidad nucleotídica, "-" representa un hueco en la secuencia, N (A, C, G o T), R (A o G), Y (C o T).

Muestras	Posición nucleotídica																											
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	4	4	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	7	7	7	8	8	8	
	5	9	2	3	3	3	8	0	1	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	5	5	0	2	7	0	2	2	
	0	5	9	5	6	8	5	2	7	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	0	9	9	0	1	6	6	7	
JN398377	**C**	**T**	**C**	**A**	**T**	**A**	**G**	**C**	**T**	**T**	**A**	**A**	**T**	**A**	**T**	**C**	**A**	**T**	**T**	**A**	**T**	**C**	**G**	**C**	**C**	**A**	**A**	
BG12	T	C	T	.	.	.	R	T	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	Y	A	T	T	.	G	
BG14	.	C	.	-	-	G	.	T	.	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	G	.	T	A	T	.	G	.	

Tabla 8.1.4.4. ***Posiciones nucleotídicas variables de la muestra de Bora Gran BG04, np. 15.444-15.708***. Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la nueva secuencia de Referencia JN398377, para el fragmento comprendido entre 15.444 – 15.708 (región 2). R (A o G), Y (C o T), M (A o C).

Muestra	Posición nucleotídica							
	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5	5	5	5
	4	5	6	6	6	6	6	7
	9	8	0	0	0	4	5	0
	5	5	2	3	6	9	0	3
JN398377	**T**	**G**	**C**	**T**	**C**	**A**	**A**	**T**
BG04	C	R	Y	Y	M	R	R	Y

8.1.5. Muestras de Cova Fosca (Ares del Maestre, Castellón)

8.1.5.1. Resultados genéticos obtenidos

Se realizaron análisis genéticos sobre ocho restos de caballos y obtuvimos ADN de cinco de ellos, alcanzándose por tanto un porcentaje de éxito de 62,5% para este yacimiento (Figura 8.1.5.1). Las muestras que han ofrecido resultados positivos son las etiquetadas con los códigos de laboratorio CFo01, CFo02, CFo06, CFo08 y CFo12. De todas las muestras, pudimos obtener el fragmento completo de estudio comprendido entre las posiciones nucleotídicas 15.444 – 15.842 del ADN mitocondrial, HVR-I.

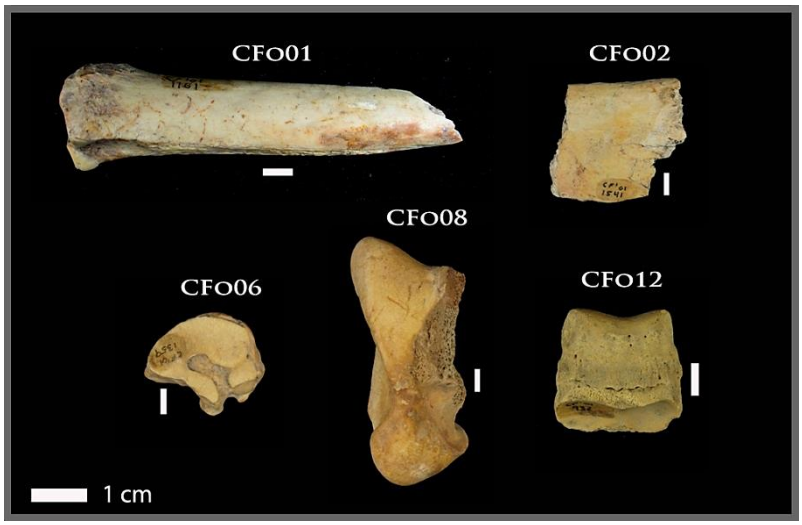


Figura 8.1.5.1. ***Muestras de Cova Fosca que han ofrecido resultados positivos.***

Las secuencias consenso de las muestras se construyeron con las parejas de cebadores 15.425F - 15.625R (región 1), 15.546F - 15.708R y 15.537F - 15.728R (región 2), 15.668F - 15.862R (región 3). Las muestras CFo01 y CFo02 se construyeron a partir de dos extracciones independientes, y varias amplificaciones a partir de los extractos de ADN (Tabla 8.1.5.1). Las secuencias de las muestras CFo06, CFo08 y CFo12 se construyeron a partir de una extracción independiente de cada muestra, y varias amplificaciones independientes para cada una de las 3 regiones en las que se ha dividido el fragmento de estudio (Tabla 8.1.5.1).

Tabla 8.1.5.1. ***Relación de resultados de ADN de las muestras de Cova Fosca*****.** Se indican las regiones amplificadas. Para cada región, se presentan también la cantidad de extractos de los que se ha recuperado ADN y la cantidad de secuencias Forward y Reverse obtenidas.

Muestra	REGIÓN 1			REGIÓN 2			REGIÓN 3		
	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse
CFo01	2	4	3	2	3	3	2	3	3
CFo02	2	3	3	2	5	3	2	3	3
CFo06	1	3	3	1	3	3	1	3	3
CFo08	1	2	2	1	2	2	1	3	3
CFo12	1	3	3	1	3	3	1	3	3

Además, con las muestras CFo01 y CFo02 se realizaron pruebas de optimización de las seis parejas de cebadores de fragmentos de entre 96 – 130 pares de bases, obteniendo resultados positivos para todas las parejas (Tabla 8.1.5.2).

Tabla 8.1.5.2. ***Resultados de la optimización de las parejas de cebadores 15.425F-15.520R; 15.470F-15.583R (región 1); 15.542F-15.660R; 15.608F-15.708R (región 2); 15.668F-15.770R y 15.733F-15.862R (región 3). F: Forward, R: Reverse.***

MUESTRA	REGIÓN 1						REGIÓN 2						REGIÓN 3					
	15.425F - 15.520R			15.470F - 15.583R			15.542F - 15.660R			15.608F - 15.708R			15.668F - 15.770R			15.733F - 15.862R		
	EXTRACTOS	F	R	EXTRACTOS	F	R	EXTRACTOS	F	R	EXTRACTOS	F	R	EXTRACTOS	F	R	EXTRACTOS	F	R
CFo01	2	3	3	2	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
CFo02	2	3	3	2	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Se realizó un análisis previo con el algoritmo de alineamiento BLAST (*Basic Local Aligment Search Tool*) y la aplicación (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi). Todas las muestras de Cova Fosca han resultado ser similares a *Equus caballus* / *Equus ferus.*

En la Tabla 8.1.5.3 se presenta el conjunto de posiciones nucleotídicas polimórficas de las muestras de Cova Fosca, en relación a la nueva secuencia de Referencia para *Equus caballus* JN398377 (Achilli *et al*., 2012).

Tabla 8.1.5.3. ***Posiciones nucleotídicas variables de las muestras de Cova Fosca, np. 15.444 - 15.842***. Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la nueva secuencia de Referencia JN398377, para el fragmento comprendido entre 15.444 – 15.842. El símbolo "." refleja identidad nucleotídica, "-" representa un hueco en la secuencia, R (A o G), Y (C o T).

Muestras	Posición nucleotídica													
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	4	4	5	5	5	5	5	6	6	6	6	7	7	7
	6	9	0	3	3	8	9	0	0	5	8	1	2	7
	4	5	1	3	6	5	7	2	4	0	7	8	0	1
JN398377	**C**	**T**	**C**	**A**	**T**	**G**	**A**	**C**	**G**	**A**	**G**	**C**	**G**	**C**
CFo01	.	C	.	-	C	A	.	T	A	.	.	.	A	.
CFo02	.	C	.	.	.	.	.	T	.	G	.	T	A	T
CFo06	.	C	.	-	C	A	.	T	A	.	.	.	A	.
CFo08	Y	C	Y	.	.	.	G	T	.	G	R	T	A	T
CFo12	.	C	.	-	C	A	.	T	A	.	.	.	A	.

8.1.5.2. Resultados de las dataciones de radiocarbono

Sobre las muestras CFo01, CFo02, CFo08 y CFo12 se realizaron análisis de radiocarbono. Las cuatro muestras procedían de un contexto asociado al Neolítico antiguo. Las muestras CFo01 y CFo02 fueron analizadas por Beta Analytic Inc (USA), y los resultados obtenidos fueron coherentes con la asociación cronoestratigráfica y con la cultura material, permitiendo ofrecer una cronología radiométrica para el Neolítico antiguo de Cova Fosca (Lira *et al*., 2010; Llorente, 2010). Las muestras CFo08 y CFo12 fueron analizadas por los laboratorios de Oxford Radiocarbon Acelerator Unit (Reino Unido) y, los resultados fueron nuevamente coherentes con cronologías neolíticas (Tabla 8.1.5.4). Sin embargo, encontramos una ligera discrepancia en la datación de CFo08 en relación a la de las otras muestras. La muestra CFo08 se recuperó a una cota de -220 / -224, y su resultado de radiocarbono es más semejante al de las muestras CFo01 y CFo02, recuperadas en cotas -196 / -211, y también es más moderno que el de CFo12, que se recuperó a una cota de -211 / -220, inmediatamente superior a la de CFo08. No descartamos la posibilidad de que dentro del paquete sedimentario del Neolítico antiguo se hayan producido procesos postdeposicionales que hayan provocado el desplazamiento vertical de algunas muestras.

Tabla 8.1.5.4. ***Resultados de las dataciones de radiocarbono efectuadas sobre las muestras de Cova Fosca.*** (1) Calibración de las muestras a 2σ utilizando el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13.

MUESTRA	ETAPA CULTURAL	REFERENCIA DE LABORATORIO	^{14}C BP CONVENCIONAL	^{14}C cal. BP. (2σ) [1]	^{14}C cal. BC. (2σ) [1]
CFo01	Neolítico antiguo	Beta-222754	6230 ± 50	7260 - 7003	5311 - 5054
CFo02	Neolítico antiguo	Beta-227420	6200 ± 50	7250 - 6975	5301 - 5026
CFo08	Neolítico antiguo	OxA-21519	6179 ± 39	7230 - 6953	5281 - 5004
CFo12	Neolítico antiguo	OxA-21520	6266 ± 39	7272 - 7025	5323 - 5076

8.1.6. Muestras de Cova Foradada (Xàbia, Alicante)

8.1.6.1. Resultados genéticos obtenidos

De las 12 muestras de équidos analizadas de Cova Foradada, solamente dos restos faunísticos han ofrecido resultados positivos (16,6%). Las muestras de las que se ha recuperado ADN son las etiquetadas con los números de laboratorio CFD02 y CFD08 (Figura 8.1.6.1). Las dos muestras proceden de restos faunísticos taxonómicamente adscritos a *Equus ferus*. Los resultados están asociados a los extractos de ADN obtenidos con el protocolo de extracción número 2.

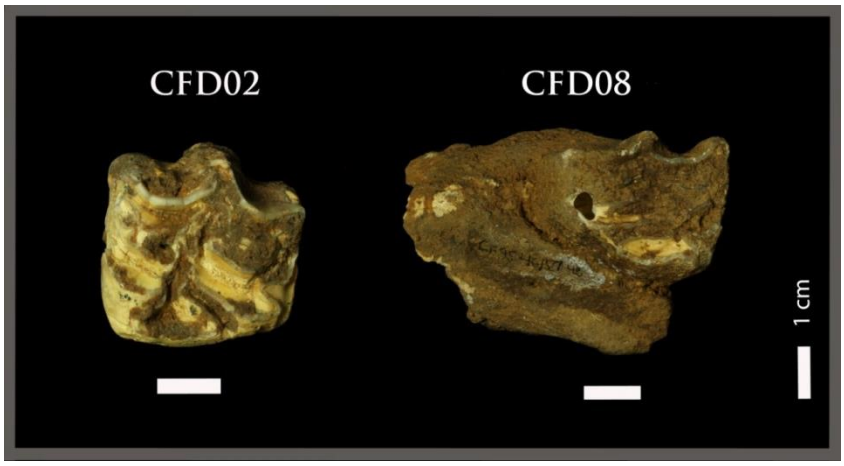


Figura 8.1.6.1. ***Muestras de Cova Foradada de las que se ha recuperado ADN.***

Además, en las dos muestras solamente se pudo recuperar el fragmento genético de la región 1 (Tabla 8.1.6.1). El análisis con BLAST (*Basic Local Aligment Search Tool*) y la aplicación (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi), ha ofrecido resultados de similitud con *Equus caballus* / *Equus ferus*.

Ambas muestras proceden de niveles del Sector I asociados al tecnocomplejo Auriñaciense. La muestra CFD02 procede del nivel IV y la muestra CFD08 del nivel Va. Además, para el nivel Va disponemos de una dataciones de radiocarbono con un resultado de 27.170 ± 150 BP.

Tabla 8.1.6.1. ***Relación de resultados de ADN de las muestras de Cova Foradada*.** Se indican las regiones amplificadas y, para cada región, la cantidad de extractos se los que se ha recuperado ADN y la cantidad de secuencias Forward y Reverse obtenidas.

Muestra	REGIÓN 1			REGIÓN 2			REGIÓN 3		
	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse
CFD02	2	1	1	2	0	0	2	0	0
CFD08	2	1	1	2	0	0	2	0	0

Aunque para el nivel IV no se dispone de ninguna datación de radiocarbono, este nivel debería ser ligeramente más reciente que la datación de 27.170 ± 150 BP del nivel Va. Por lo tanto, la muestra CFD02 podría tener una antigüedad máxima asociada a esta fecha. El nivel IV se enmarca culturalmente en el Auriñaciense, aunque el análisis detallado de la industria ósea sugiere que debería encuadrarse en el Auriñaciense final o evolucionado (J. Casabó i Bernad, J., *comunicación personal*).

Tabla 8.1.6.2. ***Posiciones nucleotídicas variables de las muestras de Cova Foradada, np. 15.444-15.606***. Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la nueva secuencia de Referencia JN398377, para el fragmento comprendido entre 15.444 – 15.606 (región 1). El símbolo "." refleja identidad nucleotídica, Y (C o T), W (A o T), N (A, C, G o T).

Muestras	Posición nucleotídica					
	1	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5	5
	4	4	4	4	6	6
	7	8	8	9	0	0
	9	7	8	5	2	6
JN398377	**C**	**C**	**A**	**T**	**C**	**C**
CFD02	.	T	.	C	T	N
CFD08	Y	T	W	C	T	C

La relación de las posiciones nucleotídicas polimórficas de las muestras de Cova Foradada en relación a la nueva secuencia de Referencia para *Equus caballus* JN398377 (Achilli, *et al*., 2012), se presentan en la Tabla 8.1.6.2.

8.1.7. Muestras de El Portalón de Cueva Mayor (sierra de Atapuerca, Burgos)

8.1.7.1. Resultados genéticos obtenidos

Del yacimiento de El Portalón se seleccionaron para análisis de ADN 54 muestras de équidos. Nueve restos se recuperaron durante las excavaciones de J.M. Apellániz, mientras que los 45 restantes proceden de las excavaciones realizadas por el Equipo de Investigación de Atapuerca (EIA). Un total de 42 restos han ofrecido resultados positivos (Figura 8.1.7.1), alcanzando un 78% de éxito en la recuperación de ADN en este yacimiento. Estas muestras son las que están etiquetadas con nuestros números de laboratorio: ATA01, ATA02, ATA03, ATA04, ATA05, ATA06, ATA07, ATA08, ATA09, ATA10, ATA11, ATA12, ATA13, ATA14, ATA15, ATA16, ATA17, ATA18, ATA19, ATA20 (Tabla 7.4.7.5); ATA23, ATA24, ATA25, ATA26, ATA27, ATA28, ATA29, ATA30, ATA35, ATA36, ATA37, ATA38, ATA39, ATA40, ATA41, ATA42, ATA43, ATA44, ATA45, ATA46, ATA47 y ATA48 (Tabla 7.4.7.6). Además, se ha podido recuperar en todas las muestras el fragmento genético comprendido entre las posiciones nucleotídicas 15.444 – 15.842 del ADN mitocondrial.

Las secuencias consenso se han conseguido a partir de varias extracciones independientes (entre 2 y 6, dependiendo de la muestra), realizadas con los protocolos de extracción de ADN número 1 y número 2. Además, a partir de los extractos de ADN se han realizado múltiples amplificaciones independientes (entre 2 y 9), con las parejas de cebadores de cada una de las regiones de estudio (Tabla 8.1.7.1 y Tabla 8.1.7.2).

Únicamente 12 muestras no ofrecieron resultados (ATA21 y ATA 22, Tabla 7.4.7.5, y las 10 muestras que aparecen en la Tabla 7.4.7.7), a pesar de haber realizado varias amplificaciones de ADN sobre sus extractos.



Figura 8.1.7.1. ***Relación de muestras de El Portalón que han ofrecido ADN***. Muestras ATA01, ATA02, ATA03, ATA04, ATA05, ATA06, ATA07, ATA08, ATA09, ATA10, ATA11, ATA12, ATA13, ATA14, ATA15 y ATA16.



Figura 8.1.7.1 (Continuación). ***Relación de muestras de El Portalón que han ofrecido ADN***. Muestras ATA17, ATA18, ATA19, ATA20; ATA23, ATA24, ATA25, ATA26, ATA27, ATA28, ATA29 y ATA30.

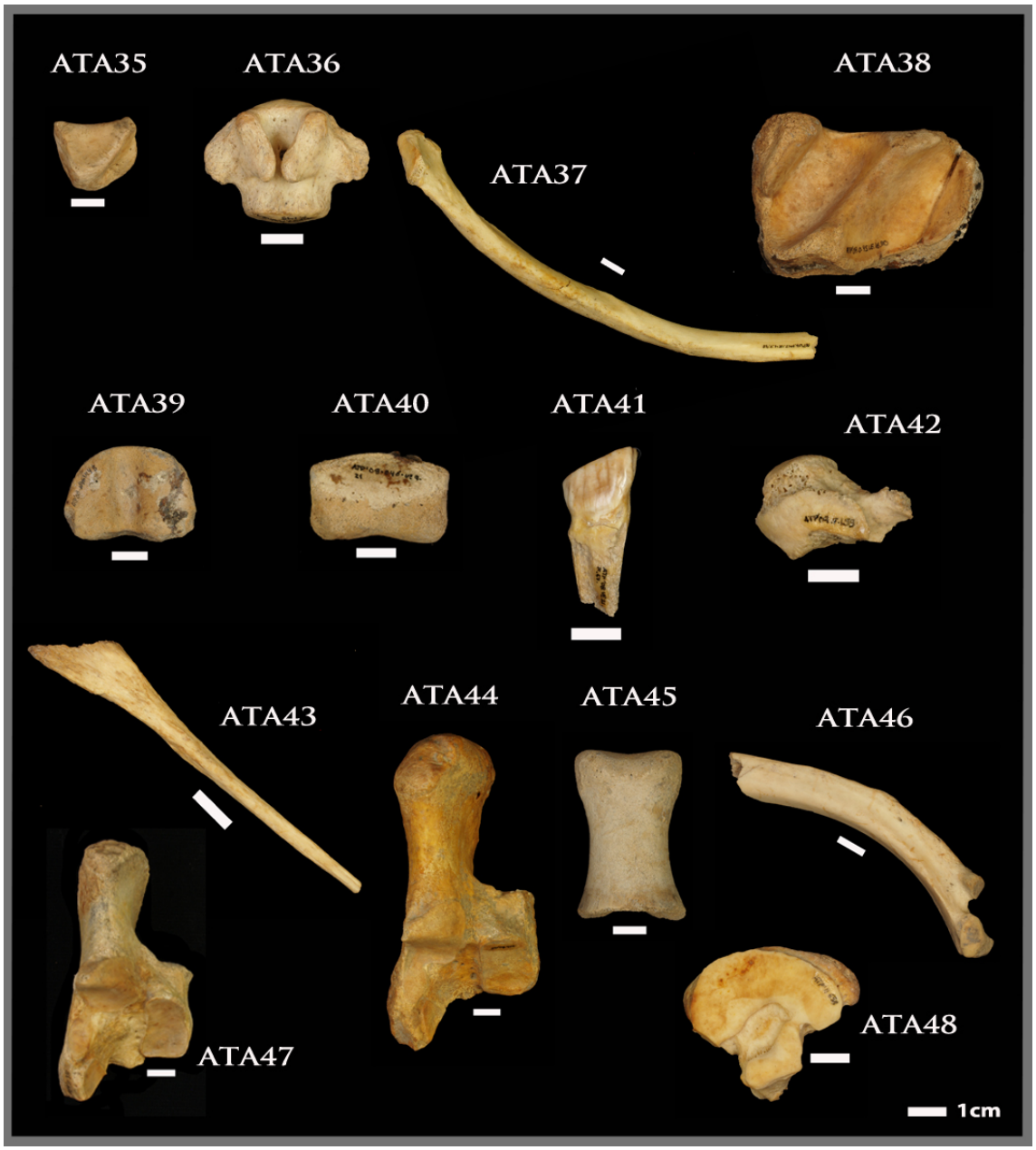


Figura 8.1.7.1 (Continuación). ***Relación de muestras de El Portalón que han ofrecido ADN***. Muestras ATA35, ATA36, ATA37, ATA38, ATA39, ATA40, ATA41, ATA42, ATA43, ATA44, ATA45, ATA46, ATA47 y ATA48.

Tabla 8.1.7.1. ***Relación de resultados de ADN de las muestras de El Portalón*****.** Muestras ATA01 – ATA20. Se indican las regiones amplificadas. Para cada región, se presentan también la cantidad de extractos de los que se ha recuperado ADN y la cantidad de secuencias Forward y Reverse obtenidas.

Muestra	ADN	REGIÓN 1			REGIÓN 2			REGIÓN 3		
		Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse
ATA01	SI	5	5	5	3	6	6	5	5	7
ATA02	SI	4	3	5	3	6	5	4	5	5
ATA03	SI	3	3	3	3	4	4	3	5	6
ATA04	SI	3	3	4	4	5	6	4	4	4
ATA05	SI	2	3	3	3	8	5	2	6	4
ATA06	SI	3	3	3	3	6	6	4	7	7
ATA07	SI	3	5	4	2	4	4	3	4	4
ATA08	SI	4	4	4	4	5	5	3	4	4
ATA09	SI	4	4	4	4	5	4	4	6	6
ATA10	SI	5	5	7	6	6	6	4	5	5
ATA11	SI	3	3	3	3	4	4	3	3	3
ATA12	SI	3	3	3	3	5	5	2	2	2
ATA13	SI	4	4	3	4	3	5	3	5	5
ATA14	SI	4	5	5	4	6	5	3	3	3
ATA15	SI	3	4	5	2	4	4	3	6	4
ATA16	SI	4	5	4	3	4	4	4	5	5
ATA17	SI	3	4	4	3	4	4	3	9	9
ATA18	SI	3	3	3	3	6	6	3	3	3
ATA19	SI	3	5	5	2	4	3	3	6	6
ATA20	SI	4	6	6	3	6	5	3	5	5

Tabla 8.1.7.1 (continuación). ***Relación de resultados de ADN de las muestras de El Portalón*****.** Muestras ATA23 – ATA48. Se indican las regiones amplificadas. Para cada región, se presentan también la cantidad de extractos de los que se ha recuperado ADN y la cantidad de secuencias Forward y Reverse obtenidas.

Muestra	ADN	REGIÓN 1			REGIÓN 2			REGIÓN 3		
		Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse
ATA23	SI	2	4	4	2	2	2	2	3	3
ATA24	SI	2	4	4	2	4	4	2	3	3
ATA25	SI	3	6	6	3	8	8	3	6	6
ATA26	SI	3	6	6	3	8	8	3	6	6
ATA27	SI	4	7	7	4	9	9	4	7	6
ATA28	SI	4	6	6	4	9	9	4	7	7
ATA29	SI	3	6	6	3	8	8	3	6	6
ATA30	SI	3	5	6	3	8	8	3	6	6
ATA35	SI	2	5	4	2	6	6	2	3	2
ATA36	SI	2	5	4	2	6	6	2	3	3
ATA37	SI	2	5	5	2	6	6	2	3	3
ATA38	SI	2	5	5	2	6	6	2	3	3
ATA39	SI	2	5	5	2	5	5	2	3	3
ATA40	SI	2	5	4	2	6	6	2	3	3
ATA41	SI	2	6	6	2	6	6	2	4	4
ATA42	SI	2	3	3	2	5	5	2	3	3
ATA43	SI	2	3	3	2	5	5	2	3	3
ATA44	SI	3	3	3	3	6	6	3	3	3
ATA45	SI	3	5	5	3	8	8	3	4	4
ATA46	SI	3	4	4	3	8	8	3	5	5
ATA47	SI	3	5	5	3	8	8	3	5	5
ATA48	SI	3	5	5	3	7	7	3	5	5

El análisis exploratorio realizado con el algoritmo heurístico de alineamiento BLAST (*Basic Local Aligment Search Tool*) y la aplicación (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi), ha puesto de manifiesto que todas las secuencias son similares a *Equus caballus* / *Equus ferus*. De este modo y para los niveles de la Edad del Bronce, estos resultados corroboran los análisis

taxonómicos que confirmaron la presencia de una única especie de équido en el yacimiento (Galindo-Pellicena, M.A., *et al*., 2017b).

En la Tabla 8.1.7.2, se presentan la relación de posiciones nucleotídicas polimórficas de las muestras de El Portalón en relación a la nueva secuencia de Referencia para *Equus caballus* JN398377 (Achilli *et al*., 2012).

8.1.7.2. Resultados de las dataciones de radiocarbono

Las muestras ATA01 - ATA10 y ATA20 procedían de un sector de El Portalón donde se habían detectado sedimentos alterados, y por ese motivo se sometieron a análisis de radiocarbono (Tabla 8.1.7.3). Excepto las muestras ATA07 y ATA20, el resto presentaron unos resultados de radiocarbono calibrados que asocian a estas muestras a la Edad del Bronce. Además, con el nuevo reanálisis de la estratigrafía de El Portalón hemos podido asociar estas muestras de la Edad del Bronce a sus correspondientes niveles estratigráficos. Todas se distribuyen entre los niveles 3 – 5, asociados al Bronce antiguo y Bronce medio (Tabla 8.1.7.3).

La muestra ATA20 ha ofrecido un resultado de radiocarbono más antiguo, enmarcado cronológicamente en el Calcolítico, y en la secuencia estratigráfica se ha asociado al nivel 6. La muestra ATA07 ha sido la única que ha ofrecido una cronología de tiempos históricos. El resultado de radiocarbono ha arrojado unas fechas relacionadas con la Edad Media, y en la estratigrafía se ha encuadrado en el nivel 0 (Tabla 8.1.7.3).

Tabla 8.1.7.2. ***Posiciones nucleotídicas variables de las muestras de El Portalón, np. 15.444-15.842***. Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la nueva secuencia de Referencia JN398377. El símbolo "." refleja identidad nucleotídica, "-" representa un hueco en la secuencia, Y (C o T).

Muestras	Posición nucleotídica																														
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	4	4	4	5	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	7	7	7	7	7	7	7	8	8	8	8	
	9	9	9	3	3	3	7	8	9	0	0	0	0	1	1	4	5	6	9	0	1	2	7	7	7	7	0	0	2	2	
	4	5	6	3	4	6	0	5	7	0	2	3	4	2	7	9	0	7	7	3	8	0	0	1	5	6	6	7	6	7	
							i																								
JN398377	T	T	A	A	C	T	-	G	A	G	C	T	G	A	T	A	A	A	T	T	C	G	C	C	C	T	C	C	A	A	
ChP01	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA01	.	C	.	-	.	C	.	A	G	.	T	.	A	.	.	.	G	.	C	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA02	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	
ATA03	.	C	.	-	.	C	.	A	.	A	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA04	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	A	.	T	.	.	T	.	.	G	
ATA05	.	C	.	-	.	C	.	A	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA06	.	C	.	-	.	C	.	A	G	.	T	.	A	.	.	.	G	.	C	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA07	C	C	G	.	T	.	.	.	.	.	T	C	.	.	.	G	.	.	.	.	.	A	.	T	.	.	.	.	.	.	
ATA08	.	C	.	-	.	C	.	A	.	A	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA09	.	C	.	-	.	C	.	A	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA10	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	A	.	T	.	.	.	.	.	.	
ATA11	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	A	.	T	.	.	.	.	.	.	
ATA12	.	C	.	-	.	C	.	A	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA13	.	C	.	-	.	C	.	A	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA14	.	C	.	-	.	C	.	A	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	Y	.	.	.	.	.	.	.	
ATA15	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	G	.	.	.	T	A	.	T	.	.	.	.	.	.	
ATA16	.	C	.	-	.	C	.	A	G	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA17	.	C	.	-	.	C	.	A	G	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA18	.	C	.	-	.	C	.	A	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA19	.	C	.	-	.	C	.	A	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA20	.	C	.	-	.	C	.	A	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA23	.	C	.	-	.	C	.	A	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA24	.	C	.	-	.	C	.	.	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA25	.	C	.	-	.	C	.	A	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	T	C	.	.	.	.	
ATA26	.	C	.	-	.	C	.	.	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	T	.	.	.	.	.	
ATA27	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	A	.	T	.	.	.	.	.	.	
ATA28	.	C	.	.	.	.	.	.	G	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	A	.	T	.	.	T	.	.	G	
ATA29	.	C	.	.	.	.	.	.	G	.	T	.	.	.	.	.	G	.	.	.	T	A	.	T	.	.	.	.	.	.	
ATA30	.	C	.	-	.	C	.	A	G	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA35	.	C	.	-	.	C	.	A	.	A	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA36	.	C	.	-	.	C	.	A	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA37	.	C	.	-	.	C	.	A	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA38	.	C	.	-	.	C	.	A	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA39	.	C	.	-	.	C	.	A	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA40	.	C	.	-	.	C	.	.	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	T	.	.	.	.	.	
ATA41	.	C	.	.	.	.	T	A	G	.	T	.	.	G	.	G	.	G	.	C	.	A	.	T	.	.	T	.	.	.	
ATA42	.	C	.	-	.	C	.	A	.	A	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA43	.	C	.	-	.	C	.	A	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
ATA44	.	C	.	.	.	.	.	.	G	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	A	.	T	.	.	T	.	.	G	
ATA45	.	C	.	-	.	C	.	.	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	T	.	.	.	.	.	
ATA46	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	G	.	.	.	T	A	.	T	.	.	.	.	.	G	
ATA47	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	G	.	.	.	T	A	.	T	.	.	.	.	.	G	
ATA48	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	G	.	.	.	T	A	.	T	.	.	.	.	.	.	

También se realizaron análisis de radiocarbono de las muestras ATA12 y ATA14, recuperadas durante las excavaciones de J.M. Apellániz bajo control estratigráfico y asociadas a la Edad del Bronce. Los resultados obtenidos fueron coherentes con la cronología asociada a la Edad del Bronce propuesta para ellas. Con el nuevo reanálisis de la secuencia estratigráfica, están asociadas al nivel 5 y relacionadas con el Bronce antiguo (Tabla 8.1.7.3). Para el resto de muestras de Apellaniz (ATA11, ATA13, ATA15, ATA16, ATA17, ATA18 y ATA19) no se realizaron pruebas de radiocarbono. Su cronología se ha inferido al relacionar la información de los lechos donde se recuperaron estas muestras con la columna estratigráfica del yacimiento. Excepto la muestra ATA13 asociada al Bronce medio, el resto de las muestras están relacionadas con el Bronce antiguo.

Por lo tanto, y teniendo en cuenta los resultados de las dataciones de radiocarbono y las posiciones de las muestras en la nueva columna estratigráfica, las 42 muestras que han ofrecido resultados positivos se distribuyen del siguiente modo:

- Calcolítico: 1.
- Calcolítico precampaniforme: 6.
- Calcolítico campaniforme: 15.
- Bronce antiguo: 14.
- Bronce medio: 4.
- Bronce antiguo-medio: 1.
- Edad Media: 1.

Tabla 8.1.7.3. Resultado de las dataciones de radiocarbono de las muestras de El Portalón. (1) Calibración de las muestras a 2σ utilizando el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13. En azul se representa los resultados de calibración distribuidos en periodos históricos.

YACIMIENTO	CAMPAÑA	EQUIPO	SIGLA	NºLAB	LOCALIZACIÓN/NIVELES APELLÁNIZ		RADIOCARBONO			ASOCIACION CULTURAL (EIA)	NIVEL ESTRATIGRÁFICO (EIA)
							REFERENCIA DE LABORATORIO	^{14}C BP CONVENCIONAL	^{14}C cal. BP (2σ) [1]	^{14}C cal. BC (2σ) [1]	
El Portalón (Burgos)	2002	EIA	ATP02 Exc W N43 T1 29	ATA01	Descontextualizado		Beta-200991	3640 ± 40	4085 - 3856	2136 - 1907	Bronce antiguo	5
			ATP02 Exc W II 1963	ATA02			Beta-253407	3370 ± 40	3701 - 3482	1752 - 1533	Bronce medio	3 - 4
	2001		ATP01 Exc W II	ATA03			Beta-200992	3500 ± 40	3881 - 3645	1932 - 1696	Bronce medio	3 - 4
	2002		ATP02 Exc W perfil N 228	ATA04			Beta-253409	3690 ± 40	4148 - 3909	2199 - 1960	Bronce antiguo	5
	2001		ATP01 Exc W II Techo	ATA05			Beta-253410	3700 ± 40	4152 - 3921	2203 - 1972	Bronce antiguo	5
			ATP01 Exc W I	ATA06			Beta-253411	3770 ± 40	4284 - 3986	2335 - 2037	Bronce antiguo	5
			ATP01 Exc W II	ATA07			Beta-204455	1010 ± 40	1047 - 796	903 - 1155 AD	Edad Media	0
			ATP01 Exc W II Techo	ATA08			Beta-253412	3690 ± 40	4148 - 3909	2199 - 1960	Bronce antiguo	5
	2001		ATP01 Exc W II	ATA09			Beta-200993	3600 ± 40	4075 - 3733	2126 - 1784	Bronce antiguo - medio	4 - 5
	2002		ATP02 Exc W II 1964	ATA10			Beta-253413	3460 ± 40	3839 - 3617	1890 - 1668	Bronce medio	4
	1983	Apellániz	CMI –B2 96 1	ATA11	Sector I	Bronce antiguo	Sin datación				Bronce antiguo	5
			CMI –A10-72 14	ATA12	Sector II		Beta-204454	3760 ± 50	4292 - 3975	2343 - 2026	Bronce antiguo	5
			CMI –Z8-60 2	ATA13	Sector II	Bronce medio	Sin datación				Bronce medio	3 - 4
			CMI-A10-72 1	ATA14	Sector II	Bronce antiguo	Beta-200994	3630 ± 40	4083 - 3841	2134 - 1892	Bronce antiguo	5
			CMI-B6-72 15	ATA15	Sector II		Sin datación				Bronce antiguo	5
			CMI D2 248/2062	ATA16	Sector I						Bronce antiguo	5
			CMI D2 243/2067	ATA17	Sector I						Bronce antiguo	5
			CMI A8 70	ATA18	Sector II						Bronce antiguo	5
			CMI-Z8-73 4	ATA19	Sector II						Bronce antiguo	5
	2001	EIA	ATP01 Exc W II	ATA20	Descontextualizado		Beta-253408	3910 ± 40 BP	4499 - 4183	2550 - 2234	Calcolítico	6
			ATP01 Exc W I	ATA 21			Sin datación					
	2002		ATP02 Limpieza General 40	ATA22								

8.1.8. Muestras de Jarama VI (Valdesotos, Guadalajara)

8.1.8.1. Resultados genéticos obtenidos

Hemos analizado un total de 20 muestras de équidos de Jarama VI, y únicamente la muestra JVI03 arrojó resultados positivos (Figura 8.1.8.1). El porcentaje de fósiles a partir de los cuales se ha podido recuperar ADN es muy bajo. Una muestra equivale al 5% del total de muestras de este yacimiento que han ofrecido resultados positivos. Además, de esta muestra no se pudo obtener la región completa de estudio 15.444 – 15.842. La zona que se consiguió secuenciar con éxito fue la amplificada por la pareja de cebadores 15.470F – 15.583R (correspondiente a la región 1). Eliminando la zona de los cebadores, la secuencia de JVI03 está constituida por un fragmento de 70 pares de bases de longitud, y comprende las posiciones 15.491 – 15.561 de la región control del ADN mitocondrial.



Figura 8.1.8.1. ***Muestra JVI03 de Jarama VI, de la que se ha podido obtener ADN.***

En ninguna de las muestras analizadas se pudo amplificar ADN a partir de las parejas de cebadores 15.425F – 15.625R (región 1), 15.537F – 15.728R (región 2) y 15.668F – 15.862R (región 3), que amplifican fragmentos comprendidos entre 163 – 201 pares de bases (con cebadores incluidos). Solamente utilizando los cebadores diseñados para trabajar sobre muestras más degradas se pudieron obtener resultados. La secuencia de la muestra JVI03 se construyó ensamblando hebras Forward y Reverse de dos amplificaciones independientes del mismo extracto de ADN. En concreto, está secuencia se ha construido a partir de una hebra Forward y dos hebras Reverse.

Tabla 8.1.8.1. ***Posiciones nucleotídicas variables de la muestra JVI03 de Jarama VI, np. 15.491-15.561***. Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la nueva secuencia de Referencia JN398377. El símbolo "-" representa un hueco en la secuencia.

Muestra	Posición nucleotídica		
	1	1	1
	5	5	5
	4	5	5
	9	3	3
	5	3	6
JN398377	**T**	**A**	**T**
JVI03	C	-	C

El análisis previo realizado con BLAST (*Basic Local Aligment Search Tool*) y la aplicación (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi), ha permitido comprobar que JVI03 presenta similitud con *Equus caballus* / *Equus ferus*.

En la Tabla 8.1.8.1, se presentan la relación de posiciones nucleotídicas polimórficas de las muestra JVI03 de Jarama VI en relación a la nueva secuencia de Referencia para *Equus caballus* JN398377 (Achilli *et al*., 2012).

La muestra JVI03 fue recuperada del nivel 3. Tras los últimos estudios realizados para determinar la antigüedad de los niveles estratigráficos de Jarama VI (Wood *et al*., 2013), los análisis de radiocarbono han concluido que este nivel 3 presenta una cronología superior a 50.000 años. Además, los análisis realizados mediante luminiscencia estimulada por infrarrojos (IRSL) han sugerido para la formación de las subunidad JVI.3.3 una edad comprendida en 57.200 ± 4900 años (Kelh *et al*., 2013) (Tabla 7.4.8.1).

8.1.9. Muestras de Cancho Roano (Zalamea de la Serena, Badajoz)

8.1.9.1. Resultados genéticos obtenidos

Seis de las siete muestras de Cancho Roano ofrecieron resultados positivos, lo cual equivale a un 85,71% de éxito en la obtención de ADN sobre las muestras de este yacimiento. Únicamente la muestra CR66 no ofreció ADN en ninguna de las amplificaciones de las dos extracciones independientes que realizamos sobre ella.

En la primera extracción independiente, a partir de los resultados de la primera amplificación con los cebadores 15.425F - 15.625R (región 1), el análisis exploratorio con el algoritmo heurístico de alineamiento BLAST (*Basic Local Aligment Search Tool*) y la aplicación (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi), permitió diferenciar secuencias de dos taxones diferentes. Por un lado las muestras CR65 y CR67 presentaron similitud con *Equus caballus / Equus ferus* (Figura 8.1.9.1), mientras que las muestras CR63, CR64, CR68 y CR69 se asociaron a *Equus asinus* (Figura 8.1.9.2).



Figura 8.1.9.1. ***Muestras CR65 y CR67 de Cancho Roano*****.** Muestras que han ofrecido ADN mitocondrial de caballo.

Hasta hace poco, se había considerado a *Equus asinus* un taxón doméstico que había sido introducido en la Península de la mano de los fenicios a principios del I milenio aC. Pero el reciente descubrimiento en el poblado calcolítico de Leceia (Portugal) de un resto faunístico de asinino ibérico del que se ha obtenido su genoma mitocondrial casi completo (Cardoso *et al.*, 2013), ha obligado a replantearse el momento y las causas de la introducción en Iberia de este animal.

Debido a este resultado, las muestras CR63, CR64, CR68 y CR69 se apartaron del conjunto para completar la amplificación de su ADN por separado (ver más adelante), y se continuó con la amplificación del ADN de las muestras CR65, CR66 y CR67.

Los resultados de las extracciones y amplificaciones independientes se presentan en la Tabla 8.1.9.1. Sobre las muestras CR65, CR66 y CR67 se realizaron 2 extracciones independientes y, sobre cada extracción, dos amplificaciones independientes para cada una de las tres regiones. Para la muestra CR65 hemos podido obtener ADN de las tres regiones de estudio que comprenden el fragmento 15.444 – 15.842, para la muestra CR67 hemos conseguido ADN de las regiones 1 y 2 (15.444 – 15.708), mientras que de la muestra CR66 no hemos obtenido ningún resultado.

Tabla 8.1.9.1. ***Resultados obtenidos en las muestras de caballos de Cancho Roano (CR65 y CR67).*** Se indican las regiones amplificadas y, para cada región, la cantidad de extractos de los que se ha recuperado ADN y la cantidad de secuencias Forward y Reverse obtenidas.

Muestra	REGIÓN 1			REGIÓN 2			REGIÓN 3		
	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse
CR65	2	2	2	2	1	1	2	3	3
CR67	2	3	3	2	3	2	2	0	0

El conjunto de posiciones nucleotídicas polimórficas de las muestras de caballos de Cancho Roano en relación a la nueva secuencia de Referencia para *Equus caballus* JN398377 (Achilli *et al*., 2012), se presentan en las Tablas 8.1.9.2 y 8.1.9.3.

Tabla 8.1.9.2. ***Posiciones nucleotídicas variables de la muestra CR65 de Cancho Roano, np. 15.444 - 15.842***. Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la nueva secuencia de Referencia JN398377. Y (C o T), W (A o T).

Muestra	Posición nucleotídica															
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	6	6	6	6	7	7
	5	5	6	8	9	9	9	2	3	4	0	0	4	5	2	7
	0	9	5	7	4	5	6	8	4	8	2	3	9	7	0	1
JN398377	**C**	**C**	**C**	**C**	**T**	**T**	**A**	**C**	**C**	**C**	**C**	**T**	**A**	**T**	**G**	**C**
CR65	Y	Y	Y	Y	C	C	G	Y	T	Y	T	C	G	W	A	T

Tabla 8.1.9.3. ***Posiciones nucleotídicas variables de la muestra CR67 de Cancho Roano, np. 15.444 - 15.708***. Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la nueva secuencia de Referencia JN398377.

Muestra	Posición nucleotídica					
	1	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5	5
	4	5	6	6	6	6
	9	4	0	3	5	8
	5	4	2	5	0	6
JN398377	**T**	**T**	**C**	**C**	**A**	**A**
CR67	C	C	T	T	G	G



Figura 8.1.9.2. ***Muestras CR63, CR64, CR68 y CR69 de Cancho Roano***. Relación de muestras que han ofrecido ADN mitocondrial de *Equus asinus.*

Con la primera extracción del conjunto CR63, CR64, CR68 y CR69 de *Equus asinus,* se recuperó el fragmento completo comprendido entre las posiciones nucleotídicas 15.439 – 15.837 (relativas a la secuencia de Referencia para *Equus asinus* X97337, Xu *et al*., 1996) en las muestras CR68 y CR69. Para conseguirlo se utilizaron las parejas de cebadores 15.420F – 15.620R (región 1); 15.663F – 15.857R (región 3) y, además, la pareja de cebadores que diseñamos para amplificar el ADN de la muestra de Bora Gran BG13 (15.544F - 15.717R, región 2). En las muestras CR63 y CR64 solamente se pudo recuperar el ADN de dos regiones en cada una de estas muestras. Para CR63 se recuperó el ADN de las regiones 1 y 2 (posiciones nucleotídicas 15.439 – 15.698). Para CR64 se recuperó el ADN de las regiones 2 y 3 (posiciones nucleotídicas 15.563 – 15.837).

Con la segunda extracción independiente del conjunto CR63, CR64, CR68 y CR69 se amplificaron las regiones 1, 2 y 3 en dos ocasiones. El número total de extractos de ADN utilizados y las amplificaciones realizadas para cada región aparecen detallados en la Tabla 8.1.9.4. El análisis de estas secuencias con BLAST y la aplicación (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi), ofreció homología con *Equus asinus*, reforzando de este modo los resultados obtenidos con el análisis de amplificación del fragmento de la región 1.

La relación de posiciones nucleotídicas polimórficas de las muestra de asnos de Cancho Roano se presentan en las Tablas 8.1.9.5 – 8.1.9.7 (posiciones relativas a la secuencia de Referencia para *Equus asinus* X97337, Xu *et al*., 1996).

Tabla 8.1.9.4. ***Resultados obtenidos en las muestras de asno de Cancho Roano (CR63, CR64, CR68 y CR69).*** Se indican las regiones amplificadas y, para cada región, la cantidad de extractos de los que se ha recuperado ADN y la cantidad de secuencias Forward y Reverse obtenidas.

Muestra	REGIÓN 1			REGIÓN 2			REGIÓN 3		
	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse
CR63	2	1	1	2	2	2	2	0	0
CR64	2	0	0	2	1	1	2	3	3
CR68	2	2	2	2	2	2	2	3	3
CR69	2	2	2	2	2	2	2	3	3

Tabla 8.1.9.5. ***Posiciones nucleotídicas variables de la muestra CR63 de Cancho Roano, np. 15.439 – 15.698***. Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la secuencia de Referencia X97337.

Muestra	Posición nucleotídica												
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	4	4	5	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6
	8	9	0	0	6	8	9	9	2	4	5	6	9
	4	0	2	3	9	0	8	9	1	4	2	2	8
X97337	**G**	**C**	**C**	**T**	**A**	**A**	**C**	**A**	**A**	**G**	**C**	**A**	**C**
CR63	A	T	T	C	G	G	T	G	G	A	T	G	T

Tabla 8.1.9.6. ***Posiciones nucleotídicas variables de la muestra CR64 de Cancho Roano, np. 15.563 – 15.837***. Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la secuencia de Referencia X97337. K (G o T), M (A o C), Y (C o T).

Muestra	Posición nucleotídica																	
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	5	5	5	5	6	6	6	6	6	6	6	6	7	8	8	8	8	8
	6	8	9	9	0	0	0	2	4	5	6	9	7	0	0	2	2	2
	9	0	8	9	0	1	2	1	4	2	2	8	0	1	6	0	1	2
X97337	**A**	**A**	**C**	**A**	**C**	**C**	**C**	**A**	**G**	**C**	**A**	**C**	**T**	**C**	**C**	**C**	**G**	**G**
CR64	G	G	T	K	Y	M	Y	G	A	T	G	T	C	T	T	T	A	A

Tabla 8.1.9.7. ***Posiciones nucleotídicas variables de las muestras CR68 y CR69 de Cancho Roano, np. 15.439 – 15.837***. Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la secuencia de Referencia X97337. El símbolo "." refleja identidad nucleotídica, Y (C o T).

Muestras	Posición nucleotídica												
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	4	4	5	5	5	5	5	5	5	6	6	7	8
	7	9	0	0	2	2	3	3	9	0	7	8	3
	3	4	2	8	3	5	6	7	9	2	2	7	4
X97337	**C**	**C**	**C**	**C**	**C**	**C**	**C**	**C**	**A**	**C**	**C**	**C**	**C**
CR68	Y	Y	.	Y	Y	Y	.	Y	G	Y	Y	.	Y
CR69	.	.	Y	.	.	.	Y	Y	C	.	.	Y	.

8.1.9.2. Resultados de las dataciones de radiocarbono

Las muestras analizadas en esta investigación se han asociado temporalmente con la destrucción de la fase arquitectónica Cancho Roano "A". Para la fecha de la destrucción se ha propuesto una cronología que oscila entre finales del siglo V aC – principios del siglo IV aC (López, 1999; Jiménez, 2005).

Con la finalidad de concretar la antigüedad de las muestras utilizadas, se han llevado a cabo análisis de radiocarbono sobre las muestras CR63, CR65 y CR69. Las muestras CR63 y CR69 se dataron en los laboratorios de Beta Analytic, Inc. en Miami, Florida (USA), mientras que la muestra CR65 se dató en los laboratorios de Oxford Radiocarbon Acelerator Unit (Reino Unido).

Las tres fechas emplazan a los restos faunísticos en el I milenio aC. Las fechas calibradas a 2σ se distribuyen en una horquilla temporal comprendida entre, aproximadamente, mediados del siglo VIII aC y finales del siglo V aC (la horquilla temporal correspondiente para las tres muestras oscila entre 774 – 415 años cal. aC) (Tabla 8.1.9.8).

Tabla 8.1.9.8. ***Resultado de las dataciones de radiocarbono sobre las muestras de Cancho Roano*****.** (1) Calibración de las muestras a 2σ utilizando el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13.

MUESTRA	REFERENCIA DE LABORATORIO	^{14}C BP CONVENCIONAL	^{14}C cal. BP. (2σ) [1]	^{14}C cal. aC. (2σ) [1]
CR65	OxA-22526	2489 ± 27	2723 - 2466	774 - 517
CR63	Beta-273320	2460 ± 40	2710 - 2364	761 - 415
CR69	Beta-273321	2460 ± 40	2710 - 2364	761 - 415

La antigüedad de las muestras de asno es coherente con el momento cultural al que se había relacionado la destrucción de Cancho Roano "A". A partir de las evidencias arqueológicas, podríamos descartar la asociación de las muestras CR63 y CR69 al siglo VIII aC. La fase más antigua de Cancho Roano (Cancho Roano "D" está fechada por tipología cerámica entre finales del siglo VII - comienzos del siglo VI aC (Celestino, 2001; 2008). Esta fecha marca un máximo y, de este modo, CR63 y CR69 no deberían ser más antiguas que Cancho Roano "D".

Teniendo en cuenta que estos restos aparecieron en el foso que rodea al santuario, y que el foso se ha asociado a la fase arquitectónica de Cancho Roano "B" (Celestino, 2001), la edad de estos restos de asno deberían enmarcarse entre esta fase arquitectónica (siglo VII aC – mediados siglo VI aC), y Cancho Roano "A". Como hemos comentado al principio de este apartado, estos restos están asociados a la destrucción de la fase Cancho Roano "A" (finales del siglo V aC – principios del siglo IV aC) (López, 1999; Jiménez, 2005). El rango superior del intervalo de confianza asociado a las dataciones de estas muestras entra dentro de la cronología propuesta para la destrucción del santuario (Tabla 8.1.9.8).

En cambio, la fecha obtenida en la muestra de caballo CR65, no sería compatible con la destrucción de Cancho Roano "A". Los análisis de radiocarbono realizados sobre la muestra CR65 han arrojado un resultado de 2489 ± 27 BP. (Tabla 8.1.9.8). Este resultado calibrado a 2σ presenta unas edades comprendidas entre 774 – 517 años cal. aC. Aunque esta horquilla temporal de ~250 años abarca una parte significativa de la Primera Edad del Hierro, podríamos descartar la asociación de la CR65 al siglo VIII aC por las mismas evidencias comentadas para las muestras CR63 y CR69. La muestra CR65 se recuperó también del interior del foso. Por tanto, debería asociarse temporalmente con las fase constructivas Cancho Roano "B" o "A". Sin embargo, el rango superior del intervalo de confianza a 2σ de esta datación enmarca la muestra CR65 con Cancho Roano "B".

Por lo tanto, el resultado de esta datación nos permite proponer dos hipótesis: 1) que desde la fase constructiva de Cancho Roano "B" se utilizara el foso para depositar animales, con un frecuencia que desconocemos, y 2) que CR65 pertenezca realmente a la fase Cancho Roano "A", y la ligera discrepancia en su edad de radiocarbono respecto a CR63 y CR69 se deba al pretratamiento de la muestra mediante ultrafiltración del colágeno del hueso.

8.1.10. Relación de yacimientos y muestras sobre los que no se ha obtenido ningún resultado positivo

Para nueve yacimientos ibéricos, no conseguimos recuperar ADN en ninguna de las muestras seleccionadas de esos yacimientos. El número de muestras analizadas de esos nueve yacimientos asciende a 49.

A continuación, se presentan los yacimientos y los restos faunísticos seleccionados. Presentamos estos yacimientos en función de su ubicación en la península ibérica, desde la cornisa cantábrica hasta Andalucía:

8.1.10.1. La cueva del Conde (Asturias)

Este yacimiento se encuentra situado en las proximidades de Tuñón (Santo Adriano, Asturias). El yacimiento se encuentra en un abrigo abierto al NO, emplazado a unos 40 m sobre el cauce del río Trubia (Arsuaga *et al*., 2003). Sus coordenadas aproximadas son 43° 17’ 23’’ latitud Norte, 5° 58’ 54’’ longitud Oeste, y está localizado a unos 160 metros sobre el nivel del mar (msnm) (Arbizu *et al*., 2005) (Figura 8.1.10.1.1).



Figura 8.1.10.1.1 ***Localización geográfica de la cueva del Conde en la península ibérica*.**

Se seleccionaron dos muestras de équidos y dos muestras de ciervo para ser utilizadas como controles negativos. Las muestras que se seleccionaron estaban presumiblemente asociadas al Pleistoceno superior, con una cronología comprendida supuestamente entre el Musteriense y el Auriñaciense (Arsuaga *et al*., 2003) (Tabla 8.1.10.1.1).

Tabla 8.1.10.1.1. ***Relación de fósiles analizados de la cueva del Conde.***

YACIMIENTO	SIGLA	TAXÓN	DESCRIPCIÓN
Cueva del Conde (Tuñón, Santo Adriano, Asturias)	C.CONDE 05 F9 Sub 8 "Nivel Naranja" (19-V) . Nº46	*Equus* sp.	Fragmento de diente yugal inferior
	C.CONDE 06. H3 N2a2.2	*Equus* sp.	Fragmento de incisivo
	CC/05 F9 Sub 7-8. "Nivel Naranja -2" (27-X) Hueso Mapado Nº24	*Cervus elaphus*	M2 inferior izquierdo
	CC/05 F9 Sub 4-5 "Nivel Naranja-4" (1-XI) Hueso Mapado Nº37	*Cervus elaphus*	P4 superior izquierdo

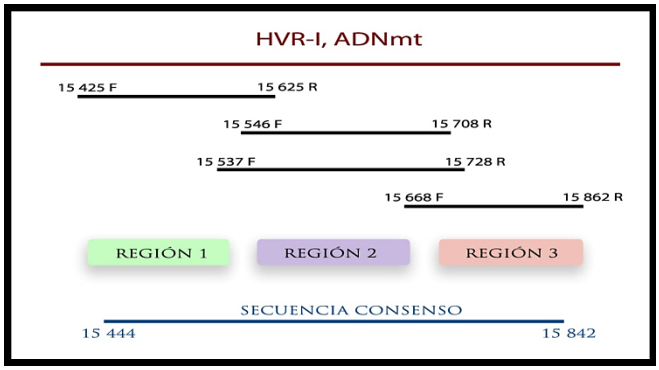


Figura 8.1.10.1.2. ***Estrategia de amplificación con cebadores para la obtención de fragmentos de ADN mitocondrial de HVR-I de*** **Equus caballus** ***con tamaños comprendidos entre 163 – 201 pares de bases.***

Se obtuvo una muestra de los restos fósiles, y se procedió a la extracción de ADN con el protocolo número 1. Se llevó a cabo una extracción, y una amplificación independiente con cada pareja de cebadores 15.425F – 15.625R (región 1), 15.537F – 15.728R (región 2) y 15.668F – 15.862R (región 3) con los que se amplifican fragmentos de entre 163 – 201 pares de bases (Figura 8.1.10.1.2). No obtuvimos resultado con ninguna pareja de cebadores.

Posteriormente, realizamos también una amplificación con cada una de las parejas de cebadores que amplifican fragmentos de ADN con tamaños máximos de 130 pares de bases, (Figura 8.1.10.1.3) obteniendo resultados negativos en todas las amplificaciones.

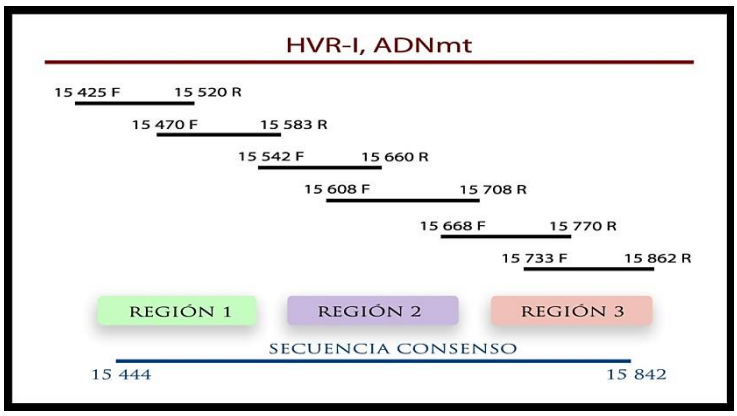


Figura 8.1.10.1.3. ***Estrategia de amplificación con cebadores para la obtención de fragmentos de ADN mitocondrial de HVR-I de*** **Equus caballus** ***con tamaños comprendidos 96 - 130 pares de bases.***

8.1.10.2. La peña de Estebanvela (Segovia)

La peña de Estebanvela es un abrigo rocoso situado en el término municipal de Ayllón, al NE de la provincia de Segovia (Cacho Quesada *et al*., 2003). Se encuentra situado a 1085 metros sobre el nivel del mar (msnm) (Cacho Quesada *et al*., 2003), y sus coordenadas aproximadas son 41° 21´27,9´´ latitud Norte y 3° 19´ 15,99´´ longitud Oeste (obtenidas con la aplicación SIGPAC, http://sigpac.magrama.es/fega/h5visor/) (Figura 8.1.10.2.1).



Figura 8.1.10.2.1. ***Localización geográfica de la Peña de Estebanvela en la península ibérica*****.**

Se seleccionaron 10 muestras de équidos y tres muestras de cabra (como controles negativos). Las muestras de équidos proceden de los niveles I y III, y están cronológicamente asociadas a finales del Pleistoceno superior (Tabla 8.1.10.2.1), con unas dataciones

comprendidas entre 11.170 ± 50 BP (Beta-155113) y 12.360 ± 50 BP (Beta-155118)[22] (Cacho Quesada *et al*., 2003).

Tabla 8.1.10.2.1. ***Relación de muestras analizadas del abrigo de la Peña de Estebanvela***

YACIMIENTO	AÑO	CUADRÍCULA	NIVEL	DECAPADO	NÚMERO	TAXÓN	DESCRIPCIÓN
La Peña de Estebanvela (Ayllón, Segovia)	2002	H9	I	2	2	*Equus* sp.	P2 inferior izquierdo
	2003	F9-G9	IR	12	Sin número	*Equus* sp.	Diente yugal superior derecho
	2002	F9-G9	I	3	Sin número	*Equus* sp.	Diente yugal superior izquierdo
	2003	F8-G8	I	1	4	*Equus ferus*	M2 inferior derecho
	2001	E13-F13	I	2	Sin número	*Equus* sp.	Fragmento de un diente yugal inferior izquierdo
	2002	J9	I	7	Sin número	*Equus* sp.	I3 inferior izquierdo
	2003	E10	IV	1	15	*Capra pyrenaica*	P3/P4 superior izquierdo
	2003	E10	IV	1	15	*Capra*	M3 superior izquierdo
	2003	E13-F13	III	1	Sin número	*Equus ferus*	Hemimandíbula con P3-M3
	2003	C9	III	2	5	*Equus* sp.	M2 inferior izquierdo
	2002	E11	III	7	Sin número	*Capra*	M3 inferior derecho
	2003	E13-F13	III	4	9	*Equus* sp.	P2 superior izquierdo
	2002	E11	III	6	7	*Equus ferus*	Diente yugal superior derecho

Se obtuvo una muestra de estos fósiles, y se llevó a cabo la extracción de ADN con el protocolo de extracción número 1. Se realizaron dos amplificaciones independientes de cada una de las tres regiones de estudio en el ADN mitocondrial de caballos, utilizando las parejas de cebadores 15.425F – 15.625R (región 1), 15.537F – 15.728R (región 2) y 15.668F – 15.862R (región 3) con los que se amplifican fragmentos de entre 163 – 201 pares de bases. No se obtuvo resultados en ninguna de las amplificaciones con ninguna de las muestras.

8.1.10.3. La cueva de la Zarzamora (Segovia)

La cueva de la Zarzamora se encuentra localizada en el término municipal de Segovia (Sala *et al*., 2011). El yacimiento está ubicado en uno de los afluentes de la vertiente meridional del arroyo de Tejadilla (Sala *et al*., 2009), afluente del río Eresma (Sala *et al*., 2011)

[22] Calibraciones a 2σ utilizando el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13:

- Beta-155113: 11.170 ± 50 BP, 13.138 – 12.893 años cal. BP, 11.189 – 10.944 años cal. aC.
- Beta-155118: 12.360 ± 50 BP, 14.720 – 14.120 años cal. BP, 12.771 – 12.171 años cal. aC.

(Figura 8.1.10.3.1). Sus coordenadas son 40° 55’ 9,06’’ latitud Norte y 4° 08’ 2,20’’ longitud Oeste (Sala *et al*., 2012), y se encuentra a una altura de 1051 metros sobre el nivel del mar (msnm) (altura obtenida con la aplicación http://www.coordenadas-gps.com/).



Figura 8.1.10.3.1. ***Localización geográfica de la cueva de la Zarzamora en la península ibérica*.**

La cueva de la Zarzamora es una cavidad pequeña galería subhorizontal, de un metro de altura, dos metros de ancho, y aproximadamente siete metros transitables de largo (Sala *et al*., 2011). En este yacimiento se ha destacado la abundancia de équidos (*Equus ferus* y *Equus hydruntinus*). El análisis paleontológico de la composición faunística (macrofauna y microfauna) ha enmarcado la antigüedad del depósito de este yacimiento en el Pleistoceno superior (Sala *et al*., 2011).

Se han diferenciado hasta cuatro niveles en el interior de la cueva de la Zarzamora (Sala *et al*., 2011). Las muestras que nosotros hemos analizado proceden del nivel superior 1-2 (Tabla 8.1.10.3.1), que presenta una datación de 32.510 ± 240 BP (Beta-252209). Sin embargo, se ha sugerido utilizar el resultado de esta datación con cautela, debido a que los laboratorios de Oxford Radiocarbon Acelerator Unit (Reino Unido), no pudieron datar esta misma muestra aplicando el protocolo de ultrafiltración, por ausencia de colágeno (Sala *et al*., 2011).

Se seleccionaron para los análisis dos dientes atribuidos a *Equus hydruntinus,* debido a su pequeño tamaño. Se obtuvo una muestra de ambos dientes y se aplicó el protoco de extracción número 1. Se realizaron 2 amplificaciones independientes con la pareja de cebadores 15.425F – 15.625R (región 1), que amplifica para un fragmento de 163 pares de bases de longitud. Esta pareja de cebadores permite recuperar tanto ADN de *Equus ferus* como de *Equus hydruntinus*. No obtuvimos resultados positivos en ninguna de las amplificaciones.

Tabla 8.1.10.3.1. ***Relación de muestras del yacimiento de la cueva de la Zarzamora utilizadas para este estudio.***

YACIMIENTO	AÑO	CUADRÍCULA	NIVEL	SIGLA	TAXÓN	DESCRIPCIÓN
Cueva de la Zarzamora (Perogordo, Segovia)	2008	I-21 / J-21	1-2	PG 2008/01/22	*Equus hydruntinus*	Diente yugal superior derecho
	2008	Sin información	1-2	PG 2008 / 01 / 28	*Equus hydruntinus*	Diente yugal superior derecho

También se realizó una amplificación con las parejas de cebadores 15.425F – 15.520R y 15.470F – 15.583R (región 1). Estos cebadores amplifican para fragmentos de 96 – 114 pares de bases respectivamente. Tampoco se obtuvieron resultados positivos.

Por último se realizaron dos amplificaciones independientes con un pareja de cebadores específica del ADN mitocondrial de *Equus hydruntinus*. Se utilizó la pareja 15.662F – 15.824R (región 3). Esta pareja de cebadores amplifica para el menor de los fragmentos con los que se construye la secuencia consenso 15.444 – 15.926 del ADN mitocondrial de *Equus hydruntinus* estudiada por nosotros (Figura 7.5.7). En ninguna de las dos amplificaciones obtuvimos resultados positivos.

Destacamos también que, en paralelo a nuestros análisis genéticos, se envió a los laboratorios de Oxford Radiocarbon Acelerator Unit (Reino Unido) una muestra del fósil con sigla PG 2008/01/28, para ser sometida a análisis de datación con el protocolo de ultrafiltración. Estos laboratorios no pudieron obtener ningún resultado, debido a la ausencia de colágeno en la muestra.

8.1.10.4. La cueva del Portalón de Tejadilla (Segovia)

El yacimiento de El Portalón del valle de Tejadilla, se encuentra localizada a escasos metros de la cueva de la Zarzamora (Perogordo, Segovia) (Figura 8.1.10.4.1). Por lo tanto, ofrecemos como coordenadas aproximadas las mismas que hemos detallado en el apartado anterior para la cueva de la Zarzamora: 40° 55’ 9,06’’ latitud Norte y 4° 08’ 2,20’’ longitud Oeste (Sala *et al*., 2012). A su vez, la altura sobre el nivel del mar, sería similar: 1051 msnm (obtenida con la aplicación http://www.coordenadas-gps.com/).



Figura 8.1.10.4.1. ***Localización geográfica de El Portalón de Tejadilla en la península ibérica*.**

El Portalón del valle de Tejadilla es una cueva con unos 20 metros de desarrollo transitable (M.T.N. Sala, comunicación personal), con una gran abertura al exterior. Es un yacimiento que se excava desde el año 2012, y los análisis paleontológicos y geomorfológicos todavía están en curso. El análisis de la composición faunística ha emplazado parte del depósito de este yacimiento en el Pleistoceno superior y, además, se ha destacado una abundancia de équidos.

Se seleccionaron cinco restos de équidos de este yacimiento (Tabla 8.1.10.4.1). Se obtuvo una muestra de ellas, y se realizó una extracción de ADN utilizando el protocolo de extracción número 1.

La amplificación de ADN se llevó a cabo utilizando las parejas de cebadores 15.425F – 15.625R (región 1), realizándose dos amplificaciones independientes. Esta pareja de cebadores permite amplificar ADN de *Equus ferus* y de *Equus hydruntinus*. No obtuvimos resultados positivos.

También se realizó una amplificación con la pareja de cebadores 15.668F – 15.862R (región 3), que permite amplificar ADN exclusivamente de caballo. Nuevamente obtuvimos resultados negativos.

Tabla 8.1.10.4.1. ***Relación de muestras del yacimiento de El Portalón del valle de Tejadilla utilizadas para este estudio.***

YACIMIENTO	CATA	NÚMERO	NIVEL	SIGLA	TAXÓN	DESCRIPCIÓN
Portalón del valle de Tejadilla	Camarín	4	Limos	SG-2014/04/4	*Equus* sp.	M2 inferior derecho
		Sin información		SG-2014/04/7	*Equus hydruntinus*	M1/M2 superior izquierdo
		Sin información		SG-2014/04/135	*Equus hydruntinus*	Diente yugal inferior derecho
	Sector Galería	20	No presenta	PG-2012/02/20	*Bos* sp.	M3 superior derecho
		77		PG-2012/02/77	*Bos* sp.	M3 superior izquierdo
	Camarín	10	Limos	P6-2012 /02/10	*Equus hydruntinus*	Epífisis distal metápodo III
		13		P6-2013/02/13 (SCM13)	*Equus* sp.	M1/M2 inferior izquierdo

8.1.10.5. La Cueva del Camino (Pinilla del Valle, Madrid)

La Cueva del Camino es uno de los yacimientos kársticos del Calvero de la Higuera. Se encuentra localizado en el término municipal de Pinilla del Valle (Madrid) (Arsuaga *et al*., 2010) (Figura 8.1.10.5.1). Sus coordenadas son 40° 55’ 26,73’’ latitud Norte y 3° 48’ 33,78’’ longitud Oeste (obtenidas con la aplicación SIGPAC, http://sigpac.magrama.es/fega/h5visor/), y está localizado a unos 1094 metros sobre el nivel del mar (msnm) (altura obtenida con la aplicación http://www.coordenadas-gps.com/).



Figura 8.1.10.5.1. ***Localización geográfica de la Cueva del Camino en la península ibérica*.**

En la actualidad, este yacimiento es una cavidad abierta (Arsuaga *et al*., 2010). Las muestras que se seleccionaron para los estudios genéticos proceden del nivel 5. Este es el nivel donde se han encontrado la mayor concentración de materiales paleontológicos, y está datado por termoluminiscencia en 90.961 ± 7881 años (Arsuaga *et al*., 2010).

Se seleccionaron tres restos de équidos procedentes del nivel 5 y un resto de ciervo (como control negativo) (Tabla 8.1.10.5.1). Se obtuvo una muestra de cada resto fósil, y se sometió al protocolo de extracción de ADN número 1. En la estrategia de amplificación de PCR se utilizaron las parejas de cebadores 15.425F – 15.625R (región 1), 15.537F – 15.728R (región 2) y 15.668F – 15.862R (región 3). Se realizaron dos amplificaciones independientes con cada pareja de cebadores. No se obtuvieron resultados en ninguna de las amplificaciones.

Tabla 8.1.10.5.1. ***Relación de muestras de la Cueva del Camino utilizadas en esta investigación*.**

YACIMIENTO	CAMPAÑA	CUADRO	NIVEL	NÚMERO	TAXÓN	DESCRIPCIÓN
Cueva del Camino (Pinilla del Valle)	2006	D3	5	108	*Equus ferus*	M3 superior izquierdo
	2003	B6	5	12	*Equus* sp.	Diente yugal superior derecho
	2003	C4	5	61	*Equus ferus*	P3/P4 superior derecho
	2006	D3	Sin información	248	*Cervus elaphus*	M2/M3 superior derecho

8.1.10.6. Cova Negra (Xàtiva, Valencia), Cova Beneito (Muro, Alicante) y Cova de les Cendres (Teulada-Moraira, Alicante)

Con las muestras de estos tres yacimientos se trabajó de manera conjunta. Por ese motivo, vamos a explicar los resultados de estas muestras en el mismo apartado.



Figura 8.1.10.6.1. ***Localización geográfica de Cova Negra, Cova Beneito y Cova de les Cendres en la península ibérica*.**

Cova Negra es un abrigo que se encuentra localizado en el término municipal de Xàtiva (Valencia) (Figura 8.1.10.6.1). Sus coordenadas son 38° 57' 56,77'' latitud Norte y 0° 29' 49,24'' longitud Oeste (coordenadas obtenidas con la aplicación SIGPAC, http://sigpac.magrama.es/fega/h5visor/), y está localizado a unos 155 metros sobre el nivel del mar (msnm) (altura obtenida con la aplicación http://www.coordenadas-gps.com/).

La secuencia estratigráfica de Cova Negra comprende desde el interglaciar Riss - Würm hasta comienzos del Würm III. Se han diferenciado 15 niveles estratigráficos de base a techo donde se han reconocido 6 fases de sedimentación (Villaverde, 2001a).

Por su parte, Cova Beneito es un abrigo localizado en la vertiente sur de la Sierra de Benicadell, en el término municipal de Muro (Alicante) (Domenech, 2001) (Figura 8.1.10.6.1). Sus coordenadas geográficas son 38°48'03'' latitud Norte y 3°12' de longitud Este (Domenech, 2001). La cavidad se encuentra situada a 650 msnm en el Barranc d'Agres, en uno de los valles laterales del río Serpis (Iturbe *et al*., 1993; Domenech, 2001).

En la estratigrafía de Cova Beneito se han llegado a diferenciar hasta 12 niveles. La secuencia presenta una cronología que abarca alrededor de 40.000 años (Iturbe *et al*., 1993). Los niveles estratigráficos de esta secuencia se han asociado a momentos musterienses, auriñacienses, gravetienses, solutrenses y solutreogravetienses (niveles XII – II) (Iturbe *et al*., 1993; Domenech, 2001). Por otro lado, la parte holocena de la estratigrafía, caracterizada por el nivel I, se ha asociado a momentos de la Edad del Bronce y a material revuelto (Iturbe *et al*., 1993).

Por último, Cova de Les Cendres es un abrigo que se encuentra localizado en el municipio alicantino de Teulada-Moraira, en la punta de Moraira, donde se abre en un pronunciado escarpe sobre la línea de costa (Villaverde *et al*., 2001b) (Figura 8.1.10.6.1). Sus coordenadas aproximadas son 38° 40' 47,41'' latitud Norte y 8' 53,52'' longitud Este (coordenadas obtenidas con la aplicación SIGPAC, http://sigpac.magrama.es/fega/h5visor/), y está localizado a unos 60 msnm (Villaverde *et al*., 2001b).

Aparte de niveles neolíticos, se han podido diferenciar además niveles asociados al Solutrense, Magdaleniense medio y Magdaleniense superior (Villaverde *et al*., 1999).

Tabla 8.1.10.6.1. ***Relación de muestras de Cova Negra, Cova Beneito y Cova de les Cendres utilizadas en esta investigación*.**

COMUNIDAD AUTÓNOMA	YACIMIENTO	SIGLA	TAXÓN	DESCRIPCIÓN
Comunidad Valenciana	Cova Negra (Xàtiva, Valencia)	CN85 / C5-9. 10.	*Equus* sp.	Diente yugal superior derecho
		CN D1 II-20. 26.	*Equus* sp.	M3 superior derecho
		CN VI, 4.	*Equus hydruntinus*	P4/M1 superior izquierdo
	Cova Beneito (Muro, Alicante)	CB / D04. 45.	*Equus* sp.	P4/M1 inferior derecho
		CB / B 7b. 31.	*Equus ferus*	P2 inferior izquierdo
		CB B9. 36.	*Equus ferus*	M1 inferior derecho
		CB / B8. 39.	*Equus ferus*	M1/M2 inferior izquierdo
		CB / D1. 2. 351-356.	*Equus ferus*	P4 superior derecho
		CB / B7b. 8.	*Equus* sp.	M1 superior izquierdo
		CB / B7a. 13.	*Equus ferus*	P2 superior izquierdo
		CB / D2. 14.	*Equus ferus*	P4superior izquierdo
		CB / B9 27.	*Equus ferus*	M3 superior derecho
	Cova de les Cendres (Teulada-Moraira, Alicante)	CC 90. A17 / 56.57. 44.	*Equus ferus*	P2 inferior izquierdo
		CC90 A17 / 56-57. 12.	*Equus* sp.	M3 superior izquierdo
		CC 85 A17. C48-49. 16.	*Equus ferus*	P4 superior derecho

Para los análisis genéticos se seleccionaron 15 restos fósiles, todos ellos piezas dentales. De Cova Negra se seleccionaron tres restos, de Cova Beneito nueve restos y de Cova de les Cendres tres restos (Tabla 8.1.10.6.1).

Se obtuvieron dos muestras de cada resto fósil, y se aplicó sobre ellos el protocolo de extracción de ADN número 1. Se realizaron dos extracciones independientes, y sobre cada una de las extracciones, se llevó a cabo la amplificación de ADN utilizando las cuatro parejas de cebadores: 15.425F – 15.625R (región 1), 15.546F - 15.708R y 15.537F – 15.728R (región 2), y 15.668F y 15.862R (región 3). Sobre cada extracto de ADN independiente, se llevaron a cabo dos amplificaciones independientes con cada una de las parejas de cebadores comentadas. De este modo, para cada fósil se realizaron 16 amplificaciones en total (8 amplificaciones por cada extracto independiente, donde cada pareja de cebadores se amplificó en dos ocasiones). No se obtuvo ADN de caballo en ninguna de las amplificaciones.

De manera adicional, se llevó a cabo una amplificación con la pareja de cebadores 15.425F – 15.520R y 15.470F – 15.583R (región 1). Estos cebadores amplifican fragmentos de ADN con un tamaño de 96 y 114 pares de bases respectivamente. Además, estos cebadores permiten recuperar indistintamente ADN de *Equus ferus* y de *Equus hydruntinus.* En ninguna de las amplificaciones realizadas se obtuvo ADN de caballo.

8.1.10.7. La Carihuela (Granada)

La cueva de la Carihuela se encuentra localizada en término municipal de Piñar (Granada) (Samper, 2010) (Figura 8.1.10.7.1). Es una cueva con tres bocas orientadas hacia el Norte, y se encuentra localizadas a 1020 metros sobre el nivel del mar (Samper, 2010). Sus coordenadas aproximadas son 37° 26’ 26,25’’ latitud Norte y 3° 25’ 48,07’’ longitud Oeste (coordenadas obtenidas con la aplicación SIGPAC, http://sigpac.magrama.es/fega/h5visor/).



Figura 8.1.10.7.1. ***Localización geográfica de la cueva de la Carihuela en la península ibérica*****.**

Los materiales analizados fueron 12 restos de équidos de cronología supuestamente asociada al Pleistoceno superior (Tabla 8.1.10.7.1). De cada resto fósil se obtuvieron dos muestras, que se utilizaron para hacer dos extracciones de ADN independientes. Una extracción se llevó a cabo con el protocolo de extracción de ADN número 1 y la otra con el protocolo número 2. Con los extractos de ADN del protocolo 1, se llevaron a cabo dos amplificaciones independientes con cada una de las siguientes parejas de cebadores: 15.425F – 15.625R (región 1), 15.537F – 15.728R (región 2), y 15.668F y 15.862R (región 3).

Con los extractos de ADN obtenidos con el protocolo número 2, se llevó a cabo una amplificación con cada una de las parejas de cebadores comentadas en el párrafo anterior.

De este modo por cada muestra, entre los dos extractos de ADN se llevaron a cabo hasta 3 amplificaciones independientes con cada una de las parejas de cebadores. En ninguna de las amplificaciones realizadas se obtuvo ADN.

Tabla 8.1.10.7.1. ***Relación de muestras de la Carihuela utilizadas en esta investigación*****.**

YACIMIENTO	NÚMERO	TAXÓN	DESCRIPCIÓN
La Carihuela (Piñar, Granada)	2318	*Equus ferus*	Diente yugal superior izquierdo
	U142	*Equus ferus*	Diente yugal superior derecho
	2117	*Equus ferus*	Diente yugal superior derecho
	C316	*Equus ferus*	Diente yugal superior derecho
	C3110	*Equus ferus*	M1/2 superior izquierdo
	C1150	*Equus ferus*	M3 superior derecho
	91Q2	*Equus ferus*	M1/M2 superior derecho
	917	*Equus ferus*	Diente yugal superior derecho
	C218	*Equus ferus*	M1/M2 superior izquierdo
	88	*Equus ferus*	M3 superior izquierdo
	50	*Equus ferus*	P2 superior derecho
	417	*Equus* sp.	Diente yugal superior izquierdo

8.1.11. Gráficos de redes o networks

8.1.11.1. Análisis de las secuencias de nuestra investigación

Debido a que no se ha podido recuperar el fragmento completo comprendido entre np. 15.444 - 15.842 en las 80 secuencias de esta investigación asociadas a ADN de caballos, se han llevado a cabo hasta siete gráficos de redes distribuidos en seis análisis comparativos diferentes. Estos análisis se han realizado para estudiar en profundidad cada una de las secuencias obtenidas con el resto de la muestra de secuencias antiguas. Para una mayor comprensión de la lectura de los siguientes apartados, la Tabla 8.1.11.1.1 presenta las secuencias que se han ido incorporando progresivamente en cada nuevo análisis.

Tabla 8.1.11.1.1. ***Secuencias utilizadas en los análisis comparativos***. Se presentan las posiciones nucleotídicas y las secuencias que se han estudiado en cada análisis. N= Número de secuencias de cada análisis. N incorporaciones= Número de secuencias nuevas incorporadas en cada análisis.

ANÁLISIS COMPARATIVO	POSICIONES NUCLEOTÍDICAS	N	FIGURA	INCORPORACIONES	N INCORPORACIONES
1	15.444 - 15.842	58	8.1.11.1		58
2	15.444 - 15.688	63	8.1.11.2	CDS19, CDS23, CDS24, BG04,CR67	5
3	15.565 - 15.842	62	8.1.11.3	CDS27, CDS29, CDS32, GAR07	4
4a	15.444 - 15.605	66	8.1.11.4	GAR09, CFD02, CFD08	3
4b	15.491 - 15.561	67	8.1.11.5	GAR09, CFD02, CFD08, JVI03	4
5	15.565 - 15.688	74	8.1.11.6	CDS12, CDS14, CDS21, CDS22, CDS30, CDS31, GAR04	7
6	15.687 - 15.842	64	8.1.11.7	CDS04 y CDS25	2

Las muestras de Las Caldas que se presentan en esta investigación proceden de hasta seis momentos culturales diferentes. Estas muestras se han estudiado en diferentes análisis, como aparece reflejado en la Tabla 8.1.11.1.1. Para una mayor claridad, la Tabla 8.1.11.1.2 destaca, mediante un código de colores, los análisis comparativos en los que se incorporaron por primera vez estas secuencias.

Tabla 8.1.11.1.2. ***Las muestras de Las Caldas en los análisis comparativos***. Los códigos de colores detallan el análisis en el que se incorporó por primera vez cada una de las muestras.

PERIODO	RESULTADOS	MUESTRAS	ANÁLISIS COMPARATIVOS
Solutrense medio	1	CDS04	
Solutrense superior	3	CDS11, CDS12, CDS14	Comparativa 1
Magdaleniense inferior	0	0	Comparativa 2
Magdaleniense medio antiguo	8	CDS19, CDS21, CDS22, CDS23, CDS24, CDS25, CDS26, CDS27,	Comparativa 3
Magdaleniene medio evolucionado	1	CDS29	Comparativa 5
Magdaleniense medio transicional	2	CDS30, CDS31	Comparativa 6
Magdaleniense superior	1	CDS32	
TOTAL	**16**		

Para el resto de muestras pleistocenas de otros yacimientos no se realiza una distinción semejante, debido a que dentro de cada yacimiento, estas muestras son coetáneas entre ellas. La muestra de JVI03 de Jarama VI es de cronología musteriense, CFD02 y CFD08 de Cova Foradada están asociadas al Auriñaciense. Las muestras de Las Caldas proceden de diferentes niveles que se distribuyen entre el Solutrense medio y el Magdaleniense superior (Tabla 8.1.11.1.2). La muestra de Cueva Ocura de Ania COA16 está asociada al Magdaleniense medio, del mismo modo que COA10. Las muestras de La Garma A están asociadas al Magdaleniense medio. Por último, las muestras de Bora Gran podrían pertenecer (con cautela) al Magdaleniense medio o al Magdaleniense superior.

8.1.11.1.1. Análisis comparativo 1

El análisis comparativo 1 se ha realizado sobre aquellas muestras para las que se ha podido recuperar todo el fragmento de ADN mitocondrial comprendido entre las posiciones nucleotídicas 15.444 – 15.842 (regiones 1, 2, 3).

Se han analizado 58 secuencias en un gráfico de redes elaborado con el algoritmo Median Joining con ε = 0. El modelo evolutivo que jModelTest 2.1.5 propuso para esta matriz de secuencias fue TrN + I. Con este modelo se analizó la relación Ti/Tv, y se utilizó un valor de Ti/Tv= 50 para la elaboración del gráfico de redes. Las posiciones nucleotídicas presentan valores de ponderación por defecto excepto 15.570a, que presenta un valor doble a los demás. Las posiciones hotspots 15.585, 15.597 y 15.604 fueron excluidas del análisis (Anexo VIa).

El diagrama de redes obtenido distribuye las 58 secuencias en 21 haplotipos (Figura 8.1.11.1.1). A modo de síntesis, ninguno de los nueve haplotipos pleistocenos tiene

continuidad durante el Holoceno. Por su parte, las muestras neolíticas se distribuyen en dos haplotipos, las calcolíticas en nueve haplotipos y las de la Edad del Bronce en siete haplotipos. En relación a su perduración en momentos culturales posteriores, los dos haplotipos neolíticos tienen continuidad durante el Calcolítico y la Edad del Bronce. Además, otros tres haplotipos calcolíticos los encontraremos también durante la Edad del Bronce. En cambio ninguno de estos haplotipos está representado en la muestra de la Edad de Hierro. Esta muestra de la Edad del Hierro se encuentra distribuida en un haplotipo nuevo, con continuidad por lo menos hasta la Edad Media. La descripción desarrollada de estos haplotipos es la siguiente (Figura 8.1.11.1.1 y Anexo VIb):

- Las 10 secuencias pleistocenas se distribuyen en 9 haplotipos (color azul claro), prácticamente una por haplotipo excepto GAR03 y GAR08, que comparten haplotipo.
- Las 5 secuencias neolíticas se distribuyen en 2 haplotipos (color verde). Comparten haplotipos CFo01, CFo06 y CFo012 por un lado, y CFo02 y CFo08 por otro lado.
- Las 22 secuencias calcolíticas se distribuyen en nueve haplotipos (color rojo). Tres haplotipos se caracterizan por presentar sólo una muestra calcolítica: ATA25 y ATA41 no comparten haplotipos con nadie y, la muestra ATA27 tampoco comparte haplotipo con otras muestras calcolíticas (pero está incluida en el haplotipo de ATA10, asociado a la Edad del Bronce). En los seis restantes haplotipos, las muestras calcolíticas están distribuidas del siguiente modo: compartiendo haplotipo con ATA04, de la Edad del Bronce, se encuentran ATA28 y ATA44. Las muestras ATA46 y ATA47 comparten haplotipo. Compartiendo haplotipo con CFo02 se encuentran ATA29 y ATA48. Las muestras ATA26, ATA40 y ATA45 comparten haplotipo. Compartiendo haplotipo con ATA03, de la Edad del Bronce, se encuentran ATA35 y ATA42. Compartiendo haplotipo con CFo01 se encuentran ATA20, ATA24, ATA30, ATA36, ATA37, ATA38, ATA39 y ATA43.
- Las 19 secuencias de la Edad del Bronce se distribuyen en siete haplotipos (color azul oscuro). Las muestras ATA02, ATA04 y ATA15 no comparten haplotipos con otras muestras de la Edad del Bronce. Sin embargo ATA04 comparte haplotipo con las muestras calcolíticas ATA28 y ATA44 comentadas anteriormente, y ATA15 se encuentra en el haplotipo CFo02 con muestras neolíticas y calcolíticas. En los cuatro haplotipos restantes las muestras se distribuyen del siguiente modo: ATA01 y ATA06 comparten haplotipo; ATA03 y ATA08 comparten haplotipo; ATA10 y ATA11 comparten haplotipo; ATA05, ATA09, ATA12, ATA13, ATA14, ATA16, ATA17, ATA18, ATA19 y ATA23 comparten haplotipo con CFo01. En los haplotipos compartidos,

excepto para el haplotipo de ATA01 y ATA06, en el resto encontramos también muestras calcolíticas y en el de ATA05, además, las muestras neolíticas CFo01, CFo06 y CFo12.

- Por último, la secuencia CR65 de la Edad del Hierro (color blanco) y ATA07 de la Edad Media (color negro) comparten el mismo haplotipo.

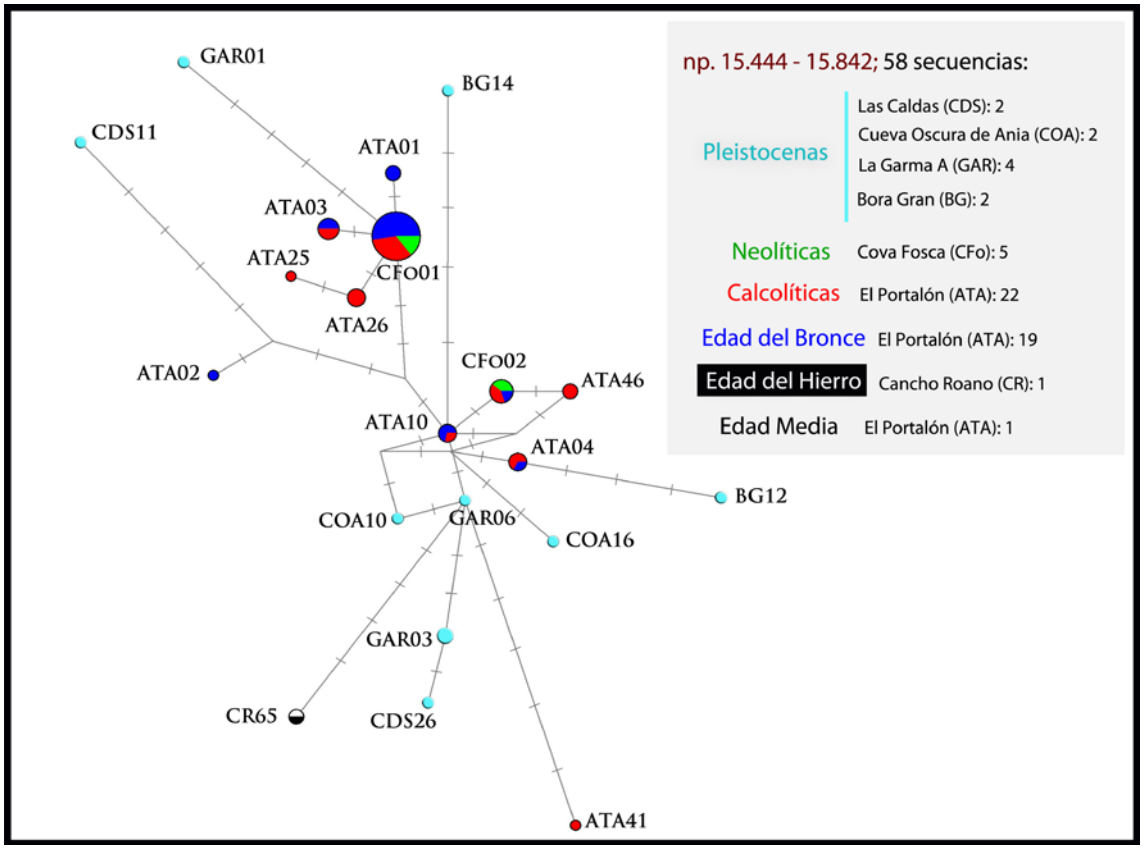


Figura 8.1.11.1.1. ***Gráfico de redes de 58 secuencias de ADN antiguo de esta investigación, np. 15.444 – 15.842***. *Azul claro*: secuencias pleistocenas; *Verde*: neolíticas, *Rojo*: calcolíticas; *Azul oscuro*: Edad del Bronce; *Blanco*: Edad del Hierro, *Negro*: medieval. En la leyenda al lado de cada yacimiento, se indica el número de secuencias recuperadas.

Para el fragmento comprendido entre las posiciones nucleotídicas 15.444 – 15.842, ninguna de las 10 secuencias pleistocenas analizadas comparte haplotipo con secuencias holocenas. La secuencia GAR01 está a 4 mutaciones de distancia del haplogrupo identificado por CFo01, y la secuencia BG12 de Bora Gran, a tres mutaciones del haplotipo ATA04.

No se ha identificado ninguna estructuración filogeográfica entre estas secuencias pleistocenas, la mayoría de las secuencias constituyen un único haplotipo y están ampliamente distribuidas en el gráfico de redes. Solamente las secuencias GAR03 y GAR08 de La Garma A, asociadas al Magdaleniense medio, comparten haplotipo (Anexo VIb). Este caso concreto podría deberse a dos individuos relacionados por sus líneas maternas, o ser dos muestras

pertenecientes al mismo individuo. Concretamente, estos restos son un M1/M2 inferior derecho (GAR03) y un M1/M2 superior derecho (GAR08) (Tabla 7.4.3.1; Figura 8.1.3.1).

Se ha identificado un haplogrupo con presencia en la península ibérica desde el Pleistoceno superior (Magdaleniese medio) hasta la Edad del Bronce. Es el haplogrupo constituido por 32 secuencias que se distribuyen entre los haplotipos de GAR01, CFo01, ATA01, ATA03, ATA25 y ATA26, con una frecuencia muy alta en el haplotipo de CFo01 (21 de las 32 secuencias pertenecen a este haplotipo, 3 neolíticas, 8 calcolíticas y 10 de la Edad del Bronce) (Figura 8.1.11.1.1, Anexo VIb).

Otro haplotipo donde se ha identificado persistencia de linajes maternos a lo largo del Holoceno es el haplotipo de CFo02. Se han identificado secuencias neolíticas (*n*=2), calcolíticas (*n*=2) y de la Edad del Bronce (*n*=1). Por su parte, los haplotipos ATA03, ATA04 y ATA10 están compartidos por individuos calcolíticos y de la Edad del Bronce (Figura 8.1.11.1.1, Anexo VIb).

Los haplotipos de ATA25, ATA26, ATA41 y ATA46 presentan exclusivamente a individuos calcolíticos. La misma singularidad se observa con el haplotipo del individuo ATA02 y el haplotipo de ATA01 (que incluye también a ATA06), todos individuos asociados a la Edad del Bronce.

Por su parte, los haplotipos antes comentados no van a tener representación en muestras más modernas. Se ha podido comprobar que el haplotipo del individuo medieval ATA07, ya estaba presente en la península ibérica durante la Edad del Hierro (ya que el individuo CR65 de Cancho Roano y ATA07 de El Portalón comparten haplotipo).

Cabe destacar que algunas de estas muestras se habían catalogado como *Equus hydruntinus* (COA10, BG12, BG14). Aunque no comparten haplotipos con otros caballos, el gráfico de redes no ofrece información para considerarlos mitocondrialmente como un taxón diferente al caballo.

8.1.11.1.2. Análisis comparativo 2

El análisis comparativo 2 se ha realizado sobre aquellas muestras para las que se ha podido recuperar, al menos, el fragmento de ADN mitocondrial comprendido entre las posiciones nucleotídicas 15.444 – 15.688 (regiones 1 y 2).

Con esta nueva red de haplotipos se han incorporado cinco secuencias, aumentando a 63 el número de secuencias analizadas. Tres secuencias proceden de muestras de Las Caldas (CDS19, CDS23, CDS24) todas asociadas al Magdaleniense medio antiguo, la secuencia restante de Bora Gran (BG04), así como la otra secuencia de Cancho Roano (CR67) (Tabla 8.1.11.1.1).

Las 63 secuencias se han analizado utilizando el algoritmo Median Joining con ε = 0. El programa jModeltest 2.1.5 seleccionó como mejor modelo TrN + I. El diagrama de redes se realizó con Ti/Tv = 50, posiciones nucleotídicas con valores de ponderación por defecto excepto 15.570a que presenta un valor doble a los demás, y posiciones hotspots 15.585, 15.597 y 15.604 excluidas del análisis (Anexo VIIa).

La red de haplotipos es similar a la descrita en la Figura 8.1.11.1.1 para np. 15.444 – 15.842. El diagrama de redes obtenido distribuye las 63 secuencias en 21 haplotipos (Figura 8.1.11.1.2 y Anexo VIIb). Cabe destacar que, al analizar un fragmento genético más corto, se ha perdido información que permitía diferenciar algunos haplotipos. Las secuencias ATA25, ATA26, ATA40, ATA45 siguen formando parte del haplogrupo que tiene como haplotipo principal a CFo01, pero ahora están integradas dentro del haplotipo CFo01.

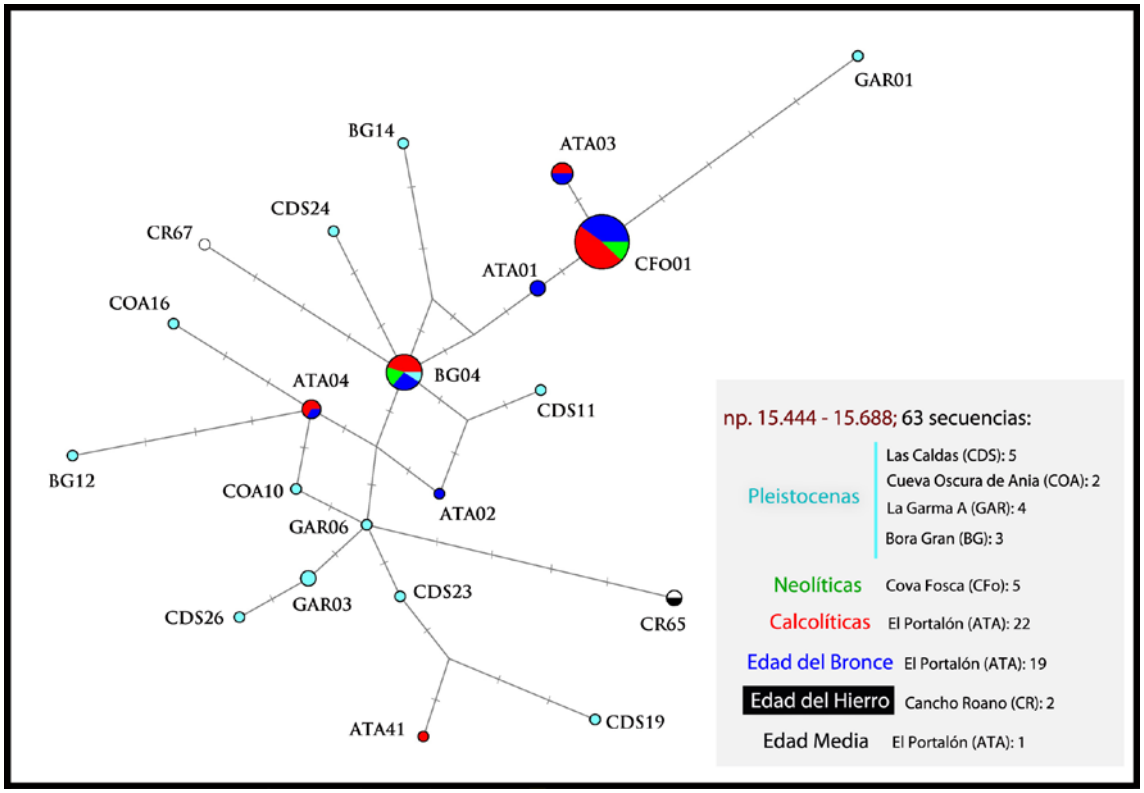


Figura 8.1.11.1.2. ***Gráfico de redes de 63 secuencias de ADN antiguo de esta investigación, np. 15.444 – 15.688***. *Azul claro*: secuencias pleistocenas; *Verde*: neolíticas, *Rojo*: calcolíticas; *Azul oscuro*: Edad del Bronce; *Blanco*: Edad del Hierro, *Negro*: medieval. Al lado de cada yacimiento en la leyenda, se indica el número de secuencias recuperadas.

El haplotipo que en la Figura 8.1.11.1.1 estaba definido por CFo02 y constituido por cinco secuencias, ahora incluye a la nueva secuencia pleistocena BG04, y otras cinco secuencias más: ATA10, ATA11, ATA27, ATA46 y ATA47 (presentando 11 secuencias en total) (Figura 8.1.11.1.2).

Las secuencias de Las Caldas del Magdaleniense medio antiguo analizadas por primera vez: CDS19, CDS23 y CDS24 (Tabla 8.1.11.1.1, Tabla 8.1.11.1.2) constituyen haplotipos únicos. También constituye un haplotipo único la nueva secuencia de la Edad del Hierro de Cancho Roano CR67 (Figura 8.1.11.1.2).

Cabe destacar que las muestras CDS23 y CDS24 de Las Caldas y BG04 de Bora Gran se habían atribuido a *Equus hydruntinus*. Los análisis genéticos presentados en este apartado ponen de manifiesto que estas muestras presentan unos haplotipos que entran dentro de la variabilidad del ADN mitocondrial de los caballos.

8.1.11.1.3. Análisis comparativo 3

Con la finalidad de maximizar el análisis para las regiones 2 y 3 del ADN mitocondrial, hemos realizado un análisis sobre las posiciones nucleotídicas 15.565 – 15.842, donde hemos podido incluir 62 secuencias. Cinco pertenecen a Las Caldas (CDS11, CDS26 y, por primera vez, se analizan CDS27, CDS29, CDS32, asociadas a distintos momentos del Magdaleniense) (Tabla 8.1.11.1.1, Tabla 8.1.11.1.2). Otras cinco proceden de La Garma A (GAR01, GAR03, GAR06, GAR08 y, por primera, vez GAR07) (Tabla 8.1.11.1.1). De este modo en este análisis se estudian, por primera vez, cuatro secuencias (tres de Las Caldas y una de La Garma A). El análisis incluye también las muestras de Cueva Oscura de Ania COA10 y COA16; Bora Gran BG12 y BG14, Cancho Roano CR65, así como las cinco secuencias neolíticas de Cova Fosca y las 42 secuencias de El Portalón.

Las 62 secuencias se analizaron utilizando el algoritmo Median Joining con ε = 0. El modelo evolutivo que mejor se ajustaba a los datos seleccionado por jModelTest 2.1.5 fue K80 + I. El diagrama de redes se realizó con Ti/Tv = 50, posiciones nucleotídicas con valores de ponderación por defecto excepto 15.570a que presenta un valor doble a los demás, y posiciones hotspots 15.585 y 15.597 excluidas del análisis (Anexo VIIIa).

Las 62 secuencias se distribuyen en 25 haplotipos (Figura 8.1.11.1.3). La distribución de los haplotipos presenta características similares a las mostradas por las Figuras 8.1.11.1.1 y

8.1.11.1.2, donde se destaca el haplogrupo principal caracterizado por el haplotipo central de CFo01) (Anexo VIIIb). Las cuatro nuevas muestras ocupan cada una de ellas haplotipos únicos. Cada una de las muestras magdalenienses de Las Caldas CDS27, CDS29 y CDS32 está a una mutación de distancia de la muestra de Cueva Oscura de Ania COA10 asociada al Magdaleniense medio. La muestra del Magdaleniense medio GAR07 se encuentra a dos mutaciones de distancia de las muestras CDS26, GAR03 y GAR08 (las tres con idénticos haplotipos y asociadas al Magdaleniense medio antiguo – CDS26 y Magdaleniense medio – GAR03 y GAR08).

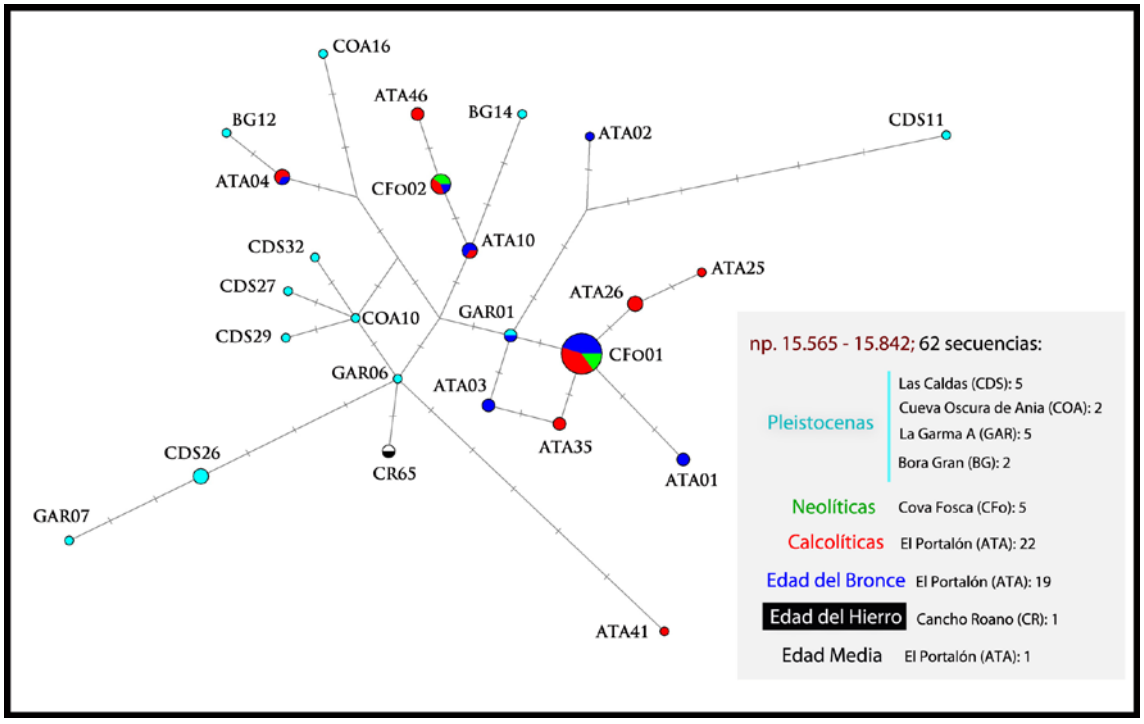


Figura 8.1.11.1.3. ***Gráfico de redes de 62 secuencias de ADN antiguo de esta investigación, np. 15.565 – 15.842***. Código de colores: *Azul claro*: secuencias pleistocenas; *Verde*: neolíticas, *Rojo*: calcolíticas; *Azul oscuro*: Edad del Bronce; *Blanco*: Edad del Hierro, *Negro*: medieval. Al lado de cada yacimiento en la leyenda, se indica el número de secuencias recuperadas.

8.1.11.1.4. Análisis comparativo 4

Se ha realizado un análisis de la región 1 para las posiciones nucleotídicas 15.444 – 15.605 del ADN mitocondrial. Se han podido utilizar 67 secuencias, incorporándose por primera vez al análisis las secuencias del Magdaleniense medio GAR09 (La Garma A), CFD02 y CFD08 (Cova Foradada) asociadas al Auriñaciense y JVI03 (Jarama VI) con cronología musteriense (Tabla 8.1.11.1.1). Estas muestras se han analizado con cinco secuencias de Las Caldas (CDS11, CDS19, CDS23, CDS24, CDS26), las dos de Cueva Oscura de Ania (COA10 y COA16), otras cuatro de La Garma A (GAR01, GAR03, GAR06, GAR08), las tres de Bora Gran

(BG04, BG12, BG14), a las que se suman las cinco de Cova Fosca (CFo01, CFo02, CFo06, CFo08, CFo12), las dos de Cancho Roano (CR65, CR67) y las 42 secuencias restantes de El Portalón.

En análisis de la región 1 se ha realizado por duplicado, en función de la longitud de la secuencia de la muestra JVI03 recuperada en Jarama VI. La secuencia de JVI03 corresponde a fragmento parcial de la región 1 (np. 15.491 – 15.561). De este modo, para considerar a esta muestra, se ha repetido el análisis restringido a estas posiciones nucleotídicas. Por lo tanto, se ha realizado un análisis sobre las posiciones nucleotídicas 15.444 – 15.605 que no ha podido tener en cuenta a la muestra JVI03 (*n*=66 secuencias), y un segundo análisis sobre np. 15.491 – 15.561 donde sí se ha podido incluir a esta muestra (*n*=67 secuencias).

a) Análisis sobre las posiciones nucleotídicas 15.444 – 15.605

El gráfico de redes de las 66 secuencias (np. 15.444 – 15.605) se ha elaborado con el algoritmo Median Joining con ε = 0. El modelo evolutivo que jModelTest 2.1.5 propuso para esta matriz de secuencias fue K80, con el que MEGA6 ofreció un valor de Ti/Tv= 32 para la elaboración del gráfico de redes. Las posiciones nucleotídicas presentan valores de ponderación por defecto a excepción de 15.570a, que presenta un valor doble a los demás. Las posiciones hotspots 15.585 y 15.604 fueron excluidas del análisis (Anexo IXa).

Las 66 secuencias se han distribuido en 18 haplotipos con distintas frecuencias (Figura 8.1.11.1.4). Las nuevas secuencias CFD02, CFD08 (en el mismo haplotipo) y GAR09 se distribuyen alrededor del haplotipo central definido por CDS23. El haplotipo con las secuencias CFD02 y CFD08 aparece a una mutación de distancia de CDS23. La secuencia GAR09 constituye ella sola un haplotipo a dos mutaciones de distancia de CDS23 (Figura 8.1.11.1.4). La relación de secuencias, haplotipos y frecuencias de este gráfico de redes se encuentra disponible en el Anexo IXb.

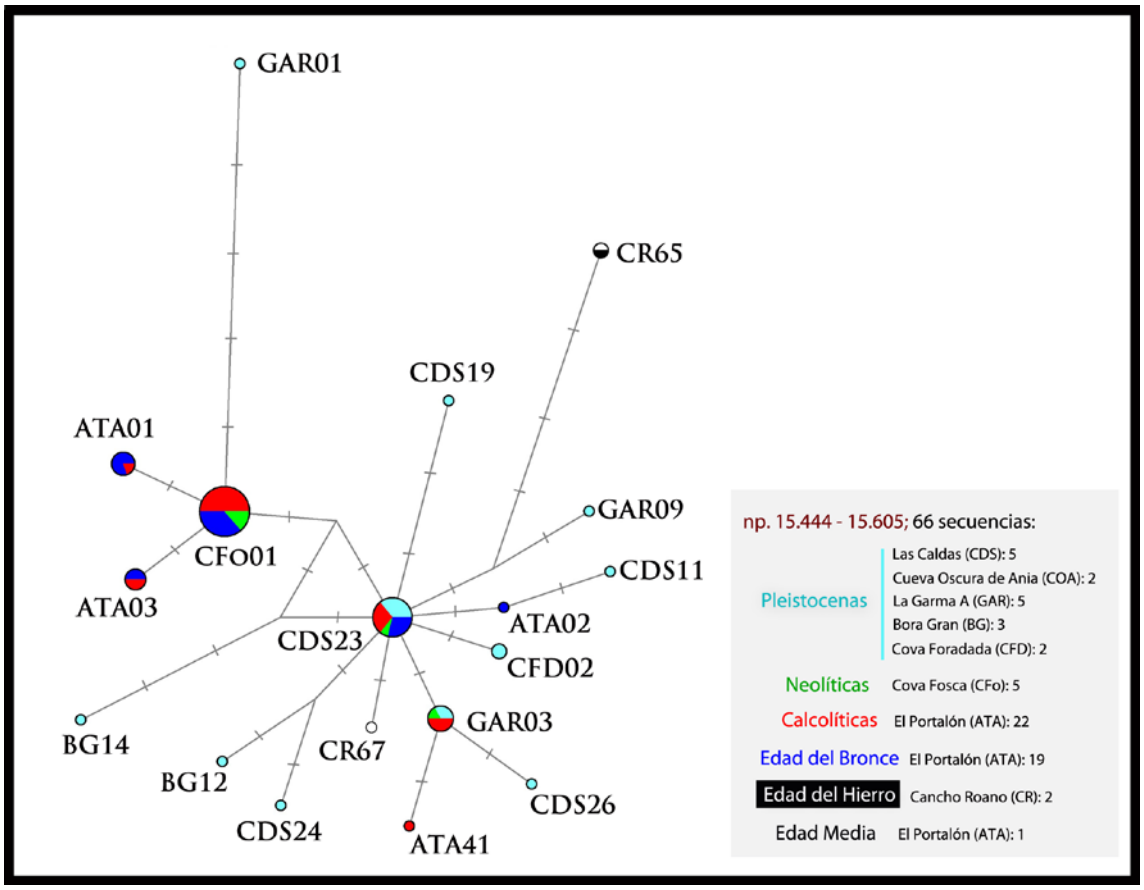


Figura 8.1.11.1.4. ***Gráfico de redes de 66 secuencias de ADN antiguo de esta investigación, np. 15.444 – 15.605***. *Azul claro*: secuencias pleistocenas; *Verde*: neolíticas, *Rojo*: calcolíticas; *Azul oscuro*: Edad del Bronce; *Blanco*: Edad del Hierro, *Negro*: medieval. Al lado de cada yacimiento en la leyenda, se indica el número de secuencias recuperadas.

b) Análisis sobre las posiciones nucleotídicas 15.491 – 15.561

El gráfico de redes para las 67 secuencias (np. 15.491 – 15.561) se construyó implementando el algoritmo Median Joining con ε = 0. El modelo evolutivo que jModelTest 2.1.5 propuso para esta matriz de secuencias fue HKY, a partir del cual MEGA6 arrojó un valor de Ti/Tv= 14, que se incluyó en la elaboración del gráfico de redes. Las posiciones nucleotídicas presentan valores de ponderación por defecto (Anexo Xa).

Las 67 secuencias se distribuyen en 11 haplotipos (Figura 8.1.11.1.5). La secuencia GAR09 continúa constituyendo un haplotipo que no comparte con ninguna otra secuencia. En cambio, las secuencias CFD02 y CFD08 se encuentran incluidas en el haplotipo definido por CDS11 (que alberga mayoritariamente las mismas secuencias que haplotipo de CDS23 de la Figura 8.1.11.1.4). La secuencia del caballo JVI03 del yacimiento de Jarama VI presenta unos polimorfismos que la asocian al mismo haplotipo que ha estado definido en análisis anteriores

por CFo01 (el haplotipo con mayor frecuencia del gráfico). La relación de secuencias, haplotipos y frecuencias de este gráfico de redes se encuentra disponible en el Anexo Xb.

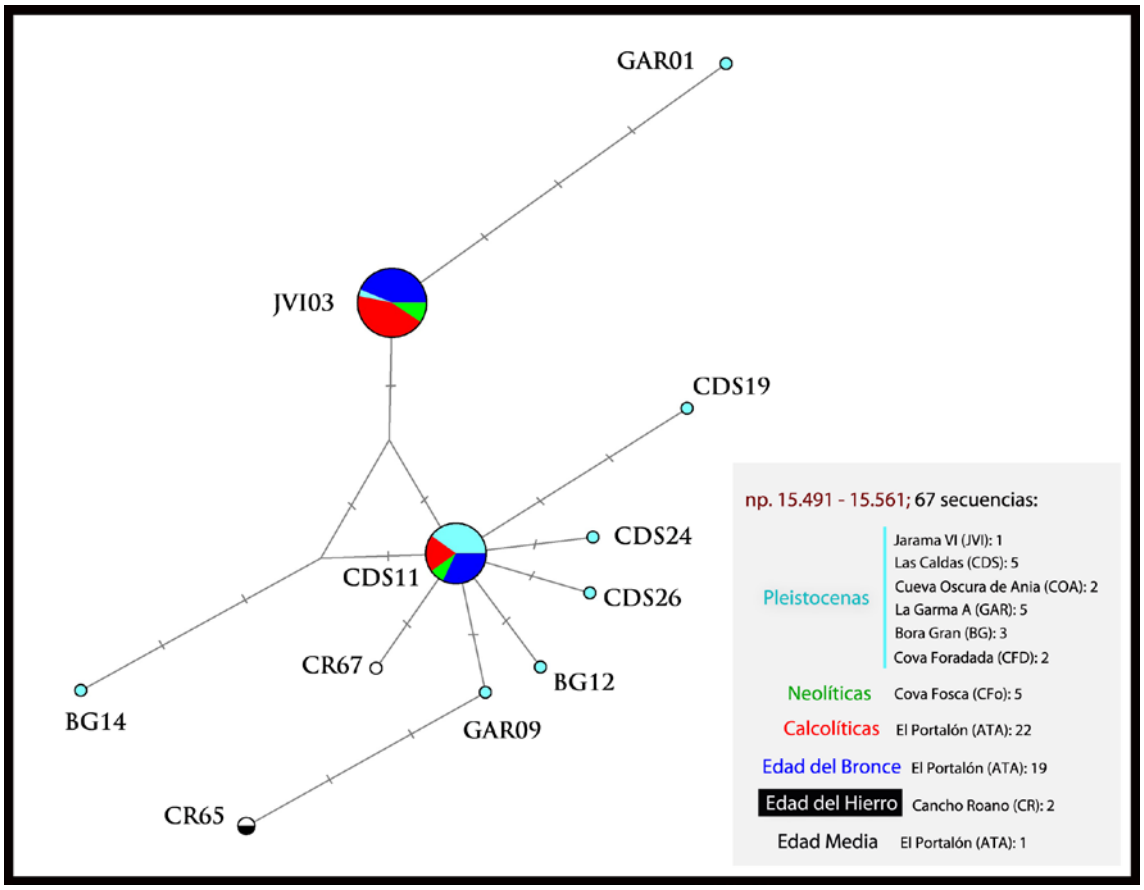


Figura 8.1.11.1.5. ***Gráfico de redes de 67 secuencias de ADN antiguo de esta investigación, np. 15.491 – 15.561***. *Azul claro*: secuencias pleistocenas; *Verde*: neolíticas, *Rojo*: calcolíticas; *Azul oscuro*: Edad del Bronce; *Blanco*: Edad del Hierro, *Negro*: medieval. Al lado de cada yacimiento en la leyenda, se indica el número de secuencias recuperadas.

La principal diferencia que se observa entre los dos gráficos de redes elaborados para la región 1 (Figura 8.1.11.1.4, Figura 8.1.11.1.5), es la relación inversa que hay entre el tamaño del fragmento genético a analizar y el número de haplotipos identificados. A medida que el fragmento genético es menor y se pierden sitios informativos, disminuyen la capacidad de diferenciar haplotipos. No obstante, el análisis del gráfico con la secuencia JVI03 permite considerar la distribución de todos los caballos analizados en dos grupos principales. Un grupo estaría constituido por dos haplotipos (definidos por JVI03 y GAR01) con diferentes frecuencias. Mientras que GAR01 es un haplotipo constituido por una secuencia, el haplotipo JVI03 reúne hasta 32 secuencias (Anexo Xb). Este haplogrupo presentaría un linaje de caballos con continuidad desde el Pleistoceno superior hasta el Holoceno (comprendido entre el Musteriense, Magdaleniense medio, Neolítico, Calcolítico y la Edad del Bronce). El otro grupo estaría constituido por las 34 secuencias, donde el haplotipo de CDS11 tiene una frecuencia

destacada sobre los demás (25 de estas 34 secuencias pertenecen a este haplotipo). Este haplogrupo representaría a otro linaje de caballos que también tendría continuidad desde el Pleistoceno superior hasta el Holoceno (comprendiendo el Auriñaciense, Solutrense, Magdaleniense, Neolítico, Calcolítico, Edad del Bronce, Edad del Hierro y Edad Media).

La secuencia de BG14 se encuentra distanciada de estos dos grupos principales. El función del análisis comparativo que realizamos, incluyendo un mayor o menor número de posiciones nucleotídicas, presentará un número variable de mutaciones de distancia respecto al haplotipo al que está unido. No obstante, atendiendo al número de mutaciones, cuatro mutaciones la separan del haplotipo de JVI03 y tres del haplotipo de CDS11 (la reticulación presenta la misma mutación en las tres ramas), situándose por tanto, relativamente más cerca del haplotipo CDS11. En el análisis del fragmento genético mayor (np. 15.444 – 15.605), BG14 también se encuentra a una mutación más cercana a ese mismo haplotipo.

8.1.11.1.5. Análisis comparativo 5

Un total de 74 secuencias se han analizado para el fragmento de ADN mitocondrial comprendido entre las posiciones 15.565 – 15.688 del ADN mitocondrial (región 2).

Siete muestras se analizan por primera vez: CDS12, CDS14, CDS21, CDS22, CDS30 y CDS31 de Las Caldas y asociadas a distintos periodos (Tabla 8.1.11.1.1, Tabla 8.1.11.1.2), y la muestra GAR04 del Magdaleniense medio de La Garma A. (Tabla 8.1.11.1.1).

El gráfico de redes se realizó implementando el algoritmo de Median Joining con ε=0. El modelo evolutivo que jModelTest 2.1.5 propuso para esta matriz de 74 secuencias fue K80, a partir del cual MEGA6 ofreció un valor de Ti/Tv= 0,5. Las posiciones nucleotídicas presentan valores de ponderación por defecto a excepción de 15.570a, que presenta un valor doble a los demás. Se eliminaron del análisis las posiciones hotspots 15.585, 15.597, 15.604 y 16.650 identificadas por T. Jansen *et al*. (2002) y M. Cieslak *et al*. (2010) (Anexo XIa).

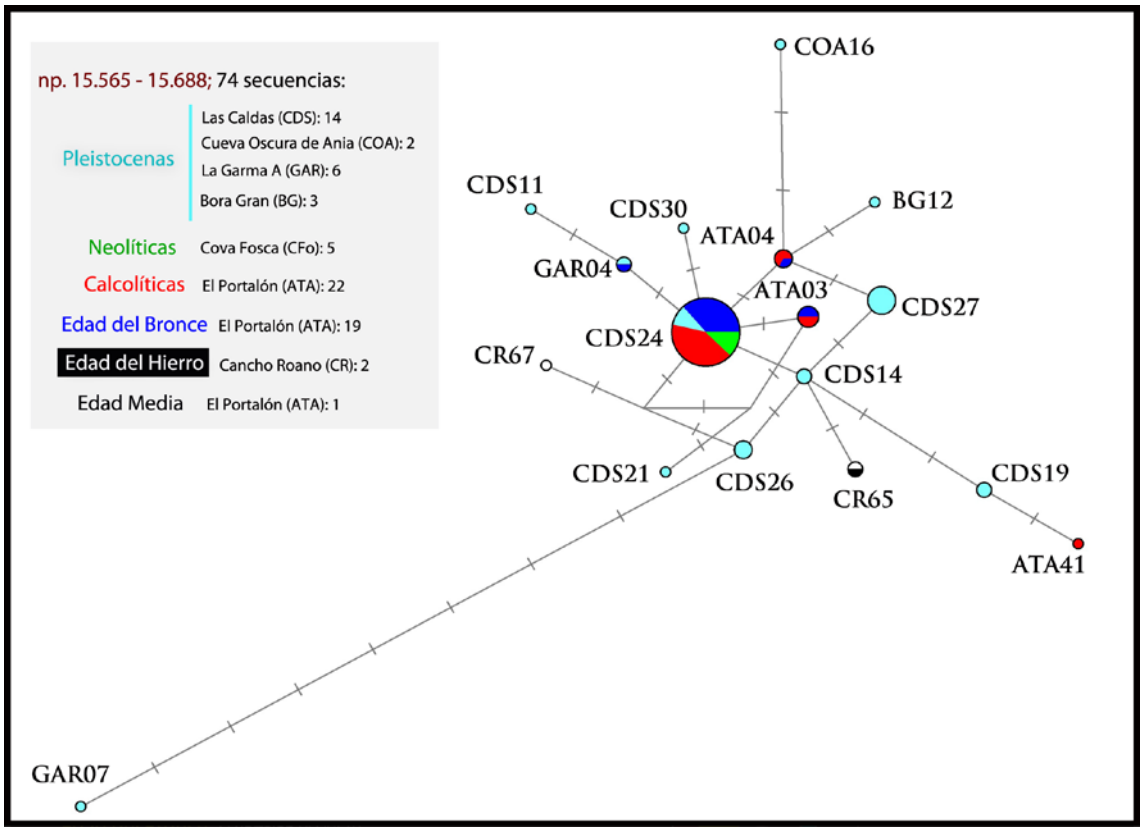


Figura 8.1.11.1.6. ***Diagrama de redes de 74 secuencias de ADN antiguo de esta investigación, np. 15.565 – 15.688***. *Azul claro*: secuencias pleistocenas; *Verde*: neolíticas, *Rojo*: calcolíticas; *Azul oscuro*: Edad del Bronce; *Blanco*: Edad del Hierro, *Negro*: medieval. Al lado de cada yacimiento en la leyenda, se indica el número de secuencias recuperadas.

En el diagrama de redes, las 74 secuencias se distribuyen en 17 haplotipos (Figura 8.1.11.1.6), y las nuevas secuencias se distribuyen en cinco haplotipos (Anexo XIb):

La secuencia GAR04 comparte haplotipo con ATA02. La secuencia de ATA02 ha constituido un haplotipo no compartido con otros caballos en la mayoría de los análisis realizados: sobre np. 15.444 – 15.842 (Análisis comparativo 1, Figura 8.1.11.1.1), sobre np. 15.444 – 15.688 (Análisis comparativo 2, Figura 8.1.11.1.2) y sobre np. 15.565 – 15.842 (Análisis comparativo 3, Figura 8.1.11.1.3), e incluso sobre el fragmento corto comprendido entre np. 15.444 – 15.605 (Análisis comparativo 4a, Figura 8.1.11.1.4).

Las secuencias CDS12, CDS22 y CDS31 comparten haplotipo con CDS27 que incluye, además, a CDS29, CDS32 y COA10. Las secuencias CDS27, CDS29, CDS32 se incorporaron por primera vez en los análisis sobre np. 15.565 – 15.842 (Análisis comparativo 3, Figura 8.1.11.1.3), constituyendo haplotipos únicos y formando un haplogrupo con COA10. Este haplogrupo presenta caballos con una continuidad desde el Solutrense superior hasta el Magdaleniense superior.

La nueva secuencia CDS14 comparte haplotipo con GAR06. De manera análoga al caso de ATA02, la secuencia GAR06 ha constituido un haplotipo aislado en los análisis sobre np. 15.444 – 15.842 (Análisis comparativo 1, Figura 8.1.11.1.1), sobre np. 15.444 – 15.688 (Análisis comparativo 2, Figura 8.1.11.1.2) y sobre np. 15.565 – 15.842 (Análisis comparativo 3, Figura 8.1.11.1.3). En los análisis realizados sobre los fragmentos informativos de la región 1 (Análisis comparativo 4a, np. 15.444 – 15.605 y Análisis comparativo 4b, np. 15.491 – 15.561) ya no mantiene esta singularidad. Con la información que tenemos, este haplotipo presenta una continuidad desde el Solutrense superior hasta el Magdaleniense medio.

Por su parte, las secuencias CDS21 y CDS30 se distribuyen en dos haplotipos que no comparten con otros caballos.

8.1.11.1.6. Análisis comparativo 6

Se han analizado 64 secuencias para el fragmento de ADN mitocondrial comprendido entre las posiciones 15.687 – 15.842 (región 3).

Este análisis permite estudiar, por primera vez, a las muestras de Las Caldas CDS04 y CDS25, asociadas al Solutrense medio y al Magdaleniense medio antiguo respectivamente. Dieciséis muestras se han tenido que excluir de este análisis: CDS12, CDS14, CDS19, CDS21, CDS22, CDS23, CDS24, CDS30, CDS31 de Las Caldas; GAR04 y GAR09 de La Garma A; BG04 de Bora Gran; CFD02 y CFD08 de Cova Foradada, JVI03 de Jarama VI y CR67 de Cancho Roano.

El gráfico de redes se realizó implementando el algoritmo de Median Joining con ε=0. El modelo evolutivo que jModelTest 2.1.5 propuso para esta matriz de 64 secuencias fue JC. Se estimó con MEGA6 la tasa Ti/Tv utilizando el modelo K80, el más parecido a JC del que disponía el programa. En la construcción del diagrama de redes se utilizó un valor de Ti/Tv= 0,5. Todas las posiciones nucleotídicas presentan valores de ponderación por defecto. Este análisis no presenta posiciones hotspots.

Las 64 muestras se distribuyen en 19 haplotipos (Figura 8.1.11.1.7). La nueva muestra solutrense CDS04 no comparte haplotipo con ningún otro caballo. La muestra del Magdaleniense medio antiguo CDS25 comparte haplotipo con COA16, asociada también al Magdaleniense medio (Anexo XII).

El resto de secuencias se distribuyen en dos grupos principales (Figura 8.1.11.1.7). Por un lado, 34 secuencias se distribuyen en 6 haplotipos, con un haplotipo principal (GAR01), que

contiene 26 secuencias (Anexo XII). Estas secuencias se corresponden con las que aparecían en el haplogrupo de CFo01 en el análisis comparativo de np. 15444 – 15.842 y posteriores (Figura 8.1.11.1.1).

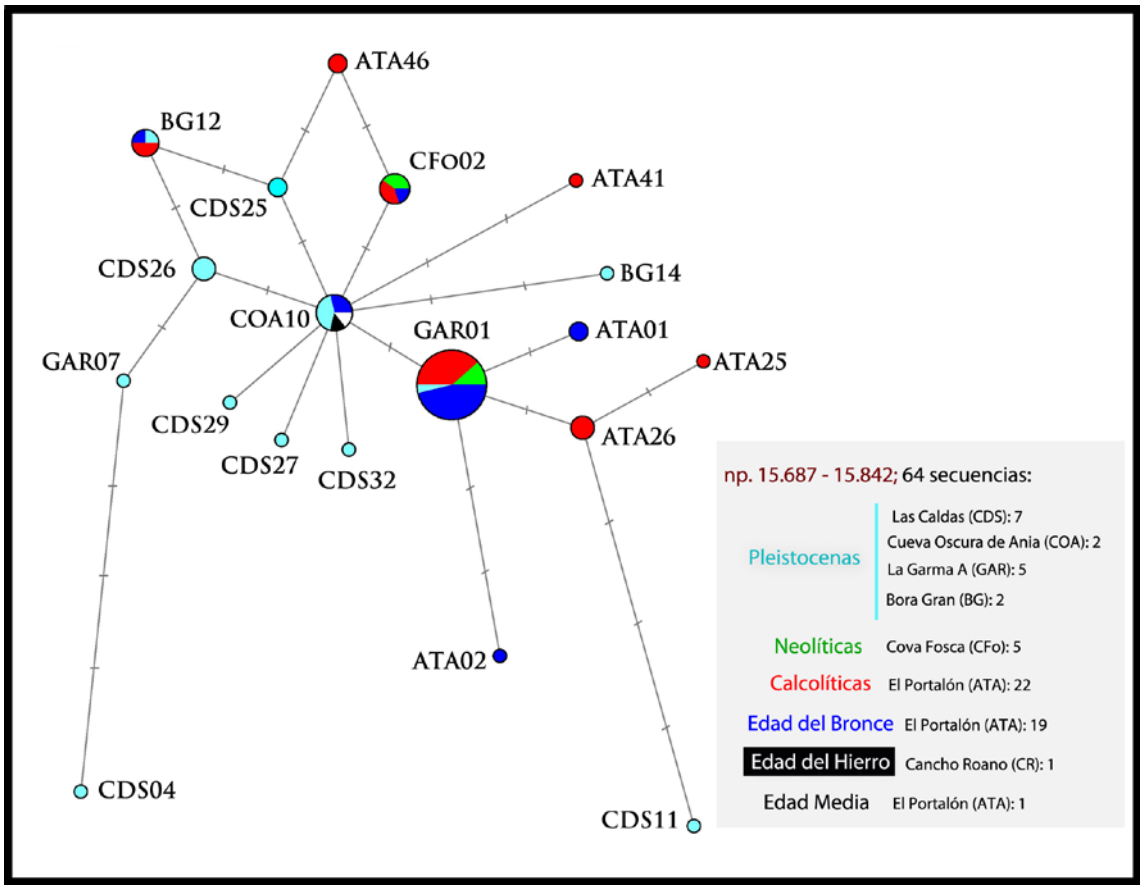


Figura 8.1.11.1.7. ***Diagrama de redes de 64 secuencias de ADN antiguo de esta investigación, np. 15.687 – 15.842***. *Azul claro*: secuencias pleistocenas; *Verde*: neolíticas, *Rojo*: calcolíticas; *Azul oscuro*: Edad del Bronce; *Blanco*: Edad del Hierro, *Negro*: medieval. Al lado de cada yacimiento en la leyenda, se indica el número de secuencias recuperadas.

El resto de secuencias se distribuyen entre los haplotipos de COA10, CFo02 y los 11 haplotipos que aparecen a su alrededor (Figura 8.1.11.1.7). Catorce de las 16 secuencias pleistocenas aparecen distribuidas entre los haplotipos de este segundo grupo. Las secuencias que con este análisis se incorporan por primera vez, CDS04 y CDS25, aparecen en este grupo.

8.1.11.2. Análisis globales

Todos los gráficos de redes que se presentan a continuación se han realizado para las posiciones nucleotídicas 15.494 – 15.740. En los siguientes apartados se van a describir las relaciones de los haplotipos de las muestras de nuestra investigación con los haplogrupos definidos por Jansen *et al*. (2002) y Achilli *et al*. (2012). Para una mayor claridad expositiva y de lectura, cuando se mencionen estas relaciones nos referiremos a ellos como los haplogrupos de Jansen y Achilli, respectivamente.

8.1.11.2.1. Gráfico de redes 1: muestras antiguas

El gráfico de redes 1 se elaboró para conocer la relación haplotípica entre las secuencias de nuestra investigación y secuencias de ADN antiguo de otras publicaciones. Como se comentó en el Capítulo 7, el fragmento de estudio se ajustó a np. 15.494 – 15.740 debido a que la mayoría de secuencias (modernas, y sobre todo antiguas) de ADN mitocondrial de caballos disponibles en el GenBank, corresponden a estas posiciones de HVR-I de la región control (Cieslak *et al*., 2010).

Aun realizando este ajuste, fue necesario descartar 22 de nuestras secuencias porque no presentaban suficiente información para este fragmento. De este modo, se analizaron 58 de las secuencias de esta investigación (Tabla 8.1.11.2.1). Estas secuencias corresponden a las estudiadas en el *Análisis comparativo 1* del apartado anterior.

Tampoco pudimos utilizar la totalidad de las 348 secuencias de ADN antiguo descargadas del GenBank. En concreto, un total de 34 secuencias publicadas de ADN antiguo y seleccionadas como comparativa, no presentaban de manera completa la información nucleotídica para este fragmento (Tabla 8.1.11.2.1). Tuvimos que descartar todas las secuencias de ADN de caballos ibéricos de Seco Morais *et al*. (2007) (*n*= 6); junto con secuencias de Cieslak *et al*. (2010) (*n*= 10); de Priskin *et al*. (2010) (*n*= 1); de Campana *et al*. (2011) (*n*= 3) y de Lorenzen *et al*. (2011) (*n*= 14). Si distribuimos estas secuencias eliminadas por regiones (ibéricos y no ibéricos), de las 25 secuencias de caballos ibéricos de la comparativa constituida por Seco Morais *et al*. (2007) (*n*= 6) y Cieslak *et al*. (2010) (*n*= 19) (Tabla 7.4.10.1), hemos tenido que eliminar nueve secuencias, incluyendo la única secuencia publicada de un caballo pleistoceno ibérico. Las ocho secuencias ibéricas restantes eliminadas

corresponden a caballos holocenos salvajes (*n*=1), domésticos (*n*=6) y dudosos (*n*=1) (Tabla 8.1.11.2.2; Anexo I). Por su parte, las secuencias no ibéricas eliminadas ascienden a 25: pleistocenas (*n*=18) y holocenas domésticas (*n*=6) y salvajes (*n*=1) (Tabla 8.1.11.2.2; Anexo I).

Tabla 8.1.11.2.1. ***Secuencias de ADN antiguo del gráfico de redes 1, np. 15.494 - 15.740.*** Se presentan tanto las secuencias utilizadas como las eliminadas de nuestra investigación, y de las descargadas del GenBank para construir el gráfico de redes 1. Los números de la sección 2.2 hacen referencia al código utilizado para las secuencias en la tabla del Anexo I.

1. SECUENCIAS UTILIZADAS			2. SECUENCIAS ELIMINADAS		
1. 1. De esta investigación (*n* = 58)			**2. 1. De esta investigación (*n* = 22)**		
CDS11	ATA05	ATA27	CDS04	CDS12	GAR04
CDS26	ATA06	ATA28	CDS25	CDS14	BG04
COA10	ATA07	ATA29	CDS19	CDS21	CFD02
COA16	ATA08	ATA30	CDS23	CDS22	CFD08
GAR01	ATA09	ATA35	CDS24	CDS30	JVI 3
GAR03	ATA10	ATA36	CDS27	CDS31	CR67
GAR06	ATA11	ATA37	CDS29	GAR07	
GAR08	ATA12	ATA38	CDS32	GAR09	
BG12	ATA13	ATA39			
BG14	ATA14	ATA40	**2. 2. Otras secuencias antiguas (*n* =34)**		
CFo01	ATA15	ATA41			
CFo02	ATA16	ATA42	101	169	293
CFo06	ATA17	ATA43	102	170	306
CFo08	ATA18	ATA44	105	171	307
CFo12	ATA19	ATA45	127	172	312
CR65	ATA20	ATA46	131	256	315
ATA01	ATA23	ATA47	132	285	316
ATA02	ATA24	ATA48	133	286	347
ATA03	ATA25		134	287	400
ATA04	ATA26		143	288	404
			156	289	405
			167	290	
1.2. Otras antiguas (*n* =314)			168	291	
TOTAL (*n* = 372)			**TOTAL (*n* = 56)**		

De este modo, entre las secuencias no ibéricas se han utilizado en estos análisis 119 pleistocenas, 176 holocenas y 3 dudosas, alcanzando un total de 298 secuencias no ibéricas. Junto a las 16 secuencias ibéricas holocenas restantes de Cieslak *et al.* (2010), la matriz de secuencias de comparativa reunió 314 secuencias antiguas del GenBank (Tabla 8.1.11.2.3). Las tres secuencias dudosas detalladas en la Tabla 8.1.11.2.3 pertenecen a Weinstock *et al*. (2005) y, aunque lo más probable es que se trate de caballos pleistocenos, hemos decidido considerarlas como dudosas debido a la ausencia de información asociada al contexto cultural o información cronológica.

No obstante, las secuencias eliminadas en estos análisis de gráficos de redes sí se han utilizado en los análisis filogenéticos de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana que se comentarán en los siguientes apartados (Tabla 8.1.11.2.3).

Tabla 8.1.11.2.2. ***Relación de secuencias eliminadas del análisis del gráfico de redes 1 y su relación con la península ibérica y otras localizaciones.***

PROCEDENCIA	TOTAL	PLEISTOCENAS	HOLOCENAS		
			SALVAJES	DOMÉSTICOS	DUDOSOS
Ibéricos	9	1	1	6	1
No ibéricos	25	18	1	6	0

Tabla 8.1.11.2.3. ***Distribución de las secuencias de ADN antiguo descargadas del GenBank según su categoría cronoestratigráfica o contexto cultural.*** *Se presenta la distribución de las 348 secuencias de ADN antiguo y su relación con el gráfico de redes 1. En los casos en los que el contexto cultural no se detallaba con la información de la secuencia, se ha inferido a partir de la información cronológica.*

POBLACIÓN	CONTEXTO	*n REDES*		TOTAL
		UTILIZADOS	NO UTILIZADOS	
Iberia	Pleistoceno	0	1	**1**
	Mesolítico/Neolítico	9	1	**10**
	Calcolítico Precampaniforme	0	0	**0**
	Calcolítico Campaniforme	0	0	**0**
	Calcolítico	3	0	**3**
	Bronce antiguo	0	0	**0**
	Bronce medio	0	0	**0**
	Edad del Bronce	2	2	**4**
	Edad del Hierro	1	2	**3**
	Histórico	1	3	**4**
Europa	Pleistoceno	17	4	**21**
	Mesolítico/Neolítico	1	0	**1**
	Calcolítico	9	1	**10**
	Edad del Bronce	15	0	**15**
	Edad del Hierro	1	0	**1**
	Histórico	74	4	**78**
Asia	Pleistoceno	15	0	**15**
	Mesolítico/Neolítico	1	0	**1**
	Calcolítico	0	0	**0**
	Edad del Bronce	13	1	**14**
	Edad del Hierro	59	1	**60**
	Histórico	3	0	**3**
	Dudoso	1	0	**1**
América	Pleistoceno	87	14	**101**
	Dudosos	2	0	**2**
TOTAL		**314**	**34**	**348**

En el gráfico de redes 1 se estudiaron 470 secuencias para las posiciones nucleotídias 15.494 - 15.740 distribuidas del siguiente modo: 314 secuencias antiguas y 58 de nuestra

investigación (Tabla 8.1.11.2.1). Para conocer su relación con los haplogrupos previamente definidos por Jansen *et al*. (2002) y Achilli *et al*. (2012), se incorporaron a la matriz las 17 secuencias sintéticas con las que se definieron los haplogrupos de Jansen y las 81 secuencias de Achilli (Tabla 8.1.11.2.4).

Las 470 secuencias se han analizado utilizando el algoritmo Median Joining con ε = 0. El programa jMoldelTest 2.1.5 seleccionó como mejor modelo TIM1 + I + G. La estimación de la tasa Ti/Tv se realizó con MEGA6 aplicando el modelo TrN + I + G de acuerdo a Vilstrup *et al*. (2013), considerado como el siguiente mejor modelo al obtenido por jModelTest. Se obtuvo un valor Ti/Tv=48,9 (Tabla 8.1.11.2.4).

El efecto de las mutaciones de cada uno de los sitios se ponderó en función del valor otorgado a la posición con el máximo número de mutaciones, de manera análoga a Cieslak *et al*. (2010). A las posiciones con indels se les otorgó un valor doble. Las posiciones *hotspots* 15.585, 15.597, 15.604 y 15.650 definidas por Jansen *et al*. (2002) y Cieslak *et al*. (2010) se excluyeron del análisis. También se excluyó la posición 15.703 definida como *hotspots* en esta investigación y se disminuyó el efecto de las mutaciones de la posición nucleotídica 15.659, de acuerdo a Jansen *et al*. (2002) (Anexo XIIIa).

El gráfico de redes resultante distribuye las 470 secuencias en 134 haplotipos con diferentes frecuencias (Figura 8.1.11.2.1). Las 58 muestras de nuestra investigación se distribuyen en 17 haplotipos. En relación a los haplogrupos definidos por Jansen y Achilli, las secuencias de nuestra investigación se distribuyen en siete haplogrupos de Jansen: A3, A4, A6, B2, C1, D1/D3 y F1 que a su vez se corresponden con siete haplogrupos de Achilli: A, B, C, I, L, M y P. Además se han identificado dos haplogrupos nuevos, representados por los haplotipos principales CFo01 y CFo02.

La Figura suplementaria 1 presenta la numeración de todos los haplotipos de este gráfico de redes, y el Anexo XIIIb la relación de haplotipos con frecuencias >1.

Tabla 8.1.11.2.4. ***Información de las matrices de ADN de los gráficos de redes globales.*** (1) Incluye 5 secuencias ibéricas o de origen ibérico de Achilli *et al*. (2012). (2) Junto a las 76 de Achilli *et al.* (2012), alcanzan un total de 1428 secuencias modernas no ibéricas. (3) Siguiente mejor modelo en PhyML según Vistrup et al. (2013). (4) Topología de inicio calculada mediante BIONJ-JC. jModelTest *n*, número de modelos evolutivos utilizados.

Gráfico de redes	Posiciones nucleotídicas	Jansen *et al*. 2002	Achilli *et al*. 2012	Este estudio	Antiguas	Modernas Ibéricas [1]	Modernas NO Ibéricas [2]	Total	Longitud	jModeltest		Ti/Tv	Implementado
										n	AICc		
1	15494 - 15740	17	81	58	314	0	0	470	249	56	TIM1+I+G (TrN +I +G3)[3]	48,9	49
2		17	76	58	314	524	0	989	249	56	TrN + G	10,68	10
3		17	76	58	314	524	1352	2341	249	56	GTR + I + G [4]	11,63	11

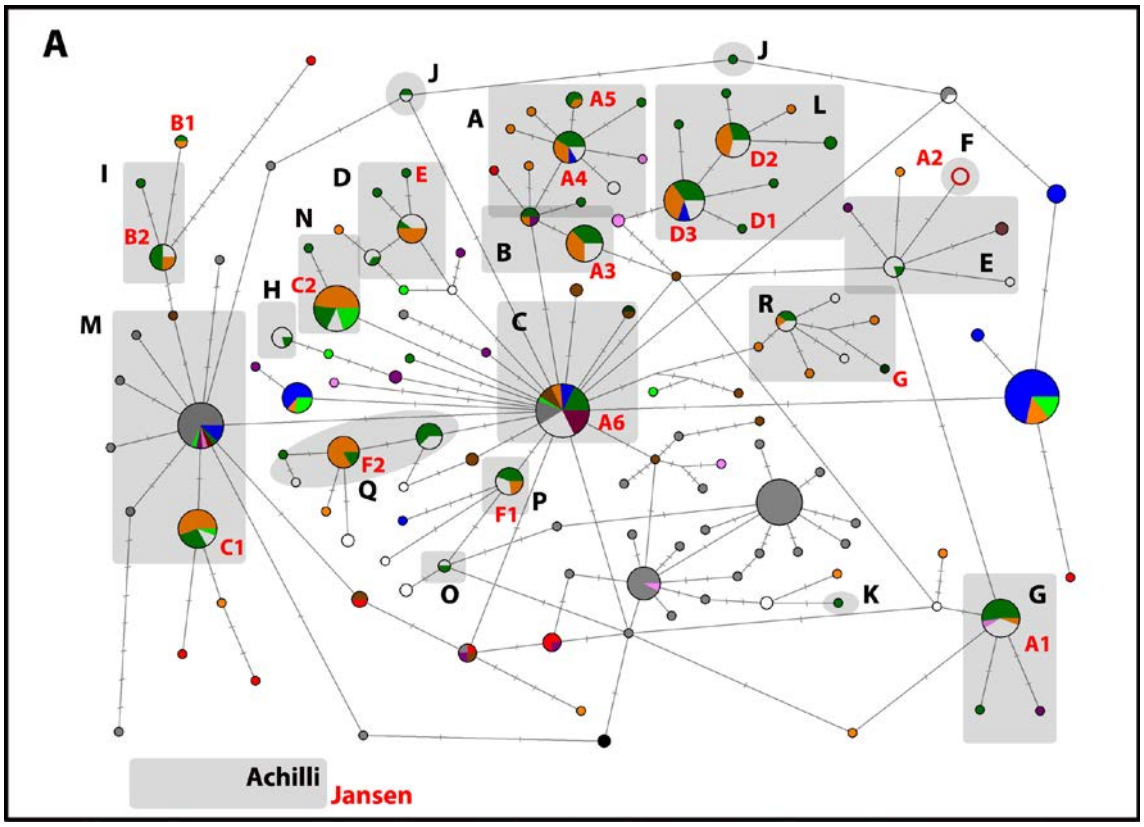


Figura 8.1.11.2.1. ***Gráfico de redes 1***. Distribución de 372 secuencias antiguas de caballos pleistocenos y holocenos (58 de esta investigación y 314 de otras investigaciones) junto a las secuencias de Jansen y Achilli. **A)** Distribución de los haplogrupos de Jansen (letras en color rojo) y Achilli *(*letras en color negro). **B)** Distribución de las muestras de esta investigación. Código de colores: ESTA INVESTIGACIÓN (*Rojo*: pleistocenos; *Azul*: holocenos). Código de colores de caballos de OTRAS PUBLICACIONES: *PLEISTOCENOS* (*Violeta*: europeos; *Marrón*: asiáticos; *Gris*: americanos); *HOLOCENOS* (*Verde claro*: salvajes europeos; *Negro*: salvajes asiáticos; *Naranja*: domésticos europeos; *Blanco*: domésticos asiáticos); DUDOSOS (*Rosa pálido*: pleistocenos / holocenos; salvajes / domésticos). *Verde oscuro*: secuencias de referencia de Jansen y Achilli. El haplotipo A2, blanco con borde rojo, presenta las dos únicas secuencias de caballos de Przewalski de este análisis. Las ramas no son proporcionales a sus longitudes. Cada recuadro gris bajo el gráfico de redes representa un haplotipo, donde se detallan las secuencias que contiene de nuestra investigación. Azul sombreado: secuencias neolíticas; Azul subrayado: secuencias calcolíticas; Azul cursiva: secuencias de la Edad del Bronce. La secuencia CR65 pertenece a la Edad del Hierro y ATA07 es una secuencia medieval.

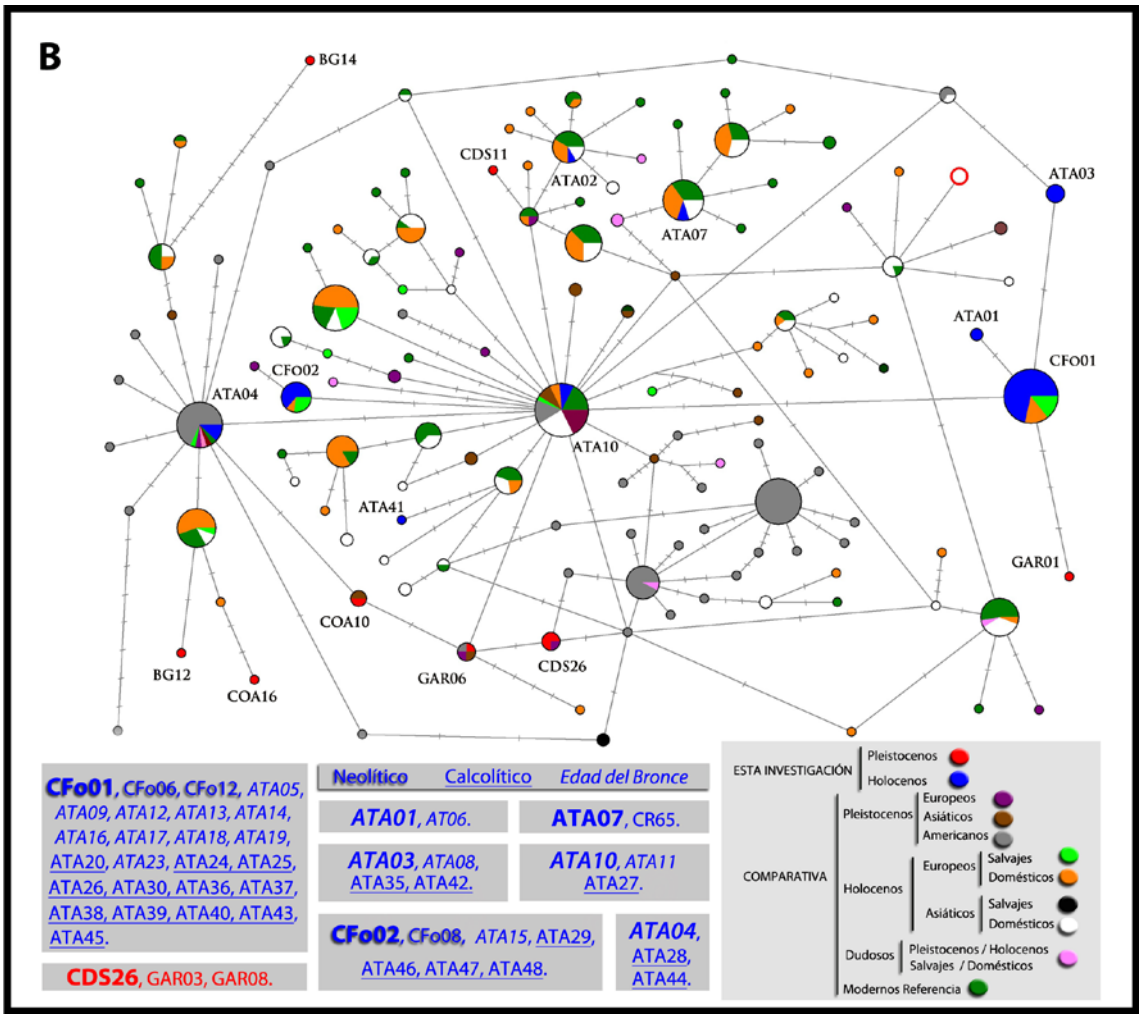


Figura 8.1.11.2.1. ***Gráfico de redes 1***. (continuación).

Tabla 8.1.11.2.5. ***Distribución de las muestras antiguas ibéricas del gráfico de redes 1 en sus haplogrupos principales y su relación con otras muestras antiguas no ibéricas.*** (1) Cuando procede, se presentan las nomenclaturas de Jansen *et al.* (2002) y Achilli *et al.* (2012) en la forma (Jansen/Achilli). (2) Debido a que el haplotipo 68 presenta secuencias del haplogrupo A y B de Achilli *et al.* (2012), la información se ha unificado. (3) Nuestra muestra pleistocena pleistocena tiene ausencia de información en 10 posiciones (np. 15.631-15.640). (*) Solo haplotipo central. (**) Solo registrado para haplotipos ibéricos.

HAPLOGRUPO [1]	ESTA INVESTIGACIÓN				OTRAS INVESTIGACIONES								TOTAL
	PLEISTOCENOS	%	HOLOCENOS	%	PLEISTOCENOS IBÉRICOS	%	HOLOCENOS IBÉRICOS	%	PLEISTOCENOS NO IBÉRICOS	%	HOLOCENOS NO IBÉRICOS	%	
A3, A4, A5/A,B [2]	1	**10**	1	**2,1**	0	**0**	0	**0**	1	**0,8**	23	**13,1**	**26**
A6/C *	0	**0**	3	**6,3**	0	**0**	0	**0**	12	**9,8**	11	**6,3**	**26**
B2/I [3]	1	**10**	0	**0**	0	**0**	0	**0**	0	**0**	4	**2,3**	**5**
D1-D3/L	0	**0**	2	**4,2**	0	**0**	0	**0**	0	**0**	11	**6,3**	**13**
D2/L	0	**0**	0	**0**	0	**0**	1	**6,3**	0	**0**	10	**5,7**	**11**
---/M *	0	**0**	3	**6,3**	0	**0**	2	**12,5**	19	**15,6**	0	**0**	**24**
C1/M	2	**20**	0	**0**	0	**0**	0	**0**	0	**0**	14	**8,0**	**16**
F1/P	0	**0**	1	**2,1**	0	**0**	0	**0**	0	**0**	6	**3,4**	**7**
CFo01	1	**10**	31	**64,6**	0	**0**	10	**62,5**	0	**0**	0	**0**	**42**
CFo02	0	**0**	7	**14,6**	0	**0**	3	**18,8**	2	**1,6**	0	**0**	**12**
Sin haplogrupo **	5	**50**	0	**0**	0	**0**	0	**0**	No registrado				**5**
UTILIZADOS	**10**		**48**		**0**		**16**		**34**		**79**		**187**
TOTAL EN MATRIZ	10	100	48	100	0	0	16	100	122	28	176	45	

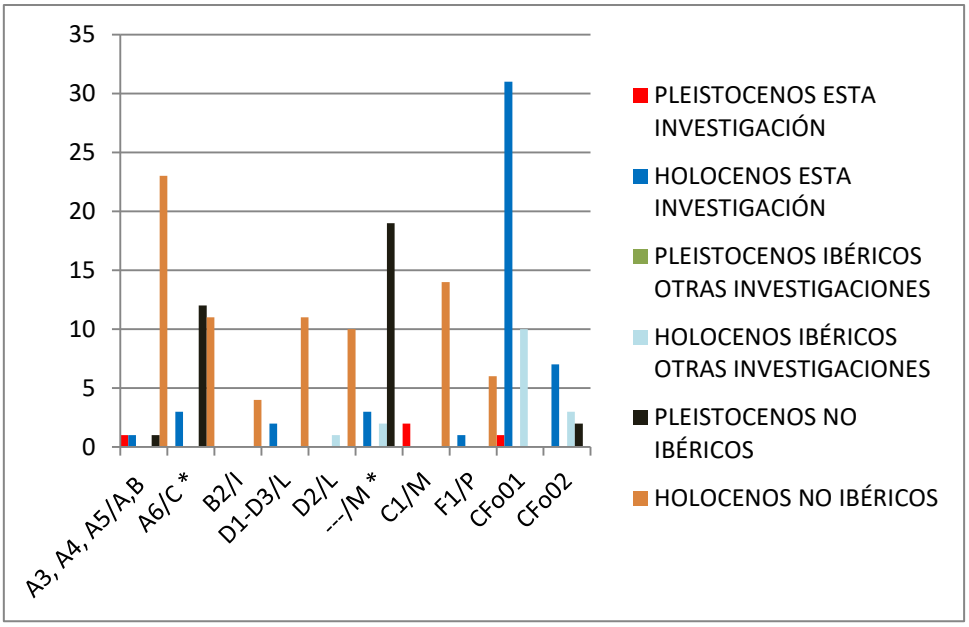


Figura 8.1.11.2.2. ***Frecuencias de las secuencias antiguas ibéricas y no ibéricas del gráfico de redes 1 en sus haplogrupos principales.*** (*) Solo haplotipo central. Se puede observar que no hay resultados para caballos pleistocenos ibéricos de otras investigaciones.

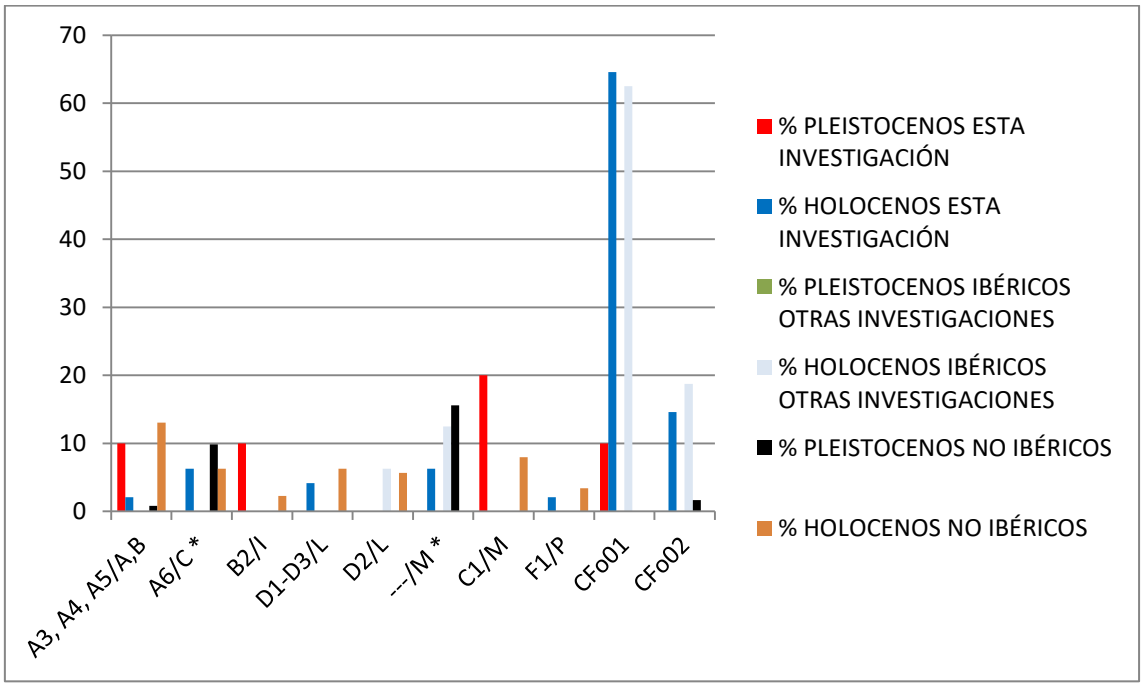


Figura 8.1.11.2.3. ***Porcentajes de las secuencias antiguas ibéricas y no ibéricas del gráfico de redes 1 en sus haplogrupos principales.*** (*) Solo haplotipo central. Se puede observar que no hay resultados para caballos pleistocenos ibéricos de otras investigaciones.

8.1.11.2.1.1. Descripción de las muestras pleistocenas

Las 10 secuencias pleistocenas de nuestra investigación se distribuyen en ocho haplotipos, donde cinco aparecen en haplotipos no compartidos (GAR01, COA16, BG12, BG14 y CDS11) (Tabla 8.1.11.2.5). Esta distribución se pudo observar en el apartado anterior, en los análisis comparativos de las posiciones nucleotídicas 15.444 – 15.842 (Análisis comparativo 1, Figura 8.1.11.1.1); 15.444 – 15.688 (Análisis comparativo 2, Figura 8.1.11.1.2) y 15.565 – 15.842 (Análisis comparativo 3, Figura 8.1.11.1.3) para todas las secuencias, excepto en GAR01 para los análisis de np. 15.565 – 15.842.

Algunas muestras están incluidas en los siguientes haplogrupos definidos por Jansen y Achilli (Jansen/Achilli): A3, A4, A5/A, B; B2/I; C1/M y por el haplogrupo definido por el haplotipo central CFo01.

Las muestras BG12 y COA16 aparecen vinculadas al haplogrupo M de Achilli, y más concretamente relacionadas con el haplogrupo previamente definido como C1 por Jansen (Figura 8.1.11.2.1). Constituyen un 20% del total de secuencias pleistocenas ibéricas analizadas (Figura 8.1.11.2.2, Figura 8.1.11.2.3). Trece muestras antiguas componen el haplotipo central del haplogrupo C1 de Jansen, destacando la ausencia de muestras ibéricas. Presenta una muestra procedente de Ucrania y asociada al Calcolítico; dos muestras asiáticas asociadas a la Edad del Hierro de Mongolia y Kazajistán y las 10 muestras restantes son europeas no ibéricas, con cronologías que oscilan desde el siglo III hasta el siglo XIX (Anexo XIIIb). Relacionado con este haplotipo y con COA16, el haplotipo de la muestra 193 representa a un caballo sueco datado en momentos históricos (200 - 500 AD) (Figura 8.1.11.2.2, Tabla 8.1.11.2.5).

La secuencia BG14 está relacionada con los caballos del haplogrupo I de Achilli, antiguamente definido como B2 por Jansen (Figura 8.1.11.2.1, Figura 8.1.11.2.2, Tabla 8.1.11.2.5). Cuatro secuencias antiguas constituyen este haplotipo, dos asiáticas y dos europeas. Ninguna pertenece a un caballo ibérico. La secuencia más antigua es de la Edad del Bronce y pertenece a un caballo de Moldavia. Le siguen en el tiempo secuencias de la Edad del Hierro de China y Kazajistán, y se completa el conjunto con una secuencia medieval de Hungría (Anexo XIIIb).

Vinculado a este haplotipo principal del haplogrupo B2/I, se observa otra secuencia de Achilli con la que se constituyó el nuevo haplogrupo I y, a una mutación de distancia, la secuencia base del antiguo haplogrupo B1 de Jansen. En el haplotipo de B1 encontramos otro caballo húngaro medieval (Anexo XIIIb).

La muestra BG14 se encuentra a 12 mutaciones de distancia del haplotipo principal del haplogrupo B2/I. Diez de estas mutaciones se deben a ausencia de información (N's) entre las posiciones 15.631-15.640.

La muestra CDS11 se encuentra a una mutación de distancia del haplotipo 68, que incluye a caballos de los haplogrupos A y B de Achilli (Figura 8.1.11.2.1, Figura suplementaria 1, Figura 8.1.11.2.2, Tabla 8.1.11.2.5). Este haplotipo define también a dos secuencias antiguas, una pleistocena de Alemania y otra holocena de Moldavia. El caballo pleistoceno (muestra 185) está datado en 12.545 ± 50 BP (15.126 – 14.473 años cal. BP, calibrado a 2σ con el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13). El caballo de Moldavia (muestra 116) pertenece a la Edad del Bronce (Anexo XIIIb). Por su parte, CDS11 tiene una cronología comprendida entre (Ua-15316): 22.842 – 21.435 años cal. BP y (Ua-15315): 22.541 – 20.773 años cal. BP, asociadas a niveles del Solutrense superior de la Sala I de Las Caldas.

Solamente una de nuestras muestras pleistocenas (GAR01) está relacionada con haplotipos con representantes ibéricos holocenos. Esta asociación ya se había identificado en los análisis comparativos del apartado anterior. La muestra GAR01 se encuentra a tres mutaciones del haplotipo definido por la muestra ibérica CFo01, que se comentará en la siguiente sección (Figura 8.1.11.2.1).

Por otro lado, cinco secuencias se distribuyen en tres haplotipos que comparten únicamente con caballos pleistocenos de diferentes orígenes. Distribuidas por haplotipos estas muestras son CDS26, GAR03, GAR08 en un haplotipo, y en haplotipos separados COA10 y GAR06 (Tabla 8.1.11.2.5).

Las muestras CDS26, GAR03 y GAR08 comparten haplotipo con un caballo alemán y presentan las cuatro cronologías similares (Figura 8.1.11.2.1, Anexo XIIIb). La muestra CDS26 se ha recuperado de niveles del Magdaleniense medio antiguo de Las Caldas con una cronología comprendida entre 16.961 – 15.351 años cal. BP (Tabla 7.4.1.2). Las muestras GAR03 y GAR08 se han recuperado del nivel L3 de La Garma A asociado al Magdaleniense medio y una edad de 17.272 – 16.187 años cal. BP. Comparten haplotipo con la muestra 180, procedente de Alemania y una edad de radiocarbono de 12.550 ± 60 BP (15.141 – 14.430 años cal. BP, calibrado a 2σ con el software OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13).

La muestra COA10 forma parte de una reticulación que comprende varios haplotipos asociados a haplogrupos principales. Por ese motivo, no la vamos a vincular en este análisis a ningún haplogrupo de caballos modernos. La muestra COA10 comparte haplotipo con la

muestra 353, un caballo de Rusia oriental (Siberia) (Figura 8.1.11.2.1) que presenta una antigüedad de 35.229 – 30.981 años cal. BP (Anexo Ib). La muestra COA10 se había datado directamente por radiocarbono, ofreciendo una antigüedad de 16.360 – 15.910 años cal. BP (Tabla 8.1.2.3).

La muestra GAR06 comparte haplotipo con la muestra 318 de Alaska, y las muestras 345 de los Urales y 165 del noreste de Siberia (Figura 8.1.11.2.1, Anexo XIIIb). La muestra GAR06 presenta una edad de 17.272 – 16.187 años cal. BP. La muestra 318 de Alaska tiene una antigüedad de 17.868 – 16.975 años cal. BP, similar a GAR06 (Anexo Ib). De la muestra del norte de Siberia no se dispone de datación de radiocarbono, mientras que la de los Urales presenta una edad de 25.006 – 24.232 años cal. BP, siendo más antigua que las muestras de Alaska y GAR06 (Anexo Ib).

8.1.11.2.1.2. Descripción de las muestras holocenas

Las muestras holocenas de nuestra investigación se distribuyen en siete haplogrupos: A4/A, A6/C, D1-D3/L, ---/M, F1/P y los nuevos definidos por los haplotipos centrales CFo01 y CFo02.

Entre nuestras secuencias holocenas nuevamente destaca la frecuencia del haplotipo CFo01 (Figura 8.1.11.2.1). Este haplotipo está constituido por 35 secuencias, de las cuales 25 se han recuperado para este trabajo (Anexo XIIIb). Las secuencias distribuidas en este haplotipo son las mismas que aparecían en el *Análisis comparativo 1,* añadiendo además en esta ocasión las secuencias de los haplotipos ATA25 (haplotipo único) y ATA26 (que comparte con ATA40 y ATA45) (Figura 8.1.11.1.1). Las 10 secuencias de otras investigaciones que se incorporan a este haplotipo proceden todas de caballos exclusivamente ibéricos (Cieslak *et al*., 2010) (Figura 8.1.11.2.2, Figura 8.1.11.2.3). De estas 10 secuencias de otros trabajos, dos secuencias proceden también de caballos salvajes neolíticos de Cova Fosca (Castellón), a las que hay que sumar otras tres secuencias de caballos salvajes procedentes niveles mesolíticos / neolíticos de Atxoste (Álava), y neolíticos de la Cueva de la Vaquera (Segovia). Este conjunto se completa con cinco secuencias de caballos determinados como domésticos, procedentes de niveles calcolíticos y de la Edad del Bronce de los yacimientos de El Capricho (Madrid), Cueva Rubia Valmayor (Madrid) y El Acequión (Albacete) (Tabla 8.1.11.2.5).

Relacionados con el haplotipo CFo01 se encuentran los haplotipos de ATA01 (que incluye a ATA06) y ATA03 (que incluye a ATA08, ATA35 y ATA42), y que pertenecen a caballos calcolíticos y de la Edad del Bronce de nuestra investigación (Figura 8.1.11.2.1, Anexo XIIIb).

El haplotipo de ATA03 se encuentra a dos mutaciones de distancia del haplotipo 138, constituido por dos caballos pleistocenos americanos y un caballo de la Edad del Hierro de Mongolia. Esta es una asociación no resuelta, caracterizada por una reticulación que presenta las mismas mutaciones entre ATA03 y 138 y, CFo01 y A6 (Figura 8.1.11.2.1A, Figura suplementaria 1).

De este modo, en el haplogrupo constituido por los haplotipos de CFo01, ATA01, ATA03 y GAR01 se concentra el 64,6 % de las muestras holocenas de nuestra investigación y el 62,5% de todas las muestras holocenas antiguas ibéricas de otros estudios aquí analizadas (Figura 8.1.11.2.3, Tabla 8.1.11.2.5).

El haplotipo CFo01 se encuentra a dos mutaciones de distancia del haplotipo central del haplogrupo A6 de Jansen (Figura 8.1.11.2.1). En este haplotipo central se encuentran también los caballos de Achilli con los que definió el haplogrupo C (las secuencias 63 – 66) y una de las secuencias del haplogrupo A (la secuencia 74). Este haplotipo central presenta las secuencias ATA10, ATA11 (de caballos de la Edad del Bronce) y ATA27 (de un caballo calcolítico) que, juntas, constituyen el 6,3% de nuestras muestras holocenas analizadas (Figura 8.1.11.2.3). A su lado encontramos caballos de diversas cronologías y orígenes: pleistocenos europeos, asiáticos y americanos, así como holocenos salvajes y domésticos europeos, y domésticos asiáticos. Entre estos caballos no ibéricos, los pleistocenos alcanzan casi el 10% del total de muestras pleistocenas no ibéricas analizadas, mientras que los holocenos llegan al 6,3% del total de holocenos no ibéricos analizados (Figura 8.1.11.2.3, Tabla 8.1.11.2.5). Este haplotipo se ha considerado como el representante de un haplogrupo muy heterogéneo y cosmopolita (Jansen *et al.,* 2002; Cai *et al*., 2009). En este análisis podemos observar que la heterogeneidad ya estaba presente durante el Pleistoceno, debido a que muestras europeas (*n*=4), asiáticas (*n*=3) y americanas (*n*=5), pertenecen a este haplotipo (Anexo XIIIb, Figura 8.1.11.2.2, Tabla 8.1.11.2.5), corroborando los análisis de diversidad en muestras pleistocenas de trabajos anteriores (Lira *et al*., 2010; Cieslak *et al*., 2010).

El haplotipo central del haplogrupo A6 estaba presente en América y la zona de los Urales hace casi 50.000 años. Los caballos más antiguos son la muestra canadiense 174, datada en 43.900 ± 180 BP (47.749 – 46.433 años cal. BP), y la muestra 364 de los Urales con una

antigüedad de 47.761 – 44.506 años cal. BP. Además, este haplotipo está registrado en poblaciones siberianas posteriores. Se ha documentado en el caballo 357 con una antigüedad de 38.370 – 36.783 años cal. BP y en el caballo 179, con una antigüedad de 35.540 – 34.710 años cal. BP (todos calibrados a 2σ con el software OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13), entre otros (Anexo XIIIb).

El registro más antiguo de Europa para el haplotipo central del haplogrupo A6 es la muestra 355 procedente de Vogelherg IV (Alemania), y datada en 13.845 ± 50 BP (16.992 – 16.516 años cal. BP, calibrado a 2σ con el software OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13) (Anexo XIIIb). Continuando en Europa, a principios del Holoceno este haplotipo está registrado en un caballo salvaje de Ucrania (muestra 130) y, durante el Calcolítico y la Edad del Bronce en las secuencias de El Portalón ATA10, ATA11 y ATA27. Los registros más modernos son húngaros de los siglos VII-IX.

El haplotipo CFo02 también tiene una representación holocena ibérica significativa. Está constituido por 11 secuencias (Figura 8.1.11.2.1). Siete secuencias proceden de nuestra investigación: de los niveles neolíticos de Cova Fosca (CFo02 y CFo08), calcolíticos de El Portalón (ATA29, ATA46, ATA47, ATA48) y de la Edad del Bronce también de El Portalón (ATA15). Otras tres secuencias proceden también de los niveles neolíticos de Cova Fosca (Cieslak *et al*., 2010). La secuencia restante pertenece a una caballo pleistoceno de los Urales (muestra 339), con una antigüedad de 25.324 – 24.551 años cal. BP (Lorenzen *et al*., 2011) (Anexo Ib; Anexo XIIIb).

A una mutación de distancia del haplotipo representado por CFo02 se encuentra el haplotipo de 338, un caballo pleistoceno también de los Urales, y con una antigüedad de 39.571 – 38.470 años cal. BP (Lorenzen *et al*., 2011) (Anexo XIb).

Las muestras incluidas en el haplotipo de CFo02 son exclusivamente ibéricas, a excepción de la muestra pleistocena 339 de los Urales. Considerando el haplotipo CFo02 y el haplotipo 338 como un haplogrupo, el 14,6% de nuestras muestras holocenas y el 18,8% de las muestras holocenas ibéricas de otros estudios se concentran aquí (Figura 8.1.11.2.2, Tabla 8.1.11.2.5).

Otro haplotipo con representación de caballos de nuestro estudio es el de ATA04, situado en uno de los haplotipos centrales del haplogrupo M de Achilli (Figura 8.1.11.2.1). En la Figura 8.1.11.2.2 y la Tabla 8.1.11.2.5 lo hemos identificado como ---/M, para diferenciarlo del haplotipo que contienen las secuencias con las que se definió el haplogrupo C1 de Jansen

(también definido como M por Achilli y representado por nosotros como C1/M, como se ha comentado con los caballos ibéricos pleistocenos). Este haplotipo está presente en 24 secuencias antiguas. Se ha registrado en las muestras de El Portalón ATA28 y ATA44 de los niveles calcolíticos, y ATA04 de la Edad del Bronce (6,3% de nuestras muestras holocenas analizadas). Además, se ha documentado en otras dos muestras ibéricas de Cieslak *et al*., (2010): una muestra neolítica de Cova Fosca y de una muestra de la Edad del Hierro del Soto de Medinilla (Valladolid), alcanzando un 12,5% del total de muestras holocenas ibéricas de Cieslak *et al*. (2010) analizadas en este gráfico de redes (*n*=16) (Figura 8.1.11.2.3). Las 19 secuencias restantes de este haplotipo pertenecen a caballos pleistocenos procedentes de América (*n*=17), Siberia (*n*=1) y los Urales (*n*=1), alcanzando un 15,6% del total de muestras pleistocenas no ibéricas analizadas (Figura 8.1.11.2.3, Anexo XIIIb).

Los caballos pleistocenos americanos de este haplotipo tienen una antigüedad que comprende un marco temporal desde 41.077 – 14.195 años cal. BP. Para el caballo siberiano no se dispone de una datación de radiocarbono, mientras que para el caballo de los Urales hay una datación asociada de 14.195 ± 50 BP (17.483 – 17.094 años cal. BP, calibrado a 2σ con el software OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13).

Los haplotipos periféricos al haplotipo ---/M con frecuencia = 1 pertenecen a caballos pleistocenos de América del Norte, a excepción de un caballo pleistoceno siberiano (muestra 163). Los caballos americanos están cronológicamente enmarcados entre 25.840 – 24.275 años cal. BP (muestra 303) y 14.865 – 13.980 años cal. BP (muestra 377), mientras que para el caballo siberiano no disponemos de información radiométrica.

En los análisis comparativos 1 – 5 del apartado anterior *8.1.11.1 Análisis de las secuencias de nuestra investigación*, las secuencias CR65 de la Edad del Hierro de Cancho Roano y ATA07 de la Edad Media de El Portalón compartían haplotipo entre ellas. Al contrastar estos caballos con las muestras del gráfico de redes 1, se asocian al haplogrupo L de Achilli y al antiguo haplogrupo D3 de Jansen (Figura 8.1.11.2.1).

En Lira *et al*. (2010), la secuencia ATA07 aparecía asociada al haplogrupo D1. La razón por la ahora aparece asociada al haplogrupo D3 se debe al tratamiento que se ha realizado sobre los datos para generar el gráfico de redes. En Jansen *et al*. (2002) y Lira *et al*. (2010) se utilizó como secuencia de referencia X79547 (Xu y Arnason, 1994) y el algoritmo Reduced Median Network (Bandelt *et al*., 1995). En el gráfico de redes 1 se ha utilizado la nueva secuencia JN398377 de Achilli *et al*. (2012) y el algoritmo Median-Joining (Bandelt *et al*., 1999).

En el posterior estudio de Cieslak *et al*. (2010) realizado con el algoritmo de Median Joining y la secuencia de referencia X79547 (Xu y Arnason, 1994), la muestra ATA07 apareció en el haplogrupo definido por ellos como D1/D3 en relación a la nomenclatura de Jansen *et al*. (2002).

En la Figura suplementaria 2 se presenta la relación de las secuencias ATA07 y CR65 con los haplogrupos D1, D2 y D3 al repetir el análisis según Jansen *et al*. (2002). Esta red de haplotipos se ha construido utilizando las 319 secuencias generadas por Jansen *et al*. (2002), y se ha elaborado siguiendo los parámetros concretos de ese estudio, ejecutando el algoritmo Reduced Median Network (*r*=2) (Bandelt *et al*., 1995) para las posiciones nucleotídicas 15.494 – 15.740. Se puede observar que el haplotipo definido por la secuencia ATA07 presenta una frecuencia destacada. Está constituido por 58 secuencias, y es el haplotipo con mayor frecuencia de todo este gráfico de redes. Este haplotipo define al haplogrupo D1. Cabe destacar que la secuencia sintética que define al haplogrupo D1 presenta una mutación adicional en np. 15.720 que, en la práctica, provoca que ninguna otra secuencia se incluya en el haplotipo definido por el conjunto de mutaciones que caracterizan a la secuencia sintética D1. Esta peculiaridad ya fue observada en Lira *et al*. (2010). En este análisis la muestra CR65 no comparte haplotipo con ATA07, pero forma parte del haplogrupo D1.

Al haplogrupo D1 (o D1-D3/L) se le ha dado especial importancia en los estudios sobre domesticación de caballos (Jansen *et al*., 2002; McGahern *et al*., 2006a, Luís *et al*., 2006b; Lei *et al*., 2009) donde se ha considerado como un claro candidato a representar un evento de domesticación local, muy probablemente en suelo ibérico (Jansen *et al*., 2002; Lopes *et al*., 2005; Royo *et al*., 2005, Cai *et al*., 2009). De ser esta hipótesis cierta, deberíamos esperar una significativa cantidad de muestras de nuestra investigación en este grupo. Pero sorprendentemente, solamente dos de las 58 muestras analizadas en el gráfico de redes están incluidas en él (CR65 y ATA07).

Además, CR65 y ATA07 son las dos únicas muestras ibéricas presentes en este grupo, supuestamente ibérico (Anexo XIIIb), alcanzando un 4,2% del total de muestras holocenas de nuestra investigación (Tabla 8.1.11.2.5). Las 11 muestras antiguas restantes proceden de Asia y otras regiones de Europa y constituyen un 6,3% del total de muestras holocenas no ibéricas analizadas (Figura 8.1.11.2.2, Figura 8.1.11.2.3, Tabla 8.1.11.2.5). La muestra más antigua de este conjunto es la secuencia 152 de Mongolia, asociada a la Edad del Hierro y datada en 900 años aC. (Figura 8.1.11.2.4A). Le siguen las muestras 206, 210 y 239, procedentes de China y Kazajistán, también de la Edad del Hierro, y datadas entre los siglos VI – III aC. A este conjunto

cronológico debemos añadir la muestra de la Edad del Hierro de Cancho Roano, CR65. Las siete muestras restantes proceden de Hungría, Reino Unido y Suecia y están asociadas a diferentes momentos entre los siglos III – IX. A este último conjunto cronológico asociamos la muestra ATA07 de El Portalón (Anexo XIIIb; Figura 8.1.11.2.4A). Además, a dos mutaciones de distancia del haplotipo central del haplogrupo D1-D3/L se encuentra la muestra 356, recuperada en Novosibirsk Islands, un archipiélago de islas situadas en el extremo norte de la zona siberiana de Rusia y datada en 394 – 175 años cal. aC (calibrada a 2σ con el software OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13).

De las 22 secuencias antiguas ibéricas analizadas en Lira *et al*. (2010), sólo la muestra medieval ATA07 ofreció la evidencia más antigua de la presencia del haplogrupo D1 en la península ibérica. En este nuevo análisis con 58 secuencias, prácticamente se ha triplicado la muestra ibérica de estudio, y los resultados refuerzan las conclusiones que se obtuvieron en Lira *et al*. (2010). A partir de los datos presentados, ahora la evidencia más antigua de este grupo en Iberia se ha retrasado a la Edad del Hierro, y está representada por el caballo CR65 de Cancho Roano (Figura 8.1.11.2.1).

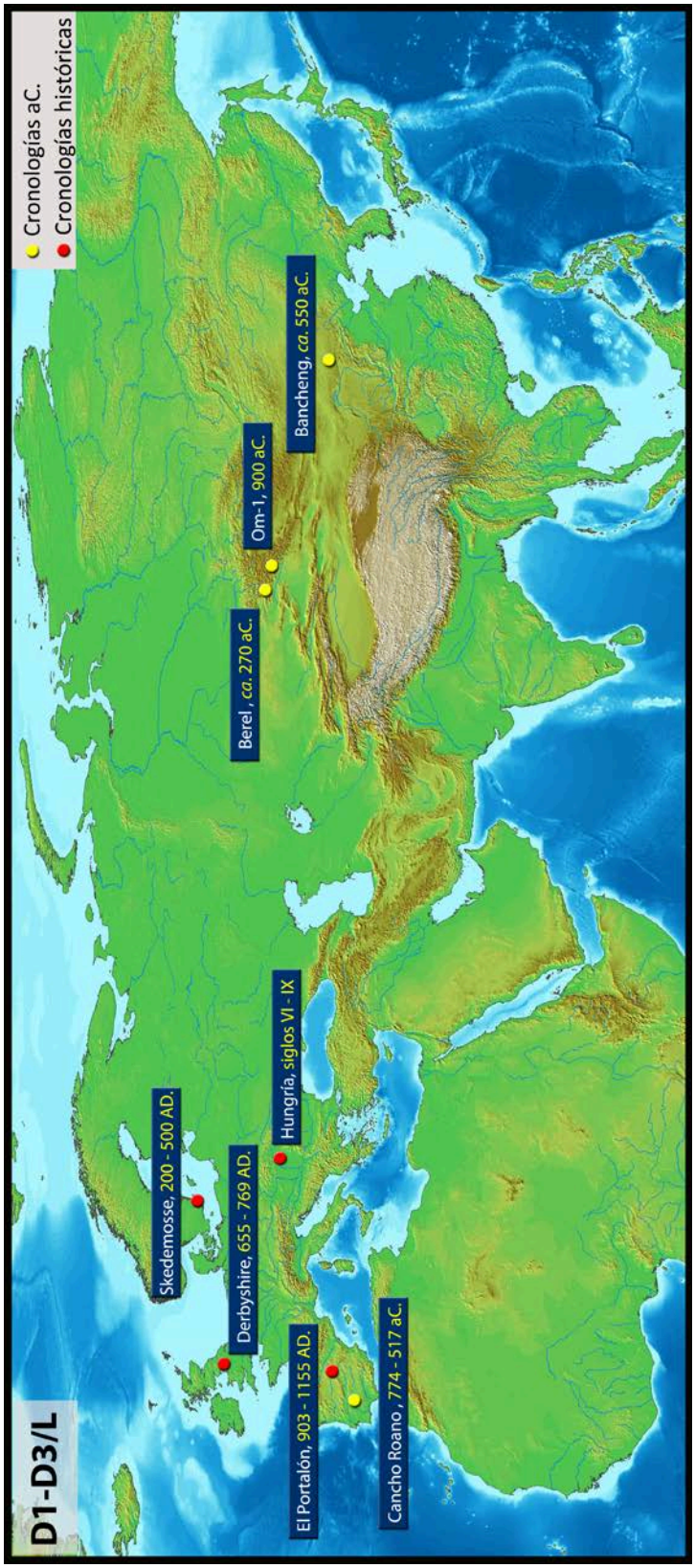


Figura 8.1.11.2.4. A) ***Localización geográfica de las muestras antiguas asociadas al haplogrupo D1-D3/L***. En amarillo, las localizaciones con cronologías aC. En rojo, las localizaciones de tiempos históricos (Anexo I).

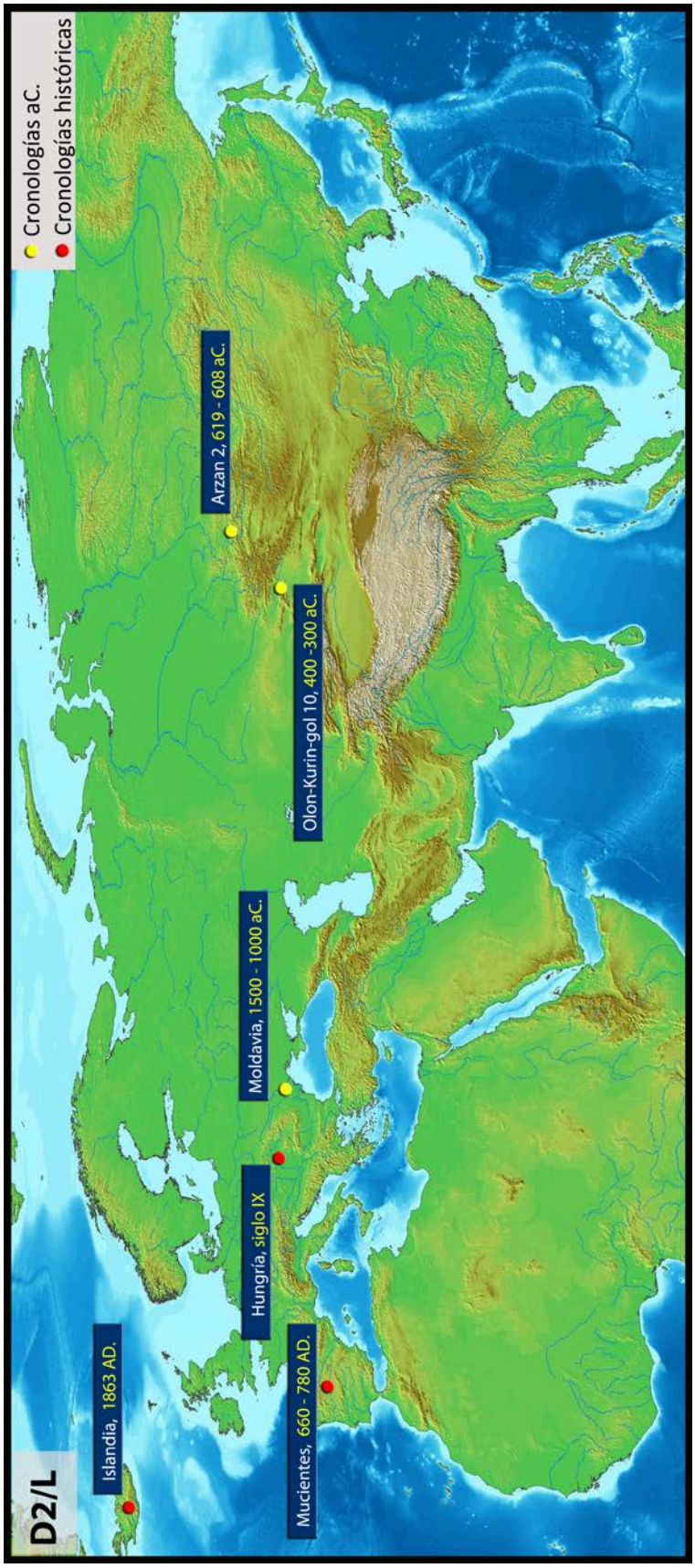


Figura 8.1.11.2.4. B) ***Localización geográfica de las muestras antiguas asociadas al haplogrupo D2/L.*** En amarillo, las localizaciones con cronologías aC. En rojo, las localizaciones de tiempos históricos (Anexo I).

Ninguna de las muestras pleistocenas, neolíticas, calcolíticas o de la Edad del Bronce de nuestra investigación están incluidas en este grupo. El hecho de que solamente dos muestras de nuestro análisis se hayan podido asociar al haplogrupo D1-D3/L no invalida su propuesta como un grupo de origen ibérico. Pero la relativa antigüedad de las muestras ibéricas de este grupo (Edad del Hierro y Edad Media), asociadas a las cronologías y localizaciones geográficas del resto de muestras que lo componen, hacen plausible que este haplogrupo tuviera el origen de su expansión en Asia, entrara en Iberia durante el I milenio aC., y posteriormente se desarrollara en el interior peninsular.

Por lo tanto los resultados que presentamos aquí refuerzan las conclusiones que obtuvimos previamente (Lira *et al*., 2010) y posteriormente corroboradas por Cieslak *et al*., (2010).

La muestra de la Edad del Bronce de El Portalón ATA02 aparece en el haplotipo central del haplogrupo A de Achilli y a su vez el antiguo haplogrupo A4 de Jansen (Figura 8.1.11.2.1). Aunque en el análisis de la muestra pleistocena CDS11 hemos tenido que tratar a los haplogrupos de A3, A4, A5 / A, B de manera conjunta, en este análisis ATA02 se presenta bien diferenciado en el haplogrupo A4 de Jansen. La muestra ATA02 es el único caballo ibérico de este haplotipo central, y lo comparte con otras seis muestras antiguas de diferentes cronologías y zonas geográficas (Figura 8.1.11.2.2, Tabla 8.1.11.2.5).

Las muestras más antiguas del haplotipo donde está incluido ATA02 pertenecen a dos caballos de Armenia de la Edad del Bronce, culturalmente similares a nuestro caballo de El Portalón. Los caballos armenios presentan una cronología de 1950 - 1750 aC., mientras que la muestra ATA02 está directamente datada en 1752 – 1533 años cal. aC. (Tabla 7.4.7.5). Junto a estas muestras, destacamos también un caballo de Mongolia de la Edad del Hierro (Anexo XIIIb).

Las tres muestras restantes son históricas: dos proceden de Hungría y están asociadas a los siglos VI-VII y la restante de Rusia y relacionada con los siglos XVII-XVIII (Anexo XIIIb).

Este haplotipo central del haplogrupo A4 de Jansen (que contiene a ATA02) está relacionado con otros haplotipos periféricos. Estos haplotipos periféricos pertenecen a caballos domésticos de Mongolia y China de la Edad del Bronce y de la Edad del Hierro respectivamente (muestras 161 y 227 que comparten haplotipo), y de Hungría del siglo IX (haplotipos 272 y 273). Destaca la presencia de la muestra 91 procedente de Turquía y

cronológicamente asociada al 3850 aC. (Figura 8.1.11.2.1). Su asociación doméstica no es segura. De pertenecer a un individuo doméstico, se correspondería con caballos que se domesticaron en un momento ligeramente anterior a las poblaciones del foco principal de Botai (Kazajistán), o posiblemente a uno de los primeros caballos domésticos procedentes de este foco central.

A su vez, el haplogrupo A4 está situado a una mutación de distancia del haplotipo constituido por la nueva secuencia de referencia, que pertenece al haplogrupo A de Achilli y que además, es idéntica al haplotipo que definía el haplogrupo A5 de Jansen. Además, en este haplotipo se documenta a un individuo doméstico de Irlanda datado en 1675 ± 60 BP (238 – 537 cal. AD, calibrado a 2σ con el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13).

Con los datos que hemos analizado, el caballo de la Edad del Bronce ATA02 es una de las evidencias más antiguas del haplogrupo en el que se encuentra, y su representante más antiguo en Europa occidental.

La muestra calcolítica de El Portalón ATA41 constituye un haplotipo único, situado a tres mutaciones del haplotipo con caballos que conforman el nuevo haplogrupo P de Achilli, a su vez el antiguo haplogrupo F1 de Jansen (Figura 8.1.11.2.1, Figura 8.1.11.2.2, Tabla 8.1.11.2.5). En este haplotipo aparecen cinco caballos antiguos: tres chinos de la Edad del Bronce y de la Edad del Hierro, y dos húngaros asociados a los siglos VI-VII. El caballo chino de la Edad del Bronce está datado en ~2000 aC. Nuestro caballo ATA41 es más antiguo, está asociado al Calcolítico precampaniforme y datado en torno a 2908 – 2700 años cal. aC. Los dos caballos de la Edad del Hierro están datados en *ca*. 500 aC. Las muestras de Hungría pertenecen a los siglos VI – VII.

Destacamos también que, asociado al haplotipo F1/P, aparece a una mutación de distancia una muestra rusa de los siglos XVII – XVIII (secuencia 213) (Figura 8.1.11.2.1; Figura suplementaria 1, Figura 8.1.11.2.2, Tabla 8.1.11.2.5). A su vez, a una mutación de distancia del haplotipo F1/P documentamos el haplotipo con la muestra 14 (Figura 8.1.11.2.1; Figura suplementaria 1). Este haplotipo representa al individuo con el que se ha generado el haplogrupo O de Achilli, y además comparte haplotipo con una muestra de la Edad del Hierro de Mongolia.

De este modo, asumiendo que ATA41 pertenece al haplogrupo F1/P, es la única muestra ibérica de este grupo y además, constituye el representante más antiguo del Haplogrupo F1/P.

Finalizamos la descripción del gráfico de redes 1 con la información procedente de las 16 muestras ibéricas de Cieslak *et al*. (2010) incorporadas en el análisis (Tabla 8.1.11.2.6). Estas muestras aparecen distribuidas en cuatro haplotipos (Figura 8.1.11.2.1, Figura 8.1.11.2.2, Tabla 8.1.11.2.5). Las muestras asociadas al haplotipo de CFo01 (*n*=10), CFo02 (*n*=3) y haplotipo central ---/M (*n*=2), ya se han descrito y comentado con las secuencias de nuestra investigación que comparten haplotipos con otras secuencias. La secuencia restante de Cieslak *et al*. (2010) se localiza en el haplotipo central del haplogrupo D2 (Figura 8.1.11.2.1, Figura 8.1.11.2.2, Tabla 8.1.11.2.6). Es la muestra 99 y pertenece a un caballo datado entre 660 - 780 AD, procedente de Mucientes (Valladolid) (Anexo XIIIb). Las secuencias más antiguas de este haplogrupo pertenecen a la Edad del Bronce de Moldavia y a la Edad del Hierro de Mongolia (Figura 8.1.11.2.4B). A dos mutaciones de distancia se sitúa la muestra 416, asociada a un caballo islandés del siglo XIX. Estos resultados son una nueva evidencia que refuerza la sugerencia de la presencia reciente en la península ibérica de los caballos del haplogrupo D1-D3/L (Lira *et al*., 2010; Cieslak *et al*., 2010), o incluso de todo el conjunto D1, D2, D3/L.

Un alto porcentaje de los haplogrupos definidos por Jansen *et al*. (2002) y Achilli *et al*., (2012), están representados en las secuencias antiguas (Figura 8.1.11.2.1; Figura suplementaria 1, Figura 8.1.11.2.2, Tabla 8.1.11.2.5). Un haplogrupo significativo que no tiene representantes entre las secuencias antiguas es A2/F de Jansen/Achilli, y que está caracterizado por presentar a los caballos de Przewalski. Los caballos de Przewalski se habían identificado previamente en el haplogrupo A2 de Jansen. Con nuestro análisis, hemos podido comprobar que este haplogrupo está a una mutación de distancia del haplogrupo E de Achilli, con varios representantes antiguos. Este haplogrupo E está constituido por caballos pleistocenos rusos de los Urales y Siberia, y por caballos domésticos de China y Mongolia. Solamente hay un caballo europeo en este haplogrupo E, y procede de contextos medievales de Hungría.

Tabla 8.1.11.2.6. ***Distribución de las muestras de caballos de Cieslak* et al.** ***(2010) en los haplotipos del gráfico de redes 1*.**

CODIGO	NÚMERO DE REFERENCIA	DETERMINACIÓN	CONTEXTO	CRONOLOGÍA	YACIMIENTO	HAPLOTIPO GRÁFICO 1	HAPLOGRUPO JANSEN/ACHILLI
82	FJ204390.2	Salvaje	Neolítico	5200 - 4900 aC	Cova Fosca	CFo02	No definido
83	FJ204384.2	Salvaje	Mesolítico / Neolítico	5500 - 4950 aC	Atxoste	CFo01	
93	HM802281.1	Doméstico	Calcolítico	4300 - 2200 aC	El Capricho	CFo01	
94	HM802280.1	Salvaje	Neolítico	5380 - 5210 aC	Cova Fosca	CFo02	
95	HM802279.1	Doméstico	Edad del Bronce	1350 aC	Cueva Rubia-Valmayor	CFo01	
96	HM802278.1	Doméstico	Calcolítico	2900 - 2500 aC	Cueva Rubia-Valmayor	CFo01	
97	HM802277.1	Doméstico	Calcolítico	2880 - 2570 aC	Cueva Rubia-Valmayor	CFo01	
98	HM802276.1	Salvaje	Neolítico	5200 - 4900 aC	Cova Fosca	CFo01	
99	FJ204392.1	Doméstico	Edad Media	660 - 780 AD	Mucientes	D2	D2/L
100	FJ204391.1	Salvaje?	Edad del Hierro	800 aC - 6AD	Soto de Medinilla	ATA04	---/M
101	FJ204389.1	Doméstico	Edad del Bronce	1350 aC	Cueva Rubia-Valmayor	**DESCARTADO**	
102	FJ204388.1	Doméstico	Edad del Bronce	2200 - 800 aC	El Acequión	**DESCARTADO**	
103	FJ204387.1	Doméstico	Edad del Bronce	2200 - 800 aC	El Acequión	CFo01	No definido
104	FJ204386.1	Salvaje	Neolítico	5210 - 4940 aC	Cueva de la Vaquera	CFo01	
105	FJ204385.1	Salvaje	Neolítico	5210 - 4910 aC	Cova Fosca	**DESCARTADO**	
106	FJ204383.1	Salvaje	Neolítico	5220 - 4980 aC	Cova Fosca	CFo02	No definido
107	FJ204382.1	Salvaje	Neolítico	5210 - 4910 aC	Cova Fosca	ATA04	---/M
108	FJ204381.1	Salvaje	Neolítico	5200 - 4900 aC	Cova Fosca	CFo01	No definido
109	FJ204380.1	Salvaje	Mesolítico / Neolítico	5500 - 4950 aC	Atxoste	CFo01	

8.1.11.2.2. Gráfido de redes 2: muestras modernas ibéricas

Este diagrama se realizó para conocer la relación de las secuencias de ADN antiguo de nuestra investigación y de otros trabajos (ver gráfico de redes 1) con secuencias de caballos modernos ibéricos o de origen ibérico. En el análisis se incluyeron las 58 secuencias de nuestra investigación y las 314 de ADN antiguo analizadas en el gráfico de redes 1 (Tabla 8.1.11.2.3). Las secuencias de caballos ibéricos o de origen ibérico alcanzaron un total de 524 [cinco caballos de los utilizados por Achilli *et al*. (2012) y 519 de otras publicaciones] (Tabla 8.1.11.2.4, Anexo II) asociadas a 43 razas.

Como en el caso anterior, la matriz se completó con las secuencias de Achilli y las secuencias sintéticas de Jansen para identificar haplogrupos. En este diagrama se estudiaron un total de 989 secuencias (Tabla 8.1.11.2.4).

Esta matriz de secuencias se analizó con el algoritmo Median Joining con ε = 0. El programa jMoldelTest 2.1.5 seleccionó como mejor modelo TrN + G, con el que se estimó con MEGA6 la tasa Ti/Tv = 10,68.

El efecto de las mutaciones en cada posición nucleotídica se ponderó como en el caso anterior. A las posiciones con indels se les otorgó un valor doble. Las posiciones hotspots 15.585, 15.597, 15.604, 15.650 y 15.703 se excluyeron del análisis y se disminuyó el efecto de las mutaciones de la posición nucleotídica 15.659 (Anexo XIVa).

Las 989 secuencias se distribuyen en 208 haplotipos con diferentes frecuencias (Figura 8.1.11.2.5). La distribución de las muestras de nuestra investigación y su relación con los haplogrupos ya definidos es similar a la descrita en el gráfico de redes 1. Las 58 muestras de nuestra investigación se distribuyen en 17 haplotipos asociados a los siete haplogrupos de Jansen descritos anteriormente: A3, A4, A6, B2, C1, D1/D3 y F1, que se corresponden nuevamente con los siete haplogrupos de Achilli: A, B, C, I, L, M y P. Además, se ha vuelto a identificar dos haplogrupos representados por los haplotipos principales CFo01 y CFo02, que se comentarán a continuación.

Las muestras ibéricas o de origen ibérico utilizados como comparativa (en color amarillo) se distribuyen en un total de 107 haplotipos. La mayor frecuencia de muestras ibéricas se encuentra en el conjunto de haplogrupos D/L de Jansen-Achili.

La Figura suplementaria 3 presenta la numeración de todos los haplotipos de este gráfico de redes, y el Anexo XIVb la relación de haplotipos con frecuencias >1.

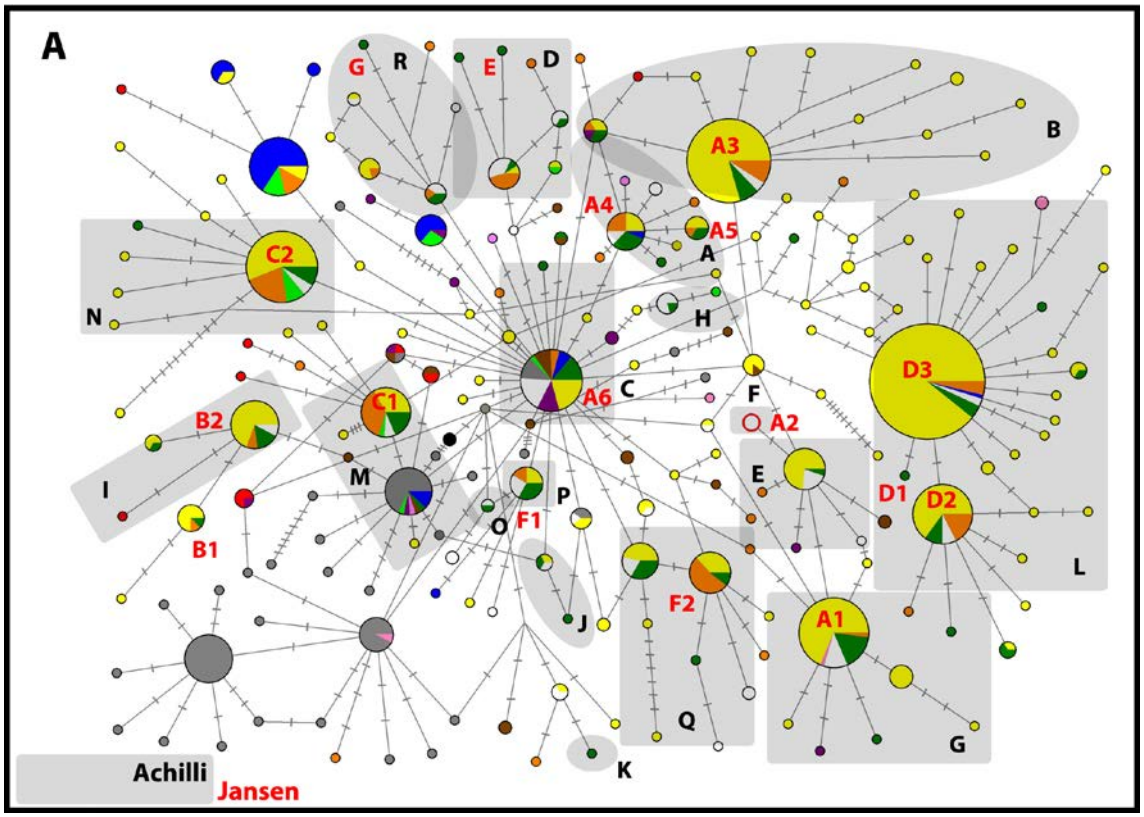


Figura 8.1.11.2.5. ***Gráfico de redes 2***. Distribución de 372 secuencias antiguas de caballos pleistocenos y holocenos (58 secuencias de esta investigación y 314 de otras investigaciones) y 524 modernas ibéricas o de origen ibérico. **A)** Distribución de los haplogrupos de Jansen (letras en color rojo) y Achilli (letras en color negro). **B)** Distribución de las muestras de esta investigación. Cada recuadro gris bajo el gráfico de redes representa un haplotipo, donde se detallan las secuencias que contiene de nuestra investigación. Azul sombreado: secuencias neolíticas; Azul subrayado: secuencias calcolíticas; Azul cursiva: secuencias de la Edad del Bronce. La secuencia CR65 está asociada a la Edad del Hierro y ATA07 a un individuo medieval. Código de colores: ESTA INVESTIGACIÓN (*Rojo*: pleistocenos; *Azul*: holocenos). Código de colores de caballos de OTRAS PUBLICACIONES: *PLEISTOCENOS* (*Violeta*: europeos; *Marrón*: asiáticos; *Gris*: americanos); *HOLOCENOS* (*Verde claro*: salvajes europeos; *Negro*: salvajes asiáticos; Naranja: domésticos europeos; Blanco: domésticos asiáticos); DUDOSOS (*Rosa pálido*: pleistocenos / holocenos; salvajes / domésticos). *Verde oscuro*: secuencias de referencia de Jansen y Achilli. *Amarillo*: caballos ibéricos o de origen ibérico. El haplotipo A2, blanco con borde rojo, presenta las dos únicas secuencias de caballos de Przewalski de este análisis. Las ramas no son proporcionales a sus longitudes.

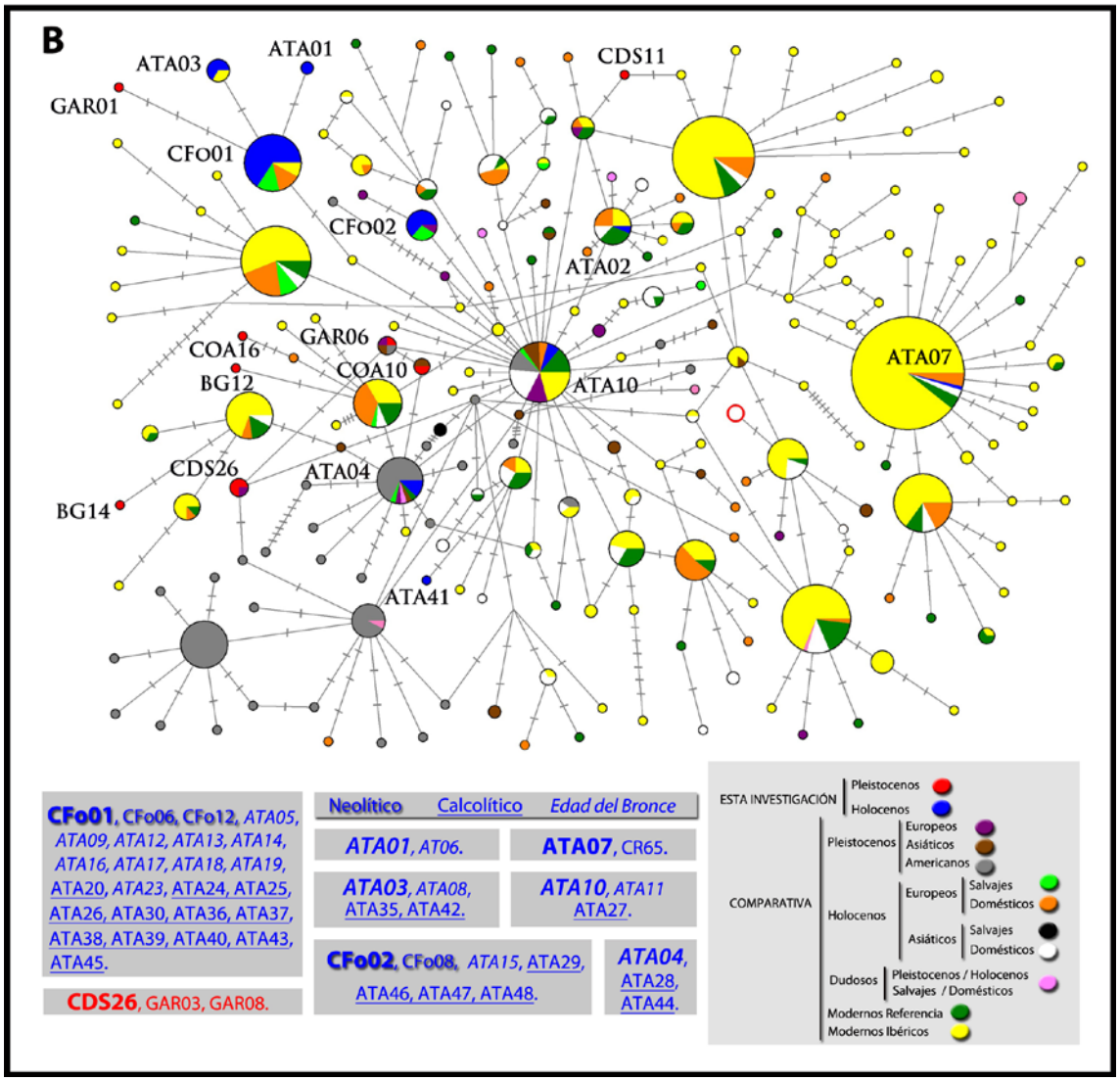


Figura 8.1.11.2.5. ***Gráfico de redes 2***. Continuación.

Tabla 8.1.11.2.7. ***Distribución de las muestras antiguas ibéricas del gráfico de redes 2 en sus haplogrupos principales y su relación con otras muestras antiguas no ibéricas y modernas de origen ibérico.*** (1) Cuando procede, se presentan las nomenclaturas de Jansen *et al.* (2002) y Achilli *et al.* (2012) en la forma (Jansen/Achilli). (2) Debido a que el haplotipo 68 presenta secuencias del haplogrupo A y B de Achilli *et al.* (2012), la información se ha unificado. (3) Nuestra muestra pleistocena tiene ausencia de información en 10 posiciones (np. 15.631-15.640). (*) Solo haplotipo central. (**) Solo registrado para haplotipos ibéricos.

HAPLOGRUPO [1]	ESTA INVESTIGACIÓN				OTRAS INVESTIGACIONES										TOTAL
	PLEISTOCENOS ESTA INVESTIGACIÓN	%	HOLOCENOS ESTA INVESTIGACIÓN	%	PLEISTOCENOS IBÉRICOS OTRAS INVESTIGACIONES	%	HOLOCENOS IBÉRICOS OTRAS INVESTIGACIONES	%	PLEISTOCENOS NO IBÉRICOS	%	HOLOCENOS NO IBÉRICOS	%	MODERNOS IBÉRICOS	%	
A3, A4, A5/A,B [2]	1	**10,0**	1	**2,1**	0	**0**	0	**0**	1	**0,8**	23	**13,1**	83	**15,8**	**109**
A6/C *	0	**0**	3	**6,3**	0	**0**	0	**0**	12	**9,8**	11	**6,3**	9	**1,7**	**35**
B2/I [3]	1	**10,0**	0	**0**	0	**0**	0	**0**	0	**0**	4	**2,3**	18	**3,4**	**23**
D1-D3/L	0	**0**	2	**4,2**	0	**0**	0	**0**	0	**0**	11	**6,3**	194	**37,0**	**207**
D2/L	0	**0**	0	**0**	0	**0**	1	**6,3**	0	**0**	10	**5,7**	32	**6,1**	**43**
---/M *	0	**0**	3	**6,3**	0	**0**	2	**12,5**	19	**15,6**	0	**0**	0	**0**	**24**
C1/M	2	**20,0**	0	**0**	0	**0**	0	**0**	0	**0**	14	**8,0**	12	**2,3**	**28**
F1/P	0	**0**	1	**2,1**	0	**0**	0	**0**	0	**0**	6	**3,4**	4	**0,8**	**11**
Lusitano C (CFo01)	1	**10,0**	31	**64,6**	0	**0**	10	**62,5**	0	**0**	0	**0**	6	**1,1**	**48**
CFo02	0	**0**	7	**14,6**	0	**0**	3	**18,8**	2	**1,6**	0	**0**	0	**0**	**12**
Sin haplogrupo **	5	**50,0**	0	**0**	0	**0**	0	**0**	No registrado						**5**
UTILIZADOS	**10**		**48**		**0**		**16**		**34**		**79**		**358**		
TOTAL EN MATRIZ	**10**	**100**	**48**	**100**	**0**	**0**	**16**	**100**	**122**	**28**	**176**	**45**	**524**	**68**	

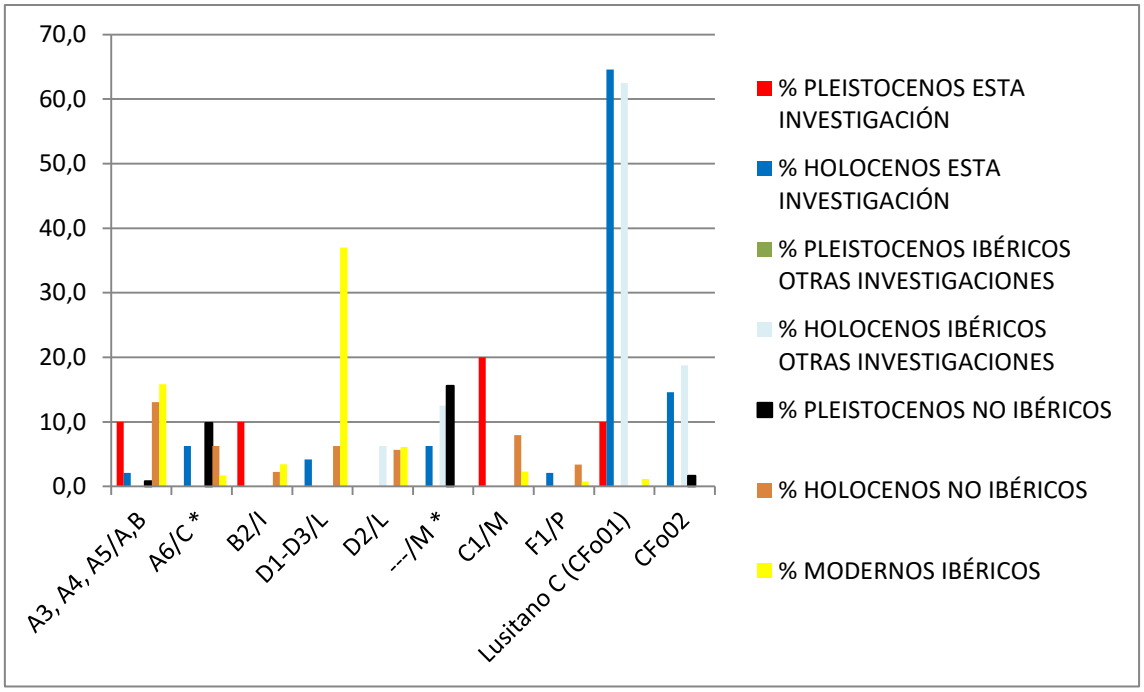


Figura 8.1.11.2.6. ***Porcentajes en sus haplogrupos de las secuencias antiguas ibéricas, antiguas no ibéricas y modernas ibéricas del gráfico de redes 2.*** (*) Solo haplotipo central. Se puede observar que no hay resultados para caballos pleistocenos ibéricos de otras investigaciones.

8.1.11.2.2.1. Caballos modernos ibéricos y las muestras de nuestra investigación

Ningún caballo moderno ibérico o de origen ibérico comparte haplotipo con las 10 secuencias pleistocenas de nuestra investigación usadas en este análisis (Figura 8.1.11.2.5). Estas muestras pleistocenas se distribuyen en ocho haplotipos de manera idéntica a la representada en el gráfico de redes 1 del apartado anterior (Tabla 8.1.11.2.7).

Además, solamente hemos encontrado cuatro haplotipos compartidos entre caballos modernos ibéricos o de origen ibérico y caballos pleistocenos de otras investigaciones. Estos haplotipos son el haplotipo central del haplogrupo A6/C, el haplotipo 138, el haplotipo 352 y el haplotipo 68 (Figura suplementaria 3).

El haplotipo central del haplogrupo A6/C contiene secuencias pleistocenas de Europa, Asia y América y holocenas prehistóricas e históricas de Europa y Asia (Anexo XIVb). Solamente hemos identificado tres secuencias antiguas ibéricas en este haplotipo: ATA10, ATA11 y ATA27. Las secuencias modernas están representadas por 9 caballos de cinco razas de origen ibérico: Pura Raza Española (*n*=2), Garrano (*n*=1), Paso Fino de Puerto Rico (*n*=1), Kladubrer (*n*=1), Lipizano (*n*=4) (Anexo XIVb). Estas secuencias constituyen el 1,7% del total de las secuencias modernas de origen ibérico utilizadas (Tabla 8.1.11.2.7, Figura 8.1.11.2.6).

El haplotipo 138 está situado a una mutación del haplotipo central del haplogrupo A6/C (parte inferior de la Figura 8.1.11.2.5 y Figura suplementaria 3). Este haplotipo está formado por dos caballos pleistocenos americanos, un ejemplar de la Edad de Hierro de Mongolia, un Pura Raza Española y un Hispano-Bretón.

Por su parte, el haplotipo 352 se encuentra situado a una mutación del haplotipo central del haplogrupo E de Achilli y contiene un caballo pleistoceno de Rusia oriental (Siberia) y cuatro caballos modernos asociados a Pura Raza Española (*n*=3) y Peruana de Paso (*n*=1) (Anexo XIVb).

El haplotipo 68 se encuentra a una mutación de distancia del haplotipo central del haplogrupo A3/B. El haplotipo 68 está constituido por dos caballos modernos sirios, un caballo Paso Fino de Colombia y un caballo Lipizano. Este haplotipo es compartido por dos muestras antiguas: un caballo pleistoceno de Alemania y otra de la Edad del Bronce de Moldavia.

Hemos detectado varios haplotipos de caballos modernos ibéricos o de origen ibérico que se encuentran a una o dos mutaciones de otros haplotipos con caballos pleistocenos

ibéricos. Estos haplotipos son el 68 y el 473 que se encuentran, cada uno, a una mutación de distancia de CDS11 y forman parte de los haplogrupos A3 y A4 de Jansen (B y A de Achilli). Además, el haplotipo central del haplogrupo A3/B se encuentra a dos mutaciones de CDS11. El haplotipo 68 se ha descrito en el párrafo anterior, mientras que la muestra 473 pertenece a un caballo Pura Sangre Lusitana. No obstante, para mantener una coherencia con los análisis realizados sobre el gráfico de redes 1, en la representación gráfica de la Figura 8.1.11.2.6 se presentan todos los caballos modernos ibéricos contabilizados en el haplotipo 68 y además, en los haplogrupos A3, A4 y A5 de Jansen *et al*. (2002), que ascienden a un total de 83 muestras (Anexo XIVb). Una situación similar se ha detectado entre BG14 y el haplotipo central de B2/I; BG12 y el haplotipo central de C1/M y las muestras periféricas 624 (Criollo Brasileño) y 872 (Criollo Argentino) al haplotipo central C1/M. La misma situación se observaría entre CDS26, COA10 y GAR06 con el haplotipo central de A6/C y, entre GAR06 y algunos haplotipos con caballos modernos situados a una mutación de distancia del haplotipo central de A6/C.

Tampoco hemos encontrado representación de los caballos modernos ibéricos o de origen ibérico en todos los haplotipos con muestras holocenas antiguas ibéricas. Solamente cinco haplotipos con muestras holocenas de nuestra investigación aparecen también caracterizados en los caballos modernos ibéricos o de origen ibérico. Estos haplotipos son los representados por las muestras CFo01 (*n*= 25 muestras antiguas de nuestra investigación) y ATA03 (*n*= 4 muestras antiguas de nuestra investigación), que formarían parte del mismo haplogrupo. El haplotipo de ATA10 (*n*= 3 muestras antiguas de nuestra investigación, localizadas en haplotipo central del haplogrupo A6/C), el de ATA07 (*n*= 2 muestras antiguas de nuestra investigación, localizado en el haplogrupo D1-D3/L) y el de ATA02 (*n*= 1 muestra antigua de nuestra investigación, en haplogrupo A4/A) comparten haplotipo con muestras modernas ibéricas o de origen ibérico (Figura 8.1.11.2.5, Anexo XIVb). El haplogrupo F1/P también presenta una muestra holocena de nuestra investigación (ATA41) en asociación con caballos modernos ibéricos y de origen ibérico, aunque no comparten haplotipos. Aparte, el haplotipo ---/M, que alberga a ATA04, ATA28 y ATA44 pero ninguna muestra moderna, se encuentra a una mutación de distancia de un caballo Lipizano. Por último, en el haplogrupo D2 puede observarse en el mismo haplotipo una muestra medieval de Cieslak *et al.* (2010) compartiendo haplotipo con muestras modernas ibéricas y de origen ibérico.

Los tres haplotipos donde se distribuyen ATA02 por un lado; ATA10, ATA11 y ATA27 por otro lado y ATA07 y CR65 en un tercero, se han documentado también en caballos pleistocenos y/o holocenos más antiguos o prácticamente coetáneos a esas muestras, y con

otras procedencias geográficas (europeas, asiáticas y americanas) (Anexo XIIIb, Anexo XIVb), factor que limita poder vincularlos exclusivamente con la península ibérica.

El caballo ATA02 se encuentra en el haplotipo central del haplogrupo A4/A. Comparte haplotipo con cuatro caballos de origen ibérico de tres razas diferentes: Pantaneiro (*n*=1), Mustang (*n*=1), Lipizano (*n*=2). A una mutación de distancia se encuentra el caballo 832 de raza Hispano-Bretón (Anexo XIVb).

En el haplotipo central del haplogrupo A6/C se localizan las secuencias ATA10, ATA11 y ATA27. Este haplotipo presenta, además, nueve caballos modernos de cinco razas ibéricas y de origen ibérico: Pura Raza Española (*n*=2), Garrano (*n*=1), Paso Fino de Puerto Rico (*n*=1), Kladubrer (*n*=1) y Lipizano (*n*=4) (Anexo XIVb).

El haplotipo central del haplogrupo D1-D3/L, que contiene a ATA07 y CR65, es el que presenta una mayor frecuencia de caballos modernos ibéricos y de origen ibérico. En este análisis, 168 de las 524 secuencias utilizadas (~32%), se distribuyen en este haplotipo central (Tabla 8.1.11.2.8; Anexo XIVb). Se han documentado caballos de, por lo menos, 35 razas diferentes (Tabla 8.1.11.2.8). Teniendo en cuenta los haplotipos periféricos, el haplogrupo D1-D3/L está constituido por 194 secuencias, lo que equivale al 37% del total de secuencias modernas ibéricas y de origen ibérico analizadas (Tabla 8.1.11.2.7, Figura 8.1.11.2.6).

Por su parte, en el haplotipo ---/M hemos documentado cinco secuencias antiguas ibéricas asociadas al Neolítico, Calcolítico, Edad del Bronce y Edad del Hierro (tres de nuestra investigación y dos de Cieslak *et al*., 2010). También tiene una alta frecuencia de secuencias pleistocenas americanas. Aunque no hemos encontrado en este haplotipo secuencias modernas ibéricas, a una mutación de distancia se encuentra la muestra 2365 de un caballo Lipizano (Figura 8.1.11.2.5). Si analizamos el haplogrupo C1/M en su conjunto (haplogrupos C1/M y ---/M), encontramos en un mismo haplogrupo secuencias ibéricas pleistocenas y holocenas antiguas y modernas. Sin embargo también presenta muestras holocenas antiguas de diferentes zonas de Eurasia, factor que impide vincularlo exclusivamente a la península ibérica.

En cambio, los haplotipos de CFo01 y ATA03 presentan exclusivamente caballos antiguos ibéricos y caballos modernos ibéricos o de origen ibérico (Figura 8.1.11.2.5). En el haplotipo de CFo01, junto a los caballos mesolíticos / neolíticos, calcolíticos y de la Edad del Bronce, se han documentado caballos de las siguientes razas: Pura Sangre Lusitana (*n*=1, Lopes *et al*., 2005) y

Criollo Argentino (*n*=1, Mirol *et al*., 2002) corroborando los resultados obtenidos en Lira *et al*. (2010) y, además, un caballo Marismeño (*n*=1, Royo *et al*., 2005) (Anexo XIVb).

En el haplotipo de ATA03 se han documentado caballos calcolíticos, de la Edad del Bronce, y caballos modernos de las razas Pura Sangre Lusitana (*n*=1, Lopes *et al*., 2005) y Paso Fino de Puerto Rico (*n*=1, Luís *et al*. 2006b), como en Lira *et al*. (2010). Los haplotipos de CFo01 y ATA03 forman parte del mismo haplogrupo, junto al haplotipo de ATA01 y el del pleistoceno GAR01. Este haplogrupo fue definido con muestras modernas como el grupo C de los caballos Pura Sangre Lusitana (Lopes *et al*., 2005) y a partir de ahora lo vamos a denominar haplogrupo Lusitano C. Además, este conjunto se encuentra a una mutación de distancia de otra muestra ibérica, la secuencia 644 correspondiente a un caballo Garrano (Anexo II). De este modo, en este haplogrupo están localizados seis caballos modernos ibéricos o de origen ibérico de cinco razas. Este número tan bajo representa un 1,1% del total de muestras modernas de origen ibérico analizadas (Tabla 8.1.11.2.7, Figura 8.1.11.2.6).

Según las denominaciones del Catálogo Oficial de Razas de España del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente – MAGRAMA, y complementándose con las denominaciones de Sánchez Belda (2012), las razas Pura Sangre Lusitana y Marismeña están consideradas como razas *emergentes*, mientras que los caballos de raza Garrana, Criolla Argentina y Paso Fino de Puerto Rico se consideran como razas *segregadas.*

Tabla 8.1.11.2.8. ***Caballos ibéricos o de origen ibérico del haplotipo D1-D3/L que contiene a ATA07 y CR65 (haplotipo central del haplogrupo).***

RAZAS ORIGEN IBÉRICO EN HAPLOTIPO DE ATA07	N
Appaloosa	1
Asturcón	6
Asturcón / Mallorquina	2
Caballo de Corro	10
Campolina	2
Cartujano	2
Chilote	3
Corralero	1
Criollo Argentino	2
Criollo Argentino - Caballo Peruano de Paso	1
Criollo Brasileño	4
Cuarto de Milla	1
Curly	1
Español Venezolano	3
Florida Cracker	2
Garrano	5
Hispano-Bretón	4
Kiger-Mustang	5
Lipizano	11
Losino	1
Mallorquina	1
Mangalarga Marchador	2
Marismeño	5
Mustang	12
Mustang Español	3
Paint Horse	2
Pantaneiro	1
Paso Fino de Colombia	3
Paso Fino de Puerto Rico	1
Peruana de Paso	5
Pottoka	1
Pryor-Mountain-Mustang	2
Pura Raza Española	26
Pura Sangre Lusitana	13
Sulphur Mustang	6
Sulphur Spring Mustang	17
Trotador americano	1
TOTAL	**168**

Los caballos de nuestra investigación del haplogrupo Lusitano C se relacionan con tres razas originadas en la península ibérica (Pura Sangre Lusitana, Marismeña y Garrana) y dos razas que, aunque desarrolladas en otros territorios, presentan un núcleo fundacional de origen ibérico (Criolla Argentina y Paso Fino de Puerto Rico). La relación en los mismos haplotipos de caballos mesolíticos / neolíticos, calcolíticos y de la Edad del Bronce con razas americanas corrobora la relación histórica que propone para las razas americanas un origen a partir de poblaciones caballares procedentes de la península ibérica (Mirol *et al*., 2002; Luís *et al*., 2006b).

Se ha sugerido que las razas o variedades americanas podían presentar una relación más estrecha con caballos ibéricos de tiempos históricos que con caballos actuales ibéricos, debido a los intensos cruces a los que se ha sometido a los caballos ibéricos durante los últimos 500 años (Mirol *et al*., 2002). La singularidad de algunas de estas razas americanas se puso de manifiesto cuando se analizó la diversidad genética de casi una veintena de razas americanas, donde se comprobó que los Paso Fino de Puerto Rico y los Criollos Argentinos eran las razas con mayor proporción de haplotipos únicos (Luís *et al*., 2006b). La presencia de linajes mitocondriales prehistóricos ibéricos en razas americanas apoya la hipótesis propuesta por Mirol *et al.* (2002) sobre una retención de linajes antiguos en Suramérica.

Por último, otro haplogrupo donde hemos documentado una presencia significativa de caballos prehistóricos ibéricos ha sido el representado por CFo02, pero no hemos encontrado asociada ninguna secuencia moderna ibérica (Figura 8.1.11.2.5).

8.1.11.2.2.2. Caballos modernos ibéricos y las muestras de Cieslak *et al*. (2010)

De los cuatro haplotipos en los que aparecen distribuidas las muestras antiguas ibéricas de Cieslak *et al*. (2010), 15 de 16 secuencias se distribuían en tres haplotipos con muestras de nuestra investigación: el de CFo01 (en el haplogrupo Lusitano C), el de CFo02 y el de ATA04 (en el haplogrupo ---/M). La secuencia restante, de un caballo medieval, se localizaba en el haplogrupo D2/L (Figura 8.1.11.2.5, Figura 8.1.11.2.6). Como se ha comentado en la sección anterior, ni en el haplotipo de CFo02 ni en el de ATA04 hay representantes modernos ibéricos (aunque ATA04 se encuentra a una mutación de un caballo Lipizano). En el haplotipo D2 hay representantes modernos ibéricos y de origen ibérico, pero también caballos no ibéricos (antiguos y modernos). Tres caballos modernos no ibéricos de Achilli se encuentran en este haplogrupo. En cambio, CFo01 contiene exclusivamente representantes ibéricos, tanto antiguos como modernos. Los representantes actuales de origen ibérico del haplotipo CFo01 ya se han comentado en la sección anterior.

La muestra medieval de Cieslak *et al*. (2010) comparte el haplotipo D2 con caballos europeos no ibéricos de la Edad del Bronce y de distintos momentos históricos, así como con caballos de la Edad del Hierro de Mongolia. Entre la representación ibérica moderna en este haplotipo aparecen 26 caballos de, por lo menos, 13 razas diferentes (Anexo XIVb): Pura Raza Española (*n*=4), Lusitano (*n*=2), Pottoka (*n*=3), Cartujano (*n*=1), Criollo Brasileño (*n*=1),

Mangalarga (*n*=1), Kiger Mustang (*n*=2), Mustang (*n*=4), Mallorquina (*n*=1), Asturcón o Mallorquina (*n*=1), Hispano-Bretón, (*n*=2), Curly (*n*=1), Lipizano (*n*=2) y Trotador americano (*n*=1).

Aunque en el haplotipo D2 hay una significativa representación de caballos de diferentes razas de origen ibérico, de manera similar a lo que ocurría con ATA02, ATA10 y ATA07, la presencia de caballos de otras procedencias geográficas y cronologías más antiguas, limita el poder asociar este haplotipo exclusivamente con un origen ibérico. Aunque este caballo medieval es la evidencia más antigua del haplotipo central del haplogrupo D2 de Jansen en la península ibérica, no lo es para el resto de Europa ni para Asia (Anexo XIVb). Se ha sugerido la posibilidad de que este haplotipo llegara a Iberia como fruto del intercambio entre animales domésticos con otras partes de Eurasia (Cieslak, *et al*. 2010).

8.1.11.2.2.3. Las secuencias antiguas y los caballos de la raza Sorraia

La raza Sorraia está considerada como la única raza arcaica residente en Iberia (Sánchez Belda, 2012). En el análisis global de Jansen *et al*. (2002) los 18 individuos de Sorraia analizados se distribuían en dos haplotipos del haplogrupo A1. En esta investigación hemos utilizado caballos de Sorraia (*n*=21) (Anexo XIVb) que se distribuyen en los tres linajes mitocondriales previamente identificados en esta raza: Azambuja (*n*=12), Cigana (*n*=8) y Pomba (*n*=1) (Luís *et al*., 2002; 2006a), donde Azambuja y Cigana se corresponden con los haplotipos descritos por Jansen *et al*. (2002) distribuidos en el haplogrupo A1.

Ninguna de las muestras prehistóricas de nuestra investigación aparece asociada a los caballos de la raza Sorraia (Figura 8.1.11.2.7). Solamente la muestra CR65 de la Edad del Hierro y la medieval ATA07 podrían estar relacionadas con el linaje materno Pomba (el haplotipo de estas muestras está situado a una mutación de distancia de Pomba). Tampoco los caballos de Cieslak, *et al*. (2010) están vinculados directamente con la raza Sorraia. Únicamente la muestra medieval del haplotipo D2 podría estar relacionada, nuevamente, con el linaje Pomba.

Exceptuando el linaje Pomba, que solamente está caracterizado por dos individuos de las razas Pura Sangre Lusitana y Sorraia y sin representantes antiguos, en los linajes de Azambuja y Cigana se han documentado caballos de diferentes cronologías y procedencias geográficas.

El linaje de Azambuja (que también es el haplotipo central del haplogrupo A1/G) se ha documentado en caballos de la Edad del Hierro de China, Mongolia y Rusia, y en caballos húngaros del siglo IX (Figura 8.1.11.2.7). Entre los caballos modernos, junto a la raza Sorraia este linaje aparece también en caballos de por lo menos otras seis razas ibéricas (Pura Raza Española, Losino, Cartujano, Asturcón, Pura Sangre Lusitana e Hispano-Bretón) y tres de origen ibérico (Mustang, Lipizano, Kladruber). Además, está representado en caballos modernos no ibéricos, utilizados para definir el nuevo haplogrupo G de Achilli *et al*. (2012): Árabe, Akhal-Teke, y Giara, entre otros (Anexo XIIIb, Anexo XIVb). Debido a que las evidencias más antiguas del haplotipo central del haplogrupo A1/G (y también linaje Azambuja) se han documentado en Asia y que en Europa no aparece hasta la Edad Media, los datos analizados no sustentan la hipótesis de un origen ibérico. En cambio, apoyan la propuesta de que éste sea un linaje alóctono y que llegara a la península ibérica, por lo menos, en tiempos históricos.

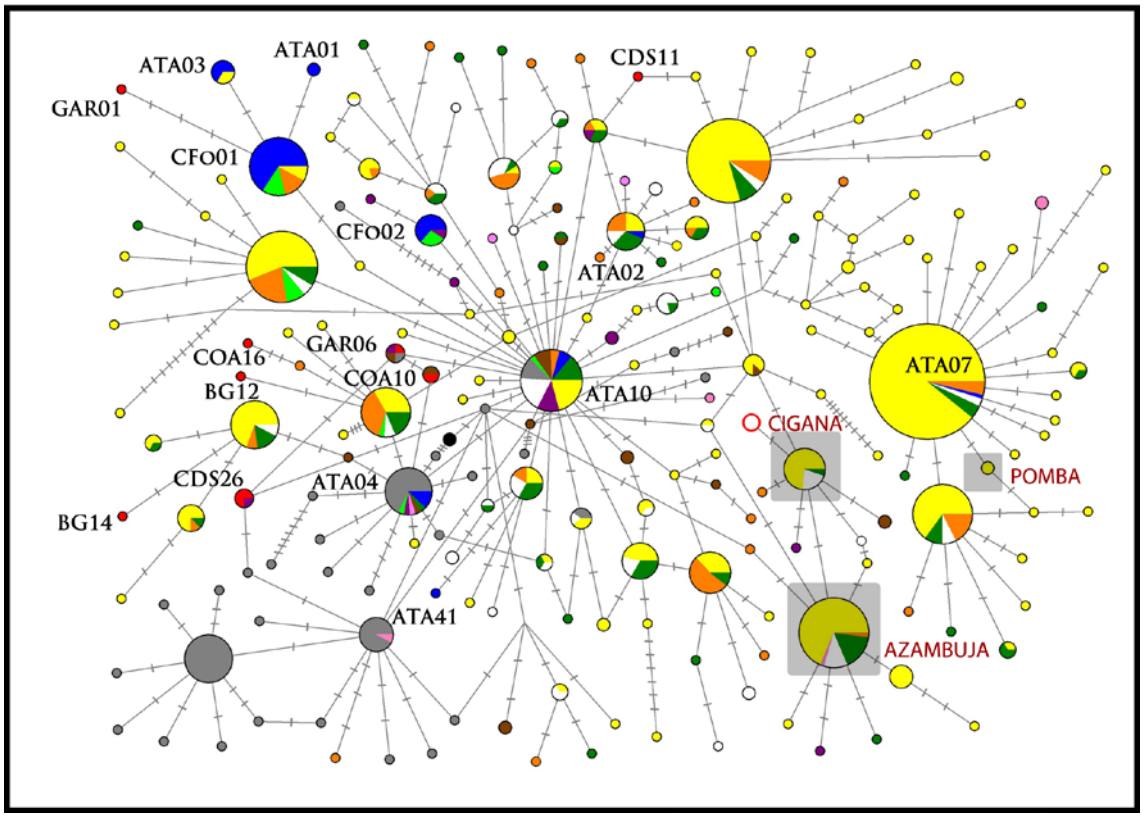


Figura 8.1.11.2.7. *Los caballos de Sorraia*. Distribución de los haplotipos de los caballos de raza Sorraia (en recuadro oscurecido) en el gráfico de redes 2.

El linaje Cigana es también el haplotipo central del haplogrupo E de Achilli (Figura 8.1.11.2.7). Este linaje se ha documentado en caballos asiáticos de la Edad del Bronce (Anexo XIIIb, Anexo XIVb). Además, forma parte de un haplogrupo constituido por haplotipos registrados en caballos pleistocenos de los Urales y del norte de Siberia, así como en caballos

domésticos de la Edad del Hierro de Mongolia. La evidencia más antigua de este haplogrupo en Europa en tiempos históricos se corresponde con un caballo húngaro medieval (siglo IX). Además, el linaje Cigana se encuentra a una mutación de distancia del haplotipo del linaje Azambuja de los caballos de Sorraia. También se encuentra a una mutación de distancia del haplotipo de los caballos de Przewalski (el haplogrupo A2/F) (Figura 8.1.11.2.7).

Asimismo, entre los caballos modernos el linaje Cigana se encuentra representado en otras razas ibéricas y de origen ibérico además de Sorraia: Pura Raza Española, Garrano, Marismeño y Lipizano, y en razas no ibéricas como el Maremmano (Anexo XIVb).

Las evidencias de las muestras antiguas asocian al haplotipo central del haplogrupo E de Achilli (que también corresponde al linaje Cigana) con la Edad del Bronce de China y Mongolia. Esta evidencia sugiere un origen asiático para el linaje Cigana, y que su presencia en Europa se explique por intercambio de ejemplares domésticos en tiempos históricos, de manera similar a lo sugerido para el linaje Azambuja y para el haplotipo D2 donde está el caballo medieval de Cieslak *et al*. (2010). Posteriormente, los caballos del linaje Cigana se habrían utilizado en la formación de varias razas ibéricas.

El haplotipo que define al linaje Pomba no contiene representantes antiguos. Podemos aproximarnos a su origen a partir de las muestras antiguas de los haplotipos más cercanos (a dos mutaciones de D2 y a una mutación de D3). Como se ha comentado en apartados anteriores, las muestras más antiguas de estos haplotipos se han documentado en Europa oriental (Edad del Bronce de Moldavia para D2) y en Asia (Edad del Hierro de Mongolia para D3). La evidencia más antigua de D2 en Iberia es medieval, y la de D3 en Iberia es la muestra CR65 de la Edad del Hierro de Cancho Roano. Relacionando el linaje Pomba con D2 y D3 y con los datos analizados, ninguna de estas evidencias sustenta la hipótesis de la presencia del linaje Pomba en Iberia antes de la Edad del Hierro.

8.1.11.2.2.4. Las secuencias antiguas y otros caballos ibéricos

Teniendo en cuenta el color de la capa y la presencia de cebraduras, algunos autores han considerado a la raza Marismeña como un representante residual de la raza Sorraia (Sánchez Belda, 2012). En esta investigación se han utilizado 12 caballos de la raza Marismeña (Royo *et al*., 2005), que se han distribuido en cuatro haplotipos (Anexo XIVb). Con las muestras entre paréntesis, encontramos a la raza Marismeña en el haplotipo principal del haplogrupo

D1-D3/L (*n*=5) que contiene a CR65 y a ATA07, en el haplogrupo A3/B (*n*=4), en el haplogrupo E de Achilli [haplotipo 58, que a su vez es el representante del linaje Cigana (*n*=2)] y en el haplotipo principal del haplogrupo Lusitano C (*n*=1) (Figura 8.1.11.2.8).

La distribución de la raza Marismeña en el haplogrupo A3/B ya había sido descrita previamente por Luís *et al*. (2006b), enfatizando el papel que pudieron tener las poblaciones caballares de las marismas del Guadalquivir en la formación de las razas americanas.

El único haplotipo que comparten los caballos de raza Marismeña con la raza Sorraia es el linaje Cigana (Figura 8.1.11.2.7, Figura 8.1.11.2.8). Como se ha comentado en el apartado anterior, este haplotipo es representativo además de otras razas actuales ibéricas y no ibéricas, y está presente en caballos antiguos, principalmente prehistóricos asiáticos.

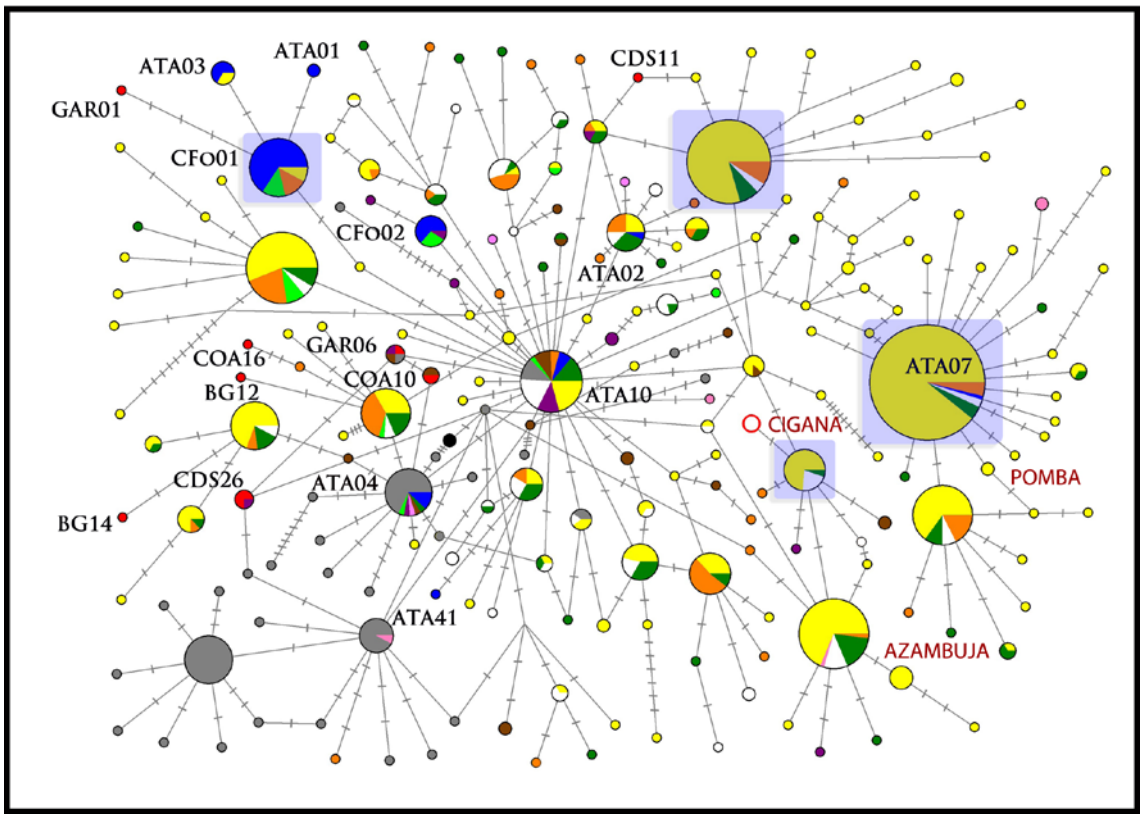


Figura 8.1.11.2.8. ***Los caballos Marismeños.*** Distribución de los haplotipos de los caballos de raza Marismeña (en recuadro oscurecido) en el gráfico de redes 2 y su relación con los caballos de Sorraia y las muestras ibéricas de ADN antiguo.

La mayor cantidad de individuos de raza Marismeña de este análisis se distribuyen en el haplotipo D1-D3/L, que se encuentra a una mutación de distancia del linaje Pomba. Como se ha comentado anteriormente, el haplotipo central del haplogrupo D1-D3/L se ha descrito en individuos de más de una treintena de razas de origen ibérico (Tabla 8.1.11.2.8). Además, también está representado entre caballos de razas no ibéricas (Anexo XIIIb; Anexo XIVb).

Asimismo, en este haplotipo se ha documentado a la muestra de la Edad del Hierro de Cancho Roano (CR65) y a la medieval ATA07. Estas evidencias permiten asociar con Iberia a este linaje de caballos de raza Marismeña, y a los caballos de otras razas ibéricas que también aparecen en este haplotipo, por lo menos desde la Edad del Hierro. No obstante, la presencia en este haplotipo de caballos de cronologías similares o más antiguas procedentes de otras partes de Europa y Asia (Anexo XIIIb; Anexo XIVb), no permite vincular este linaje de modo exclusivo a la península ibérica.

La misma situación ocurre para el haplotipo principal del haplogrupo A3/B. Aunque la presencia de caballos de origen ibérico es significativa, la presencia adicional de caballos de razas no ibéricas, así como las evidencias de secuencias de ADN antiguo de individuos de la Edad del Bronce y Edad del Hierro de diferentes lugares de Asia, no permite asociar este linaje exclusivamente con la península ibérica.

En cambio, esta asociación singular sí se puede realizar con el haplotipo principal del haplogrupo Lusitano C, donde aparece distribuido uno de los caballos de raza Marismeña y, forma parte de un haplogrupo constituido por individuos prehistóricos y modernos de procedencia exclusivamente ibérica.

8.1.11.2.3. Gráfico de redes 3: muestras modernas no ibéricas

Este gráfico de redes se elaboró para conocer la relación de los haplotipos de las secuencias de nuestra investigación con los de otros caballos modernos no ibéricos. Se han utilizado de comparativa 1428 secuencias de caballos modernos no ibéricos [76 de Achilli *et al*. (2012) y 1352 de otras investigaciones (Tabla 8.1.11.2.4, Anexo III)]. Para tener una visión global más completa, se incluyeron todas las demás secuencias analizadas en los diagramas anteriores (secuencias antiguas euroasiáticas y americanas, y secuencias de caballos modernos ibéricos y de origen ibérico). En total, en este diagrama se han estudiado 2341 secuencias (Tabla 8.1.11.2.4).

Esta matriz de secuencias se analizó con el algoritmo Median Joining con ε = 0. El programa jMoldelTest 2.1.5 seleccionó como mejor modelo GTR + I + G, con el que se estimó con MEGA6 la tasa Ti/Tv = 11,63 (Tabla 8.1.11.2.4). Como en los casos anteriores, ponderamos el efecto de las mutaciones en cada posición nucleotídica, adjudicando un valor doble a las posiciones con indels. Las posiciones hotspots 15.494, 15.585, 15.597, 15.604, 15.650 y 15.703 se excluyeron del análisis (Anexo XVa).

Las 2341 secuencias se han distribuido en 338 haplotipos. En un trabajo anterior, la utilización de más de 1700 secuencias había dado como resultado la producción de gráficos de redes sin ningún tipo de estructuración y no resueltos, provocando de este modo que se repitieran los análisis con muchas menos muestras (*n*= ~ 806; Cieslak *et al*., 2010). Al ser uno de los principales objetivos de esta investigación el estudio de la persistencia de determinados linajes maternos ibéricos a lo largo del tiempo, hemos elaborado y analizado un diagrama de redes con la mayor cantidad de secuencias posibles (>2000), aún sabiendo que la falta de estructuración podría ser significativa. El gráfico de redes obtenido no presenta ningún tipo de estructuración (Figura 8.1.11.2.9) pero, en lugar de centrarnos en todos los haplogrupos de manera global, hemos analizado exclusivamente aquellos que presentan nuestras secuencias antiguas y modernas ibéricas, y que ya se han determinado en gráficos de redes anteriores. Además, entre las secuencias de caballos modernos no ibéricos hemos incluido 10 secuencias adicionales de caballos de Przewalski, con el objeto de analizar cualquier tipo de relación con nuestras secuencias de estudio. El Anexo XVb presenta la relación de haplotipos con frecuencias >1 que están vinculados a nuestras muestras antiguas.

Como en los gráficos de redes anteriores, las muestras antiguas de nuestra investigación se distribuyen en 17 haplotipos. A continuación se presenta la descripción detallada de los haplotipos y haplogrupos donde aparecen las secuencias de nuestro estudio, y su relación con caballos modernos. La Tabla 8.1.11.2.9 presenta la información de los tres gráficos de redes, detallando la relación entre las muestras antiguas ibéricas con los haplogrupos de Jansen y Achilli, la relación de esos haplogrupos con muestras antiguas de otras regiones geográficas, y su vinculación con muestras modernas.

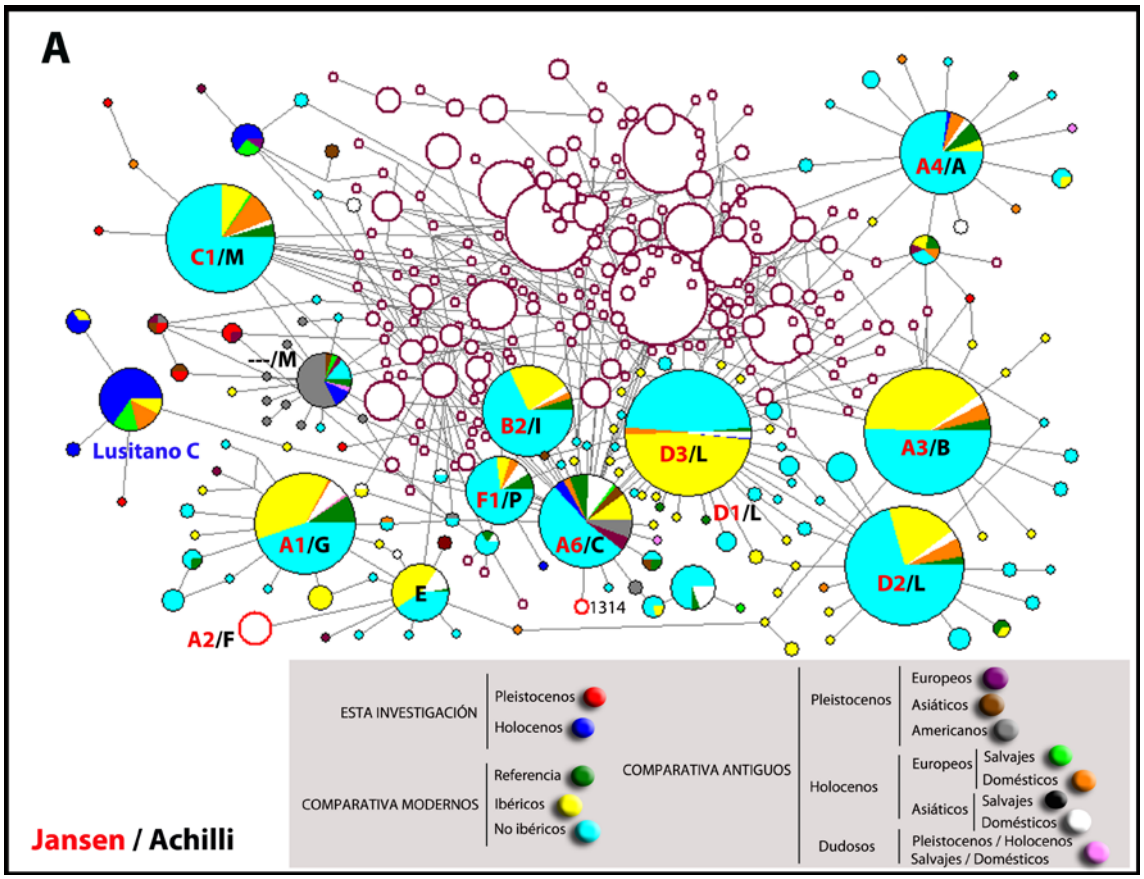


Figura 8.1.11.2.9. ***Gráfico de redes 3***. Distribución de 2341 secuencias antiguas y modernas ibéricas y no ibéricas. **A)** Haplogrupos de Jansen (en rojo) y Achilli (en negro) relacionados con las muestras de estudio. En azul el haplogrupo Lusitano C. Caballos de Przewalski situados en los haplotipos A2/F y 1314. **B)** Distribución de las secuencias antiguas ibéricas de nuestra investigación. Código de colores: ESTA INVESTIGACIÓN (*Rojo*: pleistocenos; *Azul*: holocenos). Código de colores de caballos de OTRAS PUBLICACIONES: *PLEISTOCENOS* (*Violeta*: europeos; *Marrón*: asiáticos; *Gris*: americanos); *HOLOCENOS* (*Verde claro*: salvajes europeos; *Negro*: salvajes asiáticos; *Naranja*: domésticos europeos; *Blanco*: domésticos asiáticos); DUDOSOS (*Rosa pálido*: pleistocenos / holocenos; salvajes / domésticos). *Verde oscuro*: Secuencias de referencia de Jansen y Achilli. *Amarillo*: caballos ibéricos o de origen ibérico. Azul claro: caballos modernos no ibéricos. Los haplotipos blancos con bordes rojos (A2 y 1314) presentan la distribución de las 12 secuencias de caballos de Przewalski de este análisis. Los haplotipos blancos con bordes violeta representan haplotipos no analizados. Las ramas no son proporcionales a sus longitudes.

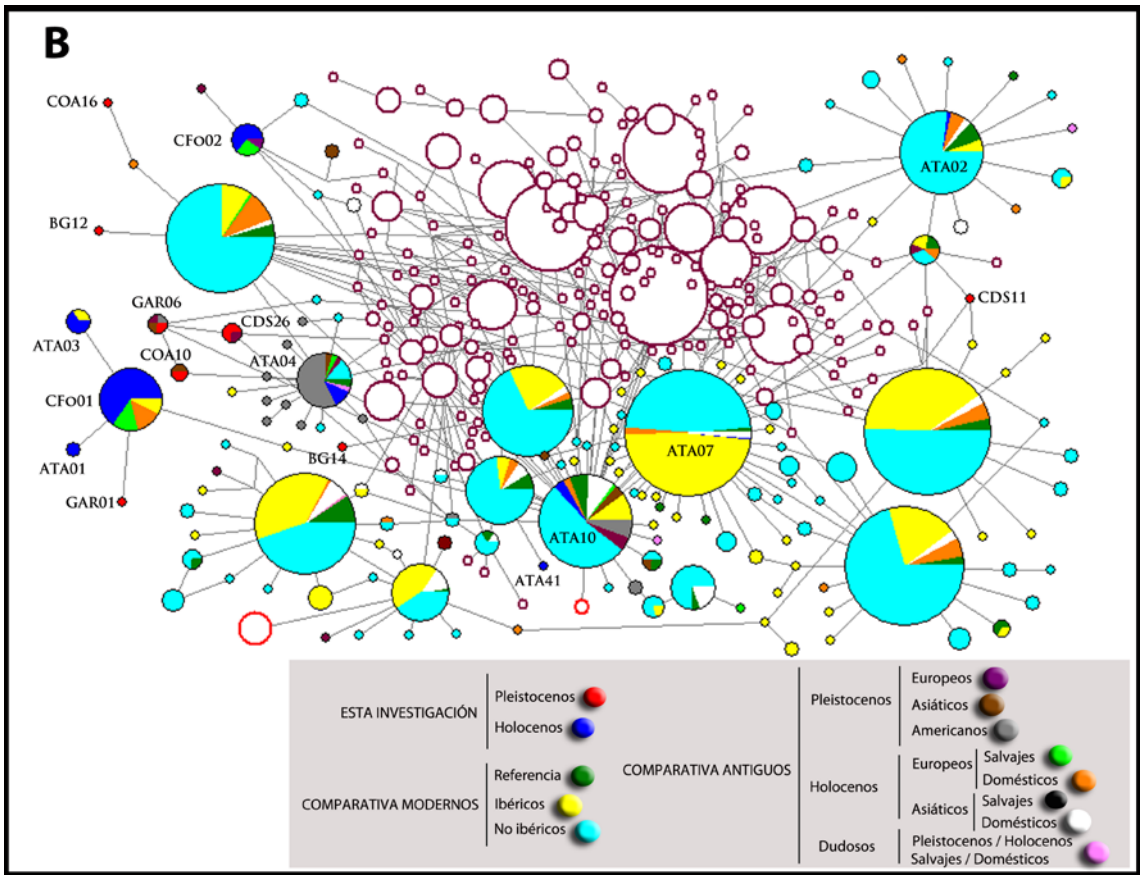


Figura 8.1.11.2.9. ***Gráfico de redes 3***. Continuación.

Tabla 8.1.11.2.9*. Distribución de las muestras antiguas ibéricas entre los haplogrupos de Achilli y Jansen.* Entre las muestras antiguas ibéricas también se tienen en cuenta las de Cieslak *et al*. (2010). Además, se detallan los haplogrupos que contienen muestras antiguas de otras regiones, así como muestras modernas ibéricas y no ibéricas. 1) Incluye también muestras de origen ibérico. 2) El linaje Pomba es uno de los haplotipos asociados al haplogrupo L. La relación de muestras antiguas y modernas se detalla en los Anexos XIIIb, XIVb y XVb.

HAPLOGRUPO				GRÁFICOS DE REDES						
ACHILLI		JANSEN	OTROS	MUESTRAS ANTIGUAS IBÉRICAS		*n*	MUESTRAS			
							ANTIGUAS OTRAS REGIONES		MODERNAS	
				PLEISTOCENAS	HOLOCENAS		PLEISTOCENAS	HOLOCENAS	IBÉRICAS [1]	NO IBÉRICAS
1	A-B	A3, A4, A5		CDS11	ATA02	2	SI	SI	SI	SI
2	C	A6		NO	ATA10, ATA11, ATA27	3	SI	SI	SI	SI
3	D	E		NO	NO	0	SI	SI	SI	SI
4	E (CIGANA)	---		NO	NO	0	SI	SI	SI	SI
5	F	A2		NO	NO	0	NO	NO	NO	SI
6	G (AZAMBUJA)	A1		NO	NO	0	SI	SI	SI	SI
7	H	---		NO	NO	0	NO	SI	SI	SI
8	I	B2		BG14	NO	1	NO	SI	SI	SI
9	J	---		NO	NO	0	NO	SI	SI	SI
10	K	---		NO	NO	0	NO	SI	SI	SI
11	L (POMBA) [2]	D1, D2, D3		NO	CR65, ATA07, 99	3	NO	SI	SI	SI
12	M	C1		BG12, COA16	NO	2	NO	SI	SI	SI
		---		NO	ATA04, ATA28, ATA44, 100, 107	5	SI	NO	SI	SI
13	N	C2		NO	NO	0	NO	SI	SI	SI
14	O	---		NO	NO	0	NO	SI	NO	SI
15	P	F1		NO	ATA41	1	NO	SI	SI	SI
16	Q	F2		NO	NO	0	NO	SI	SI	SI
17	R	G		NO	NO	0	NO	SI	SI	SI
18			Lusitano C	GAR01	CFo01, CFo06, CFo12, ATA01, ATA03, ATA05, ATA06, ATA08, ATA09, ATA12, ATA13, ATA14, ATA16, ATA17, ATA18, ATA19, ATA20, ATA23, ATA24, ATA25, ATA26, ATA30, ATA35, ATA36, ATA37, ATA38, ATA39, ATA40, ATA42, ATA43, ATA45, 83, 93, 95, 96, 97, 98, 103, 104, 108, 109	42	NO	NO	SI	NO
19			CFo02	NO	CFo02, CFo08, ATA15, ATA29, ATA46, ATA47, ATA48, 82, 94, 106	10	SI	NO	NO	SI
20			Sin haplogrupo	COA10, GAR03, GAR06, GAR08, CDS26,	NO	5	NO	NO	NO	NO
TOTAL				10	64	74				

8.1.11.2.3.1. Relación de las secuencias modernas no ibéricas con los caballos pleistocenos

Entre los aspectos más significativos del gráfico de redes 3, cabe destacar que ninguna de las 1428 secuencias de caballos modernos no ibéricos comparte haplotipos con los caballos pleistocenos ibéricos. Los caballos pleistocenos de nuestra investigación presentan una distribución similar a la descrita en el gráfico de redes 1, mantenida en el gráfico de redes 2 y en este nuevo análisis. Esta evidencia permite confirmar que, al menos con más de 2000 muestras de comparativa, los haplotipos de estas secuencias pleistocenas pertenecen a linajes extintos. Debido a que entre estos haplotipos tampoco hay caballos holocenos antiguos, a partir de los datos analizados y las cronologías asociadas, sugerimos que la extinción de estos haplotipos tuvo que comenzar a finales del Pleistoceno – principios del Holoceno.

8.1.11.2.3.2. Relación de las secuencias modernas no ibéricas con el haplogrupo Lusitano C

La singularidad de este haplogrupo se describió por primera vez en Lira *et al*. (2010), donde el análisis con 1089 caballos modernos (689 no ibéricos y 400 ibéricos o de origen ibérico), puso de manifiesto que únicamente se relacionaban con él caballos ibéricos o de origen ibérico.

En estos nuevos análisis, se ha aumentado a 1952 el número de secuencias utilizadas de comparativa de caballos modernos: 524 caballos ibéricos o de origen ibérico y con 1428 caballos, se ha multiplicado por dos el número de caballos no ibéricos. A partir de los análisis de gráficos de redes, el haplogrupo Lusitano C se encuentra representado en muestras ibéricas antiguas desde el Magdalensiense medio hasta el Bronce medio. Aunque no se ha detectado en muestras ibéricas de la Edad del Hierro o en muestras históricas, sí se ha documentado su presencia en muestras modernas de origen exclusivamente ibérico (Tabla 8.1.11.2.9). En la sección anterior se han comentado los resultados del análisis con los caballos modernos ibéricos o de origen ibérico (Tabla 8.1.11.2.10).

Tabla 8.1.11.2.10. ***Relación de secuencias asociadas al haplogrupo Lusitano C.*** Para esta relación se han excluido las 17 secuencias sintéticas de Jansen, quedando un total de 2324 secuencias.

MUESTRAS			LUSITANO C		TOTAL MUESTRAS ANALIZADAS
			PRESENTE	AUSENTE	
Antiguas	Ibéricas	Pleistocenas	1	9	**10**
		Mesolítico/Neolítico	8	6	**14**
		Calcolítico	17	8	**25**
		Edad del Bronce	16	5	**21**
		Edad del Hierro	0	2	**2**
		Históricas	0	2	**2**
	No Ibéricas	Pleistocenas	0	122	**119**
		Mesolítico/Neolítico	0	2	**2**
		Calcolítico	0	9	**9**
		Edad del Bronce	0	28	**28**
		Edad del Hierro	0	60	**60**
		Históricas	0	77	**77**
		Cronología dudosa	0	3	**3**
Modernas	Ibéricas		6	518	**524**
	No ibéricas		0	1428	**1428**
TOTAL			48	2279	2324

Además, ninguna de las 1428 secuencias de caballos modernos no ibéricos analizadas está incluida en este haplogrupo Lusitano C. La estructura del haplogrupo Lusitano C en este análisis es idéntica a la descrita en la sección anterior con los caballos modernos ibéricos y de origen ibérico, y refuerza los resultados obtenidos sobre la singularidad de este haplogrupo para la península ibérica.

En definitiva, el haplogrupo Lusitano C está constituido por 48 secuencias (42 antiguas y 6 modernas) de un total de 2324 secuencias (Tabla 8.1.11.2.10). A partir de los gráficos de redes, el Lusitano C representa a un haplogrupo exclusivamente ibérico, con unas raíces en el Pleistoceno superior y representantes actuales exclusivos de razas ibéricas y americanas.

Sin embargo, la frecuencia de individuos de este haplogrupo se ha visto modificada a lo largo del tiempo, mostrando en la actualidad una representatividad mucho menor a la encontrada en momentos prehistóricos.

8.1.11.2.3.3. Relación de las secuencias modernas no ibéricas con el haplogrupo de CFo02

En el diagrama de redes 3 se ha comprobado que tampoco hay representantes modernos no ibéricos en el haplotipo de CFo02 (Anexo XVb). Este haplotipo presenta también muestras de Cieslak *et al*. (2010) (Tabla 8.1.11.2.9). En conjunto este haplotipo contiene una secuencia pleistocena procedente de los Urales, y 10 secuencias ibéricas neolíticas, calcolíticas y de la Edad del Bronce. A una mutación de distancia se encuentra el haplotipo 338, caracterizado por otro caballo pleistoceno de los Urales, y a tres mutaciones de distancia se localiza la muestra 361, que pertenece a un caballo pleistoceno de Siberia datado en 17.120 – 16.621 años cal. BP (Figura suplementaria 4). Además, a una mutación de distancia de CFo02 se ha documentado un haplotipo con dos caballos modernos de la raza rusa Mesenskay (muestras 2120 y 2137). Aparte, también a una mutación de distancia del haplotipo CFo02 se encuentra el haplotipo 1232, que caracteriza a un individuo moderno de la raza italiana Ventasso (Figura 8.1.11.2.9).

A partir de los datos analizados en combinación con los gráficos de redes anteriores, este haplogrupo estaba distribuido en el Pleistoceno en la zona de los Urales. Durante el Holoceno se habría desarrollado en Iberia. Su extinción, al menos en territorio ibérico, habría ocurrido en momentos recientes. La muestra más moderna de este haplotipo es ATA15, asociada al Bronce antiguo y datada en torno a 4242 – 3841 años cal. BP. Ningún caballo ibérico o de origen ibérico actualmente pertenece a este haplogrupo. Sin embargo, se ha detectado en dos caballos de razas rusas e italiana. Su asociación con estos caballos podría relacionarse con la persistencia de este linaje en distintas zonas de Europa y Asia durante el Holoceno, aunque no lo hayamos detectado entre las muestras antiguas.

8.1.11.2.3.4. Relación de las secuencias modernas no ibéricas con el haplogrupo A4/A

El haplotipo central del haplogrupo A4/A presenta a la secuencia de la Edad del Bronce ATA02. Este haplotipo no incluye más secuencias antiguas ibéricas. El resto de secuencias antiguas son de caballos domésticos de la Edad del Bronce, Edad del Hierro e históricas, y proceden de Armenia, Mongolia, Rusia y Hungría (Anexo XIIIb). Se han documentado cuatro caballos de origen ibérico europeos y americanos (Anexo XIVb). La frecuencia de este haplotipo se completa con 57 caballos no ibéricos de 21 razas procedentes de 10 países de distribución euroasiática (Anexo XVb).

En relación a los haplotipos periféricos al haplotipo central, las secuencias más antiguas pertenecen a dos caballos del Pleistoceno superior (Figura suplementaria 4, Anexo XVb). Una de ellas (la muestra 185, incluida en el haplotipo 68) ya se ha descrito anteriormente, procede del yacimiento alemán de Petersfels y está datada en 15.126 – 14.473 años cal. BP (calibrado a 2σ con el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración OxCal13). Esta muestra se encuentra a una mutación de distancia del haplotipo de ATA02. La otra es nuestra secuencia CDS11, a una mutación de distancia de la secuencia alemana de Petersfels y, por tanto, a dos mutaciones del haplotipo central del haplogrupo A4/A que alberga a ATA02 (Tabla 8.1.11.2.9).

Entre las secuencias holocenas, las más antiguas son las representadas por los haplotipos 91 y 161. La secuencia 91 pertenece a un caballo datado a principios del IV milenio aC que procede de Turquía. La secuencia 161 está datada a finales del IV milenio aC y procede de Mongolia. Ambas se encuentran a una mutación de distancia del haplotipo central del haplogrupo A4/A (Anexo XVb).

Para Europa, la presencia de este haplogrupo está definido por dos secuencias armenias y la secuencia ATA02, todas en el haplotipo central del haplogrupo A4/A. Las secuencias armenias de la Edad del Bronce (muestras 84 y 118) están datadas en 1950 – 1750 años aC. La secuencia del Bronce medio ATA02 tiene una cronología de 1752 – 1533 años cal. aC. (Anexo XVb).

Por lo tanto, los datos ofrecidos por los gráficos de redes no permiten asociar de manera exclusiva al haplogrupo A4/A a la península ibérica. Sin embargo, y considerando a las muestras pleistocenas CDS11 y 185 como perteneciente al haplogrupo A4/A, podemos proponer la presencia de este haplogrupo en Europa occidental por lo menos desde finales del Pleistoceno superior. La presencia de ATA02 en este haplogrupo podría asociarse a una persistencia en Iberia durante el Holoceno. Sin embargo, la ausencia de muestras ibéricas anteriores a la Edad del Bronce, no permite descartar la posibilidad de que este haplogrupo entrara en Iberia con animales domésticos. De todas maneras, ATA02 es la evidencia holocena más antigua de la presencia de este haplogrupo en Europa occidental y en Iberia, con una representación en la actualidad en razas ibéricas y de origen ibérico.

En los gráficos de redes anteriores tuvimos que unificar la información de los haplogrupos A3, A4, A5/A, B, debido a la posición que ocupaba la muestra pleistocena CDS11. Después del haplogrupo A4 de Jansen, el que más muestras antiguas de diferentes cronologías presenta es el haplogrupo A3 de Jansen (el haplogrupo A5 solo presenta una muestra europea

antigua, de época histórica). Unificando la información de los haplogrupos A3, A4/A, B, incorporamos nuevas muestras europeas de la Edad del Bronce e históricas, así como nuevas muestras asiáticas de la Edad del Bronce y de la Edad del Hierro, además de una significativa cantidad de caballos modernos ibéricos y de origen ibérico (*n*=62) y modernos no ibéricos (*n*=85). Sin embargo, la interpretación global que ofrece esta unificación de haplogrupos A3, A4/A, B, no modifica lo comentado en el párrafo anterior. Se destaca su presencia durante el pleistoceno en Europa y la península ibérica y en el Holoceno, lo volvemos a encontrar durante la Edad del Bronce en Iberia, Europa y Asia. Aunque ATA02 es la evidencia holocena más antigua del haplogrupo A3, A4/A, B en Europa occidental, su presencia en la región podría asociarse a la continuidad del linaje desde finales del Pleistoceno o a la introducción de animales domésticos, posiblemente a partir de la Edad del Bronce.

8.1.11.2.3.5. Relación de secuencias modernas no ibéricas con los haplogrupo C1/M y ---/M

En los análisis anteriores ATA04, ATA28 y ATA44 estaban incluidos en un haplotipo del haplogrupo M de Achilli que habíamos denominado ---/M, donde también aparecían muestras de Cieslak *et al*. (2010) procedentes del neolítico de Cova Fosca (Castellón) y de la Edad del Hierro del Soto de Medinilla (Valladolid) (Tabla 8.1.11.2.9). En el haplotipo central del haplogrupo ---/M predominaban los caballos pleistocenos (americanos y rusos) y en cambio no había representantes modernos ibéricos. En este nuevo análisis, cinco caballos modernos no ibéricos comparten haplotipo con estos caballos antiguos (Anexo XVb). Las razas a las que pertenecen estos caballos son italianas (Maremmano, Murgesse, Ventasso e Italiano de Tiro) y del Reino Unido (Poni de Gales).

Los haplotipos que rodean a este haplotipo principal pertenecen en su mayoría a caballos pleistocenos americanos (Figura suplementaria 4, Anexo XVb). Solamente se documentan tres haplotipos de caballos modernos, pertenecientes a un individuo de la raza Shire (haplotipo 949), Poni de New Forest (haplotipo 1553) y a un Lipizano (haplotipo 2365). No hemos considerado al haplotipo COA10 como perteneciente a este haplogrupo, debido a que forma parte de una reticulación donde también está involucrado el haplotipo principal del haplogrupo A6/C. El haplotipo COA10 se encuentra a una mutación de distancia de ---/M y a tres de A6/C.

A partir de los datos analizados, sugerimos para este haplogrupo una distribución mayoritariamente en el continente americano, debido a que la mayor cantidad de muestras, y además las más antiguas, se han recuperado en este continente. Movimientos migratorios posteriores habrían desplazado a representantes de este linaje hacia Europa occidental, y algunas poblaciones se habrían desarrollado en la península ibérica. Además, durante el Holoceno este haplogrupo se habría desarrollado en Iberia, con poblaciones detectadas por lo menos desde el Neolítico. Sin embargo, su representación actual entre las muestras de origen ibérico sería residual, al documentar en el haplogrupo ---/M solamente a un caballo Lipizano.

La presencia de caballos modernos italianos y del Reino Unido asociados al haplogrupo ---/M podría explicarse por la incorporación de caballos salvajes locales de este linaje de Europa occidental a poblaciones en proceso de domesticación o ya domésticas. Otra alternativa descansa en la incorporación de efectivos ibéricos en razas domésticas de Reino Unido e Italia. Esta propuesta se sustenta en varias evidencias que veremos a continuación.

Por un lado, diversos estudios han propuesto que la similitud fenotípica existente entre algunas razas de caballos ibéricos con otras de las Islas Británicas podría deberse a un origen común. Hay registros históricos que confirman el desplazamiento por parte de los romanos de caballos de origen ibérico hacia las Islas Británicas (Dent y Machin, 1962). Durante la dominación romana en Hispania, se desplazaron mercenarios astures junto a sus caballos a diversas fronteras del Imperio Romano. Los astures fueron enviados principalmente a las provincias romanas de Germania, Britania, África y Panonia (García Dory, 1980). Los efectivos militares de Britania se destinaron a la limes del Muro de Adriano y, de hecho, en esta frontera desarrollaron sus actividades dos regimientos de alas de caballería astur (Álvarez Llana *et al*., 1995).

Aparte, las monarquías desarrolladas en la península ibérica han tenido entre los siglos XV – XVIII una estrecha relación con la península itálica, y se han utilizado caballos de origen ibérico para fundar en Italia nuevas razas, como es el caso de los Lipizanos (Kavar *et al*., 2002; Dovc *et al*., 2006).

Por su parte, en el haplogrupo C1/M hemos detectado a las muestras pleistocenas BG12 y COA16. Aunque ninguna muestra holocena ibérica antigua se distribuye en este haplogrupo, sí hemos encontrado muestras antiguas de otras partes de Eurasia. Además, este haplogrupo presenta 10 individuos modernos de por lo menos seis razas con un origen ibérico (Asturcón, Criollo Brasileño, Pura Sangre Lusitana, Mustang, Trotador americano y Lipizano) además de

casi una centenar de individuos de más de 30 de razas eurosiáticas (Anexo XVb). Su ausencia entre el resto de muestras pleistocenas analizadas, permite proponer que este haplogrupo se encontraba presente a finales del Pleistoceno al menos en la península ibérica. A partir del Calcolítico se documenta en Europa oriental. No hemos encontrado evidencias holocenas de este haplogrupo en Iberia hasta las muestras modernas. Su presencia entre las muestras modernas de procedencia ibérica podría relacionarse con una reintroducción de animales posiblemente ya domésticos en algún momento todavía no determinado, y manteniendo continuidad en algunas poblaciones hasta la actualidad.

8.1.11.2.3.6. Relación de las secuencias modernas no ibéricas con el haplogrupo A6/C

Las secuencias ATA10, ATA11 y ATA27 se encuentran en el haplotipo central del haplogrupo A6/C (Tabla 8.1.11.2.9). Como se ha comentado en los anteriores gráficos de redes, en este haplotipo se han descrito secuencias pleistocenas procedentes de diversos lugares de Eurasia y América, junto a secuencias holocenas también recuperadas en diversos yacimientos euroasiáticos (Anexo XIIIb).

Además, en este haplotipo central se han documentado 58 secuencias modernas de, por lo menos, 31 razas procedentes de 18 países euroasiáticos y americanos. De estos caballos, nueve son de procedencia ibérica y se distribuyen en cinco razas (Anexo XIVb). Los 49 caballos restantes, son todos modernos no ibéricos asociados a 26 razas (Anexo XVb).

Este haplotipo alberga una amplia representación de razas de diversos orígenes. Teniendo en cuenta la amplia distribución de este haplotipo durante el Pleistoceno, su representación entre caballos modernos euroasiáticos de diferentes razas no permite asociarlo a un lugar de origen concreto.

Entre los haplotipos que se encuentran a una o dos mutaciones de distancia de este haplotipo central y conformarían el haplogrupo A6 de Jansen, se observan también caballos de diversa procedencia. Las secuencias antiguas son de caballos pleistocenos de los Urales y de Siberia, y de la Edad del Bronce de Turquía. Entre las secuencias modernas se documentan caballos ibéricos y de origen ibérico (Hispano-Bretón, Lipizano, Paso Fino de Puerto Rico). Entre las secuencias no ibéricas, aparecen caballos de las razas europeas Maremmano y poni de las Shetlands, así como de las asiáticas Kazajo, Mesenskay y Jakuto.

Destacamos que, situado a una mutación de distancia del haplotipo central del haplogrupo A6 de Jansen, se encuentra un haplotipo con dos caballos de Przewalski. Como se ha comentado al comienzo de este apartado, en este gráfico de redes se han analizado 12 secuencias de caballos de Przewalski, las cuales se distribuyen entre dos haplotipos. Dos secuencias (1314 y 1790) se documentan en este haplotipo asociado al haplogrupo A6/C (Figura suplementaria 4), mientras que las 10 restantes están concentradas en un mismo haplotipo, asociado al haplogrupo A2/F.

8.1.11.2.3.7. Relación de las secuencias modernas no ibéricas con el haplogrupo B2/I

Aunque la muestra pleistocena BG14 no comparte haplotipo con otras muestras antiguas o modernas, ha estado asociada al haplogrupo B2/I en todos los análisis. En el haplotipo central del haplogrupo B2/I se han detectado caballos de la Edad del Bronce de Moldavia, de la Edad del Hierro de China y Kazajistán, así como húngaros del siglo IX (Anexo XIIIb). También se han diferenciado caballos de, por lo menos, nueve razas con origen ibérico (Anexo XIVb), así como caballos de más de veinte razas euroasiáticas y norteafricanas (Anexo XVb). Esta amplia representación en Eurasia (incluida la península ibérica) tanto en muestras antiguas como modernas, impide asociar de manera exclusiva este haplogrupo a Iberia.

Los datos analizados permiten sugerir que este haplogrupo se encontraba distribuido por lo menos en la península ibérica a finales del Pleistoceno superior. No ha sido detectado entre el resto de muestras pleistocenas europeas (n=17), asiáticas (n=15) o americanas (n=87) estudiadas (Tabla 8.1.11.2.3). Esta evidencia permite sugerir la posibilidad de que las poblaciones de este haplogrupo pasaran por un proceso migratorio desde Europa occidental hacia el Este, a finales del Pleistoceno – comienzos del Holoceno. Desconocemos las zonas euroasiáticas donde las poblaciones de este haplogrupo estuvieron desarrollándose durante la primera mitad del Holoceno, debido principalmente a que las muestras euroasiáticas de comparativa han presentado tamaños muestrales bajos (Tabla 8.1.11.2.3). Durante el Holoceno, la evidencia más antigua procede de Europa oriental y está asociada a la Edad del Bronce. En Iberia, no lo hemos detectado entre ninguna de las muestras holocenas antiguas analizadas (nuestra investigación *n*= 58, otras investigaciones *n*=16), solamente en representantes modernos. Estos resultados son más compatibles con una reintroducción de efectivos ya domésticos, posiblemente en algún momento histórico.

8.1.11.2.3.8. Relación de las secuencias modernas no ibéricas con el haplogrupo F1/P

En todos los análisis realizados, la muestra ATA41 ha aparecido asociada al haplogrupo F1/P. La muestra ATA41 corresponde a un caballo calcolítico precampaniforme, que aparece en un haplotipo exclusivo, no compartido con otros caballos. En el haplotipo central del haplogrupo F1/P se han detectado tres caballos con razas de origen ibérico Lipizano y Kladruber (Anexo XIVb), y 35 caballos de casi una veintena de razas euroasiáticas y norteafricanas (Anexo XVb). De este modo, podemos observar que tiene una representación más extendida entre las razas no ibéricas que entre las de origen ibérico.

La muestra más antigua de este haplogrupo es ATA41. Le siguen en antigüedad tres caballos chinos, uno de la Edad del Bronce y dos caballos de la Edad del Hierro. Posteriormente, vuelve a encontrarse en momentos históricos, en muestras húngaras de los siglos VI-VII (Anexo XIIIb). Su presencia en tres individuos de dos razas segregadas europeas sería compatible con una continuidad de este haplogrupo en razas de origen ibérico, aunque con una representación muy baja.

8.1.11.2.3.9. Relación de las secuencias modernas no ibéricas con el haplogrupo D1-D3/L

Hemos dejado este haplogrupo para el final de la descripción, dado que se trata del haplogrupo D1-D3 de Jansen. Con 381 secuencias en su haplotipo central, es el haplotipo con mayor frecuencia de todo el gráfico de redes. En este haplotipo descansan 13 secuencias de caballos antiguos, incluyendo a CR65 y ATA07 y ya comentadas en el gráfico de redes 1 (Anexo XIIIb). Las 368 secuencias restantes, proceden de caballos modernos (168 ibéricos o de origen ibérico y 200 no ibéricos). Estos caballos modernos se distribuyen en, por lo menos, 86 razas o variedades de todas partes del mundo.

A una mutación de distancia se encuentra la secuencia sintética D1, y además se han contabilizado más de una veintena de haplotipos periféricos que contienen otros 44 caballos modernos de 23 razas (Figura 8.1.11.2.9; Figura suplementaria 4).

De este modo, el total de integrantes del haplogrupo D1-D3/L asciende a 412 caballos de, por lo menos, 89 razas o variedades (Tabla 8.1.11.2.11).

Como ha sido destacado por otros autores, la presencia en este haplogrupo de caballos ibéricos o de origen ibérico y caballos del norte de África es significativa (Jansen *et al*., 2002; Luís *et al*., 2006b). Este haplogrupo se ha detectado en 62 individuos de nueve de las diez razas españolas analizadas (Figura 8.1.11.2.10), y podemos destacar que en este haplogrupo descansan el 36,84% de la raza Asturcón ($n_{\text{total raza}}$ =19), el 71,43% del Caballo de Corro ($n_{\text{total raza}}$ =14), el 41,67% de los Marismeños ($n_{\text{total raza}}$ =12), el 41,18% de los Pura Raza Española ($n_{\text{total raza}}$ =68) y el 26,67% de la raza Pottoka ($n_{\text{total raza}}$ =15). Otras razas con una representación menor son el Cartujano (20%, $n_{\text{total raza}}$ =10), o el Losino (8,33%, $n_{\text{total raza}}$ =12) (Tabla 8.1.11.2.11).

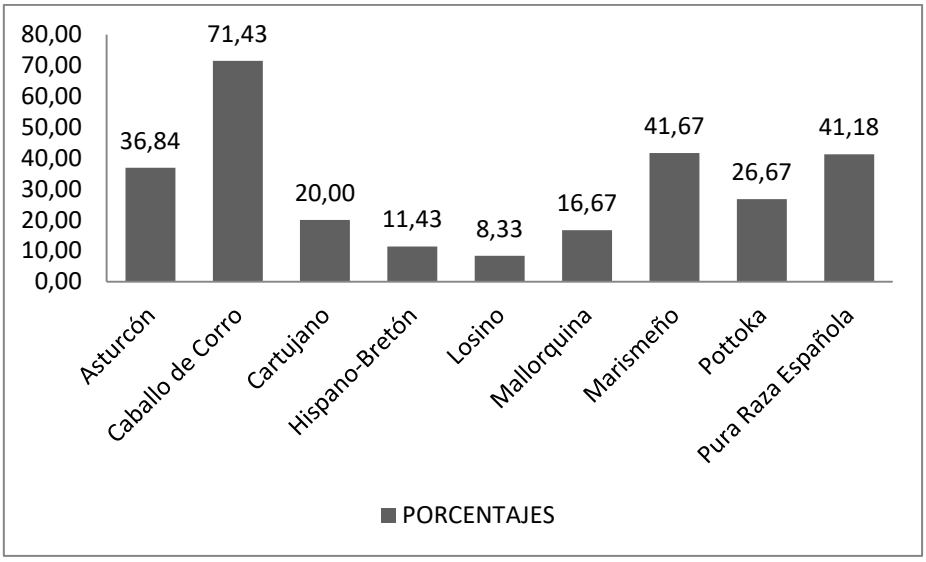


Figura 8.1.11.2.10. ***Porcentaje de caballos de razas españolas en el haplogrupo D1-D3/L*.**

Menorquina es la única raza española donde no se han detectado individuos de este haplogrupo. Sin embargo, al haber analizado a un número muy bajo de individuos de esta raza ($n_{\text{total raza}}$ =2), no podemos descartar que un aumento de la muestra modificara esta observación en favor del haplogrupo D1-D3/L.

Además, se ha detectado en 22 ejemplares de tres razas portuguesas, conteniendo el 31,25% de la raza Garrano ($n_{\text{total raza}}$ =16), el 37,21% del Pura Sangre Lusitana ($n_{\text{total raza}}$ =43) y únicamente el 4,76% de la raza Sorraia ($n_{\text{total raza}}$ =21). Respecto al norte de África, aparece en 10 ejemplares de dos razas y, el 60% de la raza Bereber se encuentra localizada en este haplogrupo ($n_{\text{total raza}}$ =15) (Figura 8.1.11.2.11, Tabla 8.1.11.2.11).

Tabla 8.1.11.2.11. ***Razas / variedades de caballos del haplogrupo D1-D3/L*.** Se detalla el número de caballos de cada raza, su porcentaje respecto al total, y su procedencia respecto a la península ibérica, norte de África, América, Asia y resto de Europa.

	RAZA / VARIEDAD	N	TOTAL	PORCENTAJES	ORIGEN	LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA
1	Akhal Teke	4	31	12,90	Turkmenistán	Asia: sector sur y occidental
2	Appaloosa	1	1	100,00	USA	América del Norte
3	Árabe	2	135	1,48	Arabia	Próximo Oriente
4	Árabe-Polaco	2	14	14,29	Polonia	resto de Europa
5	Asturcón	7	19	36,84	España	península ibérica
6	Asturcón/Mallorquina	2	5	40,00	España	península ibérica
7	Bardigiano	3	18	16,67	Italia	resto de Europa
8	Bereber	9	15	60,00	norte de África	norte de África
9	Caballo de Corro	10	14	71,43	España	península ibérica
10	Caballo de Deporte Alemán	1	1	100,00	Alemania	resto de Europa
11	Caballo de la montaña de Guan	3	10	30,00	China	Asia: sector oriental
12	Caballo de Tiro del Rin	3	26	11,54	Alemania	resto de Europa
13	Caballo de Tiro Irlandés	17	59	28,81	Irlanda	resto de Europa
14	Campolina	2	6	33,33	Brasil	América del Sur
15	Canadiense	7	12	58,33	Canadá	América del Norte
16	Cartujano	2	10	20,00	España	península ibérica
17	Chilote	3	4	75,00	Chile	América del Sur
18	Corralero	1	4	25,00	Chile	América del Sur
19	Criollo Argentino	2	6	33,33	Argentina	América del Sur
20	Criollo Argentino - Caballo Peruano de Paso	1	2	50,00	Argentina/Perú	América del Sur
21	Criollo Brasileño	4	6	66,67	Brasil	América del Sur
22	cruce Árabe-Bereber	1	8	12,50	norte de África	norte de África
23	Cuarto de Milla	1	1	100,00	USA	América del Norte
24	Curly	1	2	50,00	USA	América del Norte
25	Duelmener	9	10	90,00	Alemania	resto de Europa
26	Español venezolano	3	5	60,00	Venezuela	América del Sur
27	Florida Cracker	2	3	66,67	USA	América del Norte
28	Frisón	1	3	33,33	Países Bajos	resto de Europa
29	Garrano	5	16	31,25	Portugal	península ibérica
30	Guizhou	12	62	19,35	China	Asia: sector oriental
31	Haflinger	8	29	27,59	Italia	resto de Europa
32	Hispano-Bretón	4	35	11,43	España	península ibérica
33	Holsteiner	1	11	9,09	Alemania	resto de Europa
34	Iraní	3	44	6,82	Irán	Asia: sector sur y occidental
35	Iraní no especificado	1	14	7,14	Irán	Asia: sector sur y occidental
36	Italiano de Tiro Pesado	4	27	14,81	Italia	resto de Europa
37	italiano no especificado	1	3	33,33	Italia	resto de Europa
38	Jakuto	5	21	23,81	Rusia	Asia: sector norte y este de Siberia
39	Kazajo	3	18	16,67	China	Asia: sector oriental
40	Kiger Mustang	5	27	18,52	USA	América del Norte
41	Konik	1	6	16,67	Polonia	resto de Europa
42	Lipizano	14	60	23,33	Italia / Eslovenia	resto de Europa
43	Losino	1	12	8,33	España	península ibérica
44	Mallorquina	1	6	16,67	España	península ibérica
45	Mangalarga Marchador	2	4	50,00	Brasil	América del Sur
46	Maremmano	2	40	5,00	Italia	resto de Europa

Tabla 8.1.11.2.11. ***Razas / variedades de caballos del haplogrupo D1-D3/L.*** Continuación.

	RAZA / VARIEDAD	N	TOTAL	PORCENTAJES	ORIGEN	LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA
47	Marismeño	5	12	41,67	España	península ibérica
48	Mesenskay	1	18	5,56	Rusia	Asia: sector sur y occidental
49	Mongol	6	27	22,22	Mongolia	Asia: sector oriental
50	Murgesse	5	23	21,74	Italia	resto de Europa
51	Mustang (asilvestrado)	13	36	36,11	USA	América del Norte
52	Mustang Español	3	4	75,00	USA	América del Norte
53	Ningqiang	1	27	3,70	China	Asia: sector oriental
54	Orlov	1	19	5,26	Rusia	Asia: sector sur y occidental
55	Paint Horse	2	2	100,00	USA	América del Norte
56	Pantaneiro	1	6	16,67	Brasil	América del Sur
57	Paso Fino Colombiano	3	5	60,00	Colombia	América del Sur
58	Paso Fino de Puerto Rico	1	4	25,00	Puerto Rico	América del Norte
59	Percherón	1	1	100,00	Francia	resto de Europa
60	Peruana de Paso	5	9	55,56	Perú	América del Sur
61	Poni Caspiano	3	22	13,64	Irán	Asia: sector sur y occidental
62	Poni de Connemara	2	12	16,67	Irlanda	resto de Europa
63	Poni de Dales	2	12	16,67	Reino Unido	resto de Europa
64	Poni de Dartmoor	1	12	8,33	Reino Unido	resto de Europa
65	Poni de Eriskay	1	12	8,33	Reino Unido	resto de Europa
66	Poni de Fell	2	26	7,69	Reino Unido	resto de Europa
67	Poni de Fjord	7	24	29,17	Noruega	resto de Europa
68	Poni de Gales	2	15	13,33	Reino Unido	resto de Europa
69	Poni de Lac La Croix	6	10	60,00	Canadá	América del Norte
70	Poni de las Highlands	3	42	7,14	Escocia	resto de Europa
71	Poni de las Shetlands	10	64	15,63	Escocia	resto de Europa
72	Poni de Liebenthaler	1	2	50,00	Alemania	resto de Europa
73	Poni de Manipuri	2	11	18,18	India	Asia: sector sur y occidental
74	Poni de Newfoundland	11	17	64,71	Canadá	América del Norte
75	Poni Islandés	5	45	11,11	Islandia	resto de Europa
76	Pottoka	4	15	26,67	España	península ibérica
77	Pryor-Mountain-Mustang	2	2	100,00	USA	América del Norte
78	Pura Raza Española	28	68	41,18	España	península ibérica
79	Pura Sangre Inglés	6	46	13,04	Reino Unido	resto de Europa
80	Pura Sangre Lusitana	16	43	37,21	Portugal	península ibérica
81	Rottaler	5	9	55,56	Alemania	resto de Europa
82	Sable Island (asilvestrado)	19	21	90,48	Canadá	América del Norte
83	San Pedro y Miquelón (asilvestrado)	3	11	27,27	Francia	América del Norte
84	Sarcidano	3	5	60,00	Italia	resto de Europa
85	Shire	5	10	50,00	Reino Unido	resto de Europa
86	Sorraia (Pomba)	1	21	4,76	Portugal	península ibérica
87	Sulphur Mustang	6	6	100,00	USA	América del Norte
88	Sulphur-Springs-Mustang	17	17	100,00	USA	América del Norte
89	Trakehner	3	7	42,86	Antigua Prusia oriental (actual Rusia)	Asia: sector sur y occidental
90	Trotador americano	1	13	7,69	USA	América del Norte
91	Ventasso	6	36	16,67	Italia	resto de Europa
92	Viatka	4	18	22,22	Rusia	Asia: sector sur y occidental

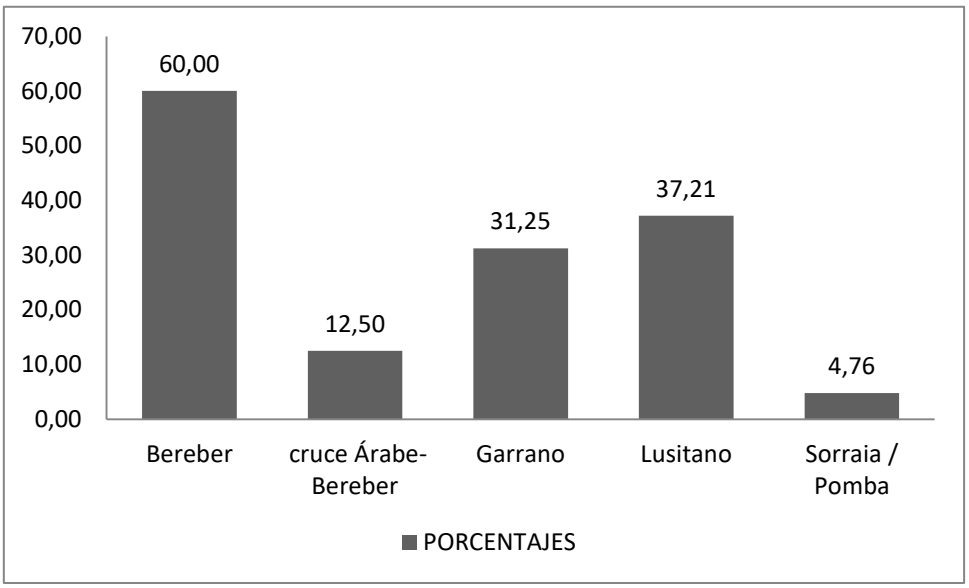


Figura 8.1.11.2.11. ***Porcentaje de caballos de razas portuguesas y del norte de África en el haplogrupo D1-D3/L*.**

Se puede observar también una amplia representación en las razas americanas (Tabla 8.1.11.2.11). Para América del Norte (Figura 8.1.11.2.12), 18 razas están representadas en este haplogrupo con 101 caballos. Todos los ejemplares de Sulphur-Spring-Mustang o Sulphur Mustang entre otros, están representados. El 75% de los Mustang Español ($n_{\text{total raza}}$=4), el 90,48% del Sable Island canadiense ($n_{\text{total raza}}$=21), el 64,71% de Poni de Newfoundland ($n_{\text{total raza}}$ =17) o el 60% del Poni de Lac La Croix ($n_{\text{total raza}}$=10). Entre las razas de América del Sur, podemos señalar en este haplogrupo el 60% de los Paso Fino colombianos ($n_{\text{total raza}}$=5), el 55,56% del Peruana de Paso ($n_{\text{total raza}}$=9), el 50% de los Mangalarga Marchador brasileños ($n_{\text{total raza}}$ =4), el 66,67% del Criollo Brasileño ($n_{\text{total raza}}$ =6), Chilote (75%, $n_{\text{total raza}}$=4) o Español venezolano (60%, $n_{\text{total raza}}$=5), entre otros (Figura 8.1.11.2.13).

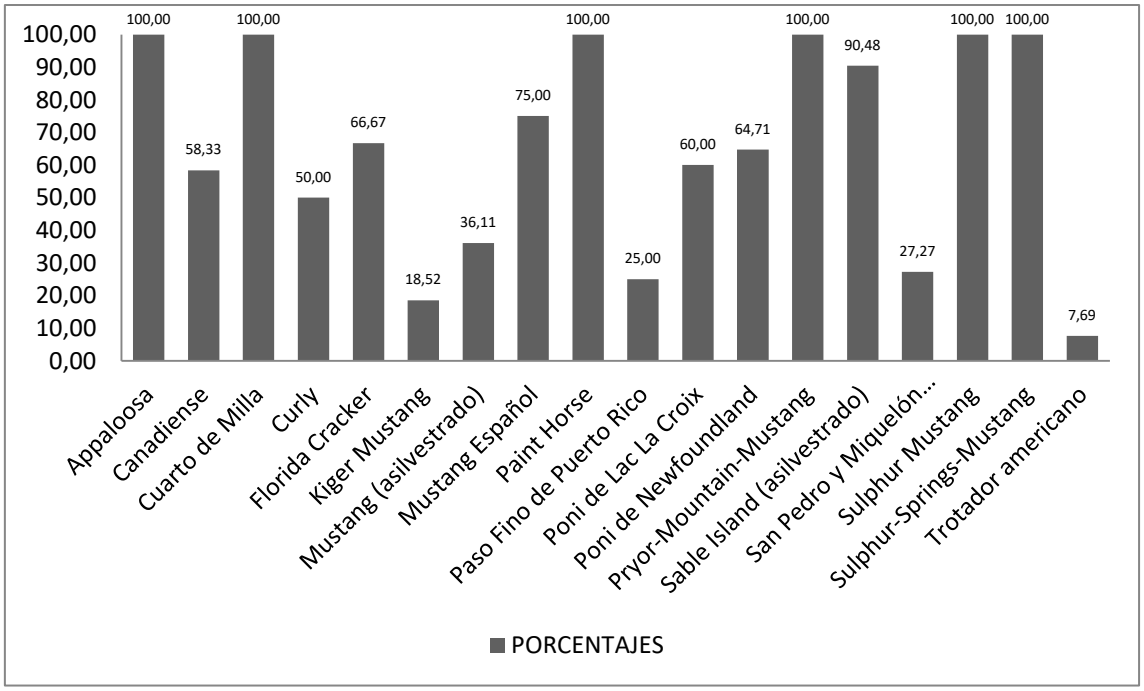


Figura 8.1.11.2.12. ***Porcentaje de caballos de razas norteamericanas en el haplogrupo D1-D3/L***. Appaloosa, Cuarto de Milla, Paint Horse y Pryor Mountain Mustang presentan n_{total}=1 ó 2.

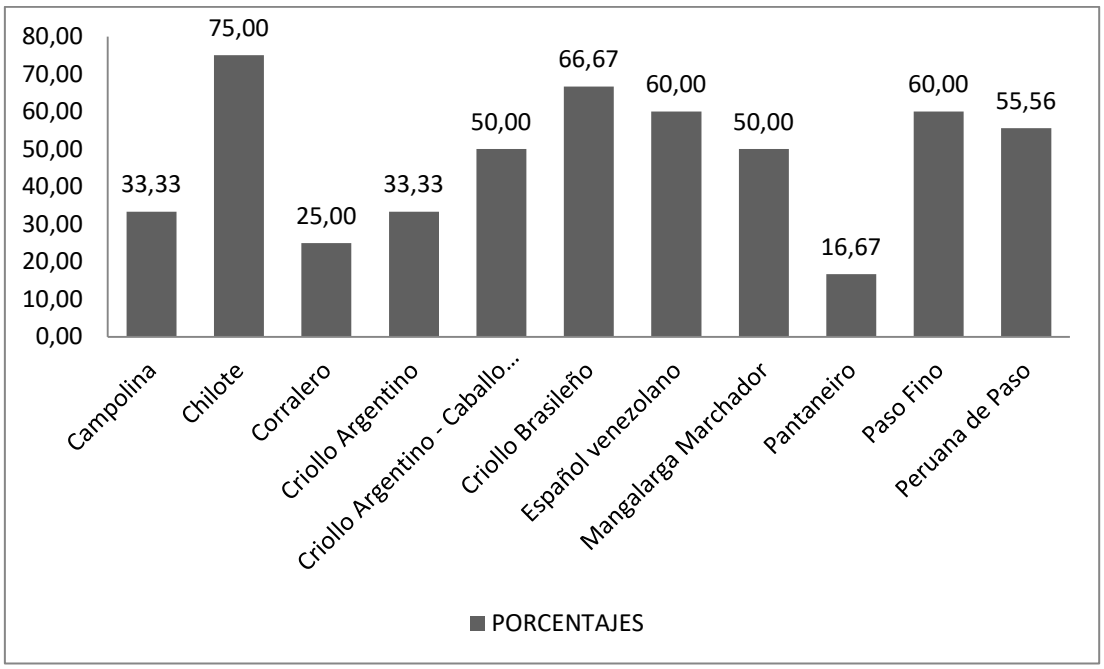


Figura 8.1.11.2.13. ***Porcentaje de caballos de razas de América del Sur en el haplogrupo D1-D3/L.***

En Asia, 14 razas están asociadas al haplogrupo D1-D3/L y representadas por 52 caballos (Figura 8.1.11.2.14). La mayor representación se encuentra en la raza Trakhener (42,86%, $n_{total\ raza}$=7), seguida del Caballo de la Montaña de Guan (30%, $n_{total\ raza}$=10), Jakuto (23,81%, $n_{total\ raza}$=21), Mongol (22,22%, $n_{total\ raza}$=27) y Viatka (22,22%, $n_{total\ raza}$=18), entre otras.

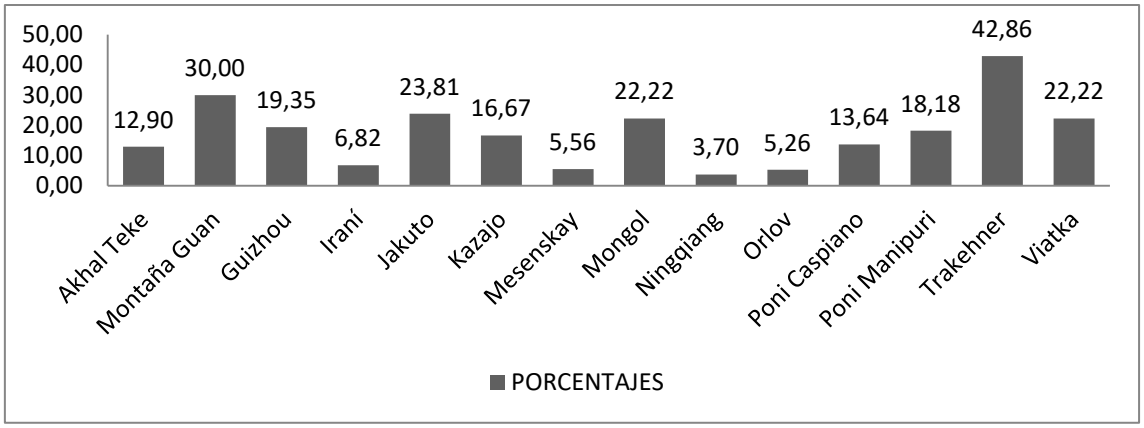


Figura 8.1.11.2.14. ***Porcentaje de caballos de razas asiáticas en el haplogrupo D1-D3/L.***

Para el resto de Europa (exceptuando la península ibérica), 133 caballos de, por lo menos, 31 razas se encuentran asociados al haplogrupo D1-D3/L (Figura 8.1.11.2.15). A excepción del Caballo de Deporte Alemán y el Percherón ($n_{\text{total raza}}$ =1 en ambos), las razas con más representación son Duelmener (90%, $n_{\text{total raza}}$=10), Sarcidano (60%, $n_{\text{total raza}}$=5), Rottaler (55,56%, $n_{\text{total raza}}$=9) o Shire (50%, $n_{\text{total raza}}$=10), entre otras.

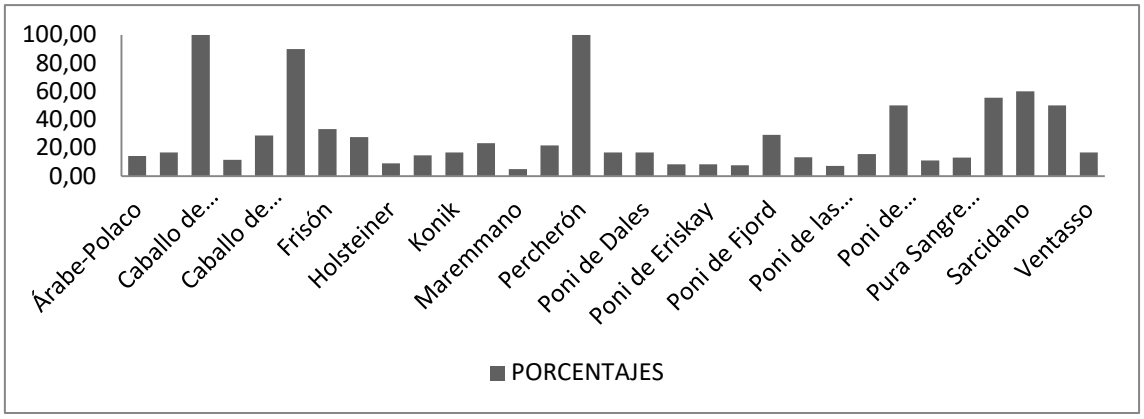


Figura 8.1.11.2.15. ***Porcentaje de caballos de razas del resto de Europa (exceptuando Iberia) en el haplogrupo D1-D3/L.*** Caballo de Deporte Alemán y Percherón presentan n_{total}=1.

A partir de las 124 razas o variedades analizadas en este trabajo, observamos que el haplogrupo D1-D3/L no solo se encuentran representado principalmente en las razas de caballos de origen ibérico y del norte de África, sino que también está representado en todas las razas de caballos asiáticos analizadas, y en la mitad de las razas de caballos europeos (exceptuando las ibéricas) (Tabla 8.1.11.2.12, Figura 8.1.11.2.16). Es un haplogrupo ampliamente distribuido de manera global.

Tabla 8.1.11.2.12. ***Relación de razas distribuidas por regiones con ejemplares asociados al haplogrupo D1-D3/L.***

RAZAS / VARIEDADES			
ORIGEN	**TOTAL**	**D1-D3/L**	**% D1-D3/L**
España	10	9	90
Portugal	3	3	100
Norte de África	2	2	100
Próximo Oriente	1	1	100
América del Norte	18	18	100
América del Sur	13	11	84,6
Asia	14	14	100
Resto de Europa	63	31	49,2
TOTAL	**124**	**89**	

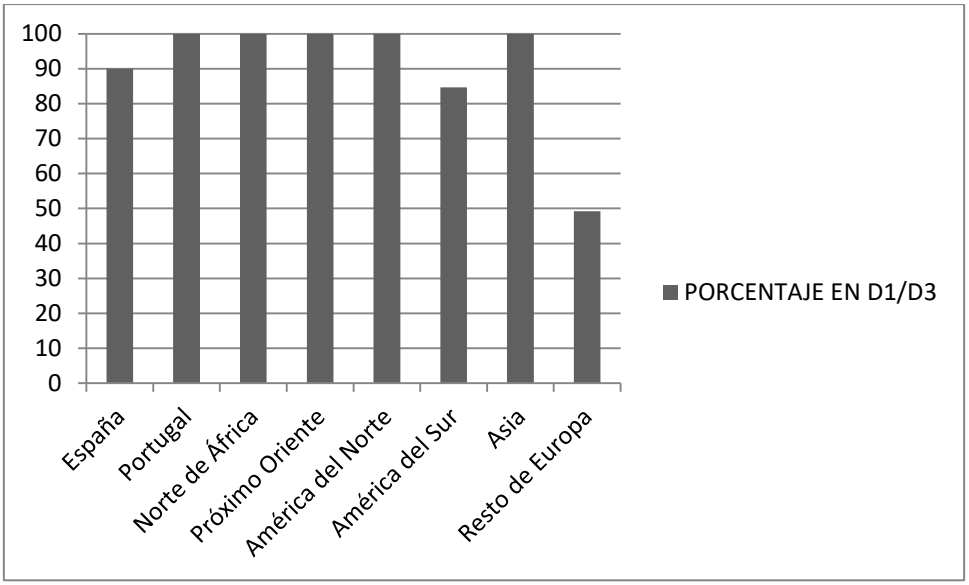


Figura 8.1.11.2.16. ***Porcentaje de razas distribuidas por regiones con ejemplares relacionados con el haplogrupo D1-D3/L.***

8.1.11.2.3.10. Relación de las secuencias modernas no ibéricas con la raza Sorraia

Podemos observar que, de los tres haplotipos que caracterizan a los caballos de raza Sorraia, los linajes de Azambuja y Cigana presentan una gran cantidad de caballos modernos no ibéricos (Figura 8.1.11.2.17).

El haplotipo de Azambuja es el mismo que el haplotipo central del haplogrupo A1/G. El haplotipo de Azambuja presenta 89 individuos de 33 razas (por lo menos siete ibéricas, tres razas de origen ibérica y las 23 restantes de diferentes partes del mundo) (Anexo XVb), con lo que se confirma que es un haplotipo distribuido en una gran cantidad de razas y no es exclusivo de la península ibérica. De hecho, en el gráfico de redes 2 pudimos observar que las muestras más antiguas del haplotipo central del haplogrupo A1/G eran asiáticas, y su presencia en Europa no se constataba hasta la Edad Media.

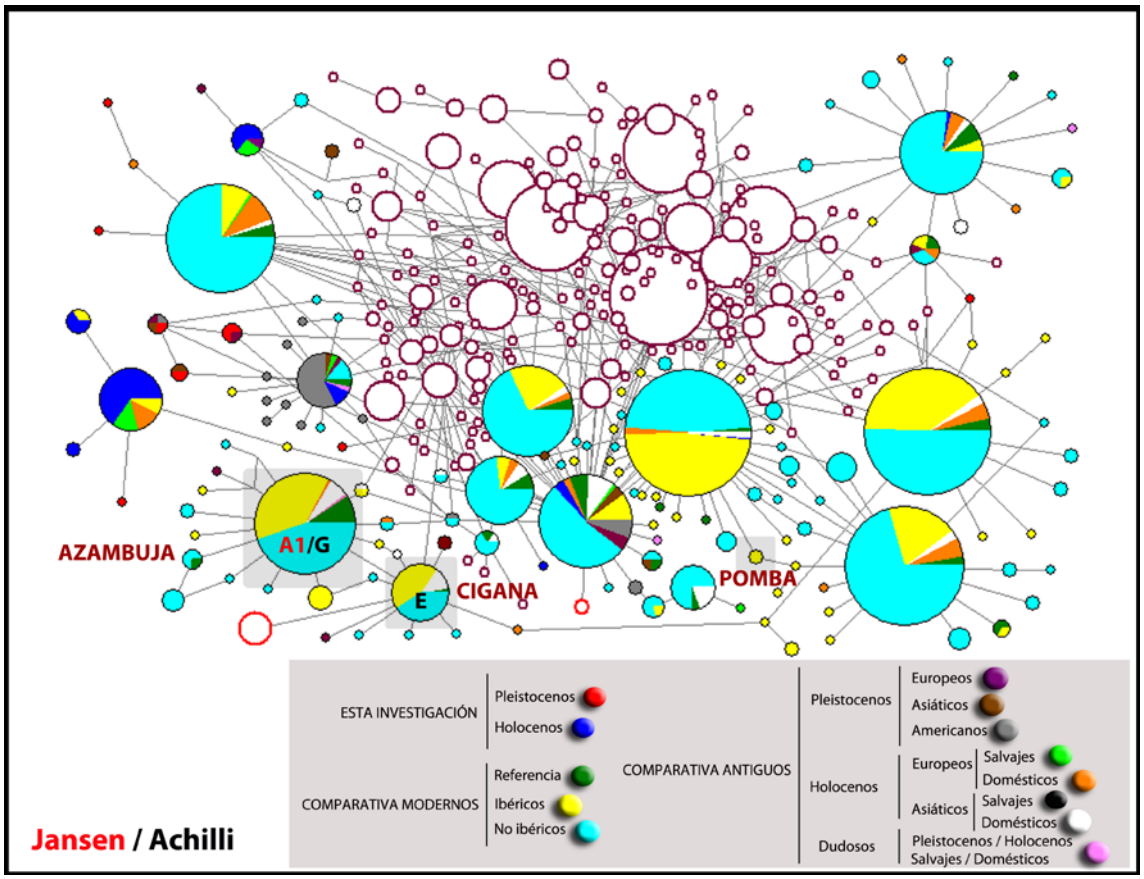


Figura 8.1.11.2.17. ***Gráfico de redes 3 con la representación de los haplotipos con representantes de la raza Sorria*** En recuadros más oscuros se representan los linajes Cigana, Azambuja y Pomba.

El haplotipo de Cigana (haplotipo central del haplogrupo E de Achilli), se ha documentado en 28 caballos de 13 razas (cuatro ibéricas, una de origen ibérico y las ocho restantes de todo el mundo) (Anexo XVb). En este haplotipo las muestras más antiguas eran

también asiáticas. En este haplotipo no se han documentado muestras antiguas ibéricas. Teniendo en cuenta los haplotipos periféricos que constituyen el haplogrupo, las evidencias más antiguas europeas son un ejemplar pleistoceno de los Urales y otro húngaro de la Edad Media. En su conjunto, estos resultados tampoco apoyan la asociación exclusiva del haplotipo Cigana a la península ibérica.

Por su parte, el haplotipo Pomba muestra una frecuencia menor a los otros dos, ya que solo se ha documentado en dos ejemplares ibéricos, de las razas Sorraia y Pura Sangre Lusitana. Como observamos en los gráficos de redes 1 y 2, no hay ejemplares antiguos ibéricos asociados a Pomba. Examinando la antigüedad de los haplotipos cercanos D2 y D3 de Jansen, la evidencia más antigua de D2 es de la Edad del Bronce de Moldavia, y su presencia en Iberia se constata desde la Edad Media. La evidencia más antigua de D3 es de la Edad del Hierro de Mongolia, y en la península ibérica lo hemos detectado a partir de la Edad de Hierro (con la muestra CR65, como se ha descrito en los gráfico de redes 1 y 2).

8.1.11.2.3.11. Relación de las secuencias modernas no ibéricas con la raza Marismeña

De manera análoga a lo comentado en la raza Sorraia, la raza Marismeña se caracteriza por presentar a sus ejemplares compartiendo haplotipos con una gran cantidad de caballos de diferentes razas (Figura 8.1.11.2.18). No hay ningún haplotipo que contenga exclusivamente caballos marismeños. El único haplotipo donde sólo se han documentado caballos marismeños asociados a otros caballos exclusivamente ibéricos ha sido en el haplotipo principal del haplogrupo Lusitano C, comentado anteriormente (Anexo XIVb, Anexo XVb).

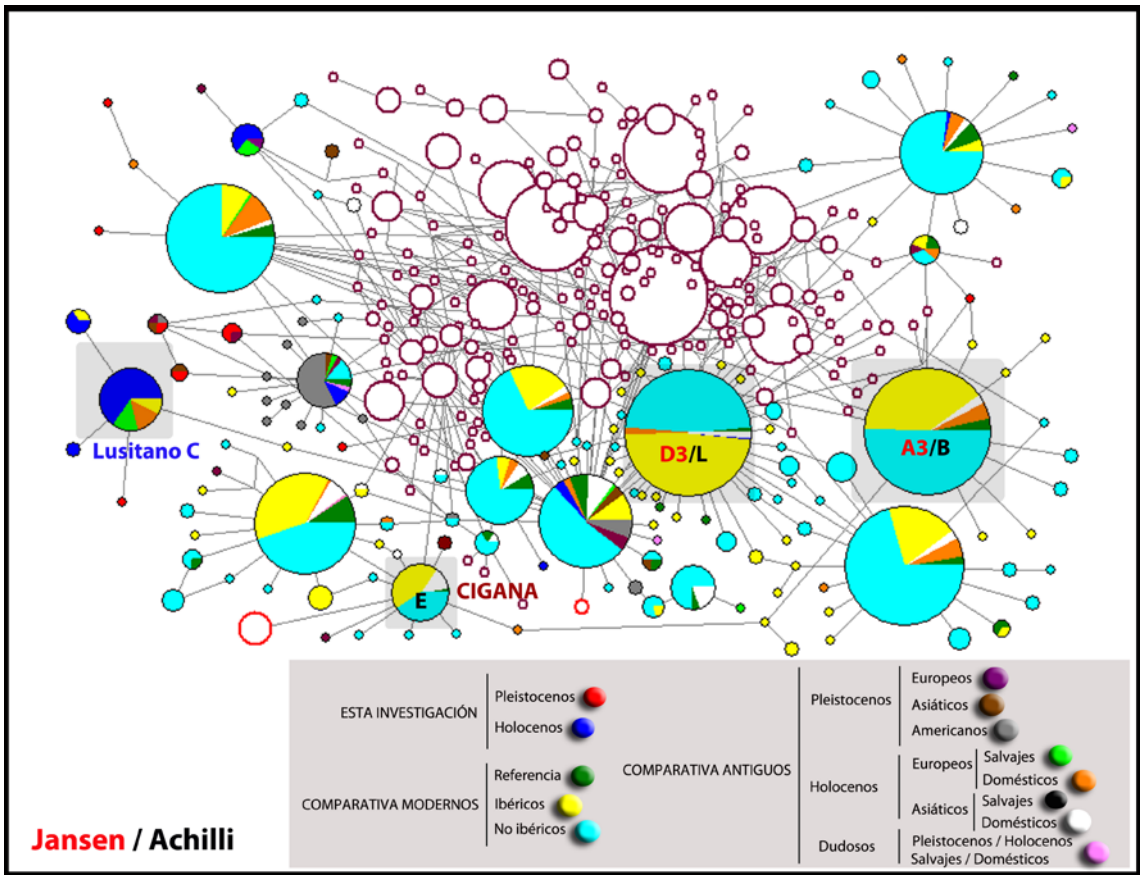


Figura 8.1.11.2.18. ***Gráfico de redes 3 con la representación de los haplotipos con ejemplares de la raza Marismeña***. En recuadros más oscuros se representan el haplotipo central del haplogrupo Lusitano C, haplotipo Cigana de Sorraia, y haplotipos centrales de los haplogrupos D1-D3/L y A3/B.

Por otro lado, se han documentado ejemplares de raza Marismeña en el haplotipo Cigana, comentado en el apartado anterior. También se han encontrado caballos de raza Marismeña en el haplotipo central del haplogrupo D1-D3/L, cuyas características ya se han detallado anteriormente (Anexo XVb).

Asimismo, también se ha detectado a caballos de esta raza en el haplotipo central del haplogrupo A3/B. Este haplotipo está formado por 147 caballos modernos de, por lo menos, 50 razas. Ocho razas son españolas y portuguesas, 10 son de caballos de origen ibérico y las 32 restantes son de caballos del resto del mundo (Anexo XVb).

Estos resultados corroboran la interpretación realizada con el gráfico de redes 2, que otorgaba al haplogrupo Lusitano C una importancia singular en la formación de la raza Marismeña.

8.1.12. Distribución de haplogrupos en poblaciones ibéricas, euroasiáticas y americanas a partir de los gráficos de redes

A partir de las muestras antiguas (ibéricas y no ibéricas) y las modernas (ibéricas y no ibéricas) representadas en los gráficos de redes, se han realizado análisis de las frecuencias absolutas y los porcentajes de distribución de haplogrupos en poblaciones ibéricas, europeas, asiáticas y americanas. Estas poblaciones se han analizado para diferentes momentos entre el Pleistoceno superior y tiempos históricos (Anexo XIIIc, Anexo XIIId) a partir del gráfico de redes 1 (Figura 8.1.11.2.1). Además, también se ha utilizado la información del gráfico de redes 2 (Figura 8.1.11.2.5, Anexo XIVc, Anexo XIVd) y la del gráfico de redes 3 (Figura 8.1.11.2.9, Anexo XVc). La finalidad de este estudio ha consistido en detectar cambios en la composición de los haplogrupos ibéricos a lo largo del tiempo, que pudieran estar asociados con la persistencia de linajes mitocondriales en la península ibérica o entrada de linajes nuevos; determinar los haplogrupos que han podido llegar hasta las poblaciones actuales ibéricas y de origen ibérico, y contrastar los haplogrupos que comparten las poblaciones actuales ibéricas y de origen ibérico con las poblaciones no ibéricas. Debido a que el momento considerado como más probable para la presencia de caballos domésticos en Iberia tuvo lugar durante el Calcolítico (Precampaniforme o Campaniforme) o la Edad del Bronce (Bronce antiguo o Bronce medio o Bronce final), se ha intentado asociar con mayor precisión las muestras ibéricas de nuestros análisis a sus etapas culturales, según como se detalla en el apartado *7.4.15. Análisis de Componentes Principales*.

De las 369 secuencias antiguas que componen la muestra utilizada en la elaboración de los gráficos de redes 1 y 2, se han podido utilizar 335 secuencias. Las 34 secuencias antiguas no utilizadas son muestras vinculadas a reticulaciones, no pudiendo discriminar con exactitud el haplogrupo al que pertenecen (Anexo XIIIc, Anexo XIIId). Una situación similar ha ocurrido con las muestras modernas en el gráfico de redes 2: de los 524 caballos ibéricos y de origen ibérico de la comparativa, hemos usado 500 (Anexo XIVc, Anexo XIVd). En el caso del gráfico de redes 3, hemos utilizado la información de las muestras modernas no ibéricas de aquellos haplogrupos que hemos analizado en detalle en este gráfico de redes 3. Al no poder diferenciar con toda exactitud alguno de los haplotipos periféricos de los haplogrupos analizados, y no haber analizado los haplogrupos de Achilli D, G, J, K, N, O, Q y R, para estos haplogrupo se ha usado la información procedente de los gráficos de redes 1 y 2 con los que se definieron los mismos (Anexo XIIIb, Anexo XIVb). De este modo, de las 1428 secuencias de caballos modernos no ibéricos de la comparativa, se han utilizado 871, y de los 524 caballos

modernos ibéricos y de origen ibérico, se han utilizado 481 (Anexo XVc). Los resultados obtenidos a partir del gráfico de redes 3 (Figura 8.1.12.1) son coherentes con los obtenidos con los gráficos de redes 1 y 2 (Anexo XIIId, Anexo XIVd).

Para una mejor lectura de las tablas y los histogramas obtenidos, en el análisis de distribución de haplogrupos que vamos a detallar, únicamente se ha utilizado la nomenclatura de Achilli. Todos los haplogrupos de Achilli aparecen representados. Además, los haplogrupos A y B de Achilli aparecen juntos, debido a que en los gráficos de redes 1, 2 y 3 compartían muestras modernas. El haplogrupo M de Achilli se ha estructurado en dos haplogrupos: C1/M y ---/M tal y como se representa en los gráficos de redes 1, 2 y 3. El análisis también incluye a los haplogrupos nuevos detectados en los gráficos de redes: los haplogrupos CFo01 (Lusitano C) y CFo02 y dos haplogrupos constituidos por caballos pleistocenos americanos. En los gráficos de redes 1 y 2, estos haplogrupos están representados por el haplotipo central 177 y por 199. Aunque en el gráfico de redes 3 no se detallan, estos haplogrupos con haplotipo central 177 y 199 aparecen distribuidos de modo similar a los gráficos de redes anteriores (Anexo XVc, Figura 8.1.12.1).

Este análisis permite destacar la singularidad en la composición de haplogrupos de las muestras ibéricas. Con las muestras que hemos utilizado en los gráficos de redes, durante el Pleistoceno los caballos ibéricos se caracterizan por pertenecer a los haplogrupos Lusitano C, A-B, C1/M e I (para este último, considerando la asocación pleistocena de la muestra de Bora Gran, BG14). Durante el Holoceno, entre las muestras antiguas los haplogrupos que se detectan en las poblaciones ibéricas son, nuevamente el Lusitano C y A-B y, como haplogrupos nuevos, aparecen C, L, ---/M, P y CFo02 (Figura 8.1.12.1).

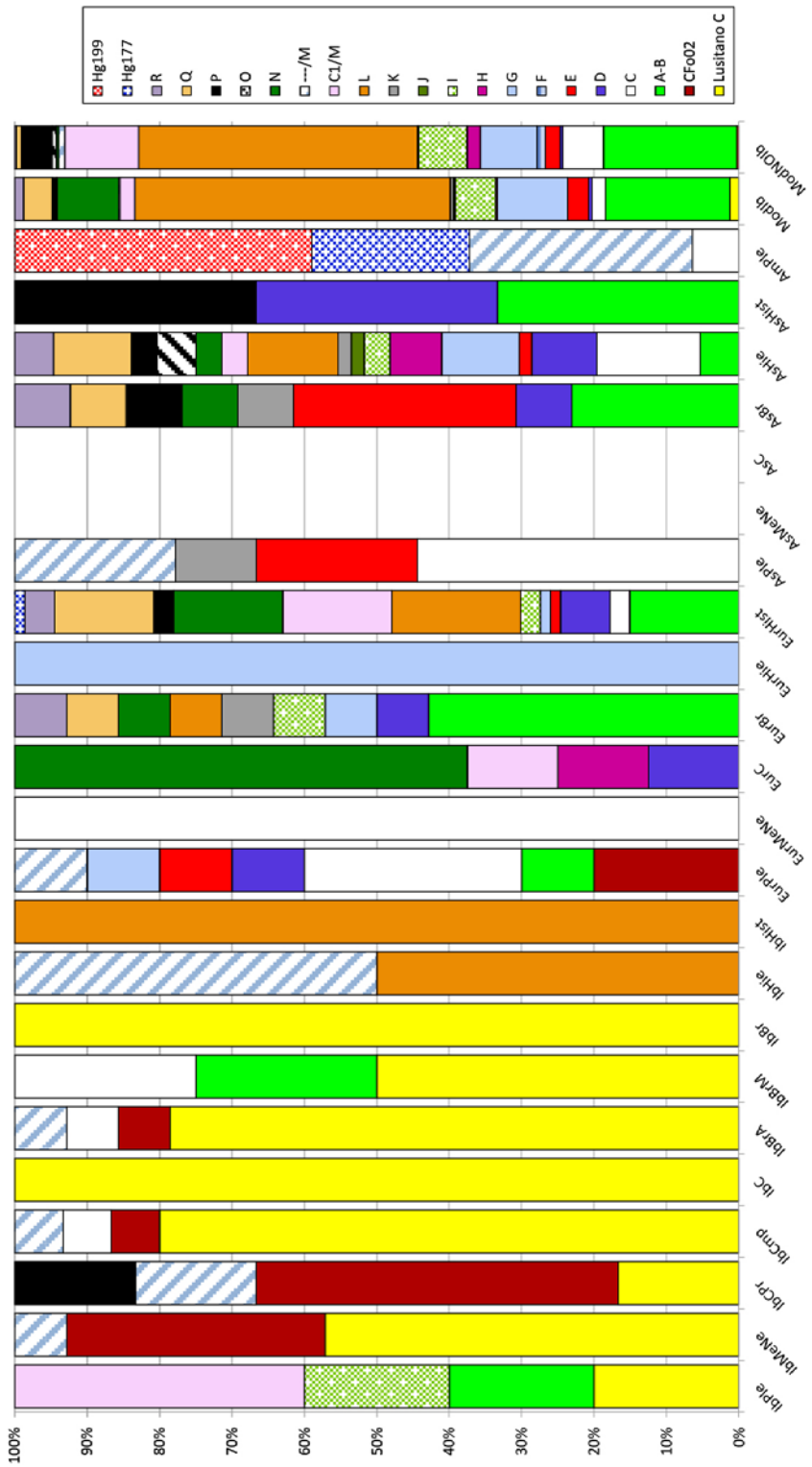


Figura 8.1.12.1. ***Distribución de haplogrupos entre poblaciones ibéricas, europeas, asiáticas y americanas***. Información obtenida a partir de los gráficos de redes. **Poblaciones ibéricas:** IbPle, Iberia Pleistoceno; IbMeNe, Iberia Mesolítico/Neolítico; IbCPr, Iberia Calcolítico precampaniforme; IbCmp, Iberia Calcolítico campaniforme; IbC, Iberia Calcolítico; IbBrA, Iberia Bronce antiguo; IbBrM, Iberia Bronce medio; IbBr, Iberia Edad del Bronce; IbHie, Iberia Edad del Hierro; IbHist, Iberia histórico. **Poblaciones europeas:** EurPle, Europa Pleistoceno; EurMeNe, Europa Mesolítico/Neolítico; EurC, Europa Calcolítico; EurBr, Europa Edad del Bronce; EurHie, Europa Edad del Hierro; EurHist, Europa histórico. **Poblaciones asiáticas:** AsPle, Asia Pleistoceno; AsMeNe, Asia Mesolítico/Neolítico; AsC, Asia Calcolítico; AsBr, Asia Edad del Bronce; AsHie, Asia Edad del Hierro; AsHist, Asia histórico. **Poblaciones americanas:** AmPle. **Poblaciones modernas ibéricas y de origen ibérico:** ModIberia. **Poblaciones modernas no ibéricas:** ModNOIberia.

Los haplogrupos I y C1/M, presentes en Iberia durante el Pleistoceno, no se detectan entre las muestras antiguas holocenas ibéricas, aunque sí están representadas entre las muestras modernas ibéricas y de origen ibérico (Figura 8.1.12.1). No se han encontrado individuos de estos haplogrupos entre los caballos pleistocenos euroasiáticos. El haplogrupo I se detecta en Europa a partir de la Edad del Bronce, y en Asia a partir de la Edad del Hierro (Figura 8.1.12.1). El haplogrupo C1/M se detecta en Europa a partir del Calcolítico, y en Asia a partir de la Edad del Hierro (Figura 8.1.12.1). Estas evidencias sugieren que su presencia entre individuos modernos de origen ibérico estaría más relacionada con la entrada en Iberia de efectivos a partir de poblaciones ya domésticas, en algún momento difícil de concretar con estos datos.

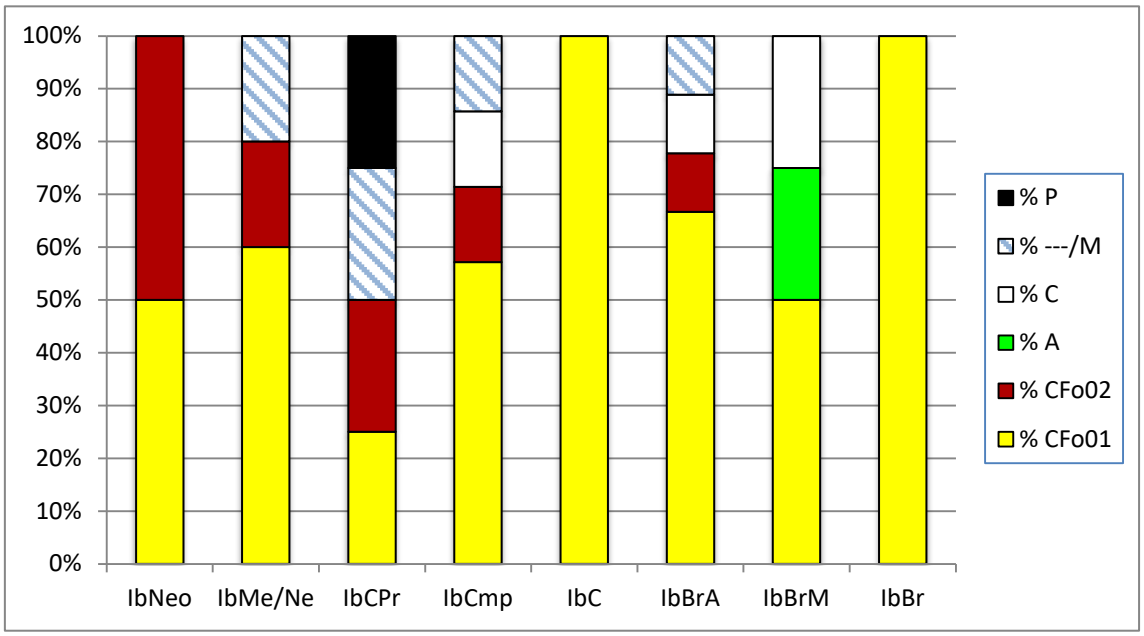


Figura 8.1.12.2. ***Porcentajes de representación del Número Mínimo de Individuos (NMI) en poblaciones ibéricas holocenas anteriores a la Edad del Hierro***. Poblaciones: IbNeo, Iberia Neolítico; IbMeNe, Iberia Mesolítico/Neolítico; IbCPr, Iberia Calcolítico precampaniforme; IbCmp, Iberia Calcolítico campaniforme; IbC, Iberia Calcolítico; IbBrA, Iberia Bronce antiguo; IbBrM, Iberia Bronce medio; IbBr, Iberia Edad del Bronce.

Los haplogrupos Lusitano C y A-B aparecen durante el Pleistoceno y el Holoceno en Iberia, pero solamente el Lusitano C mantiene una presencia continuada entre las muestras antiguas holocenas ibéricas, desde el Mesolítico/Neolítico hasta el Bronce medio, y solamente se desarrolla en la península ibérica (Figura 8.1.12.1). Se puede observar un aumento significativo de la presencia del Lusitano C a partir del Calcolítico campaniforme, donde el 80% de las muestras corresponden con este haplogrupo. Durante el Bronce antiguo su presencia también alcanza casi el 80%, y en el Bronce medio disminuye hasta valores del 50%. Los datos ofrecidos por el Número Mínimo de Individuos (NMI) también son compatibles con una

presencia destacada de individuos de este haplogrupo a partir del Calcolítico campaniforme, donde casi el 60% de los individuos determinados pertenecen al Lusitano C (Anexo XIIIe, Figura 8.1.12.2). Respecto al NMI, durante el Bronce antiguo la representatividad del Lusitano C alcanza casi el 70% de los individuos determinados de este estudio. Sin embargo, observamos en el Bronce medio una disminución, alcanzando valores de representatividad del 50% de individuos (Anexo XIIIe, Figura 8.1.12.2). A partir de estos datos, la presencia continuada de este haplogrupo desde el Pleistoceno hasta la Edad del Bronce y su detección durante el Holoceno en territorio exclusivamente ibérico, permite descartar la posibilidad de que se trate de un haplogrupo introducido en Iberia por factores antrópicos y refuerza la propuesta de ser un haplogrupo desarrollado a partir de poblaciones salvajes holocenas exclusivamente ibéricas. En la actualidad, tiene una representación residual entre las muestras modernas ibéricas y de origen ibérico, donde solamente un 1,1% de las 524 muestras seleccionadas pertenecen a este haplogrupo.

El haplogrupo A-B se ha detectado en Iberia en muestras pleistocenas y otras posteriores del Bronce medio. Podría considerarse la posibilidad de que fuera un haplogrupo que se ha mantenido en suelo ibérico durante el Holoceno. Sin embargo, su ausencia entre las muestras holocenas ibéricas mesolíticas/neolíticas, calcolíticas y del Bronce antiguo analizadas, y su presencia en muestras holocenas europeas y asiáticas a partir de la Edad del Bronce, hacen más compatible que sea un haplogrupo reintroducido durante el Bronce medio con efectivos domésticos (Figura 8.1.12.1). Con respecto a su distribución en Europa y Asia durante la primera mitad del Holoceno, el sesgo en la muestra de caballos euroasiáticos anteriores a la Edad del Bronce no permite realizar interpretaciones más precisas. Respecto al NMI del haplogrupo A-B, el 25% de los caballos del ibéricos del Bronce medio determinados en este estudio pertenecen a este haplogrupo (Anexo XIIIe, Figura 8.1.12.2). En la actualidad, el haplogrupo A-B se encuentra representado en ~16% de las muestras ibéricas y de origen ibérico y además, en el ~11% de muestras no ibéricas (Figura 8.1.12.1).

Por otro lado, observamos al haplogrupo CFo02 durante el Pleistoceno en muestras procedentes de los Urales (asociadas a la porción europea de Eurasia), pero durante el Holoceno, entre las muestras antiguas se desarrolla exclusivamente en Iberia, detectado desde el Neolítico y durante todo el Calcolítico hasta el Bronce antiguo. Durante el Calcolítico precampaniforme su presencia alcanza el 50% de las muestras analizadas (Figura 8.1.12.1), representando un NMI del 25% de los caballos determinados para este periodo (Anexo XIIIe, Figura 8.1.12.2). Su representatividad disminuye durante el Campaniforme y el Bronce antiguo

(con valores de NMI entre 14 – 11 % de caballos de estos periodos), no identificándose a partir del Bronce medio (Figura 8.1.12.1, Anexo XIIIe, Figura 8.1.12.2). Como ya hemos comentado, este haplogrupo solamente se ha encontrado en dos caballos pleistocenos de los Urales de todos las secuencias pleistocenas analizadas en los gráficos de redes, ibéricas (*n*=10), europeas (n=*17*), asiáticas (*n*=15) y americanas (*n*=87). Aunque no podemos descartar un sesgo en el resto de la muestra europea, su posterior presencia holocena en Iberia podría justificarse con un movimiento migratorio hacia el occidente de Europa en algún momento a finales del Pleistoceno – comienzos del Holoceno. La presencia del haplogrupo CFo02 en Iberia durante el Holoceno, desde el Neolítico hasta la Edad del Bronce antiguo, permite descartar su introducción y desarrollo en Iberia por factores antrópicos (Anexo XIIIe, Figura 8.1.12.2). En la actualidad este haplogrupo no se encuentra representado entre las razas ibéricas y de origen ibérico actuales, pero sí se ha detectado en tres caballos modernos no ibéricos (razas Mesenskay y Ventasso), lo que supone un 0,2% de representación entre los 1428 caballos no ibéricos utilizados.

El haplogrupo ---/M se ha detectado durante el pleistoceno de manera significativa en muestras americanas (casi el 30% de las muestras americanas son de este haplogrupo) y de manera más reducida en muestras europeas (~6%) y asiáticas (~13%), pero no en muestras ibéricas pleistocenas (Anexo XVc, Figura 8.1.12.1). En cambio, durante el Holoceno este haplogrupo está ausente en toda Eurasia, a excepción de la península ibérica (Figura 8.1.12.1). Entre las muestras antiguas holocenas, la península ibérica es la única zona donde este haplogrupo está presente. Su presencia se ha detectado durante el Neolítico, Calcolítico precampaniforme, Calcolítico campaniforme, Bronce antiguo y la Edad del Hierro (Figura 8.1.12.1). La representación de individuos que hemos detectado no ofrece valores altos para este haplogrupo en Iberia: entre el Neolítico y el Bronce antiguo sus valores de NMI no superan el 25% de caballos (Anexo XIIIe, Figura 8.1.12.2). Aunque para la Edad del Hierro la muestra estudiada es muy pequeña, de los dos individuos que hemos podido analizar, uno pertenece a este haplogrupo. Su presencia continuada en Iberia durante el Holoceno sugiere un desarrollo a partir de poblaciones salvajes, y permite descartar su entrada por factores antrópicos. En la actualidad, su representación entre las muestras ibéricas y de origen ibérico es muy baja, alcanza valores de 0,2% (solo un individuo). En las muestras modernas no ibéricas, los valores de representación son de 0,5% (siete individuos pertenecen a este haplogrupo, identificados en razas italianas y del Reino Unido). En apartados anteriores ya sugeríamos que esta asociación entre los caballos antiguos ibéricos con caballos modernos del Reino Unido e italianos podía deberse a contactos culturales. Su presencia en Reino Unido

podría asociarse al desplazamiento de caballos ibéricos a las Islas Británicas durante la dominación romana (García Dory, 1980). Su presencia entre razas italianas podría vincularse con la estrecha relación que durante los siglos XV – XVIII tuvieron las monarquías españolas con la península itálica (Kavar *et al*., 2002).

El haplogrupo C se ha detectado durante el Pleistoceno en muestras americanas, asiáticas y europeas, pero sorprendentemente no en Iberia (Figura 8.1.12.1). En cambio, durante el Holoceno su representación en Eurasia está mucho más limitada temporalmente. En Europa, la única muestra holocena asociada al conjunto mesolítico/neolítico procede de Ucrania y pertenece a este haplogrupo. Este sesgo es el que provoca que, en la distribución de haplogrupos las muestras europeas mesolíticas/neolíticas pertenezcan todas al haplogrupo C (Anexo XVc, Figura 8.1.12.1). Sin embargo, no se ha detectado en muestras europeas más modernas calcolíticas (*n*= 9), de la Edad del Bronce (*n*= 15) o de la Edad del Hierro (*n*= 1), aunque sí aparece en muestras históricas europeas (*n*= 74), pero con una representación de ~3%. En Asia, durante el Holoceno, aparece solamente durante la Edad del Hierro (*n*= 59) en Kazajistán, China y Mongolia con una representación de ~14%. En cambio, durante el Holoceno en Iberia este haplogrupo está presente de manera continuada a lo largo de diferentes momentos culturales (Anexo XVc, Figura 8.1.12.1). Además, junto a la muestra ucraniana de principios del Holoceno, las muestras ibéricas son los representantes más antiguos de este haplogrupo en Eurasia. Aunque no se observa una gran representación, en Iberia este haplogrupo se detecta durante el Calcolítico campaniforme, el Bronce antiguo y el Bronce medio (Anexo XVc, Figura 8.1.12.1), con valores de representación que oscilan entre ~7 – 25% de las secuencias estudiadas. Por su parte, los valores de representación de NMI están comprendidos entre 11 – 25 % de caballos determinados (Anexo XIIIe, Figura 8.1.12.2). Estos resultados permiten sugerir que durante el Holoceno la península ibérica actuó como un área de desarrollo para el haplogrupo C, permitiendo su persistencia en Iberia mientras en el resto de Eurasia su representación disminuía, al menos desde el Calcolítico. Por ese motivo consideramos que su presencia en Iberia no se justificaría por movimientos migratorios antrópicos. Además, en el supuesto momento de entrada, entre el Calcolítico y la Edad del Bronce, este haplogrupo no se ha detectado en las muestras europeas. En la actualidad, el haplogrupo C tiene una representación mínima entre las poblaciones ibéricas y de origen ibérico, no llegando al 2% de los 524 caballos utilizados. Entre las muestras modernas no ibéricas, su representación es solo del 3,4% de los 1428 caballos analizados (Anexo XVc, Figura 8.1.12.1).

Otro resultado singular es la presencia del haplogrupo P en muestras ibéricas holocenas. En Iberia se ha detectado en una muestra asociada al Calcolítico precampaniforme, que se corresponde con el 25% del NMI de caballos determinados para este momento cultural (Anexo XIIIe, Figura 8.1.12.2). Fuera de la Península en momentos no históricos, se ha detectado solamente en Asia, en contextos culturales asociados a la Edad del Bronce y a la Edad del Hierro. En momentos históricos su presencia se mantiene en el continente asiático y, además, aparece en Europa (Anexo XVc, Figura 8.1.12.1). El caballo ibérico de este haplogrupo (ATA41) se recuperó del nivel estratigráfico 7 de El Portalón, con una cronología comprendida entre 2908 – 2700 años cal. aC, asociada al Calcolítico precampaniforme. Las fechas más jóvenes de este rango cronológico coinciden con las fechas asociadas a la entrada masiva de grupos humanos de la cultura Yamnaya desde las estepas póntico - caspianas hacia la zona de Europa central, documentadas entre hace 2800 – 2300 años cal. aC (Haak *et al*., 2015; Allentoft *et al*., 2015). Al haber un ligero solape entre estas cronologías, no podemos descartar la posibilidad de que este haplogrupo estuviera entre los caballos domésticos asociados a estos movimientos migratorios masivos, supuesto que sería necesario contrastar. Siguiendo este razonamiento, el linaje detectado en este caballo de El Portalón podría ser un representante de estas migraciones. Sin embargo, no se ha detectado este haplogrupo en Europa durante el Calcolítico y la Edad del Bronce (Anexo XIIIe, Figura 8.1.12.2). Además, de tratarse de una evidencia de entrada de caballos domésticos a Iberia, sería la primera vez que se detecta el evento migratorio en el sur de Europa originado por la cultura Yamnaya, y su representación más antigua. Los análisis que se realizaron en restos humanos italianos de la cultura calcolítica del Remedello no ofrecieron señales de esta entrada masiva (Allentoft *et al*., 2015). Aparte, entre los restos humanos calcolíticos de El Portalón, la única muestra contemporánea a este movimiento démico (ATP2) no ha presentado señales genéticas que la asocien al movimiento migratorio de la cultura Yamnaya (Günther *et al*. 2015). Al no disponer de evidencias que permitan sustentar la propuesta de una entrada con efectivos domésticos, consideramos más probable que el haplogrupo P fuera un linaje autóctono de la península ibérica, siendo ATA41 el representante holoceno de mayor antigüedad. En la actualidad, la representación de este haplogrupo entre los caballos domésticos ibéricos y de origen ibérico no alcanza el 1%, mientras que entre los modernos no ibéricos llega hasta el 2,6% (Anexo XVc, Figura 8.1.12.1).

El haplogrupo L de Achilli está formado por los haplogrupos D1, D2 y D3 de Jansen. En estos análisis, este haplogrupo ha aparecido en la península ibérica por primera vez durante la Edad del Hierro. Su representante más antiguo en Iberia es la muestra CR65 de Cancho Roano, y está localizada en el haplogrupo D1-D3 de Jansen. Posteriormente, este haplogrupo se

vuelve a detectar en Iberia durante la Edad Media (Anexo XVc, Figura 8.1.12.1). En Europa, el representante más antiguo del haplogrupo L está datado en la Edad del Bronce (1500 – 1000 años aC), a partir de una muestra de Moldavia del haplogrupo D2 (Anexo XVc, Figura 8.1.12.1). Aunque con nuestros datos no se detecta en Europa el haplogrupo L durante la Edad del Hierro, un reciente trabajo sí ha demostrado su presencia en territorio suizo para unas cronologías comprendidas entre 150 – 80 aC (Elsner, *et al*. 2016). A partir de un análisis genético realizado sobre 19 restos de caballos de tres yacimientos suizos con contextos de finales de la Edad del Hierro, se pudo comprobar que seis muestras pertenecían a este haplogrupo L (Elsner, *et al*. 2016). Por otro lado, nosotros hemos detectado nuevamente su presencia en Europa en momentos históricos. En Asia, las evidencias más antiguas del haplogrupo L pertenecen a la Edad del Hierro, y su representante más antiguo está datado en el 900 aC y concretamente asociado al haplogrupo D1-D3 (Anexo XIIIb, Anexo XVc, Figura 8.1.12.1). Por su parte, las muestra asiáticas más antiguas de la Edad del Hierro del haplogrupo D2 están datadas en 619-608 años aC (Anexo XIIIb, Anexo XVc, Figura 8.1.12.1). En la actualidad, solo entre los caballos ibéricos y de origen ibérico, el haplogrupo L se encuentra representado, por lo menos, en el 40% de los 524 caballos analizados. Entre los caballos modernos no ibéricos, su representación alcanza el 23,5% de los 1428 caballos utilizados (Anexo XVc, Figura 8.1.12.1).

Con los resultados obtenidos, la presencia en Iberia del haplogrupo L (y de los haplogrupos D1, D2 y D3) sí se justificaría por la acción de movimientos migratorios antrópicos, ocurridos posiblemente durante la segunda mitad del II milenio a C o, a partir de comienzos del I milenio aC.

Entre las muestras ibéricas, es interesante destacar que no hay cambios en la distribución de haplogrupos y porcentajes de los mismos entre las muestras del Calcolítico campaniforme y del Bronce antiguo (Anexo XVc, Figura 8.1.12.1), presentando además valores muy similares en los porcentajes de NMI detectados en ambos momentos culturales (Anexo XIIIe, Figura 8.1.12.2).

8.1.13. Análisis filogenéticos con métodos probabilísticos

Las filogenias con ML e IB se realizaron utilizando todas las secuencias generadas en nuestra investigación (*n*=80), situación que ha supuesto una oportunidad para conocer las relaciones filogenéticas de las muestras que no se pudieron analizar en los gráficos de redes. Además, también se han utilizado las 34 secuencias que se tuvieron que eliminar en los gráficos de redes (Tabla 8.1.11.2.1). Los detalles de la composición de cada matriz se encuentran detallados en el apartado *7.4.14.2.3. Análisis de datos*. Los análisis filogenéticos de ML e IB se llevaron a cabo utilizando los modelos de sustitución nucleotídica ofrecidos por jModelTest 2.1.5. Para cada una de las matrices analizadas, los modelos evolutivos propuestos fueron los siguientes (Tabla 8.1.13.1):

Tabla 8.1.13.1. ***Características de los tres grupos de matrices analizados y modelos evolutivos asociados.***

ANÁLISIS FILOGENÉTICO	SECUENCIAS							MODELOS EVOLUTIVOS			
	Jansen	Achilli	Esta investigación	Antiguas	Modernas	Grupo externo	TOTAL	jMoldelTest		ML	BI
								n	AICc		
1	17	81	80	0	0	4	182	56	K80	K80	K80
2	17	81	80	113	0	4	295	56	TIM1 +G (0,4040)	GTR + G	GTR + G
3	17	81	80	216		4	398	56	TIM1+I (0,0510)+G (0,5590)	TrN + I + G	GTR + I + G

8.1.13.1. Análisis filogenéticos con ML

- **Análisis filogenético 1 con ML:** El programa de selección de modelos evolutivos jModelTest 2.1.5, evaluó 56 modelos diferentes y seleccionó K80 o K2P como el modelo que mejor se ajusta a los datos bajo AICc. El análisis de soporte de ramas se realizó aplicando SH-aLRT en la plataforma PhyML 3.0 en combinación con el procedimiento de bootstrap no paramétrico mediante 500 pseudoréplicas.
- **Análisis filogenético 2 con ML:** Tras la evaluación de 56 modelos evolutivos, el modelo seleccionado por jModelTest 2.1.5 para estos datos fue TIM1+G (0,404) bajo AICc. La topología de ML generada por PhyML 3.0 utilizó el modelo GTR+G, por ser el más parecido a TIM1 + G, de acuerdo a Vilstrup *et al*. (2013). El análisis de soporte de ramas se realizó como en el caso anterior.
- **Análisis filogenético 3 con ML:** Se evaluaron 56 modelos evolutivos y se seleccionó TIM1 + I (0,0510) +G (0,5590) bajo AICc. En la elaboración del árbol ML se utilizó el

modelo TrN + I + G por ser el más parecido a TIM1 + I + G de acuerdo a Vilstrup *et al*. (2013). El análisis de soporte de ramas se realizó como en los casos anteriores.

8.1.13.1.1. Análisis filogenético 1 con ML

A continuación se presenta la topología que maximiza la verosimilitud de las 80 secuencias antiguas de nuestra investigación para las posiciones nucleotídicas 15.444-15.842, dado el modelo de sustitución nucleotídica K80 o K2P (Tabla 8.1.13.1). En esta topología se han podido diferenciar los 18 haplogrupos de Achilli y su correspondencia con 12 haplogrupos de Jansen (Figura 8.1.13.1). Los cinco haplogrupos de Jansen que no se han detectado han sido A3, C1, C2, F1 y F2. Para ofrecer una mayor claridad a la lectura, a partir de ahora al describir a las muestras que aparezcan en un haplogrupo definido por Jansen y Achilli, solamente se hará mención a la nomenclatura de Achilli.

Nuestras 80 muestras antiguas aparecen ampliamente distribuidas en la topología. Se ha identificado muestras en 13 haplogrupos: el haplogrupo Lusitano C, ocho haplogrupos de Achilli, y en cuatro haplogrupos nuevos (Figura 8.1.13.1). El haplogrupo Lusitano C es el que mayor cantidad de muestras presenta (*n*=26, asociadas al Neolítico, Calcolítico y la Edad del Bronce). Los ocho haplogrupos de Achilli con muestras de nuestra investigación son, por orden alfabético: A, B, I, J, K, L M y Q y, la frecuencia de muestras de nuestra investigación en ellos es variable, oscilando entre una y cuatro muestras por haplogrupo (Figura 8.1.13.1).

Los haplogrupos B, I, J y Q se caracterizan por presentar muestras pleistocenas, los haplogrupos A y K albergan muestras holocenas y en los haplogrupos L y M encontramos muestras pleistocenas y holocenas. Por su parte, entre los cuatro haplogrupos nuevos destacamos dos haplogrupos constituidos exclusivamente por secuencias pleistocenas, uno constituido por secuencias de Las Caldas y La Garma (*n*= 7, CDS04, CDS12, CDS14, CDS26, GAR03, GAR07 y GAR08) y el otro formado por las secuencias de Cueva Oscura de Ania, Cova Foradada y Las Caldas (*n*= 8, COA10, CFD02, CFD08, CDS22, CDS27, CDS29, CDS31, CDS32).

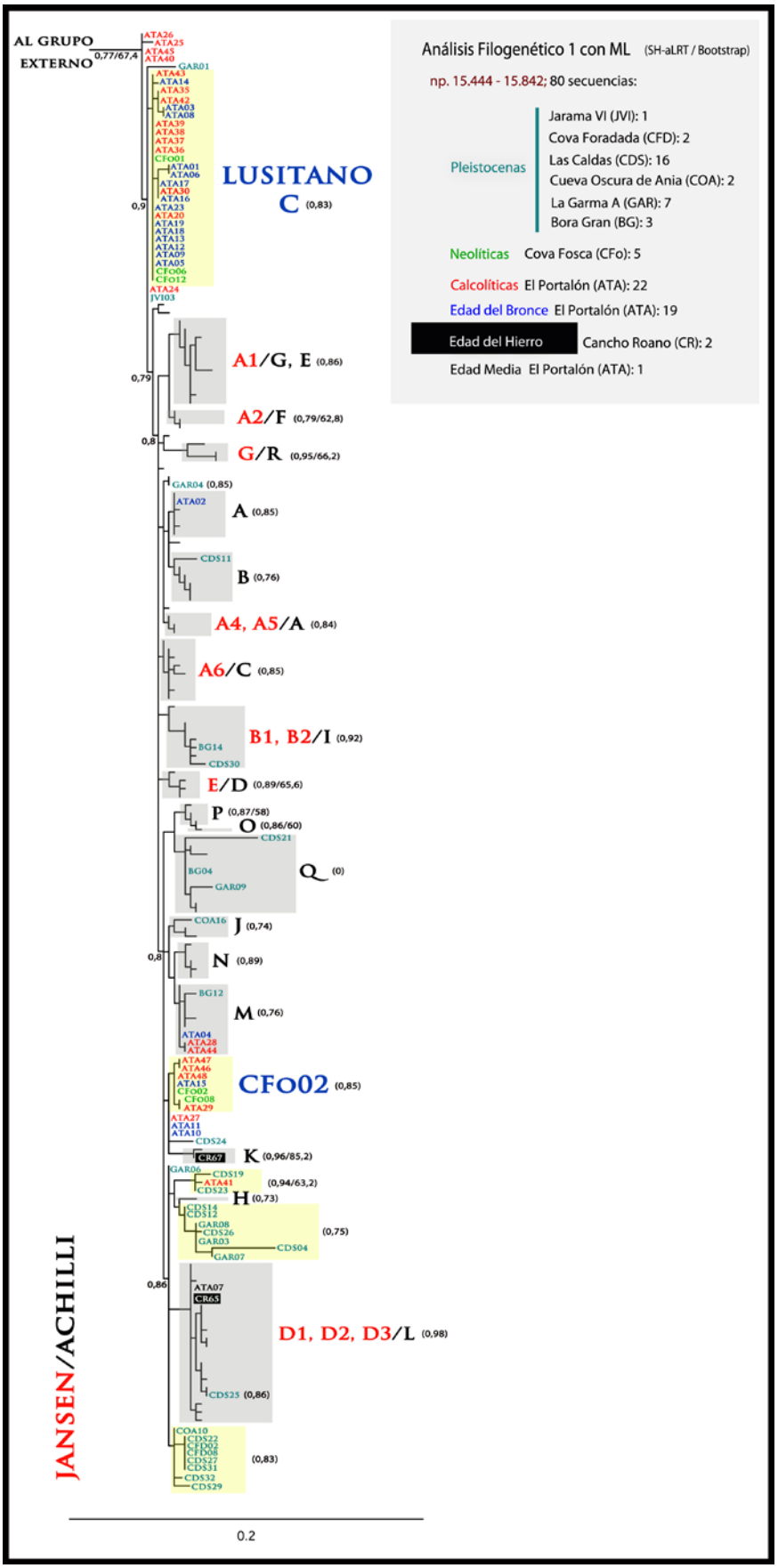


Figura 8.1.13.1. ***Análisis Filogenético 1 con ML***. Se han analizado 80 secuencias de ADN antiguo de esta investigación, np. 15.444 – 15.842. Los haplogrupos nuevos aparecen resaltados sobre fondo amarillo claro.

Al lado del nombre de cada haplogrupo, se detallan entre paréntesis los valores de los análisis de soportes de ramas (SH-aLRT / Bootstrap). Los análisis de bootstrap se presentan cuando sus valores son superiores al 50%. Solamente siete haplogrupos han presentado valores de bootstrap superiores al 50%. Estos haplogrupos son (según Achilli) D, F, K, O, P y R y el constituido por Las Caldas y El Portalón (*n*=3, CDS19, CDS23 y ATA41), identificado en este estudio. Sin embargo, estos haplogrupos se caracterizan por presentar valores de bootstrap bajos, siendo solamente el haplogrupo K el único con valores de bootstrap superiores al 70%. El análisis de soporte de ramas a partir de SH-aLRT ofrece valores aceptables y comprendidos entre 0,8 – 0,9 para diez haplogrupos: Lusitano C, el definido por CFo02, el definido por COA10, A, C, D, E-G (conjunto), N, O y P; y valores altos de soporte de ramas comprendidos entre 0,9 – 1 para cinco haplogrupos: I, K, L, R y el definido por ATA41.

A continuación, analizamos los haplogrupos de Achilli con muestras antiguas y al haplogrupo Lusitano C. Posteriormente, describiremos los cuatro haplogrupos nuevos.

Seis de los ocho haplogrupos de Achilli se caracterizan por presentar muestras pleistocenas (las muestras en paréntesis): B (CDS11) aunque asociada a valores bajos de soporte de ramas SH-aLRT, I (BG14 y CDS30), J (COA16) también con valores bajos de soporte de ramas SH-aLRT, L (CDS25), M (BG12) con valores bajos de soporte de ramas SH-aLRT y Q (BG04, CDS21 y GAR09) con valores de SH-aLRT que no sustentan soporte de ramas. Además, los haplogrupos L y M comparten secuencias con muestras holocenas: L (CR65 de la Edad del Hierro y ATA07 de época medieval) y M (ATA04 de la Edad del Bronce y las muestras calcolíticas ATA28 y ATA44). Dos haplogrupos de Achilli presentan únicamente muestras holocenas: A (ATA02 de la Edad del Bronce) y K (CR67 de la Edad del Hierro).

Al comparar estos resultados con los gráficos de redes 1, 2 y 3, comprobamos que CDS11 ya aparecía asociada a los haplogrupos A o B de Achilli, BG14 ya aparecía en el haplogrupo I, BG12 en el haplogrupo M, lo mismo que ATA04, ATA28 y ATA44. Por su parte CR65 y ATA07 ya aparecían en el haplogrupo L y ATA02 en el haplogrupo A. En cambio, COA16 aparecía en los gráficos de redes en el haplogrupo M, asociación que ahora no se sustenta. En la Filogenia 1 con ML, COA16 aparece en una rama basal del haplogrupo J, pero los valores de SH-aLRT indican que su asociación a este haplogrupo hay que considerarla con reservas. Por otro lado, esta es la primera vez que podemos asociar a las muestras CDS21, CDS25, CDS30, BG04, GAR09 y CR67 con haplogrupos de caballos modernos. Sin embargo, la ausencia de soporte de ramas por SH-aLRT para el haplogrupo Q que alberga a CDS21, BG04 y GAR09, obliga a considerar con mucha prudencia su asociación a este haplogrupo.

Destacamos además que la muestra del Magdaleniense medio GAR04, forma un clado con una muestra moderna del haplogrupo B de Achilli, y además en la topología aparece cercana a los haplogrupos A y B. Es la primera vez que podemos asociar esta muestra a un haplogrupo de caballos modernos.

En la filogenia 1 con ML se puede observar que el haplogrupo Lusitano C es el más antiguo, su separación es anterior a la del resto de haplogrupos que caracterizan a los caballos modernos.

En los gráficos de redes, las muestras GAR01, ATA24, ATA25, ATA26, ATA40 y ATA45 forman parte de ese haplogrupo Lusitano C. Aunque en la filogenia 1 con ML esta característica no se soporta, aparecen próximas al haplogrupo Lusitano C. De hecho, GAR01, ATA25, ATA26, ATA40 y ATA45 presentan una separación anterior a la del haplogrupo Lusitano C. Auque en esta filogenia con ML la muestra JVI03 de Jarama VI no aparece en este haplogrupo, representa también a un linaje que se separó con anterioridad al resto de linajes que conformarían los haplogrupos actuales.

En el haplogrupo L de Achilli se ha detectado una muestra pleistocena del Magdaleniense medio (CDS25), otra de la Edad del Hierro (CR65) y otra medieval (ATA07). La muestra CDS25 representa un fragmento parcial que se analizó para las posiciones nucleotídicas 15.687-15.842 (Análisis comparativo 6, región 3) y como se acaba de comentar, es la primera vez que podemos asociarla a uno de los haplogrupos definidos para los caballos modernos.

Entre los cuatro haplogrupos nuevos, hemos detectado dos haplogrupos constituidos exclusivamente por secuencias pleistocenas. Uno de estos haplogrupos (en la zona inferior de la topología, junto a haplogrupo H) está formado por muestras de Las Caldas y La Garma (*n*=7, CDS04, CDS12, CDS14, CDS26, GAR03, GAR07 y GAR08), en un clado soportado por un valor de SH-aLRT que obliga a considerarlo con prudencia. Estas muestras están culturalmente asociadas al Solutrense medio (CDS04), Solutrense superior (CDS12, CDS14) y Magdaleniense medio (CDS26, GAR03, GAR07 y GAR08). En los gráficos de redes 1, 2 y 3, solamente se pudieron utilizar las muestras CDS26, GAR03 y GAR08, que se agrupaban en un mismo haplotipo junto a un caballo alemán datado en 12.550 ± 60 BP (15.141 – 14.430 años cal. BP, calibrado a 2σ con el software OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13). La presencia de estas muestras ibéricas en un mismo clado y la información del caballo alemán permiten proponer para este haplogrupo una distribución por Europa occidental a finales del

Pleistoceno. Además, y con la prudencia asociada al valor de SH-aLRT, la presencia de muestras ibéricas anteriores y posteriores al LGM, junto a una muestra alemana posterior al LGM, permitiría sugerir que los miembros ibéricos de este haplogrupo habrían recolonizado algunas áreas de Europa occidental con efectivos procedentes de Iberia.

El otro haplogrupo, localizado en la parte inferior de la topología, está formado por muestras de Cueva Oscura de Ania, Las Caldas y Cova Foradada (*n*=8, COA10, CDS22, CDS27, CDS29, CDS31, CDS32, CFD02 y CFD08). Estas muestras están asociadas al Auriñaciense, Magdaleniense medio y Magdaleniense superior. En los gráficos de redes 1, 2 y 3 solamente se pudo utilizar la muestra COA10. Esta secuencia aparecía compartiendo un haplotipo con la muestra 353 de Rusia oriental (Siberia) (Figura 8.1.11.2.1, Anexo XIIIb, Figura 8.1.11.2.5, Anexo XIVb, Figura 8.1.11.2.9, Anexo XVb) y con una antigüedad de 35.229 – 30.981 años cal. BP (Anexo Ib). La muestra COA10 se había datado directamente por radiocarbono, ofreciendo una antigüedad de 16.360 – 15.910 años cal. BP (Tabla 8.1.2.3). Respecto a las muestras de Cova Foradada, CFD08 se asocia a una cronología comprendida entre 33.992 – 33.198 años cal. BP (nivel Vb) y 31.350 – 30.920 años cal. BP (nivel Va). La muestra CFD02 se recuperó en el nivel IV y, aunque no se dispone de una datación de ese nivel, se ha sugerido que este nivel debería ser ligeramente más moderno que la datación del nivel Va. Con la información radiométrica, podríamos sugerir dos interpretaciones: 1) aunque no se ha recuperado caballos de otras regiones asociados a este haplogrupo, hace ~32.000 años estuvo distribuido por toda Eurasia y tuvo un posterior desarrollo en la península ibérica o 2) que hace ~32.000 años presentaba dos poblaciones aisladas, en Siberia e Iberia. Considerando las dataciones y procedencia de los caballos asociados a este haplogrupo, solo la población ibérica tuvo un desarrollo temporal más amplio. Sin embargo, al no detectar este haplogrupo entre muestras holocenas ibéricas, podemos sugerir que acabó extinguiéndose a finales del Pleistoceno o comienzos del Holoceno.

Otro haplogrupo está constituido por muestras del Magdaleniense medio de Las Caldas y por una muestra calcolítica de El Portalón (*n*=3, CDS19, CDS23 y ATA41). En los gráficos de redes 1, 2 y 3 solo pudimos utilizar la secuencia ATA41, que aparecía asociada al haplogrupo F1/P, a tres mutaciones del haplotipo central de este haplogrupo. En la filogenia 1 con ML (Figura 8.1.13.1), esta relación ya no se sustenta y, aunque no ha sido posible detectar el haplogrupo F1 de Jansen, no aparece ninguna de nuestras muestras antiguas en el haplogrupo P de Achilli.

El haplogrupo de Las Caldas y La Garma (*n*=7) constituye un clado monofilético, grupo hermano del haplogrupo H de Achilli, y ambos presentan el mismo antepasado común que el haplogrupo de las muestras de Las Caldas y El Portalón (*n*=3). Aunque forman parte de una sección de la topología no resuelta, esto haplogrupos tendrían el mismo antepasado común que el haplogrupo de Cueva Oscura de Ania, Las Caldas y Cova Foradada (*n*=8) y el haplogrupo L de Achilli.

El cuarto haplogrupo está representado en los gráficos de redes por la secuencia CFo02 y está constituido por secuencias neolíticas de Cova Fosca, así como calcolíticas y de la Edad del Bronce de El Portalón (*n*=7, CFo02, CFo08, ATA15, ATA29 ATA46, ATA47, ATA48). Todas estas muestras ya se documentaron formando el haplogrupo CFo02 en los gráficos de redes 1, 2 y 3 comentados anteriormente (Figura 8.1.11.2.1, Anexo XIIIb, Figura 8.1.11.2.5, Anexo XIVb, Figura 8.1.11.2.9, Anexo XVb).

8.1.13.1.2. Análisis filogenético 2 con ML

Esta filogenia contiene 295 secuencias analizadas para las posiciones nucleotídicas 15.494 - 15.740 (Tabla 8.1.13.1): nuestras 80 secuencias antiguas de esta sección, las 17 secuencias sintéticas de Jansen, las 81 secuencias de Achilli, y 113 secuencias antiguas [34 que se tuvieron que eliminar para la elaboración de los gráficos de redes (Tabla 8.1.11.2.1, Anexo XVI) y 79 que representan haplotipos del gráfico de redes 1 (Figura 8.1.11.2.1)]. El conjunto se acompañó de cuatro secuencias como grupo externo.

De todas las explicaciones posibles para el conjunto de datos analizados, a continuación se presenta la topología que convierte a los datos observados en los más probables, dado el modelo evolutivo GTR + G (Figura 8.1.13.2).

En esta topología se han podido diferenciar 17 haplogrupos de Achilli y sus correspondencias con 16 haplogrupos de Jansen. Los únicos haplogrupos que no se han podido identificar han sido el C de Achilli y el A6 de Jansen, que hacen mención al mismo haplogrupo en los gráficos de redes (Figura 8.1.11.2.1, Figura 8.1.11.2.5, Figura 8.1.11.2.9). Para una mejor exposición de los resultados, en las ocasiones donde se mencionen muestras que aparecen en un haplogrupo definido por Jansen y Achilli, solamente se hará referencia al haplogrupo de Achilli.

De nuevo, las muestras aparecen ampliamente distribuidas por la topología. Se han identificado muestras antiguas en 16 haplogrupos: el Lusitano C, ocho de Achilli y siete haplogrupos nuevos.

Respecto a los ocho haplogrupos de Achilli, las muestras de nuestra investigación se distribuyen en siete haplogrupos de Achilli, por orden alfabético: A, I, K, L, M, O-P (O-P es un haplogrupo conjunto) y Q. Además, hemos detectado a la muestra 170 de Seco Morais *et al*. (2007) en el haplogrupo G. Cabe destacar que, incluso los propios investigadores que definieron estos haplogrupos, presentaron análisis concretos de la región control donde no pudieron separar claramente los haplogrupos O y P (tablas S7 y S8 en Achilli *et al*. 2012).

Al lado del nombre de cada haplogrupo, se muestra entre paréntesis los valores de los análisis de soportes de ramas (SH-aLRT). Se han realizado análisis de bootstrap, pero solo se detallan para el clado K, el único que presentó valores mayores al 50%, aunque no alcanzan el límite propuesto del 70% para considerar el clado de manera robusta. Los valores de selección de ramas de los análisis de SH-aLRT ofrecen valores aceptables y comprendidos entre 0,8 – 0,9 para 16 haplogrupos: A, B, D, E, K, L, M, N, Q, R, Lusitano C, el representado por CFo02, el representado por CDS21, el representado por COA16 y CDS04, el formado por CDS30 junto a 361 y el formado por 168 y 169. Además, ofrecen valores altos comprendidos entre 0,9 – 1 para los haplogrupos: H, I, J, O-P y el haplogrupo nuevo constituido por las muestras de Las Caldas y La Garma (*n*= 4, CDS26, GAR03, GAR07, GAR08).

A diferencia del análisis filogenético 1 con ML, en los haplogrupos B y J no se ha identificado de nuevo a las muestras CDS11 y COA16 respectivamente. Además, en la topología de este análisis filogenético 2 con ML aparecen secuencias en el haplogrupo conjunto O-P, una característica novedosa respecto a la filogenia anterior. En relación a las muestras CDS11 y COA16, en este nuevo análisis la muestra CDS11 se localiza en una posición de la topología no resuelta, en el mismo clado que A y B (siendo B el haplogrupo donde estaba incluida en la topología anterior, aunque con unos valores de soporte de ramas que no eran altos). Respecto a la muestra COA16, en la filogenia anterior aparecía en el haplogrupo J pero también asociada a valores de soporte de ramas que no eran altos. Ahora aparece alejada de J, en un clado que se comentará a continuación. En el haplogrupo conjunto O-P encontramos formando un clado a las muestras ATA41, CDS19 y CDS23. En la filogenia 1 con ML, estas secuencias formaban un clado bien sustentado, pero sin estar incluidas en este haplogrupo. Cabe destacar que ATA41 es la única muestra de este conjunto que hemos podido analizar en los gráficos de redes 1, 2 y 3, y ya aparecía asociada al haplogrupo P.

De las muestras ibéricas de nuestra investigación, los haplogrupos I, M y Q presentan muestras pleistocenas. El haplogrupo conjunto O-P incluye muestras pleistocenas y holocenas. Los haplogrupos A, K y L presentan muestras exclusivamente holocenas y, a este conjunto de haplogrupos hay que añadir el haplogrupo G que presenta la muestra holocena 170 de Seco Morais *et al.* (2007), como hemos comentado. La frecuencia de nuestras muestras en los haplogrupos de Achilli es variable, oscilando entre una y tres muestras por haplogrupo en la filogenia 2 con ML.

A continuación, se presentan los haplogrupos de Achilli y el haplogrupo Lusitano C con secuencias antiguas de nuestra investigación, de Seco Morais *et al*. (2007) y Cieslak *et al*. (2010), en orden descendente como aparecen en la topología de la Figura 8.1.13.2. Posteriormente se describen los haplogrupos nuevos, no identificados entre los caballos modernos (Anexo XVII).

Al final de este apartado, se presenta en una tabla resumen las muestras antiguas ibéricas que aparecen en cada clado de la topología y la intepretación ofrecida para cada uno de ellos (Tabla 8.1.13.2).

El haplogrupo L incluye dos muestras de nuestra investigación (CR65 de la Edad del Hierro y ATA07 de la Edad Media). El conjunto de secuencias antiguas de este haplogrupo se completa con la muestra 356 de Rusia (Siberia) datado en 2343 – 2124 años cal. BP; 394 – 175 años cal. aC, la muestra 256 de Hungría del siglo VIII y las muestras islandesas 404, 405 y 416, las tres con cronologías del siglo XIX. Las muestras 256, 404 y 405 se analizan por primera vez aquí (Anexo XVI). Mientras que en la filogenia 1 con ML en este grupo aparecía la muestra pleistocena CDS25, en esta filogenia 2 con ML esta relación no se mantiene, apareciendo ahora CDS25 separado del resto de secuencias (ver más adelante).

Con los gráficos de redes pudimos comprobar que las muestras más antiguas del haplogrupo L pertenecían a la Edad del Bronce de Moldavia (en haplotipo D2 y datada entre 1500 – 1000 años aC) y a la Edad del Hierro de China (en haplotipo D3 y datada en 900 años aC). Para la península ibérica, la presencia más antigua estaba determinada por CR65 de la Edad del Hierro, vinculada a finales del siglo V aC – comienzos del IV aC y con una datación directa de 774 – 517 cal. aC. Esta asociación se sigue manteniendo con la filogenia 2 con ML. Con los datos analizados y teniendo en cuenta la información de los haplogrupos de Jansen D1, D2 y D3, estos resultados permiten sugerir que el haplogrupo L se encontraba presente en Europa oriental a finales de la Edad del Bronce y en Asia a comienzos de la Edad del Hierro. Un

intervalo de entre 600 años (desde 1500 aC hasta 900 aC) o de 100 años (entre 1000 aC y 900 aC) separan a las dos muestras más antiguas de la Edad del Bronce y de la Edad del Hierro. Estos marcos temporales serían compatibles con un movimiento migratorio desde Europa oriental hacia el centro de Asia, y una posterior expansión por el continente asiático y por el continente europeo. En base a las cronologías analizadas, asociadas al II y I milenio aC, sugerimos que estos movimientos migratorios habrían estado relacionados con causas antrópicas, desplazando caballos domésticos.

Una vez más, el haplogrupo Lusitano C es el que contiene un mayor número de secuencias (*n*=37, asociadas al Pleistoceno superior, Mesolítico/Neolítico, Calcolítico y la Edad del Bronce). De las 37 secuencias que lo conforman, 33 son de nuestra investigación (Figura 8.1.13.2). Todas estas muestras ya habían aparecido asociadas a este haplogrupo Lusitano C en los gráficos de redes 1, 2, 3 y en la filogenia 1 con ML comentada en la sección anterior (a excepción de GAR01, JVI03, ATA24, ATA25, ATA26, ATA40 y ATA45).

Las cuatro secuencias restantes del haplogrupo Lusitano C pertenecen a Cieslak *et al*. (2010) y se han utilizado aquí por primera vez (Anexo XVI). Tres secuencias son de caballos ibéricos (secuencias 101, 102 y 105) y la secuencia 133 pertenece a un caballo alemán datado entre 15.000 – 14.000 aC. Las muestras 101 y 102 están asociadas a caballos de la Edad del Bronce de Cueva Rubia-Valmayor y de El Acequión, respectivamente. La muestra 105 pertenece a un caballo neolítico de Cova Fosca.

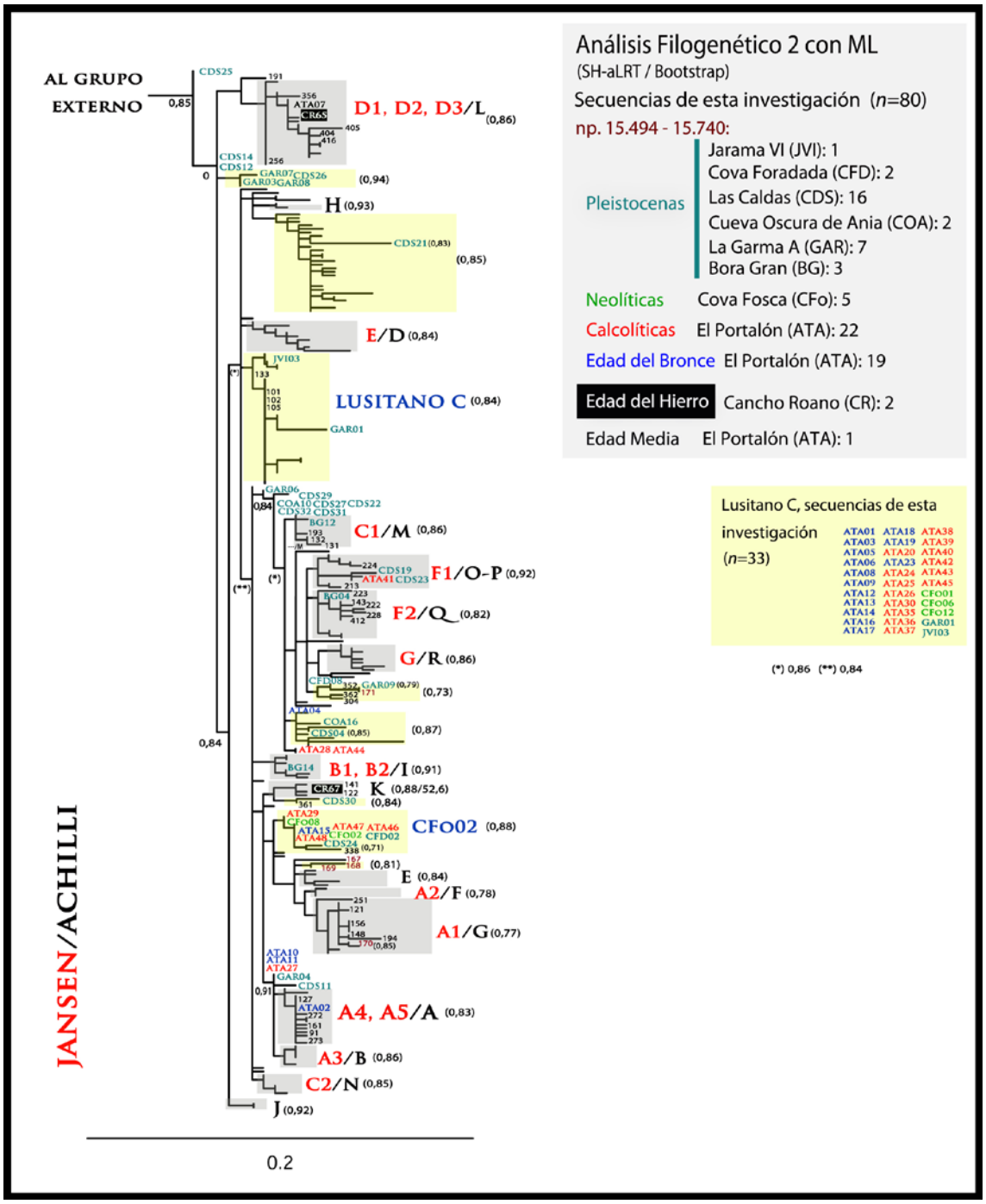


Figura 8.1.13.2. ***Análisis Filogenético 2 con ML***. Se han analizado 295 secuencias de ADN, np. 15.494 – 15.740. Al lado del nombre de cada haplogrupo aparecen entre paréntesis los valores de soporte de ramas SH-aLRT/Bootstrap. En color rojo oscuro entre las muestras de comparativa, se destaca a las secuencias de Seco Morais *et al*. (2007). Los haplogrupos nuevos aparecen resaltados sobre fondo amarillo claro.

La presencia de la secuencia JVI03 en este análisis, permite asignar al haplogrupo Lusitano C una cronología superior a 50.000 años, mientras que GAR01 es coetánea a la secuencia 133. La secuencia 133 es la única no ibérica de este haplogrupo, y permite sugerir que a finales del Pleistoceno este haplogrupo se extendía por parte de Europa occidental, por lo menos hasta la zona de Turingia (Alemania) (Anexo XVII). Además, la presencia de JVI03, anterior al LGM, y de muestras ibéricas y no ibéricas posteriores al LGM en el Lusitano C, permite sugerir que este haplogrupo estuvo involucrado en la recolonización del occidente europeo. En el Holoceno, este haplogrupo tiene representación en muestras mesolíticas/neolíticas, calcolíticas (precampaniforme y campaniforme) y de la Edad del Bronce (por lo menos Bronce antiguo y Bronce medio). Cabe destacar que en este nuevo análisis, el haplogrupo Lusitano C ya no ocupa una posición basal, como ocurría en el análisis filogenético 1 con ML de la Figura 8.1.13.1.

El haplogrupo M presenta a la muestra BG12 con una edad asociada de 15.079 – 12.410 años cal. BP (13.130 – 10.461 años cal. aC), junto a dos muestras pleistocenas alemanas (131 y 132) datadas en ~15.000 – 11.000 aC y usadas por primera vez en estos análisis, y la muestra sueca 193 asociada a los siglos III-VI (Anexo XVII). Aparte, en los gráficos de redes el haplotipo C1 de Jansen es compartido por 13 secuencias antiguas, perteneciendo las más antiguas a un caballo calcolítico ucraniano (muestra 126) y a dos caballos de la Edad del Hierro de Mongolia y Kazajistán (muestras 142 y 211). El resto de muestras son históricas y proceden de caballos de Hungría, Suecia e Islandia (Anexo XIIIb, Anexo XIVb, Anexo XVb).

En los gráficos de redes 1, 2 y 3 el haplogrupo M de Achilli lo habíamos dividido en C1/M y ---/M y, presentaba nuestras secuencias BG12, COA16, ATA04, ATA28 y ATA44. La muestra BG12 ha aparecido asociada al haplotipo C1/M en todos los gráficos de redes y además en la filogenia 1 con ML. La muestra COA16 ha aparecido también en todos los gráficos de redes, pero en las filogenias de ML esta asociación ya no se mantiene (su nueva asociación la comentaremos a continuación). En la filogenia 2 con ML el haplotipo representativo del haplogrupo ---/M no se localiza dentro del clado de C1/M. En su lugar, se localiza fuera del clado C1/M, en una zona basal al origen de los clados C1/M, O-P, Q, R, y los clados nuevos de COA16 - CDS04 y GAR09 que comentaremos a continuación.

Las muestras ATA04, ATA28 y ATA44 han aparecido en el haplogrupo ---/M en todos los gráficos de redes y en el haplogrupo M de la filogenia 1 con ML, pero en la filogenia 2 con ML, ATA28 y ATA44 forman un clado diferente y aparecen junto a ATA04 en una zona de la topología no resuelta, compartiendo como antepasado común a la misma población que dará

lugar a los haplogrupos C1/M, ---/M, a los otros clados nuevos de COA16 - CDS04 y a la población de la que se originarán O-P, Q, R y GAR09 (Figura 8.1.13.2).

Con los resultados de la filogenia 2 con ML, y teniendo en cuenta las secuencias antiguas asociadas al haplotipo de C1 en los gráficos de redes, las muestras antiguas en su conjunto permiten sugerir que el haplogrupo C1/M tenía a finales del pleistoceno una distribución comprendida a Europa occidental, representado por las muestras alemanas y la ibérica BG12. Aparece posteriormente durante el Calcolítico en Ucrania ~3000 aC (muestra 126 en los gráficos de redes), y durante la Edad del Hierro en Mongolia y Kazajistán entre los siglos VII-III aC (muestras 142 y 211). Durante tiempos históricos, este haplogrupo está presente en Europa desde los siglos III-VI en adelante (Anexo XIIIb, Anexo XIVb). Al estar las muestras más antiguas asociadas al Pleistoceno de Europa occidental, la antigüedad y distribución geográfica de las muestras de este haplogrupo sugiere un movimiento poblacional hacia el Este a finales del Pleistoceno – comienzos del Holoceno. Sin embargo, el reducido número de muestras mesolíticas/neolíticas europeas (*n*=1) y asiáticas (*n*=1) de la comparativa (Tabla 8.1.11.2.3), no nos permite precisar en qué zonas de Eurasia estuvieron las poblaciones de este haplogrupo durante la primera mitad del Holoceno. A partir del Calcolítico se detectan en Europa oriental, y en Asia a partir de la Edad del Hierro.

El haplogrupo conjunto O-P contiene a la única muestra con la que se ha determinado el clado O y a las tres muestras que definen al clado P. Además, incluye a las muestras pleistocenas CDS19 y CDS23 del Magdaleniense medio, junto a la muestra ATA41 asociada al Calcolítico precampaniforme. Otros caballos antiguos de este haplogrupo son la muestra 224, asociada a un caballo de la Edad del Hierro de China y la muestra 213, perteneciente a un caballo siberiano de los siglos XVII-XVIII (Anexo XVII). Además, en los gráficos de redes el haplotipo de F1 es representativo de caballos de la Edad del Bronce y de la Edad del Hierro de China (muestras 217, 230 y 242), así como de caballos húngaros de los siglos VI-VII (muestras 258 y 261); el haplotipo 14 aparece también en caballos de la Edad del Hierro de Mongolia (muestra 146); y en el haplotipo 224 encontramos también otra muestra de la Edad del Hierro de China (la muestra 226) (Anexo XIIIb, XIVb, XVb).

En los gráficos de redes, la muestra ATA41 ha aparecido en todos los análisis asociada al haplogrupo P, mientras que CDS19 y CDS23 no se pudieron utilizar. En la filogenia 1 con ML, las tres secuencias aparecen formando un clado, no definido previamente y alejado de los caballos que constituyen los haplogrupos O y P. La filogenia 2 con ML es la primera en la que CDS19, CDS23 y ATA41 aparecen asociadas al haplogrupo O-P. Nuestras secuencias son las

únicas ibéricas y además, son las más antiguas de este haplogrupo. Los resultados de esta filogenia permiten observar que este haplogrupo se encontraba a finales del Pleistoceno representado en Europa por lo menos en la península ibérica. La ausencia de muestras pleistocenas de otras regiones de Europa o Asia, y las siguientes en antigüedad (a excepción de ATA41) pertenecientes a la Edad del Bronce y Edad del Hierro de China y Edad del Hierro de Mongolia, sugiere para este haplogrupo un desplazamiento poblacional desde Europa occidental hacia el Este entre finales del Pleistoceno – comienzos del Holoceno. El bajo número de muestras europeas y asiáticas de contextos mesolíticos / neolíticos de nuestra comparativa no permite precisar en qué zonas de Eurasia estuvieron estas poblaciones durante la primera mitad del Holoceno (Tabla 8.1.11.2.3). Sin embargo, la presencia en Iberia de muestras de finales del Pleistoceno y del Calcolítico precampaniforme, sugiere una continuidad durante el Holoceno de este haplogrupo en suelo ibérico. Este resultado refuerza la propuesta realizada en el apartado *8.1.12 Distribución de haplogrupos en poblaciones ibéricas, euroasiáticas y americana a partir de los gráficos de redes,* para justificar el origen de este haplogrupo en Iberia. Su presencia en Iberia durante el Calcolítico precampaniforme también podría deberse a la reintroducción de este haplogrupo a partir de individuos ya domésticos, pero al no haber encontrado con nuestros análisis ninguna evidencia de este haplogrupo en el resto de Eurasia en contextos anteriores a la Edad del Bronce, hacen que esta hipótesis sea menos probable.

El haplogrupo Q contiene a la muestra pleistocena BG04, con una cronología comprendida entre 15.079 – 12.410 años cal. BP. Cinco muestras antiguas completan este haplogrupo, de la Edad del Hierro de Mongolia y China (muestras 143, 222, 223 y 228) y la muestra 412 de Islandia del siglo XIX (Anexo XVII). La muestra 143 se usa en estos análisis por primera vez (Anexo XVI). El resto de muestras ya aparecían asociadas al haplogrupo Q en los gráficos de redes 1 y 2 (en el gráfico de redes 3 esta relación no se analizó). En los gráficos de redes, el haplotipo F2 contiene 10 secuencias antiguas, siendo la de la Edad del Bronce de Moldavia la que presenta mayor antigüedad (muestra 114, datada en 1500 – 1000 años aC), seguidas de caballos húngaros del siglo IX y de Islandia del siglo XIX. El haplotipo 4 también contiene secuencias antiguas de la Edad del Bronce de Mongolia (muestra 158, datada ~2000 años aC) y de la Edad del Hierro de China. Por último, las muestras 222 y 233 comparten el mismo haplotipo, y las dos pertenecen a caballos de la Edad del Hierro de China (Anexo XIVb).

Mientras que BG04 no se pudo analizar en los gráficos de redes, la filogenia 1 con ML ya mostraba esta asociación con el haplogrupo Q, aunque todo el clado tenía un valor de SH-aLRT

de 0 (siendo ahora el valor en la filogenia 2 de 0,82). Asumiendo que BG04 tiene una cronología comprendida entre 15.079 – 12.410 años cal. BP, con este nuevo resultado se sugiere para el haplogrupo Q una presencia a finales del Pleistoceno en la península ibérica, y un posterior desplazamiento poblacional hacia el Este. Como en los casos anteriores, la escasez de muestra de comparativa asociada al resto de Eurasia durante la primera mitad del Holoceno, no nos permite diferenciar las regiones donde se desarrollaron las poblaciones de este haplogrupo. Sin embargo, la ausencia de ejemplares europeos hasta cronologías de 1500 – 1000 años aC, sugiere que los representantes de este haplogrupo desaparecieron de Europa hasta su introducción en la Edad del Bronce, posiblemente a partir de animales domésticos.

En la filogenia 1 con ML, en el haplogrupo Q junto a BG04 aparecían también GAR09 y CDS21. En la filogenia 2 con ML está asociación ya no se mantiene, mientras que CDS21 aparece en esta topología en un clado bien sustentado y formado exclusivamente por caballos pleistocenos, GAR09 aparece en otro clado junto a la muestra 171 de Seco Morais *et al.* (2007). Estas asociaciones se comentarán con más detalle después de los haplogrupos de Achilli.

El haplogrupo I contiene a la muestra pleistocena BG14, con una cronología comprendida entre 15.079 – 12.410 años cal. BP. La asociación de BG14 con el haplogrupo I se ha mantenido constante en todos los análisis de gráficos de redes y filogenias que hemos realizado. En la filogenia 1 con ML aparecía también en este haplogrupo la muestra del Magdaleniense medio CDS30. En esta nueva filogenia esta asociación ya no se sustenta, y CDS30 aparece ahora formando un clado con una muestra pleistocena de Siberia que comentaremos después de los clados de Achilli. En todos los gráficos de redes, el haplotipo B2 es compartido también por caballos de la Edad del Bronce de Moldavia y Edad del Hierro de Kazajistán y China (muestras 117, 205 y 247) y por la muestra 266 de un caballo húngaro del siglo IX. Además, el haplotipo B1 es compartido por la muestra 267, también de un caballo húngaro del siglo IX.

Asumiendo la cronología pleistocena de BG14, los resultados obtenidos permiten proponer un patrón similar al sugerido para el haplogrupo Q. El haplogrupo I habría estado distribuido por lo menos en la península ibérica a finales del Pleistoceno superior, sufriendo un desplazamiento poblacional hacia el Este a finales del Pleistoceno – comienzos del Holoceno. La escasez de muestras europeas de cronologías anteriores al Calcolítico, no nos permite sugerir si la dinámica poblacional en Europa durante el Holoceno habría estado asociada a desaparición completa de efectivos.

El haplogrupo K contiene a CR67 de la Edad del Hierro, secuencia que no se había podido utilizar en los gráficos de redes, pero que ya aparece asociada a este haplogrupo en la filogenia 1 con ML. Otras dos muestras antiguas aparecen en este haplogrupo: la muestra 122 asociada a un caballo de la Edad del Bronce de Rumanía y datado ~1500 – 1000 aC y la muestra 141, relacionada con un caballo de la Edad del Hierro de Mongolia datada ~619 - 608 aC (Anexo I, Anexo XVII). En los gráficos de redes 1 y 2, la muestra 141 comparte haplotipo con la muestra 160 de la Edad del Bronce de Mongolia datada ~2000 aC. Las muestras más antiguas de este haplogrupo están asociadas a la Edad del Bronce y se localizan en Asia central y Europa oriental. La evidencia más antigua de este haplogrupo en Europa occidental es nuestra muestra CR67 de la Edad del Hierro y, relacionamos su presencia en Iberia con movimientos migratorios de animales ya domésticos.

En el clado G hemos detectado a la muestra 170 de Seco Morais *et al*. (2007), procedente de la batalla de Aljubarrota (año 1385). Esta muestra aparece asociada a un caballo moderno árabe de Achilli, formando un clado bien sustentado por valores altos de SH-aLRT (0,85) dentro del clado G. Sin embargo, el clado G en su conjunto no está soportado por valores altos de SH-aLRT, situación que obliga a interpretar este clado con precaución. Las muestras antiguas de este haplogrupo proceden de finales del Pleistoceno de Irlanda (muestra 251) y del Holoceno de distintas parte de Eurasia. Entre las muestras holocenas encontramos caballos de la Edad del Bronce de Mongolia (muestra 156, usada por primera vez) datada ~2000 aC y de la Edad del Bronce de Rumanía (muestras 121) datada en 1500 – 1000 aC y, de la Edad del Hierro de Mongolia (muestra 148) datada en 619 - 608 aC. En Europa encontramos de nuevo la presencia de este haplogrupo a partir de la muestra 194, asociada a los vikingos y de época medieval (Anexo XVII). En el gráfico de redes 1, el haplotipo A1/G es compartido por seis muestras de la Edad del Hierro de Mongolia y China, una muestra rusa con cronología asociada a la Edad del Hierro y una muestra húngara del siglo IX. A partir de la asociación de estas muestras y sus cronologías se puede proponer para este haplogrupo, con reservas, el siguiente escenario. El haplogrupo G habría estado representado a finales del Pleistoceno en poblaciones de, por lo menos, Europa occidental. Su ausencia entre muestras pleistocenas euroasiáticas y su posterior presencia en poblaciones holocenas de Europa oriental y Asia occidental a partir de la Edad del Bronce, permite sugerir un desplazamiento de caballos hacia el este de Europa en algún momento a finales del Pleistoceno – comienzos del Holoceno. Para Europa, este haplogrupo está representado en muestras pleistocenas y holocenas (desde la Edad del Bronce). A partir de estos resultados, la muestra 170 sería la evidencia más antigua del haplogrupo G en la península ibérica.

El haplogrupo A de la filogenia 2 con ML presenta a la muestra ATA02, datada en 1752 – 1533 años cal. aC y asociada al Bronce medio. Otras muestras antiguas de este haplogrupo en la filogenia 2 con ML son la muestra 127 calcolítica de Rumania datada ~4250 años aC y usada por primera vez (Anexo XVI), la muestra 91 de la Edad del Bronce de Turquía datada ~ 3850 años aC, la muestra 161 de Mongolia también de la Edad del Bronce datada ~3000 aC y las muestras 272 y 273 del siglo IX de Hungría (Anexo XVII). En los gráficos de redes el caballo ATA02 ya aparece vinculado al haplogrupo A4/A y asociado además a las muestras antiguas 91, 161, 272 y 273 como haplotipos periféricos al haplotipo central de A4/A.

En los gráficos de redes, los haplotipos A4 y A5 también son compartidos por muestras antiguas. El haplotipo A4 es compartido por dos muestras de la Edad del Bronce de Armenia con una cronología de 1950 – 1750 aC, una muestra de la Edad del Hierro de Mongolia datada en 400 – 300 años aC, dos muestras de caballos húngaros de los siglos VI-VII y una muestra rusa de los siglos XVII-XVIII. El haplotipo A5 es compartido por una muestra datada entre 238 – 537 AD (Anexo XIIIb, Anexo XIVb, Anexo XVb).

En todos los gráficos de redes el caballo ATA02 comparte haplotipo con los caballos del haplogrupo A4/A. Además, en la filogenia 1 con ML esta muestra aparece asociada al haplogrupo A. Con una fecha de radiocarbono de 1752 – 1533 años cal. aC, la muestra ATA02 es el representante más antiguo del haplogrupo A en Europa occidental. La ausencia de este haplogrupo entre individuos holocenos ibéricos anteriores al Bronce medio, podría ser compatible con una entrada de efectivos domésticos.

Entre los siete haplogrupos nuevos no descritos previamente, encontramos un haplogrupo constituido por muestras de La Garma A y Las Caldas (*n*=4, CDS26, GAR03, GAR07 y GAR08). Este haplogrupo ya se había identificado en la filogenia 1 con ML que incluía además, a CDS12, CDS14 y CDS04. En esta nueva topología las secuencias CDS12 y CDS14, asociadas al Solutrense superior, aparecen fuera de este clado en una posición basal al mismo, pero CDS04 (del Solutrense medio) se ubica ahora en otro clado y no forma parte de ningún haplogrupo conocido. La muestra CDS26 está asociada al Magdaleniense medio antiguo, con una cronología de 16.961 – 15.351 años cal. BP. Las muestras GAR03, GAR07 y GAR08 están asociadas al Magdaleniense medio, con una cronología de 17.272 – 16.187 años cal. BP. Además, las secuencias CDS26, GAR03 y GAR08 comparten en los gráficos de redes 1, 2 y 3 el haplotipo con un caballo alemán ligeramente más moderno (muestra 180, datada entre 15.141 – 14.430 años cal. BP). Esta asociación permite mantener la propuesta formulada en los

gráficos de redes y en la filogenia 1 con ML, que sugiere una distribución de este haplogrupo en la zona de Europa occidental a finales del Pleistoceno.

En esta filogenia 2 con ML el segundo haplogrupo no descrito previamente es el de CDS21. La muestra CDS21 pertenece al Magdaleniense medio antiguo, y es una secuencia parcial de la región 2, que se había tenido que descartar en los análisis de redes 1, 2 y 3. En la filogenia 1 con ML, CDS21 aparecía asociada al haplogrupo Q, pero sin un valor de soporte de ramas adecuado para considerar robusto ese clado. En esta filogenia 2 con ML esta relación no se sustenta y ahora aparece asociada a otras 27 secuencias de caballos pleistocenos (Figura 8.1.13.2), muchas de las cuales se analizan por primera vez (Anexo XVI). Todas las muestras pleistocenas de este clado son de procedencia americana a excepción de CDS21 (Anexo XVII). Dentro de este haplogrupo, el caballo CDS21 forma un clado robusto con las muestras 177 y 201 (Anexo XVII). La muestra 201 pertenece a un caballo pleistoceno de Alaska. Por su parte, la muestra 177 es una secuencia relevante junto a la muestra 199. En el gráfico de redes 1 los haplotipos 199 y 177 son los haplotipos centrales de haplogrupos con caballos americanos pleistocenos. El haplotipo 199 lo presentan además 24 caballos pleistocenos americanos y 177 está presente en 13 caballos americanos, donde 11 son pleistocenos y dos podrían ser de comienzos del Holoceno (Anexo XIIIb). De este modo, combinando la información de la filogenia 2 con ML y la del gráfico de redes 1, la muestra CDS21 estaría acompañada en este clado por 62 secuencias americanas de las cuales 60 pertenecen con seguridad a caballos pleistocenos.

El caballo más antiguo de este clado de CDS21 de la filogenia 2 con ML es la muestra 295, con una datación de 41.643 – 40.472 años cal. BP. Este caballo también es más antiguo que cualquiera de los caballos asociados a los haplotipos centrales 177 y 199 del gráfico de redes 1. La muestra CDS21 es más moderna, y está asociada a la datación Ua-10188: 16.405 - 15.750 años cal. BP del nivel IX de la Sala II de Las Caldas, y relacionada con el Magdaleniense medio antiguo. La mayoría de las muestras americanas presentan una cronología más antigua que CDS21, y solo cuatro muestras (197, 363, 393, 395) presentan un rango cronológico que, o solapa ligeramente con el de CDS21 o es más joven que nuestra muestra ibérica (Anexo XVI). La ausencia de muestras euroasiáticas en este haplogrupo puede deberse a dos causas: 1) un sesgo en el muestreo de caballos europeos (*n*= 21) y asiáticos (*n*=15), o 2) fragmentación de una población antigua y ampliamente distribuida de la que no hemos detectado representantes en el resto de Eurasia, dando como resultado la presencia de individuos de

este haplogrupo en lugares geográficamente tan separados como América del Norte y la península ibérica, pero coetáneos en el tiempo.

Como tercer haplogrupo nuevo en esta filogenia 2 con ML, señalamos el clado donde se encuentra la muestra GAR09. Este clado está situado a continuación del haplogrupo R (Figura 8.1.13.2). La muestra GAR09 está datada en 17.272 – 16.187 años cal. BP y comparte el clado con la muestra 171 del siglo IV aC recuperada en Badajoz (Seco Morais *et al*., 2007). Esta asociación está soportada por un valor de SH-aLRT de 0,79. A su vez, estas muestras están incluidas en un clado mayor junto a otras tres muestras: la muestra 352 del Pleistoceno de Siberia y datada en 41.601 – 37.018 años cal. BP, la muestra americana 304 datada en 24.048 – 22.655 años cal. BP y la muestra holocena 362 procedente de Siberia y datada en 6660 – 6494 años cal. BP (Anexo XVII). Este clado no está soportado por valores altos de SH-aLRT, por ese motivo, su interpretación debe considerarse con reservas. Este clado se podría interpretar como un haplogrupo que hace ~40.000 años estuvo distribuido por lo menos en territorio siberiano, con poblaciones que en algún momento se desplazaron hasta América del Norte, con presencia en esta zona hace ~22.000 años. No haber encontrado representantes de este haplogrupo entre el resto de muestras pleistocenas europeas no ibéricas (*n*=21) y solo en una de las 15 muestras pleistocenas asiáticas, podría estar asociado a un sesgo en el muestreo. Otras posibles interpretaciones para justificar su presencia en Siberia e Iberia podrían relacionarse con una fragmentación de una población antigua ampliamente distribuida de la que no hemos detectado representantes en el resto de Europa y parte de Asia. Con los datos analizados, este haplogrupo podría haber perdurado en territorio ibérico por lo menos hasta el siglo IV aC, mientras que en territorio siberiano lo habría hecho hasta ~6500 años.

El cuarto clado nuevo que destacamos es el que alberga a las muestras CDS04 y COA16. Este haplogrupo esté constituido exclusivamente por muestras pleistocenas, todas de América a excepción de las dos de nuestra investigación (Anexo XVII). Con las dataciones de radiocarbono disponibles, observamos que este haplogrupo se desarrolló en América desde hace ~30.000 años hasta hace ~14.000 años. Por su parte, en la península ibérica se observamos su presencia desde hace ~23.000 años (CDS04) hasta hace ~17.000 años (COA16). Para este grupo se ofrece la misma interpretación propuesta para otros haplogrupos que solo contienen muestras americanas e ibéricas. Su presencia en regiones geográficas tan alejadas puede deberse a: 1) sesgo en el muestreo de poblaciones euroasiáticas, o 2) fragmentación de una población antigua ampliamente distribuida y no detectada entre las muestras analizadas, con posterior desarrollo de poblaciones en América y en Iberia.

El quinto clado nuevo detectado entre caballos antiguos es el formado por las muestras CDS30 de Las Caldas y la muestra siberiana 361. La muestra siberiana está datada en 17.120 – 16.621 años cal. BP. La muestra de Las Caldas CDS30 está relacionada con el Magdaleniense medio transicional, con una cronología asociada de 16.250 – 15.324 años cal. BP (Anexo XVII). Pertenecen a dos caballos que vivieron casi en el mismo intervalo de tiempo en regiones geográficamente muy alejadas. La ausencia de muestras europeas y asiáticas contemporáneas permite interpretar este clado como otros anteriores: 1) sesgo en el muestreo de poblaciones euroasiáticas, o 2) a partir de un núcleo inicial antiguo y con amplia distribución, se produjo una separación poblacional.

El sexto clado nuevo que se identifica entre caballos antiguos vuelve a ser el del haplogrupo CFo02 (*n*=10, CDS24, CFD02, CFo02, CFo08, ATA15, ATA29, ATA46, ATA47, ATA48 y 338). Todas las muestras excepto 338 son de nuestra investigación. Nuestras muestras proceden de Cova Foradada, Las Caldas, Cova Fosca y El Portalón, y están asociadas al Auriñaciense, Magdaleniense medio, Neolítico, Calcolítico (precampaniforme y campaniforme) y Bronce antiguo. La muestra 338 es una caballo pleistoceno procedente de los Urales (Rusia) y datado en 39.571 – 38.470 años cal. BP (Anexo XVII). Las muestras CDS24 y CFD02 se incorporan por primera vez a este haplogrupo. La muestra CDS24 no se había podido incorporar en los gráficos de redes y, en la filogenia 1 con ML, aparecía sin asociarse a un haplogrupo. En la filogenia 2 con ML aparece asociada a la muestra de los Urales de este clado, pero con un valor de SH-aLRT bajo. La muestra CFD02 se incorporó por primera vez en la filogenia 1 con ML, apareciendo en un clado con caballos exclusivamente pleistocenos. Esta inconsistencia en las muestras CDS24 y CFD02 no permiten realizar interpretaciones sólidas sobre su presencia en un clado u otro. Sin embargo, y excluyendo la información de CDS24 y CFD02, estos datos permiten mantener la propuesta sugerida con todos los gráficos de redes: una posible expansión desde la zona de los Urales hacia Europa occidental y una pervivencia en Iberia, por lo menos hasta el Bronce antiguo.

El séptimo clado identificado es el de las muestras 168 y 169 de Seco Morais *et al*. (2007). De las muestras presentadas en dicha investigación (*n*=6: 167,168, 169, 170, 171 y 172), 168 y 169 aparecen asociadas en el mismo clado. La muestra 169 está datada en 31.154 – 30.523 años cal. BP, mientras que la muestra 168 está datada en 789 - 401 aC (Anexo XVII). La presencia de estas muestras en este clado sugiere una distribución a finales del Pleistoceno por lo menos en la península ibérica, con una permanencia de este haplogrupo en Iberia hasta la Edad del Hierro.

Del resto de muestras de Seco Morais, 170 y 171 ya se han comentado, 167 no aparece asociada a ningún clado y 172 forma un clado con la secuencia de *Equus asinus* usada como grupo externo. Por ese motivo la secuencia 172 no aparece representada en esta topología.

Por último, destacamos que en esta filogenia 2 con ML no hemos detectado el haplogrupo que en la filogenia 1 con ML incluía a las muestras de Cueva Oscura de Ania, La Garma A y Las Caldas: COA10, CDS22, CDS27, CDS29, CDS31 y CDS32 (situados en la zona inferior en la filogenia 1 con ML). En esta filogenia 2 con ML estas muestras no forman un clado definido. Aparecen agrupadas en una zona de la topología no resuelta, basal a la población que dará lugar a los haplogrupos C1/M, O-P, Q, R, y los haplogrupos nuevos de GAR09 y COA16 – CDS04 (Anexo XVII).

Tabla 8.1.13.2. ***Síntesis de la información ofrecida por las muestras ibéricas antiguas en las filogenias 2 y 3 con ML*** . Los clados se presentan siguiendo la nomenclatura de Achilli. En los clados, entre paréntesis, cuando procede se detallan los linajes de Sorraia. Para cada filogenia, *n* hace hace referencia a la cantidad de muestras ibéricas antiguas en cada clado.

CLADO ACHILLI (SORRAIA)		FILOGENIA 2 ML			FILOGENIA 3 ML			PROPUESTA CONSENSO SEGÚN ML2 & ML3
		MUESTRAS IBÉRICAS ANTIGUAS	*n*	PROPUESTA	MUESTRAS IBÉRICAS ANTIGUAS	*n*	PROPUESTA	
1	A	ATA02	1	Holoceno: Primera evidencia en Iberia y Europa occidental durante el Bronce medio	GAR04, CDS11, ATA02	3	Pleistoceno: Presencia en Europa occidental. Posiblemente involucrado en recolonización de Europa occidental tras LGM. Posible movimiento démico hacia el este de Europa a finales Pleistoceno - comienzos Holoceno. Holoceno: Permanencia en península ibérica hasta la actualidad o reintroducción de animales domésticos. Continuidad en caballos actuales ibéricos y de origen ibérico	**Pleistoceno: Presencia en Europa occidental. Posiblemente involucrado en recolonización de Europa occidental tras LGM. Posible movimiento démico hacia el este de Europa a finales Pleistoceno - comienzos Holoceno. Holoceno: Permanencia en península ibérica hasta la actualidad o reintroducción de animales domésticos. Continuidad en caballos actuales ibéricos y de origen ibérico**
2	B	Sin representación	0	Sin propuesta	Sin representación	0	Sin propuesta	**Sin propuesta**
3	C	No detectado			No detectado			**Sin propuesta**
4	D	Sin representación	0	Sin propuesta	Sin representación	0	Sin propuesta	**Sin propuesta**
5	E (CIGANA)	Sin representación	0	Sin propuesta	Sin representación	0	Sin propuesta	**Sin propuesta**
6	F	Sin representación	0	Sin propuesta	Sin representación	0	Sin propuesta	**Sin propuesta**
7	G (AZAMBUJA)	170	1	Posible primera evidencia en la península ibérica durante la Edad Media	170	1	Primera evidencia en la península ibérica durante la Edad Media. Continuidad en caballos actuales ibéricos y de origen ibérico	**Primera evidencia en la península ibérica durante la Edad Media. Continuidad en caballos actuales ibéricos y de origen ibérico**
8	H	Sin representación	0	Sin propuesta	171	1	Holoceno: Primera evidencia en Iberia y Europa occidental durante la Edad del Hierro. Posible desplazamiento hacia el oeste de Europa de caballos domésticos. Posible continuidad en caballos actuales ibéricos y de origen ibérico	**Sin propuesta**
9	I	BG14	1	Pleistoceno: Presencia en Iberia. Posible movimiento démico hacia el este de Europa a finales Pleistoceno - comienzos Holoceno	BG14	1	Pleistoceno: Presencia en Iberia. Posible movimiento démico hacia el este de Europa a finales Pleistoceno - comienzos Holoceno. Holoceno: Reintroducción en Iberia a partir de individuos domésticos.Continuidad en individuos actuales ibéricos y de origen ibérico	**Pleistoceno: Presencia en Iberia. Posible movimiento démico hacia el este de Europa a finales Pleistoceno - comienzos Holoceno. Holoceno: Reintroducción en Iberia a partir de individuos domésticos. Continuidad en individuos actuales ibéricos y de origen ibérico**
10	J	Sin representación	0	Sin propuesta	Sin representación	0	Sin propuesta	**Sin propuesta**

Tabla 8.1.13.2. ***Síntesis de la información ofrecida por las muestras ibéricas antiguas en las filogenias 2 y 3 con ML .*** (continuación).

CLADO ACHILLI (SORRAIA)		FILOGENIA 2 ML			FILOGENIA 3 ML			PROPUESTA CONSENSO SEGÚN ML2 & ML3
		MUESTRAS IBÉRICAS ANTIGUAS	*n*	PROPUESTA	MUESTRAS IBÉRICAS ANTIGUAS	*n*	PROPUESTA	
11	**K**	CR67	1	Holoceno: Primera evidencia en Iberia y Europa occidental durante la Edad del Hierro. Desplazamiento hacia el oeste de Europa de caballos domésticos	CR67	1	Holoceno: Primera evidencia en Iberia y Europa occidental durante la Edad del Hierro. Desplazamiento hacia el oeste de Europa de caballos domésticos. Continuidad en caballos actuales ibéricos y de origen ibérico.	**Holoceno: Primera evidencia en Iberia y Europa occidental durante la Edad del Hierro. Desplazamiento hacia el oeste de Europa de caballos domésticos. Continuidad en caballos actuales ibéricos y de origen ibérico**
12	**L (POMBA)**	CR65, ATA07	2	Holoceno: Primera evidencia en Iberia y Europa occidental durante la Edad del Hierro. Asociado a caballos domésticos desplazados hacia el oeste de Europa	CDS31, CR65, ATA07	3	Pleistoceno: Posible presencia en Iberia durante el Magdaleniense medio. Holoceno: Primera evidencia en Iberia y Europa occidental durante la Edad del Hierro. Asociado a caballos domésticos desplazados hacia el oeste de Europa. Continuidad en caballos actuales ibéricos y de origen ibérico	**Holoceno: Primera evidencia en Iberia y Europa occidental durante la Edad del Hierro. Asociado a caballos domésticos desplazados hacia el oeste de Europa. Continuidad en caballos actuales ibéricos y de origen ibérico**
13	**C1/M**	BG12	1	Pleistoceno: Presencia en Iberia y Europa occidental	BG12, ATA28, ATA44	3	Pleistoceno: Presencia en Iberia y Europa occidental. Holoceno: Permanencia en Iberia hasta la actualidad en caballos ibéricos y de origen ibérico	**Pleistoceno: Presencia en Iberia y Europa occidental. Holoceno: Permanencia en Iberia hasta la actualidad en caballos ibéricos y de origen ibérico**
14	**---/M**	Sin representación	0	Sin propuesta	Sin representación	0	Sin propuesta	**Sin propuesta**
15	**N**	Sin representación	0	Sin propuesta	Sin representación	0	Sin propuesta	**Sin propuesta**
16	**O**	ATA41, CDS19, CDS23	3	Persistencia en Iberia desde finales Pleistoceno hasta por lo menos el Calcolítico precampaniforme	ATA41, CDS19, CDS23	3	Persistencia en Iberia desde finales Pleistoceno hasta la actualidad, con continuidad en caballos actuales de origen ibérico	**Persistencia en Iberia desde finales Pleistoceno hasta la actualidad, con continuidad en caballos actuales de origen ibérico**
17	**P**							
18	**Q**	BG04	1	Pleistoceno: Presencia en Iberia. Posible movimiento démico hacia el este de Europa a finales Pleistoceno - comienzos Holoceno	Sin representación	0	Sin propuesta	**Sin propuesta**
19	**R**	Sin representación	0	Sin propuesta	Sin representación	0	Sin propuesta	**Sin propuesta**
20	**Lusitano C**	ATA01, ATA03, ATA05, ATA06, ATA08, ATA09, ATA12, ATA13, ATA14, ATA16, ATA17, ATA18, ATA19,ATA20, ATA23, ATA24, ATA25, ATA26, ATA30, ATA35, ATA36, ATA37, ATA38, ATA39, ATA40, ATA42, ATA43, ATA45, CFo01, CFo06, CFo12, GAR01, JVI03, 101, 102, 105	36	Persistencia en Iberia desde ~50,000 años hasta por lo menos el Bronce medio. Involucrado en recolonización de Europa occidental tras LGM	ATA01, ATA03, ATA05, ATA06, ATA08, ATA09, ATA12, ATA13, ATA14, ATA16, ATA17, ATA18, ATA19,ATA20, ATA23, ATA24, ATA25, ATA26, ATA30, ATA35, ATA36, ATA37, ATA38, ATA39, ATA40, ATA42, ATA43, ATA45, CFo01, CFo06, CFo12, GAR01, JVI03, 101, 102, 105	36	Persistencia en Iberia desde ~50,000 años hasta actualidad. Posiblemente involucrado en recolonización de Europa occidental tras LGM. Representación en época actual solo en caballos ibéricos y de origen ibérico	**Persistencia Iberia desde ~50,000 años hasta actualidad. Posiblemente involucrado en recolonización de Europa occidental tras LGM. Representación en época actual solo en caballos ibéricos y de origen ibérico.**

Tabla 8.1.13.2. *Síntesis de la información ofrecida por las muestras ibéricas antiguas en las filogenias 2 y 3 con ML.* (continuación).

	CLADO ACHILLI (SORRAIA)	FILOGENIA 2 ML			FILOGENIA 3 ML			PROPUESTA CONSENSO SEGÚN ML2 & ML3
		MUESTRAS IBÉRICAS ANTIGUAS	*n*	PROPUESTA	MUESTRAS IBÉRICAS ANTIGUAS	*n*	PROPUESTA	
21	**La Garma A & Las Caldas**	CDS26, GAR03, GAR07, GAR08	4	Pleistoceno: Presencia en Europa occidental	CDS12, CDS14, CDS26, GAR03, GAR07, GAR08	6	Pleistoceno: Presencia en Europa occidental. Posiblemente involucrado en recolonización de Europa occidental tras LGM. Sin representación entre caballos modernos	**Pleistoceno: Presencia en Europa occidental. Posiblemente involucrado en recolonización de Europa occidental tras LGM. Sin representación entre caballos modernos**
22	**CDS21**	CDS21	1	Pleistoceno: 1) Sesgo en muestreo, o 2) Fragmentación de población inicial antigua ampliamente distribuida	CDS21	1	Pleistoceno: 1) Sesgo en muestreo, o 2) Fragmentación de población inicial antigua ampliamente distribuida. Sin representación entre caballos modernos	**Pleistoceno: 1) Sesgo en muestreo, o 2) Fragmentación de población inicial antigua ampliamente distribuida. Sin representación entre caballos modernos**
23	**GAR09 & 171**	GAR09, 171	2	Pleistoceno: 1) Sesgo en muestreo, o 2) Fragmentación de población inicial antigua ampliamente distribuida. Holoceno: continuidad en Iberia por lo menos hasta el siglo IV aC	No detectado			**Sin propuesta**
24	**COA16 & CDS04**	COA16, CDS04	2	Pleistoceno: 1) Sesgo en muestreo, o 2) Fragmentación de población inicial antigua ampliamente distribuida	COA16, CDS04	2	Pleistoceno: 1) Sesgo en muestreo, o 2) Fragmentación de población inicial antigua ampliamente distribuida. Sin representación entre caballos modernos	**Pleistoceno: 1) Sesgo en muestreo, o 2) Fragmentación de población inicial antigua ampliamente distribuida Sin representación entre caballos modernos**
25	**CDS30 & 361**	CDS30 y 361	1	Pleistoceno: 1) Sesgo en muestreo o, 2) Fragmentación de población inicial antigua ampliamente distribuida	No detectado			**Sin propuesta**
26	**CFe02**	CDS24, CFD02, CFe02, CFe08, ATA15, ATA29, A1A46, A1A47, A1A48	9	Pleistoceno: Posible movimiento de poblaciones desde el este de Europa hacia el Oeste. Holoceno: persistencia en Iberia por lo menos hasta el Bronce antiguo	CFe02, CFe08, ATA15, ATA29, ATA46, A1A47, A1A48	7	Pleistoceno. Posible movimiento de poblaciones desde el este de Europa hacia el Oeste. Holoceno: persistencia en Iberia por lo menos hasta el Bronce antiguo. Ausente en caballos actuales ibéricos y de origen ibérico. Presente entre caballos modernos no ibéricos	**Pleistoceno: Posible movimiento de poblaciones desde el este de Europa hacia el Oeste. Holoceno: persistencia en Iberia por lo menos hasta el Bronce antiguo. Ausente en caballos actuales ibéricos y de origen ibérico. Presente entre caballos modernos no ibéricos**
27	**168 & 169**	168, 169	2	Pleistoceno: presencia en Iberia. Holoceno: persistencia en Iberia hasta la Edad del Hierro	168, 169	2	Pleistoceno: presencia en Iberia. Holoceno: persistencia en Iberia hasta la Edad del Hierro	**Pleistoceno: presencia en Iberia. Holoceno: persistencia en Iberia hasta la Edad del Hierro**
28	**CDS25 & 167**	No detectado			CDS25, 167	2	Pleistoceno: Posible distribución en Iberia durante el Magdaleniense medio. Holoceno: Presencia en Iberia desde la Edad Media hasta la actualidad en caballos ibéricos y de origen ibérico	**Sin propuesta**
29	**CDS30 & GAR09**	No detectado			CDS30, GAR09	2	Pleistoceno: Distribución en Iberia durante el Magdaleniense medio	**Sin propuesta**
	TOTAL MUESTRAS IBÉRICAS ANTIGUAS		68	TOTAL MUESTRAS IBÉRICAS ANTIGUAS		74		

8.1.13.1.3. Análisis filogenético 3 con ML

Esta filogenia contiene un total de 398 secuencias analizadas para las posiciones nucleotídicas 15.494 – 15.740 y distribuidas del siguiente modo (Tabla 8.1.13.1): nuestras 80 secuencias antiguas de este análisis con caballos, las 17 secuencias sintéticas de Jansen y las 81 secuencias de Achilli. Además, 182 secuencias representativas del gráfico de redes 2 y las 34 secuencias que se tuvieron que eliminar en la elaboración de los gráficos de redes 1, 2 y 3, (Anexo XVI) alcanzando un total de 216 secuencias del GenBank. Este conjunto se completa con cuatro secuencias usadas como grupo externo.

De todas las explicaciones posibles para la matriz de 398 secuencias de ADN, a continuación se presenta la topología que convierte a los datos observados en los más probables, dado el modelo evolutivo TrN + I + G (Figura 8.1.13.3).

En esta topología se diferencian 17 haplogrupos de Achilli y sus correspondencias con 16 haplogrupos de Jansen. Los únicos haplogrupos que no se han podido identificar en este análisis han sido el C de Achilli y el A6 de Jansen, como en la filogenia 2 con ML. En los gráficos de redes los haplogrupos A6 de Jansen y C de Achilli hacen referencia a los mismos haplotipos. Como en las descripciones anteriores de las filogenias con ML, cuando se mencionen muestras que aparecen en un haplogrupo definido por Jansen y Achilli, solamente se hará referencia al haplogrupo de Achilli.

Nuevamente los caballos de nuestra investigación aparecen ampliamente distribuidos ocupando al menos 14 haplogrupos: ocho de Achilli, el Lusitano C, y por lo menos otros cinco haplogrupos no definidos previamente. Además, hemos vuelto a identificar el haplogrupo formado por las muestras 168 y 169 de Seco Morais *et al.* (2007) (Figura 8.1.13.3).

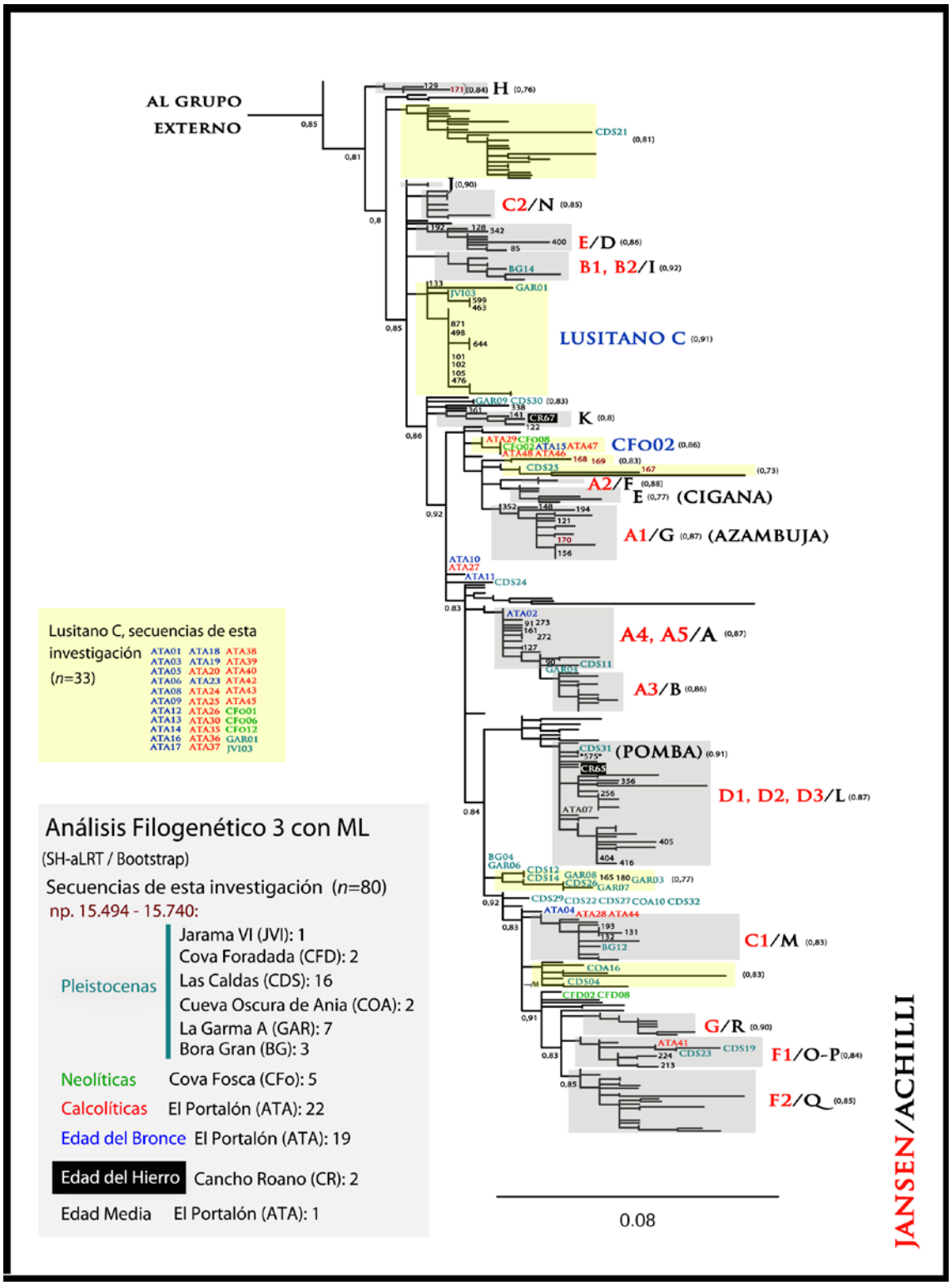


Figura 8.1.13.3. ***Análisis Filogenético 3 con ML***. Se han analizado 398 secuencias de ADN np. 15.494 – 15.740. Al lado del nombre de cada haplogrupo aparecen entre paréntesis los valores de soporte de ramas únicamente de SH-aLRT. En color rojo oscuro entre las muestras de comparativa, se destaca a las secuencias de Seco Morais *et al*. (2007). Los linajes de Sorraia se muestran en mayúsculas entre paréntesis. Los haplogrupos nuevos aparecen resaltados sobre fondo amarillo claro.

Tabla 8.1.13.3. *Distribución de muestras por haplogrupos, combinando la información de la filogenia 3 con ML y los gráficos de redes .*

MUESTRA		HAPLOGRUPO																							TOTAL
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	C1/M	N	O-P	Q	R	Lusitano C	CFo02	CDS21	CDS26	CDS04	168-169	
Antiguos	ibéricos	3	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	4	3	0	3	0	0	46	10	1	6	2	2	84
	europeos	12	7	0	9	3	0	4	1	3	0	1	17	14	17	2	12	4	1	1	0	1	0	0	109
	asiáticos	4	3	0	7	7	0	9	4	2	0	3	8	2	3	7	10	4	0	0	0	1	0	0	74
	americanos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	61	0	8	0	72
Modernos	ibéricos	11	71	0	2	14	0	51	1	27	0	2	216	15	38	4	25	6	6	0	0	0	0	0	489
	no ibéricos	64	85	0	3	14	10	53	16	59	1	1	303	89	3	36	7	2	0	3	0	0	0	0	749
TOTAL		**94**	**166**	**0**	**21**	**38**	**10**	**118**	**23**	**92**	**2**	**8**	**548**	**123**	**61**	**52**	**56**	**16**	**53**	**14**	**62**	**8**	**10**	**2**	**1577**

De los ocho haplogrupos de Achilli con muestras antiguas, seis presentan muestras de nuestra investigación: A, I, K, L, M y O-P (este último vuelve a ser un haplogrupo conjunto). Además, se han detectado muestras de Seco Morais *et al*. (2007) en los haplogrupo G y H. En esta ocasión, a diferencia del análisis filogenético 2 con ML, ahora no aparece en el haplogrupo Q la muestra BG04. En el nuevo análisis filogenético 3 con ML, esta muestra ocupa una posición basal en el clado que dará lugar a los haplogrupos publicados L, M, O-P, Q y R (Figura 8.1.13.3).

Respecto a la distribución de las muestras de nuestra investigación en los haplogrupos de Achilli, el haplogrupo que solamente presenta muestras pleistocenas es I; los haplogrupos con muestras pleistocenas y holocenas son A, L, M y el conjunto O-P y, el haplogrupo con muestras holocenas es K. Además, en los haplogrupos G y H se han observado muestras holocenas de Seco Morais *et al*. (2007) como se ha comentado anteriormente. La frecuencia de distribución de las muestras antiguas ibéricas entre los haplogrupos oscila entre una y tres muestras (Figura 8.1.13.3).

Al lado del nombre de cada haplogrupo, se muestra entre paréntesis los valores de los análisis de soportes de ramas (SH-aLRT) (Figura 8.1.13.3). Los valores de bootstrap no se detallan porque ningún clado presentó valores iguales o mayores al 50%. Los valores de selección de ramas de los análisis de SH-aLRT ofrecen valores aceptables y comprendidos entre 0,8 – 0,9 para 16 haplogrupos: A, B, D, F, G, K, L, M, N, O-P, Q, el representado por CFo02, el representado por CDS21, el representado por COA16 y CDS04, el formado por 168 y 169 y el formado por CDS30 junto a GAR09. Además, ofrecen valores altos comprendidos entre 0,9 – 1 para cuatro haplogrupos: I, J, R y el Lusitano C.

La Tabla 8.1.13.2 ofrece un resumen de las muestras antiguas ibéricas que aparecen en cada clado de la topología 3 con ML y la intepretación ofrecida para cada uno de ellos. Además, compara la información obtenida con los clados de la filogenia 2 con ML y ofrece una propuesta consenso para cada clado.

A continuación, se presentan los haplogrupos de Achilli y el haplogrupo Lusitano C con secuencias antiguas de nuestra investigación, de Seco Morais *et al*. (2007) y Cieslak *et al*. (2010), en orden descendente como aparecen en la topología de la Figura 8.1.13.3 (Anexo XVIII). La descripción se completa con la de los haplogrupos nuevos, no descritos previamente en caballos modernos.

El clado H está formado por muestras antiguas y modernas de distintas zonas geográficas. Los ejemplares modernos pertenecen principalmente a razas de las Islas Británicas (caballos que comparten haplotipo con la muestra 46, Anexo XVb). La representación entre caballos de origen ibérico es mínima, solamente se ha documentado a la muestra 466 asociada a un Pura Sangre Lusitana. Además, mientras que la asociación de todas las muestras a este clado esta sustentada por un valor de SH-aLRT de 0,84, la vinculación de la muestra 466 al haplogrupo H presenta una posición basal en el clado, y está sustentada por un valor de soporte de ramas de SH-aLRT de 0,76. Por ese motivo la vinculación de la muestra 466 en este haplogrupo debe realizarse con reservas. Las secuencias antiguas de esta topología son la muestra 129 del Calcolítico de Rumanía, datada en 4300 años aC y la muestra 171 de la Edad del Hierro de Iberia, de Seco Morais *et al*. (2007). Además, en todos los gráficos de redes el haplotipo de la muestra 46 también lo comparten cuatro caballos de la Edad del Hierro de Mongolia, Kazajistán y China (Anexo XIIIb, Anexo XIVb, Anexo XVb). Las cronologías de estas muestras y sus localizaciones geográficas permiten localizar a este haplogrupo en Europa oriental ~4300 años aC, y sugerir una posterior expansión hacia Asia y Europa. Combinando la información de los gráficos de redes y la filogenia 3 con ML, y considerando a la muestra 466 perteneciente a este haplogrupo, hemos detectado 23 secuencias ($n_{\text{antiguos ibéricos}}$=1, $n_{\text{antiguos no ibéricos}}$=5, $n_{\text{modernos ibéricos}}$=1, $n_{\text{modernos no ibéricos}}$=16) (Tabla 8.1.13.3).

Respecto a la muestra 171, esta secuencia presenta relaciones diferentes según la filogenia 2 ó 3 con ML. En la filogenia 2 aparecía en un clado nuevo asociada a GAR09, junto a tres muestras pleistocenas y holocenas de Siberia y América. La asociación actual modifica la propuesta de la filogenia 2 con ML para con la muestra 171, y no podemos confimar el haplogrupo al que pertenece. Sin embargo, independientemente del haplogrupo asociado, podemos seguir afirmando que la muestra 171 evidencia la presencia holocena más antigua del haplogrupo al que pertenezca (H o con GAR09) en Europa occidental, y por tanto su presencia holocena en Iberia se puede seguir considerando como resultado de movimientos migratorios desde el Este de caballos domésticos. La presencia de un caballo Pura Sangre Lusitana podría sugerir una continuidad de este haplogrupo en suelo ibérico, desde la Edad Media hasta nuestros días. Sin embargo, debido a los valores asociados de SH-aLRT, esta asociación debe realizarse con cautela.

En el haplogrupo I se localiza la muestra BG14, con una cronología comprendida entre 15.079 – 12.410 años cal. BP. En la filogenia 3 con ML aparecen también en este clado muestras modernas de razas ibéricas y origen ibérico, de Rusia e Irán. La asociación de BG14 a

este haplogrupo la hemos observado en los gráficos de redes y en las filogenias 1 y 2 anteriores. Además, se mantiene la relación con otras muestras antiguas, asociadas a los haplotipos B1 y B2: con B1 un caballo húngaro del siglo IX (muestra 267), y con el haplotipo B2 caballos de la Edad del Bronce de Moldavia y Edad del Hierro de Kazajistán y China (muestras 117, 205 y 247) y la muestra 266 de otro caballo húngaro del siglo IX (Anexo XIIIb, XIVb, XVb). Las localizaciones geográficas de las muestras y sus cronologías, asumiendo una antigüedad pleistocena para BG14, habían permitido sugerir la presencia de este haplogrupo a finales del Pleistoceno en el occidente europeo, al menos en Iberia, y posiblemente un posterior movimiento poblacional hacia el Este a finales del Pleistoceno – comienzos del Holoceno.

Además, en los gráficos de redes los haplotipos B1 y B2 aparecen asociados a caballos ibéricos y de origen ibérico. El haplotipo B1 aparece representado en seis individuos de las razas Caballo de Corro, Mallorquina, Pura Raza Española, Trotador americano y Lipizano. Por su parte, el haplotipo B2 aparece representado en 18 ejemplares de las razas Losino, Cartujano, Pura Raza Española, Mallorquina, Menorquina, Hispano-Bretón, Pantaneiro, Trotador americano y Lipizano. Además, el haplotipo B2 se ha documentado en casi 60 individuos de por lo menos 25 razas, mayoritariamente de Europa, Asia y Próximo Oriente (Anexo XVb). Combinando la información de los gráficos de redes y filogenia 3 con ML, este haplogrupo está constituido por 92 secuencias ($n_{\text{antiguos ibéricos}}$=1, $n_{\text{antiguos no ibéricos}}$=5, $n_{\text{modernos ibéricos}}$=27, $n_{\text{modernos no ibéricos}}$=59) (Tabla 8.1.13.3).

La pertenencia a este haplogrupo de algunos individuos de razas modernas ibéricas y de origen ibérico, podría relacionarse con su persistencia en Iberia durante el Holoceno. Sin embargo, su ausencia entre las 104 muestras ibéricas antiguas restantes analizadas [nuestra investigación, *n*=79 de 80; Seco Morais *et al*. (2007), *n*=6 y Cieslak *et al*. (2010) *n*=19], apoya más la hipótesis de una posterior reintroducción en Iberia de individuos ya domésticos en una etapa cultural que no podemos concretar.

De nuevo, el haplogrupo Lusitano C es el que contiene un mayor número de secuencias distribuidas del siguiente modo: las 37 secuencias antiguas comentadas en la filogenia 2 con ML, de las cuales 33 son de nuestra investigación y cuatro son de Cieslak *et al*. (2010), y seis secuencias asociadas a cinco razas de caballos modernos ibéricos y de origen ibérico. Estas secuencias ya se identificaron en el gráfico de redes 2 y se corroboraron con el gráfico de redes 3. Estos caballos modernos pertenecen a las siguientes razas: Pura Sangre Lusitana (*n*=2, Lopes *et al*., 2005), Criollo Argentino (*n*=1, Mirol *et al*., 2002), Marismeño (*n*=1, Royo *et al*., 2005), Garrano (*n*=1, Luís *et al*., 2006b) y Paso Fino de Puerto Rico (*n*=1, Luís *et al*., 2006b). Además,

en los gráficos de redes 1, 2 y 3, este haplogrupo contiene otras 10 secuencias ibéricas antiguas de Cieslak *et al*. (2010). Combinando la información de los gráficos de redes y el árbol filogenético 3 con ML, el total de secuencias representadas por el Lusitano C alcanza las 53 (Tabla 8.1.13.3). Aunque en esta topología el haplogrupo Lusitano C ya no ocupa una posición basal al resto de haplogrupos, sin embargo su aparición es anterior a los haplogrupos de Achilli: A, B, E, F, G, K, L, M, O-P, Q y R.

Este análisis confirma los resultados obtenidos anteriormente para el haplogrupo Lusitano C, que propone que a finales del Pleistoceno superior tuvo una distribución en Europa occidental, y durante el Holoceno un desarrollo en la península ibérica. La muestra JVI03 vuelve a ser la más antigua del conjunto, como en el análisis filogenético 2 con ML. La inclusión de JVI03 confirma la presencia de este haplogrupo en Iberia hace más de 50.000 años. La muestra GAR01 corrobora su continuidad en la Península ~ 15.323 - 14.238 años cal. aC y la muestra 133 de Cieslak *et al*. (2010) su presencia en Alemania ~15.000 - 14.000 años aC, posiblemente como resultado de un evento de recolonización desde el refugio ibérico. Las 31 muestras holocenas de nuestra investigación reafirman que se trata de un haplogrupo que estuvo presente en Iberia durante el Neolítico, Calcolítico y la Edad del Bronce. Este dato se ve reforzado por la presencia adicional de las muestras holocenas 101, 102 y 105 de Cieslak *et al*. (2010). Las muestras 101 y 102 pertenecen a caballos de la Edad del Bronce de Cueva Rubia-Valmayor y de El Acequión, mientras que 105 es de un caballo neolítico de Cova Fosca. Además, a estas muestras debemos añadir la evidencia de las otras muestras antiguas ibéricas de Cieslak *et al*. (2010) reflejadas en el gráfico de redes 2 (Anexo XIVb) que sugieren la presencia de este haplogrupo en Iberia desde el Mesolítico/Neolítico. Por último, las secuencias modernas corroboran que este haplogrupo ha llegado hasta nuestros días con una frecuencia de representantes baja, pero distribuidos en cinco razas: tres ibéricas y dos desarrolladas fuera de la Península pero con una base fundacional ibérica (Anexo XVb, Anexo XVIII). Además, su posición basal en las topologías de ML sugiere que se trata de uno de los linajes de caballos más antiguos que conocemos.

En la filogenia 3 con ML el haplogrupo K se encuentra representado en cuatro muestras antiguas, una de ellas de nuestra investigación. El representante más antiguo es la muestra 361, un caballo pleistoceno siberiano datado en 17.120 – 16.621 años cal. BP, seguido de la muestra 122 de la Edad del Bronce de Rumania datada en ~1500 – 1000 años aC y de la muestra 141, asociada a la Edad del Hierro de Mongolia y datada ~619 – 608 años aC. Nuestra muestra antigua CR67, pertenece a la Edad del Hierro de Cancho Roano. Los representantes

actuales son un ejemplar Mustang (muestra 755) y un caballo Belga de tiro (muestra 39) (Anexo XVIII). Aunque el gráfico de redes 1 no asociaba a la muestra pleistocena 361 a este haplogrupo, el gráfico de redes 2 ya presentaba a la muestra 361 y al individuo moderno 755 cercanos al haplogrupo K. Ademas, la muestra 141 comparte haplotipo con las muestras 160 y 465. La muestra 160 es otro caballo de la Edad del Bronce de Mongolia y datado ~2000 aC, y ya comentado en la filogenia 2 con ML. La muestra 465 es un Pura Sangre Lusitana (Anexo XIVb).

En la filogenia 2 con ML, en el haplogrupo K no aparecía la muestra pleistocena 361. En su lugar la muestra 361 compartía un clado con la muestra pleistocena CDS30, y ambas eran el grupo hermano del haplogrupo K. En esta nueva filogenia 3 con ML, CDS30 forma un clado con GAR09. Con esta modificación y teniendo en cuenta todos los datos disponibles de los gráficos de redes y la filogenia 3 con ML, este haplogrupo está constituido por 8 secuencias ($n_{\text{antiguos ibéricos}}$=1, $n_{\text{antiguos no ibéricos}}$=4, $n_{\text{modernos ibéricos}}$=2, $n_{\text{modernos no ibéricos}}$=1) (Tabla 8.1.13.3).

Además, la filogenia 3 con ML sigue sosteniendo la interpretación propuesta en la filogenia 2 con ML para la presencia del haplogrupo K en Iberia, que la relaciona con movimientos migratorios de animales ya domésticos. Considerando la pertenencia de la muestra 361 a este haplogrupo, el haplogrupo K se encontraba presente por lo menos en el este de Asia hace ~16.500 años y, posteriormente experimentó un desplazamiento poblacional hacia el occidente de Eurasia. Su presencia durante el Holoceno no está restringida a una zona geográfica. Se documenta en Rumania en la Edad del Bronce, en Mongolia durante la Edad del Bronce y la Edad del Hierro y, en la península ibérica en la Edad del Hierro. Su presencia en razas modernas ibéricas y de origen ibérico es residual (solo dos individuos) pero, podría ser compatible con un desarrollo de este haplogrupo, por los menos, en territorio peninsular desde la Edad del Hierro. La pertenencia a este haplogrupo de un caballo de raza Belga de tiro no permite concretar si este haplogrupo se desarrolló alternativamente en otros territorios europeos durante el Holoceno o es el fruto de cruces con razas de origen ibérico.

En el haplogrupo G se localiza la muestra antigua ibérica 170 de Seco Morais *et al*. (2007) relacionada con la batalla de Aljubarrota (años 1385), y el resto de muestras antiguas que ya aparecían en la filogenia 2 con ML a excepción de la muestra 251 del pleistoceno de Irlanda. En este nuevo análisis, la muestra 251 aparece en el haplogrupo E, asociada a caballos pleistocenos de los Urales y de Siberia. En este nuevo análisis, el caballo más antiguo del haplogrupo G es la muestra 352, asociada a un individuo de Siberia datado en 41.601 – 37.018 años cal. BP. Las secuencias holocenas más antiguas pertenecen a la Edad del Bronce de Mongolia (muestra 156) datada en ~2000 años aC y la muestra 121 de la Edad del Bronce de

Rumanía datada en 1500 – 1000 años aC. Además, localizados en el haplotipo central del haplogrupo A1 de Jansen (y que hemos denominado en los diagramas de redes A1/G), encontramos un caballo procedente de los Urales (muestra 186) datado en 379 – 201 años cal. aC, seis caballos chinos de la Edad del Hierro y un caballo húngaro del siglo IX (Anexo XIIIb, XIVb, XVb). Aunque la representación pleistocena de este haplogrupo se ha visto modificada en este nuevo análisis, estos resultados todavía permiten mantener la interpretación propuesta para la presencia de este haplogrupo en Iberia, asociado a un desplazamiento de efectivos desde el este de Europa a partir de la Edad del Bronce. La muestra medieval 170 sigue siendo la evidencia más antigua de este haplogrupo en territorio peninsular.

En esta topología de la filogenia 3 con ML, el haplogrupo G presenta caballos modernos de razas de procedencia ibérica y de otras razas euroasiáticas. Entre las ibéricas y de origen ibérico hay ejemplares de las razas Losino, Pottoka, Pura Raza Española y Lipizano, entre otras. Las razas no ibéricas proceden de Europa, Asia y Próximo Oriente (Anexo XVIII). En los gráficos de redes 2 y 3, el haplotipo central de A1/G se caracteriza por presentar ejemplares de, por lo menos, siete razas ibéricas (Sorraia, Pura Raza Española, Losino, Cartujano, Asturcón, Pura Sangre Lusitana e Hispano-Bretón) y tres de origen ibérico (Mustang, Lipizano, Kladruber) (Anexo XIVb). Este haplotipo central de A1/G caracteriza también al linaje Azambuja de la raza Sorria. Además, hemos comprobado que aparece en individuos de 23 razas de diferentes partes del mundo) (Anexo XVb).

La presencia de muestras ibéricas medievales y modernas en el haplogrupo G de la filogenia 3 con ML refuerza la propuesta realizada con el gráfico de redes 2 (Figura 8.1.11.2.7), proponiendo la presencia de este linaje en Iberia a partir de tiempos históricos, con una continuidad de este haplogrupo en territorio peninsular hasta época actual. La localización de la muestra 170 de la batalla de Aljubarrota en el mismo clado que el linaje Azambuja, es compatible con una presencia de este linaje de Sorraia en Iberia desde la Edad Media. No obstante, el linaje Azambuja no es exclusivo de Sorraia, ya que también se ha documentado en caballos de otras razas ibéricas. Además, el desarrollo de este haplogrupo tampoco es exclusivo de la península ibérica. Combinando la información de los gráficos de redes y la filogenia 3 con ML, este haplogrupo está formado por 118 secuencias ($n_{\text{antiguos ibéricos}}$=1, $n_{\text{antiguos no ibéricos}}$=13, $n_{\text{modernos ibéricos}}$=51, $n_{\text{modernos no ibéricos}}$=53) (Tabla 8.1.13.3). La presencia de muestras antiguas y ejemplares modernos no ibéricos sugiere que la misma situación ocurrió en otras partes de Eurasia.

Continuando con los linajes de la raza Sorraia, encontramos una situación similar con el haplogrupo E y el linaje Cigana. En la filogenia 3 con ML, observamos representantes de este linaje en muestras pleistocenas de diferentes partes de Eurasia (norte de Siberia, Urales e Irlanda), y en muestras de la Edad de Hierro de Mongolia y del siglo IX de Hungría (Anexo XVIII). Esta información se completa con la procedente del gráfico de redes 2, donde se observa que el haplotipo 58 contiene, además, caballos de la Edad del Bronce de China y Mongolia. El Cigana no es un linaje exclusivo de la raza Sorraia, ya que también aparece entre caballos Marismeños, Pura Raza Española, Garrano y Lipizano (Anexo XIVb), y tampoco es exclusivo de la península ibérica, ya que lo encontramos entre caballos de razas europeas, asiáticas y de Próximo Oriente (Anexo XVb), como refleja el gráfico de redes 3. Combinando la información de los gráficos de redes y la filogenia 3 con ML, este haplogrupo está constituido por lo menos por 38 secuencias ($n_{\text{antiguos ibéricos}}$=0, $n_{\text{antiguos no ibéricos}}$=10, $n_{\text{modernos ibéricos}}$=14, $n_{\text{modernos no ibéricos}}$=14) (Tabla 8.1.13.3). Ninguna de las muestras ibéricas pleistocenas u holocenas antiguas analizadas en esta investigación se distribuye en este haplogrupo. Los resultados obtenidos con la filogenia 3 con ML permiten mantener la propuesta realizada con el gráfico de redes 2. Debido a que las muestras holocenas más antiguas son asiáticas, sugerimos que posiblemente este haplogrupo entró a formar parte de las poblaciones domésticas en territorio asiático y llegó a Europa a partir de animales domésticos. Posteriormente, en la península ibérica este linaje habría estado involucrado en el desarrollo de varias razas ibéricas.

El haplogrupo A presenta tres muestras de esta investigación, GAR04, CDS11 y ATA02. El caballo ATA02, datado en 1752 – 1533 años cal. aC y asociado al Bronce medio, ya se había documentado en este haplogrupo en los gráficos de redes y en las filogenias con ML 1 y 2 anteriores. La muestra CDS11 se ha localizado en los gráficos de redes entre los haplogrupos A y B de Achilli, en la filogenia 1 con ML en el haplogrupo B en una posición basal y, en la filogenia 2 con ML en una posición basal al origen de los haplogrupos A y B de Achilli. La muestra GAR04 no se pudo utilizar en los gráficos de redes, mientras que en las filogenias 1 y 2 con ML tiene como antepasado común a la misma población que dará lugar a los haplogrupos A y B de Achilli.

Además, el haplogrupo A contiene a las mismas muestras antiguas de comparativa que ya se habían documentado en los gráficos de redes y en la filogenia 2 con ML. Estas muestras están asociadas al Calcolítico, Edad del Bronce, Edad del Hierro y Edad Media de distinta zonas de Eurasia, añadiendo además en esta ocasión la muestra 90 de la Edad del Bronce de Armenia, y datada en 1950 – 1750 años aC. En los gráficos de redes la muestra 90 aparece a

una mutación de distancia del haplotipo 68 (como ocurre con CDS11) y en la filogenia 2 con ML aparece junto a GAR04 y CDS11. Entre las muestras modernas de la filogenia 3 con ML, este haplogrupo presenta caballos de cuatro razas de procedencia ibérica: Pura Sangre Lusitana, Pantaneiro, Paso Fino colombiano e Hispano-Bretón, así como caballos de otras razas europeas, asiáticas y de Próximo oriente (Anexo XVIII).

En el haplogrupo A de esta filogenia 3 con ML aparece además la muestra 68, que en los diagramas de redes 1, 2 y 3 comparte haplotipo con caballos antiguos y modernos. Entre los antiguos hay un caballo pleistoceno de Alemania (muestra 185) y un caballo de la Edad del Bronce de Moldavia (muestra 116). Como ya se ha comentado en las descripciones de los gráficos de redes, el caballo alemán está asociado a una datación de 15.126 – 14.473 años cal. BP. Entre los modernos, aparecen dos caballos de razas de origen ibérico (el individuo Paso Fino colombiano comentado en el párrado anterior y además, un individuo Lipizano) y cinco caballos de razas no ibéricas (Anexo XIIIb, Anexo XIVb, Anexo XVb). En la filogenia 2 con ML, la muestra 68 aparece junto a GAR04, CDS11 y la muestra 90, compartiendo la misma población de origen con los haplogrupos A y B de Achilli.

En este haplogrupo A de la filogenia 3 con ML también se han documentado los haplotipos A4 y A5 de Jansen. Las muestras antiguas asociadas a estos haplotipos ya se comentaron en la filogenia 2 con ML. En los gráficos de redes el haplotipo A4 es compartido por muestras antiguas de la Edad del Bronce de Armenia (1950 – 1750 años aC), Edad del Hierro de Mongolia (400 – 300 años aC), caballos húngaros de los siglos VI-VII y una muestra siberiana de los siglos XVII-XVIII, mientras que el haplotipo A5 es compartido por una muestra irlandesa datada entre 238 – 537 AD (Anexo XIIIb, Anexo XIVb, Anexo XVb).

Combinando la información de los gráficos de redes y filogenia 3 con ML, el haplogrupo A está constituido por 94 muestras ($n_{\text{antiguos ibéricos}}$= 3, $n_{\text{antiguos no ibéricos}}$= 16, $n_{\text{modernos ibéricos}}$=11, $n_{\text{modernos no ibéricos}}$=64) (Tabla 8.1.13.3). Aunque CDS11 y GAR04 no han mantenido una estabilidad entre las distintas filogenias con ML, su asociación ha estado vinculada con los clados A y B. Los nuevos resultados de este análisis sugieren que el haplogrupo A estaba presente en Europa occidental a finales del Pleistoceno. La presencia en este clado del caballo alemán, más moderno que los caballos ibéricos, sería compatible con un proceso de recolonización del territorio de Europa occidental después del LGM. Combinando los datos de los análisis de ML con los gráficos de redes, después de analizar ejemplares pleistocenos europeos (*n*=21), asiáticos (*n*=15) y americanos (*n*=101), no se ha documentado su presencia en el resto de Eurasia o América excepto para la muestra alemana ya comentada. Su posterior

distribución holocena se podría justificar por un movimiento démico desde Europa occidental hacia el Este, en algún momento a finales del Pleistoceno o comienzos del Holoceno. En el Holoceno este haplogrupo vuelve a aparecer en muestras de Moldavia y Turquía datadas en ~4000 años aC. Posteriormente lo encontramos en muestras más modernas europeas de la Edad del Bronce (~1800 años aC) y asiáticas de la Edad del Bronce (~3000 años aC) y de la Edad del Hierro (~400 – 300 años aC).

Por otro lado y para el Holoceno, el caballo ATA02 del Bronce medio, es la muestra más antigua que hemos documentado para este haplogrupo en Europa occidental. Su presencia en Iberia podría relacionarse con dos escenarios: 1) continuidad desde finales del Pleistoceno de este haplogrupo en el territorio peninsular a lo largo del Holoceno, aunque no hemos encontrado evidencias de su presencia en las muestras ibéricas mesolíticas/neolíticas (*n*=15), calcolíticas (*n*=25) y del Bronce antiguo (*n*=14) analizadas o, 2) teniendo en cuenta su presencia en Europa desde el Calcolítico, reintroducción de este haplogrupo durante el Bronce medio, con caballos ya domesticados. La presencia del haplogrupo A en razas ibéricas y americanas actuales podría deberse al desarrollo en Iberia de individuos con este haplogrupo, y su posterior traslado al continente americano como efectivos fundacionales de nuevas razas.

El haplogrupo L está ampliamente distribuido, presentando muestras antiguas y modernas de diferentes zonas de Eurasia. Entre las muestras antiguas de nuestra investigación destaca la muestra pleistocena CDS31 asociada al Magdaleniense medio, CR65 de la Edad del Hierro y ATA07 de la Edad Media. Además, esta topología presenta en este haplogrupo muestras antiguas de otras zonas de Europa: la muestra 356 de origen siberiano y datada en 2343 – 2124 años cal. BP (394 – 175 años cal. aC), la muestra 256 de Hungría del siglo VIII, y las muestras 404, 405 y 416 de Islandia del siglo XIX. Las muestras CR65 y ATA07 ya habían aparecido asocidas a este haplogrupo en los gráficos de redes 1, 2 y 3 y en los análisis filogenéticos 1 y 2 con ML. Además, las muestras antiguas de otras investigaciones ya se habían documentado en el análisis filogenético 2 con ML.

En los gráficos de redes, los haplotipos centrales D2 y D3 también son compartidos por otras muestras antiguas, siendo las más antigua del haplotipo D2 un caballo de la Edad del Bronce de Moldavia (muestra 115; 1500 – 1000 años aC) y del haplotipo D3 un caballo de la Edad del Hierro de Mongolia (muestra 152; ~900 años aC), ambas ya comentadas en los análisis de gráficos de redes.

En el haplogrupo L aparecen caballos de diferentes regiones euroasiáticas y caballos de origen ibérico. En la filogenia 3 con ML, las ramas de este clado presentan a 21 caballos de 10 razas ibéricas y de origen ibérico: Asturcón (*n*=1), Criollo Argentino (*n*=1), Hispano Bretón (*n*=2), Kiger Mustang (*n*=1), Lipizano (*n*= 3), Lusitano (*n*= 2), Mustang (*n*= 1), Pottoka (*n*= 3), Pura Raza Española (*n*= 6) y Sorraia (*n*=1, linaje Pomba). Además, dentro del haplogrupo L, la muestra CDS31 forma un clado con la muestra 575 que caracteriza al linaje Pomba de la raza Sorria (en la Figura 8.1.13.3, el linaje Pomba aparece entre asteriscos para diferenciarlo mejor del resto de secuencias antiguas). Además, en los gráficos de redes 2 y 3, el haplogrupo L está constituido por unos 200 caballos ibéricos y de origen ibérico.

Combinando los gráficos de redes y la filogenia 3 con ML, este haplogrupo estaría representado por 548 individuos [$n_{\text{antiguos ibéricos}}$= 4 (considerando a la muestra pleistocena CDS31), $n_{\text{antiguos no ibéricos}}$= 25, $n_{\text{modernos ibéricos}}$= 216, $n_{\text{modernos no ibéricos}}$= 303] (Tabla 8.1.13.3).

Esta relación entre un caballo pleistoceno ibérico y el linaje Pomba es una asociación novedosa. Además, permitiría considerar la presencia del haplogrupo L en Iberia a finales del Pleistoceno, por lo menos durante el Magdaleniense medio. Sin embargo, la ausencia del haplogrupo L entre las muestras ibéricas durante el Holoceno hasta la Edad del Hierro, sería compatible con un movimiento migratorio hacia el Este a finales del Pleistoceno – comienzos del Holoceno, y posterior reintroducción en Iberia, ya como animal doméstico. No obstante, la presencia de muestras pleistocenas ibéricas en este haplogrupo ha ofrecido resultados dispares en función de los análisis filogenéticos 1, 2 ó 3 con ML. Mientras que en el análisis filogenético 1 la muestra más antigua es CDS25 del Magdaleniense medio, en el análisis filogenético 2 esta muestra ya no está incluida en el haplogrupo L, pasando a ser la más antigua CR65 [o de manera global si tenemos en cuenta los haplotipos D2 y D3, las muestras 115 (Edad del Bronce, Moldavia) y 152 (Edad del Hierro, Mongolia) incluidas en ellos]. En el análisis filogenético 3 la muestra más antigua ahora es CDS31, que aparece incluida por primera vez en este clado. Por lo tanto, la inconsistencia de la asociación de muestras pleistocenas al haplogrupo L no nos permiten corroborar una antigüedad en Iberia asociada a finales del Pleistoceno. Por ese motivo, consideramos más adecuado determinar como muestra ibérica más antigua a CR65, la siguiente en antigüedad. Además, la vinculación de esta muestra al haplogrupo L se ha mantenido constante en los tres gráficos de redes y en todos los árboles filogenéticos con ML.

Asumiendo como muestra ibérica más antigua a CR65, las muestras no ibéricas más antiguas del haplogrupo L son las documentadas en todos gráficos de redes. Estas muestras

están asociados a la Edad del Bronce de Moldavia (en haplotipo central D2) y a la Edad del Hierro de Mongolia, Kazajistán y China (Haplotipos centrales D2 y D3), teniendo por tanto sus primeras manifestaciones en torno a 1500 – 1000 años aC para el haplotipo central D2 y ~900 años aC para el haplotipo central D3, en Europa oriental y Asia central respectivamente. En base a estos resultados, no podemos asegurar una presencia del haplogrupo L en Iberia desde el Pleistoceno pero sí un desarrollo en territorio peninsular por lo menos desde la Edad del Hierro, a partir de una población foránea que entró con individuos domésticos.

En la filogenia 3 con ML, el clado definido a partir del haplotipo central C1/M contiene a la muestra BG12, supuestamente pleistocena y asociada a unas edades de 15.079 – 12.410 años cal. BP; 13.130 – 10.461 años cal. aC. En este clado aparecen también las muestras pleistocenas de Alemania 131 y 132 y con unas cronologías que oscilan entre 15.000 – 11.000 años aC, coetáneas con la fecha asociada a BG12. Entre las muestras holocenas antiguas de nuestra investigación, este clado presenta a ATA28 y ATA44. La muestra ATA44 pertenece al Calcolítico precampaniforme y su antigüedad está comprendida entre 4857 – 4649 años cal. BP (2908 – 2700 años cal. aC) y 4430 – 4161 años cal. BP (2481 – 2212 años cal. aC). La muestra ATA28 está asociada al Calcolítico campaniforme (4430 – 4161 años cal. BP; 2481 – 2212 años cal. aC). En este clado también aparece la muestra histórica 193, recuperada en Suecia y asociada los siglos III-VI. Además, en este clado aparece el haplotipo central C1 de Jansen, que es compartido por otras muestras antiguas, donde la más antigua es la muestra 126 calcolítica de Ucrania, con una antigüedad de 3250 – 3100 años aC y perteneciente a un caballo salvaje. Las siguientes muestras antiguas pertenecen animales domésticos de la Edad del Hierro de Mongolia (siglo VII aC) y Kazajistán (siglo III aC), y a muestras históricas de Suecia (siglos III-VI), Hungría (siglos VI-IX) e Islandia (siglo XIX) (Anexo XIIIb, Anexo XIVb, Anexo XVb).

Esta nueva filogenia tampoco considera al haplotipo central del haplogrupo ---/M dentro del clado de C1/M, de manera similar a lo que ocurría en la filogenia 2 con ML. El haplotipo que define al haplogrupo ---/M aparece, nuevamente, en una posición basal a los haplogrupos C1/M, O-P, Q, R y al formado por las muestras COA16-CDS04, que comentaremos a continuación.

Entre los caballos modernos del clado M hemos encontrado individuos de razas ibéricas y de origen ibérico. Combinando este resultado con los obtenidos previamente para los gráficos de redes 2 y 3, estos caballos se encuentran distribuidos entre el haplotipo central C1/M y por distintas ramas del clado. Estos individuos pertenecen a nueve razas: Pura Sangre Lusitana, Pura Raza Española, Asturcón, Lipizano, Mustang, Trotador americano, Criollo

Argentino, Criollo Brasileño y Peruana de Paso. Este clado también contiene casi 100 ejemplares de otras zonas de Eurasia, localizados en su mayoría en el haplotipo central de C1/M, que además contiene una significativa representación de caballos de razas de las Islas Británicas (Anexo XIVb, Anexo XVb). A partir de los datos obtenidos en los gráficos de redes y filogenia 3 con ML, este haplogrupo C1/M estaría constituido por 123 individuos ($n_{\text{antiguos ibéricos}}$= 3, $n_{\text{antiguos no ibéricos}}$= 16, $n_{\text{modernos ibéricos}}$= 15, $n_{\text{modernos no ibéricos}}$= 89) (Tabla 8.1.13.3).

Combinando los resultados obtenidos con los gráficos de redes, el rango de distribución del haplogrupo C1/M a finales del Pleistoceno comprendería el occidente europeo. En el Holoceno europeo se detecta durante el Calcolítico en la península ibérica y en el este de Europa. En Asia, la práctica ausencia de muestras entre el Pleistoceno y el Calcolítico no nos permite realizar interpretaciones. En las muestras asiáticas de la Edad del Bronce no se detecta, apareciendo por primera vez en Asia a partir de la Edad del Hierro. La presencia de este haplogrupo en el Calcolítico de Iberia podría deberse a una persistencia en el territorio desde el Pleistoceno. En la actualidad, está ampliamente representado en razas euroasiáticas. Su presencia en muestras ibéricas y de origen ibérico podría asociarse a una permanencia durante el Holoceno en territorio ibérico hasta a actualidad.

El haplogrupo O-P presenta la misma asociación de muestras antiguas que se describió en la filogenia 2 con ML. Contiene las muestras con las que se determinó el clado O y el clado P, además de muestras de nuestra investigación: las pleistocenas CDS19 y CDS23 y a la muestra ATA41 del Calcolítico precampaniforme. También contiene a otras dos muestras antiguas, de la Edad del Hierro de China (muestra 224) y una siberiana de los siglos XVII-XVIII (muestra 213). Este conjunto se completa con las muestras antiguas diferenciadas en los gráficos de redes en el haplotipo central F1 de Jansen (de la Edad del Bronce y Edad del Hierro de China y caballos húngaros de los siglos VI-VII), del haplotipo 14 (con una muestra de la Edad del Hierro de Mongolia) y del haplotipo 224 (que representa a dos caballos de la Edad del Hierro de China). A partir de la información de los gráficos de redes 2 y 3 y de esta filogenia, los ejemplares modernos ibéricos del clado O-P tienen una representación minoritaria (n=4), y pertenecen a las razas Hispano – Bretón, Lipizano y Kladruber (Anexo XIVb; Anexo XVIII). Al contrario, los caballos no ibéricos sí se encuentran bien representados en razas europeas, de Próximo Oriente y Asia (Anexo XVb). Combinando la información de los gráficos de redes y de filogenia 3 con ML, este haplogrupo está constituido por 52 ejemplares ($n_{\text{antiguos ibéricos}}$= 3, $n_{\text{antiguos no ibéricos}}$= 9, $n_{\text{modernos ibéricos}}$= 4, $n_{\text{modernos no ibéricos}}$= 36) (Tabla 8.1.13.3).

Este nuevo análisis permite mantener la propuesta realizada con el análisis filogenético 2 con ML para el haplogrupo O-P: este haplogrupo se encontraba a finales del Pleistoceno representado en Europa por lo menos en la península ibérica. No lo hemos detectado entre el resto de muestras pleistocenas europeas (*n*=21), asiáticas (*n*=15) o americanas (*n*=101), pero durante el Holoceno sí aparece en muestras antiguas europeas y asiáticas, siendo las más antiguas (a excepción de la ibérica ATA41) las muestras de la Edad del Bronce de China y las de la Edad del Hierro de China y Mongolia. Esta información permite sugerir un desplazamiento poblacional desde Europa occidental hacia el Este entre finales del Pleistoceno y la primera mitad del Holoceno. La escasa muestra de comparativa utilizada para la primera mitad del Holoceno euroasiático no nos permite inferir las localizaciones de estas poblaciones. Dejando al margen a las muestras ibéricas, se detecta por primera vez durante el Holoceno en China durante la Edad del Bronce.

En base a los datos que hemos utilizado, es probable que la presencia holocena del haplogrupo O-P en Iberia se deba a una continuidad durante el Holoceno de este haplogrupo en suelo ibérico. Además, su presencia en caballos modernos de origen ibérico de razas integradas (Hispano-Bretón) y segregadas (Lipizano y Kladruber) europeas, sería compatible con la hipótesis de una continuidad de este linaje en territorio peninsular hasta época actual, aunque con una contribución residual en las poblaciones domésticas de origen ibérico. Sin embargo, esta continuidad no estaría restringida a territorio ibérico. Esto se debe a que también se ha determinado este haplogrupo en muestras de la Edad de Bronce y de la Edad del Hierro de China y de Mongolia, así como en muestras modernas de Europa, Próximo Oriente y Asia (Anexo XVb).

Respecto a los haplogrupos nuevos, hemos identificado seis haplogrupos que se describirán en orden decreciente (Figura 8.1.13.3). La filogenia 3 con ML destaca otra vez el clado donde se encuentra CDS21. Como se describió en la filogenia 2 con ML, se trata de un haplogrupo extinto formado por 28 secuencias, todas de individuos salvajes americanos a excepción de CDS21. Además, los haplotipos de las muestras 199 y 177 son compartidos por otros 24 y 13 caballos en el gráfico de redes 1 (Anexo XIIIb), y por 25 y 13 caballos tanto en el gráfico de redes 2 (Anexo XIVb) como en el gráfico de redes 3 (este último es un dato analizado pero no representado en la Figura 8.1.11.2.9). Combinando la información de los gráficos de redes y de esta filogenia, este clado contiene 61 - 62 secuencias de caballos salvajes, donde todos a excepción de CDS21 son de América del Norte (Tabla 8.1.13.3) y además todas pleistocenas excepto 2 secuencias del haplotipo 177 que podrían ser de comienzos del

Holoceno (Anexo XIIIb, XIVb). Este clado ya se había documentado en la filogenia 2 con ML, por lo que mantenemos las dos interpretaciones propuestas para este haplogrupo: 1) un sesgo en el muestreo de las poblaciones euroasiáticas, o 2) fragmentación de una población antigua y ampliamente distribuida de la que no hemos detectado representantes en el resto de Eurasia, dando como resultado la presencia de individuos de este haplogrupo en lugares geográficamente tan separados como América del Norte y la península ibérica, pero coetáneos en el tiempo. La ausencia de caballos a partir del Holoceno permite considerarlo como un haplogrupo extinto.

El segundo de los nuevos haplogrupos es el representado por CFo02, que presenta las mismas muestras ibéricas de nuestra investigación que las descritas previamente para los gráficos de redes 1, 2 y 3. En estos gráficos se señalaba su constitución principalmente por muestras antiguas ibéricas a excepción de dos muestras pleistocena de los Urales rusos. Una de ellas es la muestra 339 que forma parte del haplotipo central y, pertenece a un caballo pleistoceno de los Urales datado en 25.324 – 24.551 años cal. BP. La otra es la muestra 338, que se encuentra a una mutación de distancia del haplotipo central en los gráficos de redes, pertenece a un caballo recuperado también en los Urales y datado en 39.571 – 38.470 años cal. BP.

A diferencia de la filogenia 2 con ML, en este análisis filogenético 3 con ML la muestra 338 no aparece asociada al haplogrupo de CFo02. Ahora, esta muestra aparece separada formando un clado con el caballo 598 de la raza Paso Fino de Puerto Rico y soportado con un valor de SH-aLRT de 0,78. Este clado se sitúa en una zona de la topología no resuelta, con una aparición posterior al haplogrupo Lusitano C, pero anterior a la de los haplogrupos CFo02 y los definidos por Achilli E, F y G por un lado, y por otro a A, B, L, M, O-P, Q y R.

Aparte, en el análisis filogenético 2 con ML aparecían en el haplogrupo CFo02 las muestras CDS24 y CFD02. En la filogenia 3 con ML esta asociación no se sustenta. De hecho, ninguna de estas dos muestras aparece ahora asociadas a un haplogrupo.

Unificando los resultados de los gráficos de redes y los análisis filogenéticos con ML, este haplogrupo está constituido por lo menos por 11 secuencias antiguas, en casi su totalidad ibéricas (Tabla 8.1.13.3). Entre las muestras pleistocenas europeas analizadas (nueve del GenBank sin contar las de los Urales – Anexo I - y 31 de nuestra investigación), no hemos encontrado representantes de este haplogrupo en Europa occidental. En base a la muestra pleistocena 339 de hace ~25.000 años de los Urales, se mantiene la interpretación para este

haplogrupo que propone un origen foráneo a Iberia. Su presencia ibérica podría estar asociada movimientos migratorios hacia el occidente de Europa a partir de una población que tenía representantes pleistocenos por lo menos en los Urales. Durante el Holoceno, se desarrolló en territorio peninsular, documentándose su presencia por lo menos desde época neolítica hasta el Bronce antiguo. Aunque en la actualidad no tiene representantes modernos ibéricos o de origen ibérico, en el gráfico de redes 3 se detectaron en este haplogrupo tres caballos de las raza rusa Mesenskay y la italiana Ventasso (Tabla 8.1.13.3).

El tercer nuevo haplogrupo que se detalla es el clado formado únicamente por las muestras antiguas portuguesas 168 y 169 de la investigación de J. Seco Morais *et al.* (2007). Se localiza compartiendo ancestro común con los haplogrupos conocidos E, F y G. Para este clado se mantiene la interpretación propuesta en la filogenia 2 con ML: la permanencia de este haplogrupo en Iberia desde hace ~30.000 años hasta la Edad del Hierro (789 - 401 aC.) (Tabla 8.1.13.3).

El cuarto de los nuevos haplogrupos es el que presenta a CDS25 y a la muestra 167 de Seco Morais *et al*. (2007) y que procede de la batalla de Aljubarrota (años 1385). Es un clado formado por muestras ibéricas, dos antiguas (CDS25 y 167) y tres modernas, pero sustentado por valores bajos de SH-aLRT. Por ese motivo, su interpretación la consideramos con reservas. Las muestras modernas son tres caballos asociados a las razas Pura Raza Española, Hispano-Bretón y Peruana de Paso. Con estos resultados se podría proponer para este clado un desarrollo en la península ibérica desde finales del Pleistoceno superior hasta época actual. Sin embargo, la muestra CDS25 no ha mantenido una posición constante en las topologías. En el análisis filogenético 1 con ML esta muestra se asociaba al haplogrupo L, mientras que en el análisis filogenético 2 aparecía ocupando la posición basal de la topología. Teniendo en cuenta los resultados de las tres topologías de ML, no consideramos prudente asociar este clado a los caballos pleistocenos ibéricos, al menos hasta no recuperar más información genética del individuo CDS25. La asociación de la muestra de la batalla de la Aljubarrota con estas muestras ibéricas, podría sugerir la presencia de este haplogrupo en Iberia desde época medieval.

En relación a las muestras de J. Seco Morais *et al.* (2007), en base a estos resultados podemos destacar que cuatro de las seis muestras (167, 168, 169 y 170) utilizadas por J. Seco Morais *et al.* (2007), se distribuyen entre tres clados que tienen como origen común a la población de la que aparecerán los clados E, F y G. Las muestras restantes 171 y 172 se distribuyen del siguiente modo: 171 en el haplogrupo H como hemos comentado y 172

formando un clado con la secuencia de *Equus asinus* usada como grupo externo. Por ese motivo, 172 no aparece representada en la Figura 8.1.13.3.

El quinto de los nuevos haplogrupos es el clado donde aparecen las muestras de La Garma A y Las Caldas (*n*=6, GAR03, GAR07, GAR08, CDS12, CDS14, CDS26) es un haplogrupo extinto formado exclusivamente por secuencias pleistocenas. Este clado ya lo habíamos documentado en las filogenias anteriores, donde GAR03, GAR07, GAR08 y CDS26 han aparecido siempre asociados a este haplogrupo, y además CDS12 y CDS14 en la filogenia 1 con ML (en la filogenia 2 con ML aparecen fuera del clado, pero ocupando una zona basal al mismo). Sin embargo, como en la filogenia 1 con ML, los valores de soporte de ramas de SH-aLRT también son ligeramente inferiores a 0,8 y obligan a considerar esta agrupación con prudencia. En esta nueva filogenia 3 con ML, en este clado aparece también la muestra 165 de un caballo pleistoceno recuperado en el norte de Siberia del que no tenemos información radiométrica y, la muestra 180 de un caballo alemán datado en 12.550 ± 60 BP. (15.141 – 14.430 años cal. BP, calibrado a 2σ con la curva de calibración IntCal13 y el programa OxCal 4.2) (Tabla 8.1.13.3). En los gráficos de redes, las muestras CDS26, GAR03, GAR08 y 180 han compartido el mismo haplotipo.

En relación a las muestras del Solutrense superior de Las Caldas, CDS12 y CDS14 están asociadas a la datación del nivel 9 de la Sala I, de 22.541 – 20.773 años cal. BP (Tabla 7.4.1.2). Por su parte, el caballo del Magdaleniense medio antiguo CDS26 está asociado a las dataciones del nivel VIII de la Sala II, Ua-10189: 16.961 – 16.047 años cal. BP y Ly-2936: 16.582 – 15.351 años cal. BP (Tabla 7.4.1.2). Las muestras de la Garma A están asociadas a la datación del nivel L3 de 17.272 – 16.187 años cal. BP.

Teniendo en cuenta estas dataciones, este haplogrupo habría estado presente en Europa occidental desde 22.541 – 20.773 años cal. BP. con CDS12 y CDS14 como los representantes más antiguos. Se habría mantenido hasta fechas de 15.141 – 14.430 años cal. BP, representadas por la muestra alemana 180. A no disponer de información radiométrica de la muestra siberiana, no podemos hacer interpretaciones sobre su distribución demográfica entre las poblaciones asiáticas. Sin embargo, atendiendo a las dataciones de las muestras ibéricas, la presencia de este linaje de caballos en la zona de la actual Alemania podría estar asociada con una recolonización del continente después del LGM, como se ha sugerido para otros linajes anteriormente comentados (los haplogrupos A y Lusitano C).

El sexto haplogrupo nuevo esta caracterizado por el clado que contiene a COA16 y CDS04, y que está constituido por 10 caballos exclusivamente pleistocenos. La mayoría tienen procedencia americana (*n*=8), a excepción de las dos muestras ibéricas de nuestra investigación (Tabla 8.1.13.3). Este clado ya lo habíamos documentado en la filogenia 2 con ML. La muestra CDS04 está asociada al Solutrense medio, con una datación de 23.605 – 22.362 años cal. BP. La muestra COA16 está relacionada con el Magdaleniense medio, asociada a una datación de 17.467 – 16.972 años cal. BP. Las muestras americanas oscilan en un rango cronológico comprendido por la muestra 288 (30.299 - 28.980 años cal. BP) y la muestra 377 (14.865 – 13.980 años cal. BP). Entre los caballos americanos, la muestra 331 presenta una cronología de 24.265 – 23.489 años cal. BP, parecida a CDS04. Además, la muestra 311 presenta una cronología de 17.662 – 16.592 años cal. BP, similar a COA16. La interpretación ofrecida para este haplogrupo es similar a la sugerida para el haplogrupo de CDS21 con el resto de muestras pleistocenas americanas: 1) sesgo en el muestreo de poblaciones euroasiáticas, o 2) Fragmentación de población inicial antigua ampliamente distribuida de la que no hemos detectado representantes en el resto de Eurasia, dando como resultado la presencia de individuos de este haplogrupo en lugares geográficamente tan separados como América del Norte y la península ibérica, pero coetáneos en el tiempo.

Además, comentamos que esta filogenia 3 con ML, las muestras del Magdaleniense medio GAR09 y CDS30 forman un clado que no se detectó en las filogenias 1 y 2 con ML. En cada filogenia, estas muestras han aparecido en haplogrupos diferentes (Q e I en filogenia 1 respectivamente, y haplogrupos nuevos en filogenia 2). Aunque este clado podría representar la distribución de un haplogrupo de caballos salvajes ibéricos de finales del Pleistoceno, la inconsistencia de GAR09 y CDS30 en sus agrupaciones obliga a tratar esta propuesta con cautela.

Por último, comentar que las muestras pleistocenas COA10, CDS22, CDS27, CDS29 y CDS32, aparecen nuevamente agrupadas en una zona no resuelta de la topología (en la zona inferior, entre los clados L y C1/M). Esta situación ya se comentó en la filogenia 2 con ML. De nuevo, como en la filogenia 2 con ML, estas muestras aparecen en una posición basal a la población que dará origen los haplogrupos conocidos C1/M, O-P, Q, R y el haplogrupo de COA16 - CDS04.

8.1.13.2. Análisis bayesianos

Las inferencias bayesianas consideran como mejores estimadores de una filogenia a aquellos árboles que presentan los valores más altos de probabilidad posterior. Sin embargo, los árboles resultantes de nuestros análisis reflejan topologías donde las relaciones filogenéticas de los haplogrupos no están resueltas. Aún así, es posible diferenciar la presencia de algunas de nuestras muestras en haplogrupos comentados en las filogenias con ML.

Del mismo modo que hemos procedido en las filogenias con ML, para ofrecer una mayor claridad de lectura, las descripciones que se realizan a continuación para los haplogrupos utilizan únicamente la nomenclatura de Achilli.

8.1.13.2.1. Análisis filogenético 1 con IB

Este análisis bayesiano se realizó sobre la matriz de 80 secuencias de ADN antiguo para las posiciones nucleotídicas 15.444-15.842, bajo el modelo evolutivo K80 (Tabla 8.1.13.1). En esta topología se han podido diferenciar 17 haplogrupos de Achilli y su correspondencia con nueve haplogrupos de Jansen (Figura 8.1.13.4). El único haplogrupo de Achilli que no se ha diferenciado ha sido el C. Los ocho haplogrupos de Jansen que no se han diferenciado han sido A3, A6, B1, B2, C1, C2, F1, F2. Cabe señalar que los haplogrupos A3, C1, C2, F1 y F2 tampoco se diferenciaron en el análisis filogenético 1 con ML.

Nuestras 80 muestras se distribuyen en cinco haplogrupos de Achilli y tres haplogrupos nuevos sin representantes modernos. Los haplogrupos I y M contienen exclusivamente muestras pleistocenas, mientras que los haplogrupos A, K y L contienen muestras holocenas.

A continuación, y en orden descendente como aparecen en la Figura 8.1.13.4, se detallan los haplogrupos de Achilli donde donde hemos localizado secuencias de nuestra investigación, seguidos de los haplogrupos nuevos.

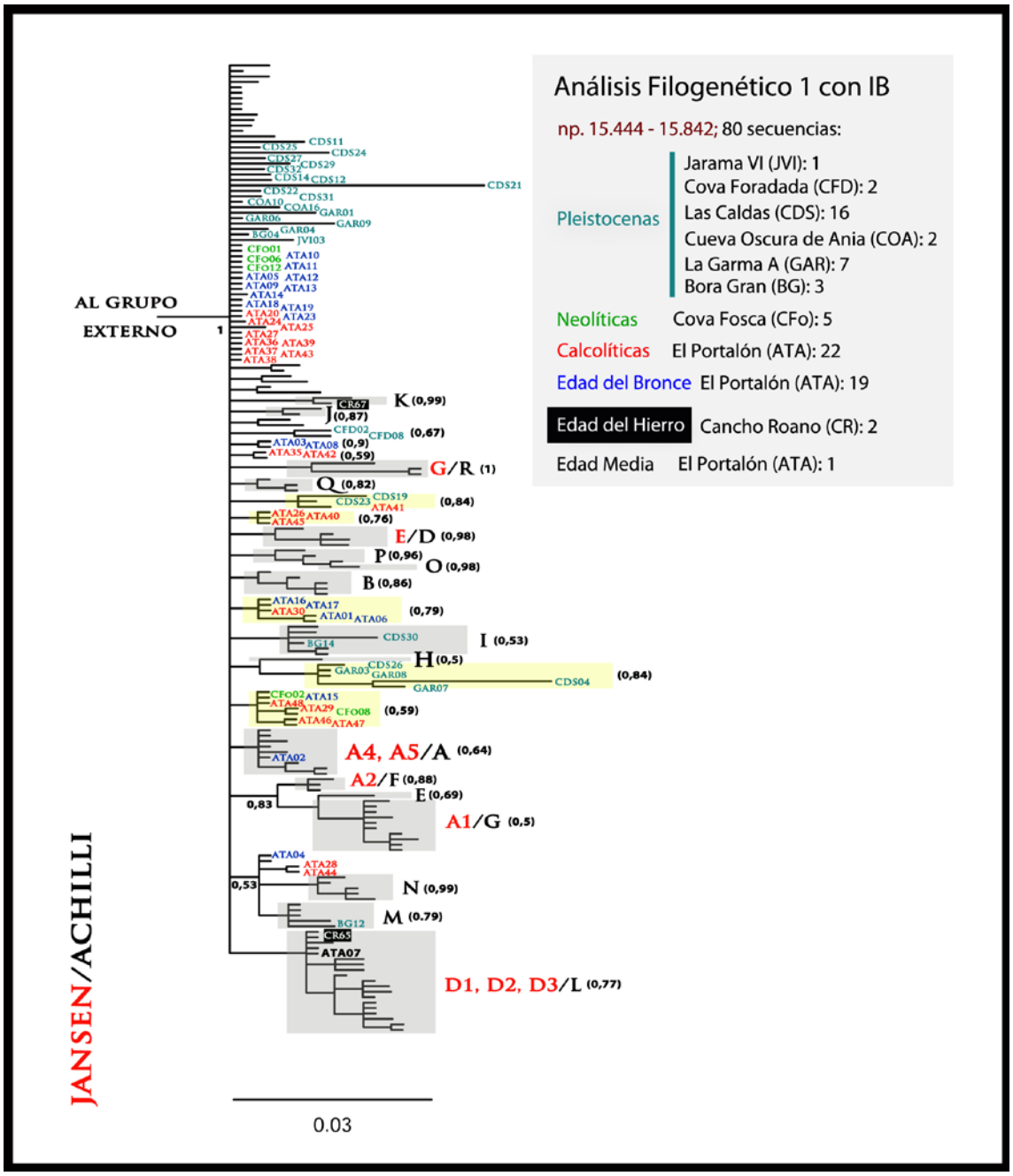


Figura 8.1.13.4. ***Análisis filogenético 1 con IB.*** Se han analizado 80 secuencias de ADN antiguo de esta investigación, np. 15.444 – 15.842.

Las muestras que comentamos ya aparecían asociadas a estos mismos haplogrupos en la filogenia 1 con ML. El haplogrupo K contiene a la muestra CR67, en el haplogrupo I encontramos a las muestras pleistocenas BG14 y CDS30, el haplogrupo A contiene a ATA02, el haplogrupo M a BG12, y el haplogrupo L presenta a CR65 y ATA07. No obstante, solamente el haplogrupo K presenta valores altos de probabilidad posterior.

En este análisis no hemos podido diferenciar al haplogrupo Lusitano C, sus muestras aparecen distribuidas entre cuatro clados con valores de probabilidad posterior desiguales, y en zonas no resueltas de la topología.

Los haplogrupos nuevos que no tienen representanción en caballos modernos también fueron previamente detectados en el análisis filogenético 1 con ML. Uno de estos haplogrupos nuevos vuelve a presentar a las muestras pleistocenas CDS19, CDS23 y a la holocena ATA41, con valores de probabilidad posterior moderados.

Otro grupo es el que hemos denominado CFo02, que contiene a las mismas muestras que aparecen en los gráficos de redes 1, 2 y 3 y en la topología 1 con ML (*n*=7, CFo02, CFo08, ATA15, ATA29, ATA46, ATA47 y ATA48). Se caracteriza por presentar valores de probabilidad posterior bajos.

El tercer haplogrupo está formado exclusivamente por muestras pleistocenas (*n*=5, CDS04, CDS26, GAR03, GAR07 y GAR08) y presenta valores de probabilidad posterior moderados. En el análisis filogenético 1 con ML, este haplogrupo incluía también a las muestras de las Caldas CDS12 y CDS14. En este análisis bayesiano estas muestras ocupan una posición no resuelta en la topología de la Figura 8.1.13.4.

8.1.13.2.2. Análisis filogenético 2 con IB

Este análisis se llevó a cabo sobre la matriz de 295 secuencias para las posiciones nucleotídicas 15.494 – 15.740 bajo el modelo evolutivo GTR + G (0,404) (Tabla 8.1.13.1). En esta topología hemos diferenciado 10 haplogrupos de Achilli y su correspondencia con 11 de Jansen (Figura 8.1.13.5). Los haplogrupos de Achilli que se han diferenciado han sido: B, F, G, I, K, L, N, O-P (vuelve a ser un haplogrupo conjunto), Q y R. Los haplogrupos no diferenciados han sido: A, C, D, E, H, J y M. Por su parte, los haplogrupos de Jansen diferenciados han sido A1, A2, A3, B1, B2, C2, D1, D2, D3, F2 y G, mientras que los no detectados han sido A4, A5, A6, C1 y F1.

Se han identificado muestras antiguas de nuestra investigación y de Seco Morais *et al*. (2007) solamente en cuatro haplogrupos de Achilli. Además, se han detectado tres haplogrupos nuevos con caballos que no tienen representantes actuales. Las muestras que aparecen en los haplogrupos de Achilli también se han identificado en el análisis filogenético 2 con ML (y, en el caso de nuestras muestras, también en los análisis filogenéticos 1 con ML e IB anteriores).

Los haplogrupos de Achilli con muestras de nuestra investigación son: I (con la pleistocena BG14), K (con la holocena CR67) y L (con las holocenas CR65 y ATA07). Solamente el haplogrupo K presenta valores altos de probabilidad posterior. Además, en el haplogrupo G se ha detectado a la muestra holocena 170 de Seco Morais *et al*. (2007).

Uno de los haplogrupos nuevos está constituido por las muestras CDS19, CDS23 y ATA41 y con valores altos de probabilidad posterior. En el análisis filogenético 2 con ML estas muestras aparecen asociadas al haplogrupo O-P. En cambio en este análisis filogenético aparecen sin estar asociadas a ningún haplogrupo, de manera similar a como se presentaron en los análisis filogenéticos 1 con ML e IB.

Otro haplogrupo está constituido por las muestras CDS26, GAR03, GAR07 y GAR08, con valores altos de probabilidad posterior. Este haplogrupo ya se había diferenciado en el análisis filogenético 2 con ML y en los análisis filogenéticos 1 con ML e IB.

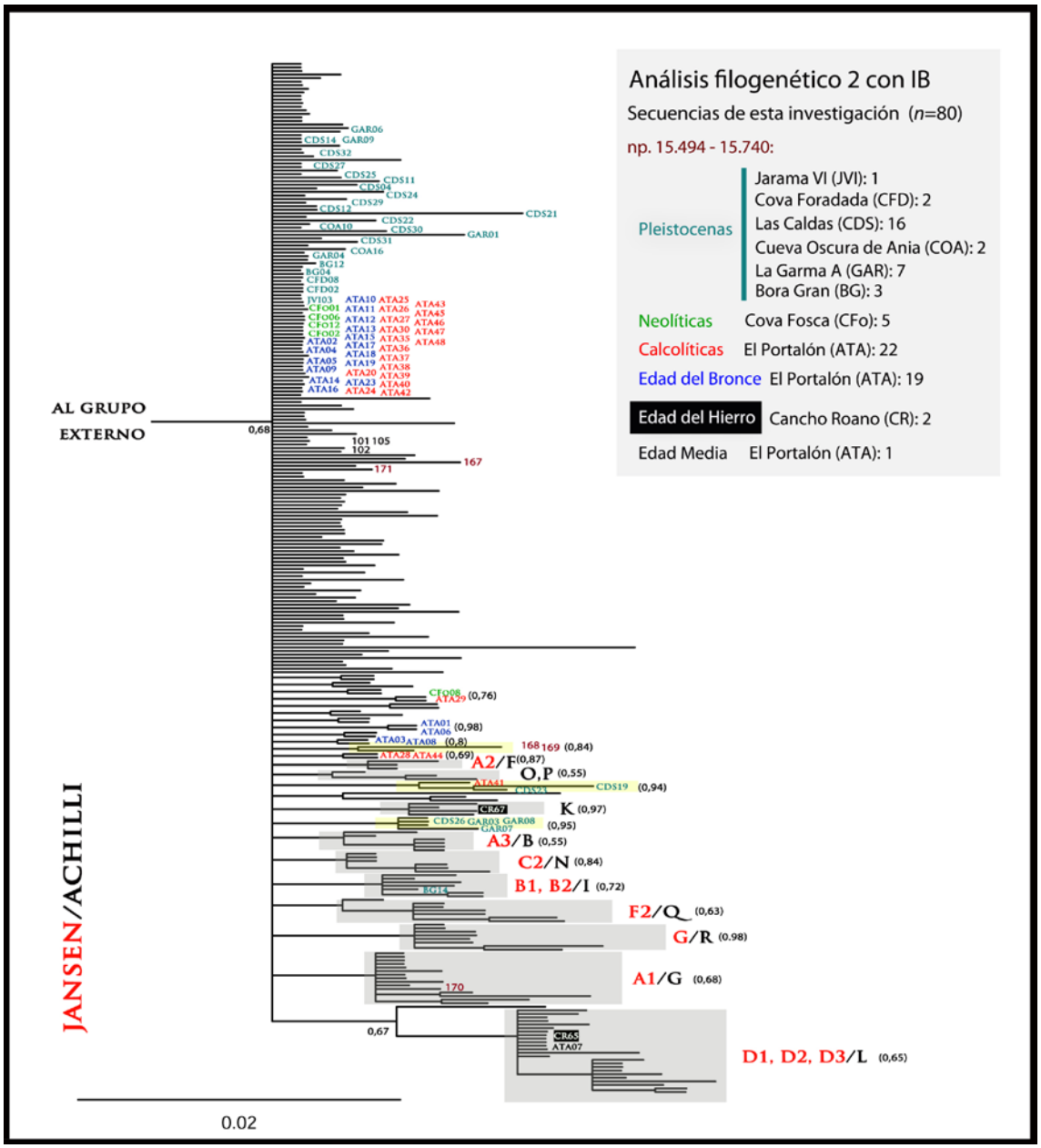


Figura 8.1.13.5. ***Análisis filogenético 2 con IB***. Se han analizado 295 secuencias de ADN np. 15.494 – 15.740. Al lado del nombre o conjunto de secuencias de cada haplogrupo aparecen entre paréntesis los valores de probabilidad posterior. En color rojo oscuro entre las muestras de comparativa, las secuencias de Seco Morais *et al.* (2007).

El tercer haplogrupo está formado por las muestras 168 y 169 de de J. Seco Morais *et al*. (2007), con valores moderados de probabilidad posterior. Este clado ya se había identificado en el análisis filogenético 2 con ML.

En comparación con el análisis filogenético 2 con ML, entre los cambios más significativos destacan la ausencia del haplogrupo Lusitano C y del haplogrupo CFo02.

Respecto a las muestras antiguas ibéricas de comparativa, las muestras 101, 102 y 105 de Cieslak *et al*. (2010) que en el análisis filogenético 2 con ML aparecían en el grupo Lusitano

C, en este nuevo análisis presentan relaciones filogenéticas no resueltas. Respecto a las muestras de Seco Morais, 167 y 171 no presentan relaciones filogenéticas resueltas, 168 y 169 se presentan formando el clado comentado en el párrafo anterior y 170 aparece en el haplogrupo G, como ya se ha descrito. La muestra 172 aparece asociada a la secuencia de *Equus asinus* utilizada como grupo externo y, por ese motivo, no aparece reflejada en la Figura 8.1.13.5.

8.1.13.2.3. Análisis filogenético 3 con IB

Análisis realizado sobre la matriz de 398 secuencias para las posiciones nucleotídicas 15.494 – 15.740 con el modelo evolutivo GTR + I (0,0510) + G (0,5590) (Tabla 8.1.13.1). En esta topología solo hemos podido diferenciar a los haplogrupos de Achilli I y K, y su correspondencia con los haplogrupos B1 y B2 de Jansen (Figura 8.1.13.6). Como en los análisis filogenéticos anteriores, el haplogrupo K incluye a la muestra CR67, y el haplogrupo I a la muestra BG14. Además, hemos vuelto a diferenciar tres haplogrupos con caballos que no han llegado hasta la actualidad, que ya se habían identificad en análisis filogenéticos anteriores con ML e IB.

Por un lado, hemos diferenciado un clado con las muestras pleistocenas GAR03, GAR07, GAR08 y CDS26, con valores moderados de probabilidad posterior. Otro grupo es el clado que contiene a las muestras pleistocenas CDS19 y CDS23 junto a la holocena ATA41, con valores altos de probabilidad posterior. Mientras que en los análisis filogenéticos 2 y 3 con ML, CDS19, CDS23 y ATA41 formaba parte del haplogrupo O-P, en esta ocasión no se asocian a ningún haplogrupo conocido, manteniendo el patrón descrito con el análisis filogenético 1 y 2 con IB.

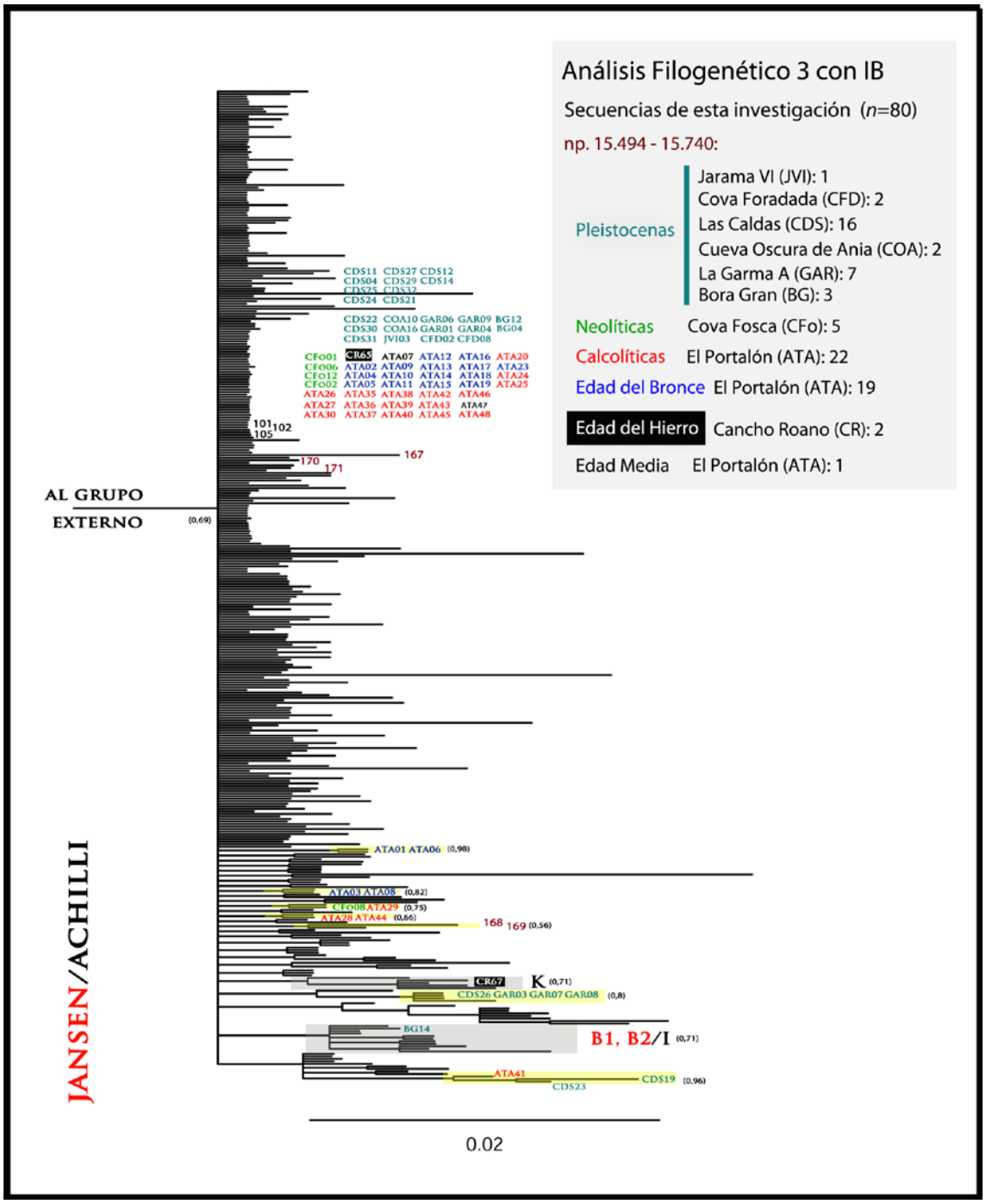


Figura 8.1.13.6. ***Análisis filogenético 3 con IB***. Se han analizado 398 secuencias de ADN np. 15.494 – 15.740. Al lado del nombre o conjunto de secuencias de cada haplogrupo, aparecen entre paréntesis los valores de probabilidad posterior. En color rojo oscuro entre las muestras de comparativa, las secuencias de Seco Morais *et al*. (2007).

El tercer grupo está formado por las muestras 168 y 169 de Seco Morais *et al*. (2007), como en el análisis filogenético 2 con IB, pero asociado a valores bajos de probabilidad posterior.

Destacamos nuevamente la ausencia de los haplogrupos Lusitano C y CFo02. Del Lusitano C solamente hemos identificado cuatro muestras distribuidas en dos clados (ATA01-ATA06 y ATA03-ATA08) y del CFo02 un clado con las muestras CFo08-ATA29.

Respecto a las muestras ibéricas antiguas de comparativa, solo las muestras 168 y 169 de Seco Morais *et al*. (2007) presentan una asociación entre ellas, como ya se ha comentado. El resto de muestras de Seco Morais *et al*. (2007) y Cieslak *et al*. (2010) aparecen distribuidas por la topología con relaciones filogenéticas no resueltas. La muestra 172 de Seco Morais *et al*. (2007) vuelve a agruparse con *Equus asinus*, razón por la cual no aparece en la Figura 8.1.13.6.

A modo de síntesis, las filogenias bayesianas no han permitido resolver las relaciones filogenéticas entre los caballos de estudio, pudiéndose diferenciar solamente algunos haplogrupos. Los únicos haplogrupos definidos con caballos modernos que se diferencian en las tres filogenias son I (con BG14) y unas probabilidades posteriores entre 0,71 - 0,74 y el haplogrupo K (con CR67) con unas probabilidades posteriores comprendidas entre 0,71 – 0,99.

Asumiendo para BG14 una cronología magdaleniense, es la única muestra antigua que aparece en el clado I y reflejaría que este haplogrupo se encontraba distribuido por lo menos en Iberia a finales del Pleistoceno. Entre las muestras modernas hay cuatro ejemplares de tres razas de origen ibérico: Pura Raza Española, Menorquina y Trotador americano (las mismas que aparecen en la Filogenia 3 con ML, Anexo XVIII). Su asociación a este clado se podría interpretar como una persistencia de este haplogrupo en Iberia a lo largo del Holoceno. Sin embargo, también se han documentado en este haplogrupo caballos modernos de razas iraníes y rusas, factor que no permite restringir este haplogrupo exclusivamente a territorio ibérico.

En el Clado K hemos detectado a CR67 de la Edad del Hierro. En los análisis filogenéticos 2 y 3 con IB aparece también la muestra 122 de un caballo de la Edad del Bronce de Rumania. Entre los ejemplares modernos hay dos caballos de las razas Pura Sangre Lusitano y Mustang. En base a estos resultados se podría proponer que este haplogrupo llegó a Iberia procedente de Europa oriental, detectándose su presencia en territorio peninsular por lo menos desde la Edad del Hierro, y con una persistencia temporal hasta época actual.

Junto a estos clados hemos detectado en las tres filogenias dos haplogrupos sin representación actual. Uno está formado por nuestras muestras pleistocenas GAR03, GAR07, GAR08 y CDS26, con probabilidades posteriores que oscilan entre 0,8 – 0,95. El segundo está

caracterizado por nuestras muestras CDS19, CDS23 y ATA41, con probabilidades posteriores entre 0,9 – 0,96.

Las muestras GAR03, GAR08 y CDS26 comparten el mismo haplotipo en los gráficos de redes 1, 2 y 3 junto a la muestra 180, que procede de Alemania y está datada en 15.141 – 14.430 años cal. BP. (Anexo I, Anexo XIIIb, XIVb, XVb). Las muestras GAR03 y GAR08 están asociadas a la datación 17.272 – 16.187 años cal. BP. La muestra CDS26 está asociada a las dataciones Ua-10189: 16.961 – 16.047 años cal. BP. y Ly-2936: 16.582 – 15.351 años cal. BP. (Tabla 7.4.1.2). Estos resultados permiten sugerir que este haplogrupo presentaba una distribución en Europa occidental hace ~17.000 – 14.500 años.

En relación al haplogrupo con las muestras CDS19, CDS23 y ATA41, las muestras de Las Caldas están asociadas a la datación del nivel IX: 16.405 – 15.750 años cal. BP. La muestra de El Portalón está asociada a la datación del nivel 7: 4857 – 4649 años cal. BP. Este clado se podría relacionar con la continudad de un linaje en territorio ibérico desde finales del Pleistoceno hasta, al menos, el Calcolítico precampaniforme.

Queremos destacar también al clado formado por las muestras 168 y 169 de Seco Morais *et al*. (2007), con unas probabilidades posteriores entre 0,56 – 0,84. La muestra 169 está datada en 31.154 – 30.523 años cal. BP. y la muestra 168 en 789 - 401 aC. De manera similar a lo comentado en el párrafo anterior este clado reflejaría a un haplogrupo que tuvo continuidad durante el Holoceno, por lo menos hasta la Edad del Hierro.

8.1.14. Distribución de haplogrupos en poblaciones ibéricas, euroasiáticas y americanas: análisis combinado de gráficos de redes y filogenias de ML

El siguiente análisis combina toda la información obtenida entre los gráficos de redes y las filogenias con ML, ofreciendo información de consenso entre los haplogrupos. No hemos incorporado la información de las filogenias bayesianas, debido a la inconsistencia de las topologías ofrecidas, generadas por el modo de construcción del árbol consenso.

En la búsqueda de la información consenso, como cada secuencia representada en las topologías de ML define a haplotipos analizados en los gráficos de redes, para cada haplotipo se ha añadido la información que pudiera contener procedente de dichos gráficos, de manera similar a la descripción realizada en el apartado *8.1.13.1.3*. *Análisis filogenético 3 con ML*. Este análisis ha permitido incluir muestras modernas no ibéricas, principalmente de los haplotipos estudiados a partir del gráfico de redes 3. La tabla de frecuencias absolutas y porcentajes de haplogrupos por poblaciones (Anexo XIX), ha tenido en cuenta todas las muestras antiguas y modernas que han aparecido distribuidas entre los haplogrupos definidos por los gráficos de redes y que, posteriormente, han sido además consistentes en las topologías de ML.

Aunque se diferenciaron en los gráficos de redes, los haplogrupos A6/C y ---M no se han analizado, debido a que las topologías de ML no han ofrecido clados definidos para estos haplogrupos. Además, los haplogrupos A y B de Achilli se han unificado en el haplogrupo A-B, de manera similar a como aparece en el apartado *8.1.12. Distribución de haplogrupos en poblaciones ibéricas, euroasiáticas y americanas a partir de los gráficos de redes*. El motivo de esta unificación está relacionado con la posición filogenética variable entre estos haplogrupos que han presentado las muestras CDS11 y GAR04 en los gráficos de redes y filogenias de ML. Además, hemos añadido los haplogrupos nuevos que han presentado consistencia entre los gráficos de redes y las filogenias de ML y están representados por las siguientes muestras: CFo02, CDS21, CDS26, CDS04 y 168-169 (Tabla 8.1.13.2, Tabla 8.1.13.3).

Tabla 8.1.14.1. ***Análisis de secuencias de ADN mitocondrial entre poblaciones antiguas (ibéricas, europeas, asiáticas y americanas) y poblaciones modernas.***

REGIÓN	POBLACIÓN	*n*	TOTAL ANALIZADOS	% ANALIZADOS	TOTAL NO ANALIZADOS	% NO ANALIZADOS
Iberia	Ib_Pleistoceno	32	17	53,1	15	46,9
	Ib_Mesolítico/Neolítico	15	14	93,3	1	6,7
	Ib_Calcolítico Precampaniforme	6	6	100,0	0	0,0
	Ib_Calcolítico Campaniforme	15	14	93,3	1	6,7
	Ib_Calcolítico	4	4	100,0	0	0,0
	Ib_Bronce antiguo	14	12	85,7	2	14,3
	Ib_Bronce medio	4	3	75,0	1	25,0
	Ib_Bronce	5	5	100,0	0	0,0
	Ib_Hierro	5	3	60,0	2	40,0
	Ib_Histórico	5	3	60,0	2	40,0
Europa	Eur_Pleistoceno	21	8	38,1	13	61,9
	Eur_Mesolítico/Neolítico	1	0	0,0	1	100,0
	Eur_Calcolítico	10	9	90,0	1	10,0
	Eur_Bronce	15	14	93,3	1	6,7
	Eur_Hierro	1	1	100,0	0	0,0
	Eur_Histórico	78	75	96,2	3	3,8
Asia	As_Pleistoceno	15	2	13,3	13	86,7
	As_Mesolítico/Neolítico	1	0	0,0	1	100,0
	As_Calcolítico	0	0	0,0	0	0,0
	As_Bronce	14	14	100,0	0	0,0
	As_Hierro	60	50	83,3	10	16,7
	As_Histórico	3	3	100,0	0	0,0
América	Am_Pleistoceno	101	70	69,3	31	30,7
Total Antiguos		**425**	**327**	**76,9**	**98**	**23,1**
Moderno Ibéricos		**524**	487	92,9	37	7,1
Modernos no ibéricos		**1428**	749	52,5	679	47,5
TOTALES		**2377**	**1563**	**65,8**	**814**	**34,2**

Para elaborar este análisis se han analizado 2377 secuencias, entre las nuestras y las obtenidas del GenBank (Tabla 8.1.14.1). De la matriz original de 2300 secuencias seleccionadas del GenBank ($n_{antiguas}$= 348; $n_{modernas\ ibéricas/origen\ ibérico}$= 524; $n_{modernas\ no\ ibéricas}$= 1428), tres secuencias de cronologías dudosas Pleistoceno/Holoceno se han eliminado. De este modo se han tenido en cuenta 345 secuencias antiguas, que junto a las 80 de nuestra investigación alcanzan un total de 425 secuencias (Tabla 8.1.14.1). De esta matriz de secuencias, se han podido utilizar un total de 1563 secuencias (~66% de la muestra), mientras que 814 secuencias (~34% de la muestra) no se han podido incluir en un haplogrupo concreto (Tabla 8.1.14.1). De estas 814 secuencias no utilizadas, 679 corresponden a caballos modernos no ibéricos (~48% de la muestra moderna no ibérica seleccionada) (Tabla 8.1.14.1). Este sesgo se debe a que estos caballos modernos no ibéricos están relacionados con los caballos modernos del gráfico de redes 3 de los haplogrupos de Achilli D, H, J, K, N, O, Q y R que no se han analizado en detalle. Por lo tanto, las cifras que vamos a ofrecer de porcentaje de representación de haplogrupos entre poblaciones de caballos modernos no ibéricos, son valores mínimos. En cambio, de las 524 secuencias de caballos modernos ibéricos y de origen ibérico seleccionadas, hemos utilizado 487 (~93% de esta muestra) (Tabla 8.1.14.1).

El resto de grupos poblacionales con secuencias antiguas tiene una representación significativa en este análisis. En la definición de las poblaciones antiguas, la estructuración geográfica y cultural se ha realizado atendiendo a los mismos criterios utilizados en el apartado *8.1.12. Distribución de haplogrupos en poblaciones ibéricas, euroasiáticas y americanas a partir de los gráficos de redes*. A partir de ahora, y para facilitar la lectura, nos referiremos a este apartado como "apartado *8.1.12*". En este nuevo análisis, los detalles de la estructuración de los grupos poblacionales aparecen representados en la Tabla 8.1.14.1.

De las 425 secuencias antiguas analizadas (incluidas las 80 de nuestra investigación), se han utilizado 327 (~77%), mientras que 98 (~23%) no han aparecido asociadas de manera definida a ningún haplogrupo, o no han mostrado consistencia en sus agrupaciones entre los diferentes gráficos de redes o filogenias (Tabla 8.1.14.1).

Entre las poblaciones ibéricas, de las 32 muestras pleistocenas utilizadas, hemos podido asociar 17 (53,1%) con haplogrupos (Tabla 8.1.14.1). Las 15 muestras pleistocenas que no se han analizado son: CFD02, y CFD08 de Cova Foradada; GAR06 y GAR09 de La Garma A; CDS22, CDS24, CDS25, CDS27, CDS29, CDS30, CDS31 y CDS32 de Las Caldas; COA10 y COA16 de Cueva Oscura de Ania, y BG04 de Bora Gran.

Del conjunto de 15 muestras ibéricas mesolíticas/neolíticas, hemos analizado 14 secuencias. La secuencia no analizada es la muestra 107 de Cieslak *et al*. (2010), que se encontraba en los gráficos de redes en el haplogrupo ---/M. En cambio, todas las muestras ibéricas del Calcolítico precampaniforme se han podido analizar, así como las del Calcolítico y Edad del Bronce (Tabla 8.1.14.1). De las 15 muestras ibéricas calcolíticas campaniformes se han analizado 14 secuencias. La muestra no analizada ha sido ATA27, que se encontraba en los gráficos de redes en el haplogrupo A6/C y en las filogenias con ML ha aparecido en una zona no resuelta de las topologías. De las 14 muestras ibéricas del Bronce antiguo se han analizado 12 secuencias. Las muestras no analizadas han sido ATA04 y ATA11 que, en los gráficos de redes, se situaban en los haplogrupos ---/M y A6/C respectivamente. En las filogenias con ML, ATA04 no ha mostrado consistencia en sus agrupaciones y ATA11 ha aparecido en zonas no resueltas de las topologías. De las cuatro secuencias ibéricas del Bronce medio se han utilizado tres. La secuencia descartada ha sido ATA10, localizada en los gráficos de redes en A6/C pero en zonas no resueltas de las topologías de las filogenias de ML. De las cinco muestras ibéricas de la Edad del Hierro se han utilizado tres, decartando a las muestras 100 y 171 de Cieslak *et al*. (2010) y Seco Morais *et al* (2007). La muestra 100 se ha localizado en los gráficos de redes en el haplogrupo ---/M y la muestra 171 no ha presentado consistencia en sus agrupaciones en las filogenias 2 y 3 con ML. A su vez, de las cinco muestras ibéricas asociadas a momentos históricos, se han utilizado tres secuencias. Las muestras descartadas han sido 167 y 172 de Seco Morais *et al* (2007). En las filogenias 2 y 3 con ML, la muestra 167 no se ha asociado al mismo haplogrupo y la muestra 172 ha aparecido sistemáticamente agrupada con la secuencia de *Equus asinus* utilizada como uno de los grupos externos.

En la distribución de haplogrupos por poblaciones, destacamos a las poblaciones mesolíticas/neolíticas de Europa y Asia junto a las asiáticas calcolíticas por su ausencia total de muestras (Figura 8.1.14.1).

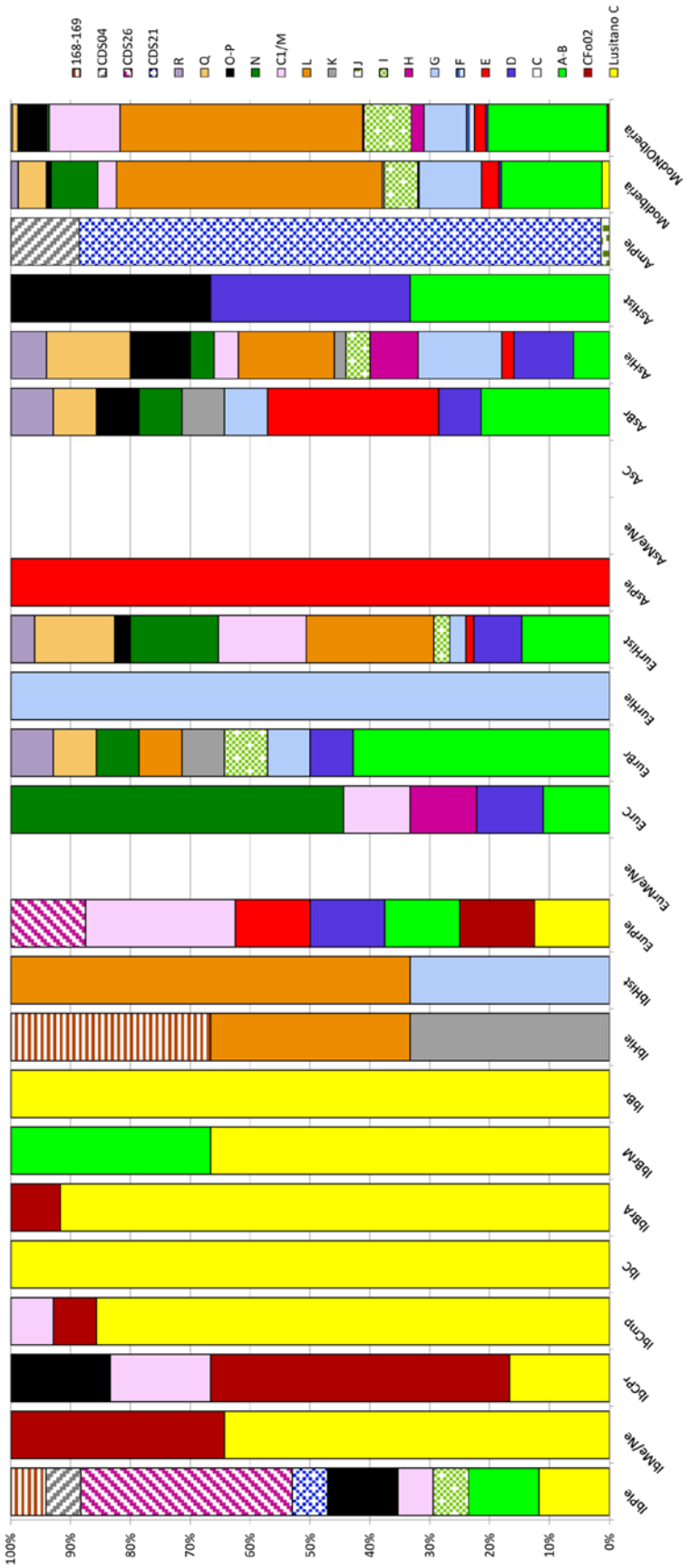


Figura 8.1.14.1. ***Distribución de haplogrupos entre poblaciones ibéricas, europeas, asiáticas y americanas***. **Poblaciones ibéricas**: IbPle, Iberia Pleistoceno; IbMeNe, Iberia Mesolítico/Neolítico; IbCPr, Iberia Calcolítico precampaniforme; IbCmp, Iberia Calcolítico campaniforme; IbC, Iberia Calcolítico; IbBrA, Iberia Bronce antiguo; IbBrM, Iberia Bronce medio; IbBr, Iberia Edad del Bronce; IbHie, Iberia Edad del Hierro; IbHist, Iberia histórico. **Poblaciones europeas**: EurPle, Europa Pleistoceno; EurMeNe, Europa Mesolítico/Neolítico; EurC, Europa Calcolítico; EurBr, Europa Edad del Bronce; EurHie, Europa Edad del Hierro; EurHist, Europa histórico. **Poblaciones asiáticas**: AsPle, Asia Pleistoceno; AsMeNe, Asia Mesolítico/Neolítico; AsC, Asia Calcolítico; AsBr, Asia Edad del Bronce; AsHie, Asia Edad del Hierro; AsHist, Asia histórico. **Poblaciones americanas**: AmPle. **Poblaciones modernas ibéricas y de origen ibérico**: ModIberia. **Poblaciones modernas no ibéricas**: ModNOIberia.

La población europea mesolítica/neolítica esta constituida por un solo caballo (muestra 130), que en los gráficos de redes estaba asociada al haplogrupo A6/C, pero en las filogenias no se ha podido diferenciar. Por ese motivo, no aparecen haplogrupos definidos para este conjunto de caballos europeos. La muestra asiática mesolítica/neolítica también está constituida por un único caballo (muestra 362). En los gráficos de redes y en las filogenias con ML ha presentado agrupaciones diferentes. En el gráfico de redes 1 no aparece asociado a ningún haplogrupo y en el gráfico de redes 2 aparece vinculado a ---/M. En la filogenia 2 con ML aparece en un clado grupo hermano de los clados O-P, Q y R de Achilli. En la filogenia 3 con ML aparece una zona no resuelta de la topología, anterior a la aparición de la población que dará lugar a los haplogrupos O-P, Q y R de Achilli. Su eliminación de este análisis provoca que no tengamos representación de haplogrupos para este conjunto de caballos asiáticos. Por último, en nuestra comparativa no hemos encontrado caballos asiáticos asociados a cronologías calcolíticas y, por ese motivo, este conjunto poblacional no tiene representación de haplogrupos.

También destacamos conjuntos poblacionales con representación muy baja de efectivos. De las 15 muestras asiáticas pleistocenas, solamente hemos podido utilizar dos. Para la muestra europea de la Edad del Hierro solamente disponemos de un caballo (muestra 186), que en todos los análisis ha aparecido en el haplogrupo A1/G. Por ese motivo, el haplogrupo G de Achilli es el único representado para la muestra europea de la Edad del Hierro (Figura 8.1.14.1). Por su parte, la muestra histórica asiática está constituida por tres secuencias.

Antes de empezar a describir la distribución de haplogrupos entre los caballos pleistocenos ibéricos, recordamos que los haplogrupos I y C1/M se han identificado en el pleistoceno ibérico a partir de muestras BG14 y BG12 del yacimiento de Bora Gran, supuestamente asociadas a cronologías de finales del Pleistoceno superior. La problemática de las cronologías de Bora Gran se ha comentado en detalle en el Capítulo 7 y en el apartado *8.1.4. Muestras de Bora Gran d'En Carreras (Serinyà, Girona)* de este Capítulo 8 y, remitimos a los mismos para los detalles adicionales. Debido a las evidencias de muestras descontextualizadas en Bora Gran y documentadas por nosotros en nuestros análisis a lo largo de esta investigación, BG14 y BG12 son las únicas muestras del conjunto pleistoceno ibérico para las que su asociación pleistocena debería ser cotejada con análisis directos de radiocarbono. Por ese motivo, la presencia de los haplogrupos I y C1/M en Iberia a finales del Pleistoceno se considera con cautela.

La distribución de haplogrupos en las poblaciones ibéricas sigue un patrón muy parecido al descrito únicamente con la combinación de los gráficos de redes en el apartado *8.1.12*. La utilización de un número mayor de muestras en las filogenias con ML que no se pudieron usar en los gráficos de redes, ha permitido profundizar en la diversidad y estructura de los haplogrupos de las poblaciones pleistocenas ibéricas. A finales del Pleistoceno superior, en la península ibérica había caballos pertenecientes a, por lo menos, siete haplogrupos diferentes (o nueve, considerando a las muestras de Bora Gran): Lusitano C, A-B, I, C1/M, O-P (como en el apartado *8.1.12*), y los formados por las muestras CDS21, CDS26, CDS04 y 168-169, respectivamente (Figura 8.1.14.1). El haplogrupo con una mayor representación es el de CDS26 (~19% de los caballos pleistocenos ibéricos analizados se han diferenciado en este haplogrupo). Le siguen en representación de individuos los haplogrupos Lusitano C, A-B y O-P, cada uno con ~6% de caballos pleistocenos ibéricos analizados. Los cinco haplogrupos restantes tiene una representación menor, con ~3% de los caballos pleistocenos analizados en cada haplogrupo (Figura 8.1.14.1, Anexo XIX).

La representación de los haplogrupos ibéricos en otras zonas de Eurasia y América durante los últimos 50.000 años del Pleistoceno superior es variable. En Europa hemos identificado, por los menos, siete haplogrupos: Lusitano C, CFo02, A-B, D, E, C1/M y el de CDS26 (Figura 8.1.14.1). Los haplogrupos C, G y ---/M diferenciados en el apartado *8.1.12*, ahora no aparecen entre los haplogrupos europeos pleistocenos. Los haplogrupos C y ---/M por las razonas comentadas al comienzo de este apartado, y el haplogrupo G (caracterizado por la muestra 251) por inconsistencias entre las filogenias 2 y 3 con ML. En Asia solamente hemos diferenciado al haplogrupo E, debido al reducido número de caballos (*n*=2) que finalmente hemos podido utilizar. En el análisis combinando únicamente los gráficos de redes (apartado *8.1.12*), en el conjunto de caballos pleistocenos asiáticos aparecían también los haplogrupos C, K y ---/M, que ahora no están representados. Entre los caballos pleistocenos de América del Norte, se han diferenciado hasta tres haplogrupos: J, CDS21 y CDS04 (Figura 8.1.14.1). Los haplogrupos identificados en el apartado *8.1.12* fueron C, ---/M y los definidos por los haplogrupos 177 y 199 (ambos integrados ahora en el haplogrupo de CDS21). El haplogrupo dominante en la muestra americana es CDS21 (~60% de la muestra americana). A este haplogrupo le sigue el de CDS04 (~8% de la muestra). Por su parte, el haplogrupo J solo se ha documentado en un 1% de la muestra pleistocena americana (Anexo XIX).

En las filogenias 2 y 3 con ML se destacó la distribución geográfica de los caballos de los haplogrupos CDS21 y CDS04, restringidos a la península ibérica y América del Norte. La

distribución obtenida ha permitido sugerir: 1) un sesgo en el muestreo debido a la gran extensión del área geográfica analizada, y a la muestra representativa de Europa (*n*=21, no considerando Iberia) y Asia (*n*=15) o, 2) fragmentación de una población inicial antigua que debió estar ampliamente distribuida. Además, estos dos haplogrupos no se han detectado en ninguna de las 256 muestras holocenas antiguas (incluidas las ibéricas) y tampoco entre los 1952 caballos modernos analizados. Por este motivo y en base a los datos analizados, consideramos a los haplogrupos de CDS21 y CDS04 como extintos.

En relación al área de distribución de los otros siete haplogrupos de caballos pleistocenos ibéricos restantes, cuatro se han detectado entre caballos pleistocenos europeos (haplogrupos Lusitano C, A-B, C1/M y el de CDS26) (Figura 8.1.14.1). Los tres haplogrupos ibéricos restantes (haplogrupos I, O-P, y el de 168-169) presentan a finales del Pleistoceno una distribución solamente en territorio ibérico.

Es interesante destacar que los caballos europeos de los haplogrupos Lusitano C, A-B y muy probablemente CDS26, son más jóvenes que otros caballos ibéricos de estos mismos haplogrupos, con fechas posteriores al LGM (Tabla 8.1.14.2). Estos caballos se han recuperado en Alemania, y proceden de los yacimientos de Kniegrotte (estado de Turingia, en el centro del país), Hohlefels y Peterfels (estado de Waden-Wurtemberg, al sur del país). Las diferencias geográficas y cronológicas observadas en esta investigación entre individuos de los mismos haplogrupos, permiten sugerir para los haplogrupos Lusitano C, CDS26 y A-B un evento de recolonización europeo desde el refugio ibérico después del LGM.

De los siete (o nueve) haplogrupos detectados entre los caballos pleistocenos ibéricos, durante el Holoceno en Iberia solamente se van a documentar cinco entre las poblaciones antiguas (los haplogrupos Lusitano C, A-B, C1/M, O-P y el de 168-169) (Figura 8.1.14.1).

Los haplogrupos pleistocenos ibéricos sin continuidad en Iberia durante el Holoceno son: el I (si consideramos su asociación pleistocena), el de CDS21, el de CDS26 y el de CDS04. A excepción del haplogrupo I, que comentaremos al final de este apartado, el haplogrupo de CDS26 presentará durante el Holoceno el mismo patrón documentado para los haplogrupo de CDS21 y CDS04: una ausencia completa de efectivos incluso entre las poblaciones modernas. Por ese motivo, y en base a los datos analizados, consideramos al haplogrupo de CDS26 también como extinto.

Tabla 8.1.14.2. ***Muestras europeas con linajes maternos asociados a posible evento de recolonización desde la península ibérica después del LGM*** . Se detalla el haplogrupo al que pertenecen, las cronologías, las muestras ibéricas pleistocenas con las que comparten haplogrupo y las cronologías asociadas a esas muestras ibéricas. Dataciones calibradas a 2σ con el programa OxCal 4.2 y la curva de calibración IntCal13; na, información no accesible. Información adicional de las muestras europeas en Anexo I.

HAPLOGRUPO	EUROPA					PENÍNSULA IBÉRICA				
	MUESTRA	REGIÓN	^{14}C BP	^{14}C cal. BP	^{14}C cal. aC	YACIMIENTO	MUESTRA	^{14}C BP	^{14}C cal. BP	^{14}C cal. aC
Lusitano C	133	Turingia, Alemania	na	na	15000 - 14000	Jarama VI	JVI03	>47000	Fuera de rango	
						La Garma A	GAR01	13810 ± 180	17272 – 16187	15323 – 14238
CDS26	180	Baden-Wurtemberg, Alemania	12550 ± 60	15141 – 14430	13192 - 12481	Las Caldas, nivel 9 (Sala I)	CDS12, CDS14	17945 ± 370	22541 - 20773	20592 - 18824
						Las Caldas, nivel VIII (Sala II)	CDS26	13640 ± 150	16961 - 16047	15012 - 14098
						Las Caldas, nivel VIII (Sala II)		13310 ± 200	16582 - 15351	14633 - 13402
						La Garma A	GAR03, GAR07, GAR08	13810 ± 180	17272 – 16187	15323 – 14238
A-B	185 (en haplotipo 68)	Baden-Wurtemberg, Alemania	12545 ± 50	15126 – 14473	13177 - 12524	La Garma A	GAR04	13810 ± 180	17272 – 16187	15323 – 14238
						Las Caldas, niveles 9-11 (Sala I)	CDS11	18305 ± 295	22842 - 21435	20893 - 19486
								17945 ± 370	22541 - 20773	20592 - 18824

Como ya se observó en el apartado *8.1.12*, entre las muestras ibéricas holocenas va a tener una importancia relevante el haplogrupo Lusitano C. Este haplogrupo es el único que va a presentar durante el Holoceno un desarrollo exclusivamente en Iberia. Es uno de los cinco haplogrupos pleistocenos que van a continuar su desarrollo durante el Holoceno, detectándose desde el Mesolítico/Neolítico hasta el Bronce medio con unos porcentajes de representatividad generalmente elevados (Figura 8.1.14.1, Anexo XIX). El 60% de la muestra ibérica mesolítica/neolítica pertenece al Lusitano C. Durante el Calcolítico vamos a observar variaciones de representación, debido a que en el Calcolítico precampaniforme va a estar presente en un ~17% de la muestra ibérica de esta etapa cultural, pero durante el Calcolítico campaniforme su representación aumentará hasta valores del 80%. Además, las muestras consideradas como calcolíticas van a pertenecer todas al Lusitano C. Como ya se comentó en el apartado *8.1.12*, el análisis del NMI también va a ser compatible con una presencia destacada de individuos durante el Calcolítico campaniforme (Figura 8.1.12.2). Durante el Bronce antiguo y el Bronce medio, el Lusitano C va a estar presente entre el 78,6% y 50% de las muestras de cada etapa cultural. Aparte, todas las muestras asociadas de manera general a la Edad del Bronce, van a pertenecer al Lusitano C (Figura 8.1.14.1, Anexo XIX).

Aunque no hemos detectado la presencia del Lusitano C entre caballos de la Edad del Hierro o de periodos históricos, sí se han documentado entre representantes actuales que pertenecen únicamente a razas ibéricas y de origen ibérico (Tabla 8.1.13.2, Tabla 8.1.13.3). Las razas a las que pertenecen estos caballos modernos se detallaron en el análisis del gráfico de redes 2 y son: Pura Sangre Lusitana (*n*=2, Lopes *et al*., 2005), Criollo Argentino (*n*=1, Mirol *et al*., 2002), Marismeño (*n*=1, Royo *et al*., 2005), Garrano (*n*=1, Luís *et al*., 2006b) y Paso Fino de Puerto Rico (*n*=1, Luís *et al*., 2006b) (Anexo XIVb, Anexo XVb).

Como se ha comentado en el apartado *8.1.12* y otros apartados anteriores, la presencia continuada del Lusitano C en Iberia desde finales del Pleistoceno hasta el Bronce medio, y su asociación holocena exclusivamente a la península ibérica, permite descartar que se trate de un haplogrupo foráneo e introducido con ejemplares domésticos. Las evidencias presentadas a lo largo de esta investigación permiten considerarlo como un haplogrupo holoceno exclusivamente ibérico, y que ha estado involucrado en el proceso de domesticación del caballo en Iberia. Además, los caballos del Lusitano C también se utilizaron en la selección de individuos con los que posteriormente se desarrollarían algunas razas americanas. En la actualidad, la representación del Lusitano C entre los caballos ibéricos y de origen ibérico es mínima, con valores que alcanzan el 1,1% de los 524 caballos analizados (Anexo XIX).

Continuando con los haplogrupos con representación holocena ibérica, y asumiendo la asociación pleistocena de C1/M, éste es otro de los cinco haplogrupos pleistocenos con continuidad durante el Holoceno en Iberia (Figura 8.1.14.1). Se va a detectar durante el Calcolítico (precampaniforme y campaniforme). La representación de caballos calcolíticos precampaniformes asociados a este haplogrupo alcanza ~17% de la muestra, mientras que la representación campaniforme presenta valores del 7% (Figura 8.1.14.1, Anexo XIX). Sin embargo, no es exclusivo de la península ibérica. Durante el Holoceno, se va a documentar en Europa y Asia, en poblaciones europeas calcolíticas (10%) y europeas de momentos históricos (14%), y en poblaciones asiáticas de la Edad del Hierro (~3%). Además se ha documentado entre los caballos actuales ibéricos y de origen ibérico (~3%) y no ibéricos (~6%). La muestra holocena más antigua pertenece a un caballo calcolítico de Ucrania considerado salvaje, y tiene una antigüedad de 3250 – 3100 años aC. Las muestras calcolíticas ibéricas son más jóvenes: la calcolítica precampaniforme está asociada a una datación comprendida entre 2908 – 2700 años cal. aC y 2481 – 2212 años cal. aC, y la campaniforme a una datación de 2481 – 2212 años cal. aC (Tabla 7.4.7.6). Los caballos más antiguos considerados domésticos detectados en este haplogrupo pertenecen a las poblaciones de la Edad del Hierro de Mongolia (siglo VII aC) y Kazajistán (siglo III aC) (Anexo I, Anexo XIIIb, Anexo XIVb, Anexo XVb).

En el apartado *8.1.12* el haplogrupo C1/M no aparecía representado en estas poblaciones ibéricas calcolíticas y, en su lugar, aparecía el haplogrupo ---/M. La principal diferencia entre la presencia de un haplogrupo u otro está relacionada con las muestras ATA44 (Calcolítico precampaniforme) y ATA28 (Calcolítico campaniforme). En al apartado *8.1.12* ambas muestras formaban parte del haplogrupo ---/M, que ahora no aparece representado. En este nuevo análisis, su presencia en el haplogrupo C1/M en las filogenias 1 y 3 con ML ha permitido detectar a este haplogrupo en Iberia en momentos anteriores a la Edad del Bronce. Aunque C1/M se ha observado en otras partes de Europa en cronologías ligeramente más antiguas a las ibéricas, esta evidencia no está asociada a animales domésticos.

En relación al desarrollo del haplogrupo C1/M en Iberia, y asumiendo su presencia a finales del Pleistoceno a partir de la muestra BG12 de Bora Gran (Tabla 8.1.13.2), los resultados obtenidos serían compatibles con una persistencia de poblaciones desde finales del Pleistoceno, detectándose individuos por lo menos durante el Calcolítico (precampaniforme y campaniforme), y además con una posible continuidad en poblaciones actuales ibéricas y de origen ibérico, aunque con valores de representación bajos (Figura 8.1.14.1, Anexo XIX).

El haplogrupo O-P es otro de los cinco haplogrupos pleistocenos con representación en Iberia durante el Holoceno (Figura 8.1.14.1). Se ha detectado entre la población calcolítica precampaniforme, con una representación de ~17%. Sin embargo, su representación holocena no se restringe a territorio ibérico. Durante el Holoceno, fuera de Iberia también se ha detectado en poblaciones asiáticas no históricas de la Edad del Bronce (~7%) y la Edad del Hierro (~8%), y en muestras históricas europeas (~3%) y asiáticas (~33%). Además, también está representado entre los caballos modernos. Para los caballos ibéricos y de origen ibérico los valores de representación son muy bajos, ya que no alcanzan el 1% de la muestra. Para los caballos no ibéricos los valores son un poco más altos, llegando al 2,5% de representación (Figura 8.1.14.1, Anexo XIX).

Como ya se ha comentado en el apartado *8.1.12* y en otros apartados anteriores, la muestra holocena más antigua del haplogrupo O-P es el caballo ibérico calcolítico de nuestro análisis. Los resultados obtenidos en este nuevo análisis, considerando a las muestras pleistocenas ibéricas de este haplogrupo, serían compatibles con una permanencia de este haplogrupo en Iberia desde finales del Pleistoceno. El haplogrupo O-P se habría desarrollado hasta la actualidad en territorio ibérico y además, en otras zonas de Eurasia. En la actualidad, su representación entre las poblaciones modernas ibéricas y de origen ibérico es muy baja, similar a la obtenida para el haplogrupo Lusitano C.

El haplogrupo constituido por los caballos 168 y 169 es otro de los cinco grupos pleistocenos que van a permanecer durante el Holoceno en Iberia (Figura 8.1.14.1). Este haplogrupo no se pudo detectar en el análisis del apartado *8.1.12*. Este haplogrupo está caracterizado por una representación muy pequeña de individuos. Durante el Holoceno ibérico solamente se ha detectado en la muestra 168, asociada a la Edad del Hierro y datada entre 789 - 401 aC. La detección de este haplogrupo durante el Pleistoceno únicamente en la península ibérica, permite proponer que la muestra 168 sería un representante de la persistencia de este haplogrupo en Iberia por lo menos hasta la Edad del Hierro. Sin embargo, a lo largo del Holoceno, no hemos encontrado representación de este haplogrupo ni en Iberia ni en el resto de Eurasia entre las muestras antiguas o las modernas. Con los datos que hemos obtenido, podemos considerarlo como un haplogrupo extinto.

El haplogrupo A-B es el último de los cinco haplogrupos pleistocenos analizados en este apartado que van a presentar efectivos en Iberia durante el Holoceno (Figura 8.1.14.1). La distribución de este haplogrupo en Iberia entre finales del Pleistoceno y a lo largo del Holoceno es igual a la representada en el apartado *8.1.12.* En la península ibérica se

documenta su presencia en el Bronce medio, con un 25% de representación entre las poblaciones ibéricas de esta etapa cultural (Figura 8.1.14.1). Sin embargo, la península ibérica no va a ser el único territorio donde se observa al haplogrupo A-B durante el Holoceno. Para periodos no históricos, también se detecta en Europa durante el Calcolítico y la Edad del Bronce con valores de representación de 10% y 40% en cada población respectivamente. Su presencia en el calcolítico europeo va a suponer una novedad respecto al apartado *8.1.12.*, debido a que una muestra calcolítica de Rumania que no se pudo utilizar en los gráficos de redes, pertenece a este haplogrupo. Además, en Asia se detecta a partir de la Edad del Bronce en el 21,4% de la población, disminuyendo su presencia durante la Edad del Hierro hasta valores del 5% (Figura 8.1.14.1, Anexo XIX). La evidencia holocena más antigua del haplogrupo A-B en Eurasia pertenece al caballo de Rumania antes comentado, considerado salvaje, asociado al Calcolítico y datado entre 4350 - 4220 años aC. Le sigue un caballo de Turquía asociado a comienzos de la Edad del Bronce y datado en 3850 años aC, para el que su condición de animal doméstico no es segura. Posteriormente se detecta en Mongolia, en un caballo considerado doméstico, asociado a la Edad del Bronce y con una datación de 3000 años aC (Anexo I).

La muestra ibérica del Bronce medio es más moderna, y está datada entre 1752 – 1533 años cal. aC (Tabla 8.1.7.3). En cronologías que oscilan entre 2000 – 1750 años aC, el haplogrupo A-B se ha detectado en caballos domésticos de Armenia, Mongolia y China. Los datos analizados permiten mantener lo que se ha propuesto en otros apartados sobre la presencia de este haplogrupo en el Bronce medio ibérico, asociado a la llegada de caballos domésticos procedentes de Europa. De este modo, se puede considerar al Bronce medio como la etapa cultural a partir de la cual ya hay caballos domésticos en la península ibérica, al menos por aporte de efectivos foráneos. En la actualidad, el haplogrupo A-B se encuentra representado entre los caballos modernos. El 15,6% de la población de caballos modernos ibéricos o de origen ibérico pertenecen a este haplogrupo, mientras que la representación entre los caballos modernos no ibéricos alcanza valores de 10,4% (Figura 8.1.14.1, Anexo XIX).

Además, a partir de los datos analizados, el haplogrupo CFo02 se va a caracterizar por presentar un desarrollo Holoceno en la península ibérica, por lo menos desde el Neolítico hasta el Bronce antiguo (Figura 8.1.14.1). Los resultados obtenidos permiten ofrecer una intepretación idéntica a la del apartado *8.1.12.* Aunque a finales del Pleistoceno se ha detectado en poblaciones de los Urales, en cambio durante el Holoceno no hemos observado su presencia entre las diferentes poblaciones antiguas euroasiáticas analizadas. No podemos

descartar que su ausencia entre las poblaciones ibéricas pleistocenas se deba a un sesgo en el muestreo. Pero después de analizar las secuencias pleistocenas ibéricas y europeas junto a más de 160 secuencias holocenas euroasiáticas antiguas, los resultados son más compatibles con una presencia durante el Pleistoceno en Europa y una posible entrada en Iberia debido a movimientos migratorios, a finales del Pleistoceno o comienzos de Holoceno. En Iberia se detecta su presencia desde el Mesolítico/Neolítico con unos valores de representación que alcanzan ~33% (Figura 8.1.14.1, Anexo XIX). Esta evidencia, permite descartar la entrada de CFo02 debida a factores antrópicos. Su representación aumenta en el Calcolítico precampaniforme hasta valores del 50%, y disminuye durante el Calcolítico campaniforme y Bronce antiguo hasta alcanzar valores ~7% (Figura 8.1.14.1, Anexo XIX). En Iberia, se detecta su presencia por última vez durante el Bronce antiguo y, entre las poblaciones actuales ibéricas o de origen ibérico, carece de representantes. En el resto de Eurasia durante el Holoceno no se ha detectado su presencia en ninguna de las poblaciones antiguas. Sin embargo, entre los caballos modernos no ibéricos se han observado algunos individuos pertenecientes a este haplogrupo, con una representación residual que alcanza valores de 0,2% (Figura 8.1.14.1, Anexo XIX).

A partir de la Edad del Hierro se detectan en la península ibérica haplogrupos que no se habían documentado previamente. Junto al haplogrupo ya comentado de las muestras 168 – 169, se documenta la presencia de los haplogrupos K y L, representando cada uno al 20% de población ibérica de la Edad del Hierro analizada (Figura 8.1.14.1, Anexo XIX). Mientras que el haplogrupo L ya se describió en el apartado *8.1.12*., entre las muestras ibéricas de la Edad del Hierro la presencia del haplogrupo K resulta una novedad, debida a una de nuestras secuencias que no se pudieron analizar en los gráficos de redes.

Aunque en el análisis del gráfico de redes 2 y en la filogenia 3 con ML se documentó en el haplogrupo K una muestra pleistocena asiática, se ha eliminado de este análisis debido a la incosistencia que ha mostrado esta muestra en sus agrupaciones. Por ese motivo, las evidencias seguras más antiguas del haplogrupo K en Eurasia van a estar asociadas a poblaciones europeas y asiáticas de la Edad del Bronce, de Rumanía y Mongolia. Se ha documentado en Mongolia a partir de 2000 años aC y en Rumania en cronología comprendidas entre 1500 – 1000 años aC. Tanto en las poblaciones europeas como en las asiáticas de la Edad del Bronce, el haplogrupo K va a estar representado en ~7% de la población. La presencia de este haplogrupo se detecta posteriormente en muestras asiáticas de la Edad del Hierro (~2%) y además en muestras modernas, aunque con valores de representación muy bajos. En

la actualidad, el haplogrupo K está presentado en el 0,4% de los caballos ibéricos o de origen ibérico, y en el 0,1% de los caballos no ibéricos (Figura 8.1.14.1, Anexo XIX).

En las filogenias 1 y 3 con ML se observó en el haplogrupo L, para cada ocasión, a un caballo pleistoceno diferente y procedente de Las Caldas. Sin embargo, la presencia de estos caballos en este haplogrupo no se ha mantenido constante en las distintas filogenias y, por ese motivo, se han eliminado de este análisis. La evidencia fiable más antigua de este haplogrupo en Eurasia se ha detectado en poblaciones europeas de la Edad del Bronce (~7%) (Figura 8.1.14.1, Anexo XIX), en una muestra de Moldavia asociada al haplogrupo D2 de Jansen, y con una cronología de 1500 – 1000 años aC (Anexo I). En Asia, la evidencia más antigua procede de un caballo mongol de la Edad del Hierro y datado en el 900 aC (Anexo I). Este caballo mongol ha aparecido asociado al haplogrupo D1-D3 de Jansen, previamente comentado. Durante la Edad del Hierro, el haplogrupo L va a estar representado en ~13% de las poblaciones asiáticas (Figura 8.1.14.1, Anexo XIX). Aunque nosotros no hemos detectado este haplogrupo en Europa durante la Edad del Hierro, un reciente estudio ha puesto de manifiesto la presencia del haplogrupo L en la zona de Suiza en cronologías comprendidas entre 150 – 80 aC (Elsner *et al*., 2016). En la península ibérica, el haplogrupo L se documenta con seguridad por primera vez en la muestra CR65, vinculada a finales del siglo V aC – comienzos del IV aC, con una datación directa de 774 – 517 cal. aC y, asociada al haplogrupo D1-D3 de Jansen. Posteriormente se vuelve a detectar en momentos históricos en Iberia (40%) y en el resto de Europa (~20% de representación). En la actualidad, su presencia entre poblaciones de caballos modernos es significativa. El haplogrupo L se encuentra representado en el ~41% de la población ibérica y de origen ibérico analizada, y en el 21% de la población no ibérica (Figura 8.1.14.1, Anexo XIX).

A diferencia del haplogrupo de los caballos 168 – 169, detectado con anterioridad solamente en el Pleistoceno en territorio ibérico, la presencia de los haplogrupos K y L en Iberia sería compatible con una entrada en la península ibérica de caballos ya domésticos. En base a las evidencias documentadas para los haplogrupos K y L en Eurasia, se propone su entrada en Iberia durante la segunda mitad del II milenio aC o comienzos del I milenio aC.

Además, uno de los haplotipos del haplogrupo L se corresponde con el linaje Pomba de la raza Sorraia. Ninguna de las muestras antiguas ibéricas del haplogrupo L comparte haplotipo con el linaje Pomba. Sin embargo, a partir de los resultados obtenidos y teniendo en cuenta la información de los haplogrupos, podríamos sugerir la presencia del linaje Pomba en Iberia a partir de la Edad del Hierro.

El haplogrupo G solamente se ha detectado en la península ibérica a partir de momentos históricos, con una muestra de la Edad Media que representa el 20% de la población ibérica analizada para este momento (Figura 8.1.14.1, Anexo XIX). Esta asociación del haplogrupo G con la Edad Media ibérica no la pudimos concretar en el apartado *8.1.12.* y, está relacionada con una muestra portuguesa de la batalla de Aljubarrota. Sin embargo, en Eurasia este haplogrupo se documenta con anterioridad, a partir de la Edad del Bronce y con una representación de ~7% tanto en poblaciones europeas como en asiáticas. Su presencia se mantiene durante la Edad del Hierro. La única muestra de comparativa europea de la Edad del Hierro pertenece al haplogrupo G y por ese motivo, toda la población europea de este momento cultural pertenece a este haplogrupo, como ya se ha comentado (Figura 8.1.14.1). En cambio en Asia, durante la Edad de Hierro el haplogrupo G está representado en ~12% de la población. Posteriormente, el haplogrupo G se vuelve a detectar en Europa en momentos históricos, representado en el 2,6% de la población. En la actualidad, el haplogrupo G se encuentra representado en el ~10% de los caballos ibéricos o de origen ibérico y en ~4% de los caballos no ibéricos.

Además, el haplogrupo G se corresponde con el linaje Azambuja de la raza Sorraia. Los resultados que hemos obtenido permiten observar este linaje en Iberia por primera vez a partir de momentos históricos.

Aunque en el haplogrupo E no hemos detectado muestras ibéricas antiguas, queremos destacarlo en esta sección porque a este haplogrupo pertenece el linaje Cigana de la raza Sorraia. La distribución de este haplogrupo entre las diferentes poblaciones euroasiáticas es similar a la representada en la Figura 8.1.12.1 del apartado *8.1.12.* En este nuevo análisis, este haplogrupo lo hemos detectado en muestras euroasiáticas pleistocenas, en ~5% de la población europea y en ~13% de la población asiática analizada, respectivamente. La Figura 8.1.14.1 presenta a todos los efectivos asiáticos pleistocenos asociados al haplogrupo E, pero recordamos que para realizar este análisis solo hemos podido utilizar dos de las 15 muestras seleccionadas en un principio, y esas dos secuencias pertenecen al mismo haplogrupo. Durante el Holoceno, se observa por primera vez en Asia a partir de la Edad del Bronce, representando al ~30% de esta población. En cambio durante la Edad del Hierro su representación disminuye al ~2% de la población asiática. En Europa durante el Holoceno, se documenta por primera vez a partir de momentos históricos, observándose en ~1% de esa población. En la actualidad se encuentra representado en poblaciones ibéricas o de origen ibérico (~3%) y en caballos no ibéricos (1%).

Por último, destacar que el haplogrupo I que se ha documentado en las poblaciones ibéricas pleistocenas, a lo largo del Holoceno no se detecta entre las muestras antiguas ibéricas (Figura 8.1.14.1), situación idéntica a la descrita en el apartado *8.1.12*. Entre las muestras antiguas euroasiáticas, no se observa en el Pleistoceno y, se detecta por primera vez durante la Edad del Bronce europeo, representando a ~7% de las poblaciones europeas analizadas de esta etapa cultural. En Asia, se detecta por primera vez durante la Edad del Hierro, y se encuentra representado en ~3% de las poblaciones asiáticas de esta etapa cultural (Figura 8.1.14.1). Entre los caballos actuales, el haplogrupo I está representado en ~5% de las poblaciones ibéricas o de origen ibérico y en ~4% de las no ibéricas. En base a estos resultados y, asumiendo la cronología pleistocena de la muestra BG14 de Bora Gran asociada a este haplogrupo, se sugiere que su presencia entre los individuos modernos ibéricos estaría más relacionada con la entrada en Iberia de efectivos a partir de poblaciones ya domésticas, en un momento del Holoceno que no se puede precisar.

8.1.15. Análisis de Componentes Principales (PCA)

8.1.15.1. PCA del análisis combinado de gráficos de redes y filogenias de ML con todas las poblaciones antiguas

Los resultados obtenidos por el Análisis de Componentes Principales (PCA) no ofrecen valores altos en la reducción de la dimensión. Los dos primeros CP agrupan el 34,4% de la variación total de las variables analizadas. Sin embargo, este resultado está en consonancia con otros PCA llevados a cabo sobre haplogrupos de ADN mitocondrial. Los estudios realizados por Brandt *et al*. (2013) arrojaron valores del 32% en la variación total acumulada en su PCA sobre variación en la composición de haplogrupos de diferentes poblaciones humanas europeas desde el Mesolítico hasta comienzos de la Edad del Bronce. En el estudio de las relaciones de la población humana calcolítica de El Mirador en comparación con otras poblaciones antiguas holocenas, el PCA analizado presentó valores de 32% de variación acumulada entre CP1 y CP2 (Gómez Sánchez *et al*. 2014). En el análisis del ADN mitocondrial de razas caballares italianas (Cardinali *et al*., 2016), el PCA que concretamente mostraba la distribución de las razas italianas entre ellas en base a su composición de haplogrupos, presentó un PCA con un 51,88% de variación acumulada entre los CP1 y CP2. En cambio, el PCA donde se analizó la distribución de los haplogrupos de las razas italianas en comparación con otras razas euroasiáticas, presentó valores de 29,6% de variación acumulada para CP1 y CP2 (Cardinali *et al*., 2016). Por último, en el estudio de la distribución de haplogrupos entre los caballos suizos de finales de la Edad del Hierro en comparación con ocho conjuntos de razas modernas europeas, el PCA analizado recogía el 60% de la varianza acumulada por el CP1 y CP2 (Elsner *et al*., 2016).

Nuestro PCA permite observar de manera particular la posición totalmente aislada de los caballos pleistocenos americanos en relación al resto de poblaciones pleistocenas y holocenas (Figura 8.1.15.1). Su composición de haplogrupos, prácticamente no compartidos con otras poblaciones caballares, es responsable de su posición tan separada, reflejada tanto por el CP1 como por el CP2. Entre el resto de poblaciones pleistocenas, la muestra pleistocena ibérica se encuentra más separada del resto de muestras pleistocenas euroasiáticas, y es la más cercana a la población pleistocena americana. Esta situación ya se había observado en la distribución de haplogrupos por poblaciones (Figura 8.1.14.1).

Entre las poblaciones holocenas, el CP1 permite observar a las poblaciones ibéricas claramente separadas del resto de poblaciones holocenas euroasiáticas, a excepción de la población europea de la Edad del Hierro (Figura 8.1.15.1). La variación presente en la distribución de haplogrupos de la población ibérica mesolítica/neolítica es muy parecida a la de las poblaciones ibéricas calcolítica, calcolítica campaniforme, Bronce antiguo y Edad de Bronce. Todas estas poblaciones se caracterizan por presentar una presencia predominante del haplogrupo Lusitano C, con valores que oscilan entre 60 – 100% (Figura 8.1.14.1). En cambio, la población de caballos calcolíticos precampaniformes se encuentra más separada de la anterior, debido principalmente a la influencia que el haplogrupo CFo02 presenta en esta población (Figura 8.1.15.1), con valores que alcanzan el 50% de representación (Figura 8.1.14.1).

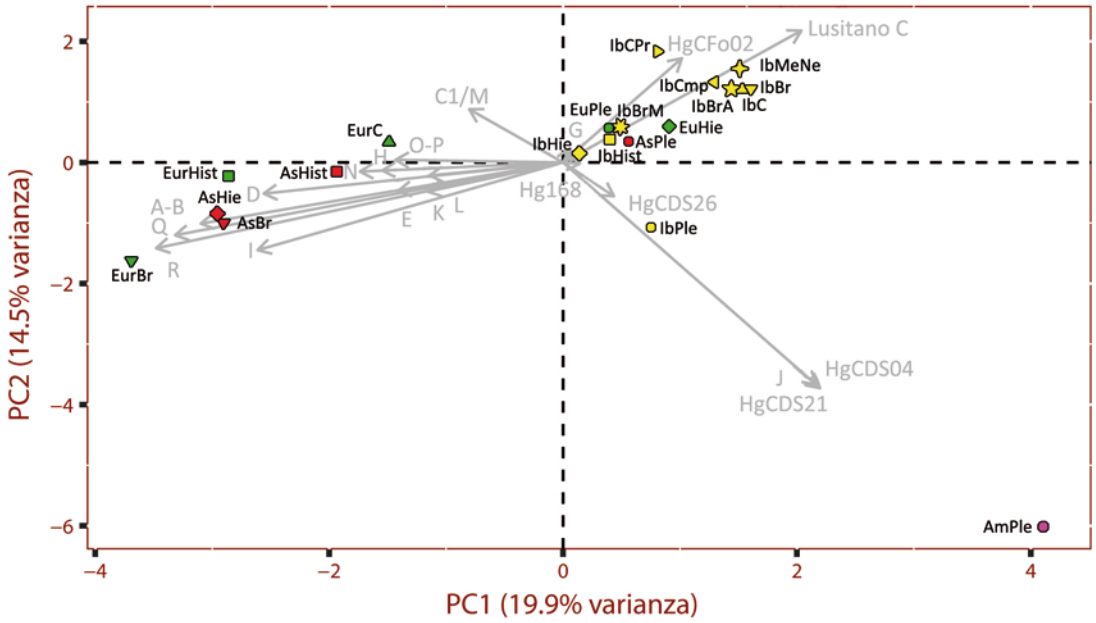


Figura 8.1.15.1.*PCA realizado a partir del análisis combinado de gráficos de redes y filogenias de ML con todas las poblaciones antiguas*. Código de colores**: Amarillo** para caballos ibéricos; **verde** para caballos europeos; **rojo** para caballos asiáticos, **violeta** para caballos americanos. **Círculo** para pleistocenos; **cruz** para mesolíticos/neolíticos; **triángulo** para calcolíticos**, triángulo invertido** para Edad del Bronce; **diamante** para Edad del Hierro; **cuadrado** para poblaciones históricas. Las poblaciones ibéricas precampaniformes, campaniformes, del Bronce antiguo y del Bronce medio presentan iconos exclusivos: **triángulo apuntando a la derecha** para precampaniformes; **triángulo apuntando a la izquierda** para campaniformes, **estrella de cinco puntas** para Bronce antiguo; **estrella a de siete puntas** para Bronce medio. La población ibérica de la Edad del Bronce se encuentra superpuesta a la población ibérica calcolítica, pero en esta figura se presentan contiguas para una mejor apreciación.

Las poblaciones ibéricas del Bronce medio, de la Edad del Hierro y de momentos históricos son las que más alejadas están del resto de poblaciones ibéricas más antiguas (Figura 8.1.15.1). Estas poblaciones se caracterizan por presentar diferencias en la distribución de los haplogrupos en relación a las poblaciones holocenas ibéricas anteriores. La posición de

la población del Bronce medio se justifica por la reducción en la representación del haplogrupo Lusitano C (50%) y por la aparición, por primera vez en el Holoceno ibérico, del haplogrupo A-B, con un 25% de representación (Figura 8.1.14.1). En cambio, en las poblaciones de la Edad del Hierro y de momentos históricos, se observa un reemplazamiento de haplogrupos por otros nuevos. Estas poblaciones se van a caracterizar principalmente por la presencia del haplogrupo L, con valores de representación del 20-40% (Figura 8.1.14.1).

El CP1 permite observar que la población asiática del Pleistoceno y la europea de la Edad del Hierro están más relacionadas con las poblaciones ibéricas que con el resto de poblaciones euroasiáticas. Sin embargo consideramos que esta situación es susceptible de variar a medida que aumente el tamaño muestral de estas poblaciones, y se documenten otros haplogrupos en ellas. En este análisis, las población asiática del Pleistoceno y la europea de la Edad del Hierro son las únicas poblaciones no ibéricas que están representadas solo por un haplogrupo (E y G respectivamente) (Figura 8.1.15.1).

Por otro lado el CP1 refleja una gran diferencia entre las poblaciones europeas calcolíticas y de la Edad del Bronce. Es muy probable que esta situación se deba a la diferente cantidad de haplogrupos que albergan y a los pocos haplogrupos que comparten ambas poblaciones. Para la población calcolítica se han documentado cinco haplogrupos y para la de la Edad del Bronce nueve haplogrupos. Tres de estos nueve haplogrupos ya estaban previamente en la población calcolítica, pero con porcentajes de representación diferentes (Figura 8.1.14.1).

8.1.15.2. PCA del análisis combinado de gráficos de redes y filogenias de ML con eliminación de poblaciones antiguas con tamaños muestrales pequeños

Con la finalidad de conocer el grado de distorsión que pueden ocasionar las poblaciones con tamaños muestrales pequeños, se ha repetido el PCA eliminando aquellas poblaciones con menos de cinco secuencias.

Además, para las poblaciones ibéricas consideradas de manera general como calcolíticas (*n*=4) o de la Edad del Bronce (*n*=5), sus individuos se han distribuido entre las poblaciones Calcolítico precampaniforme, Calcolítico campaniforme y Bronce medio, atendiendo a sus dataciones asociadas (Anexo I). Se han asociado al Calcolítico precampaniforme las muestras

93, 96 y 97 (*n*=3) y al Calcolítico campaniforme la muestra ATA20 (*n*=1). De las cinco muestras asociadas a la Edad del Bronce, se han asociado al Bronce medio las muestras 95 y 101 (*n*=2). Las otras tres muestras (102, 103 y ATA09) se han mantenido en la población ibérica de la Edad del Bronce, y se han eliminado de este nuevo análisis.

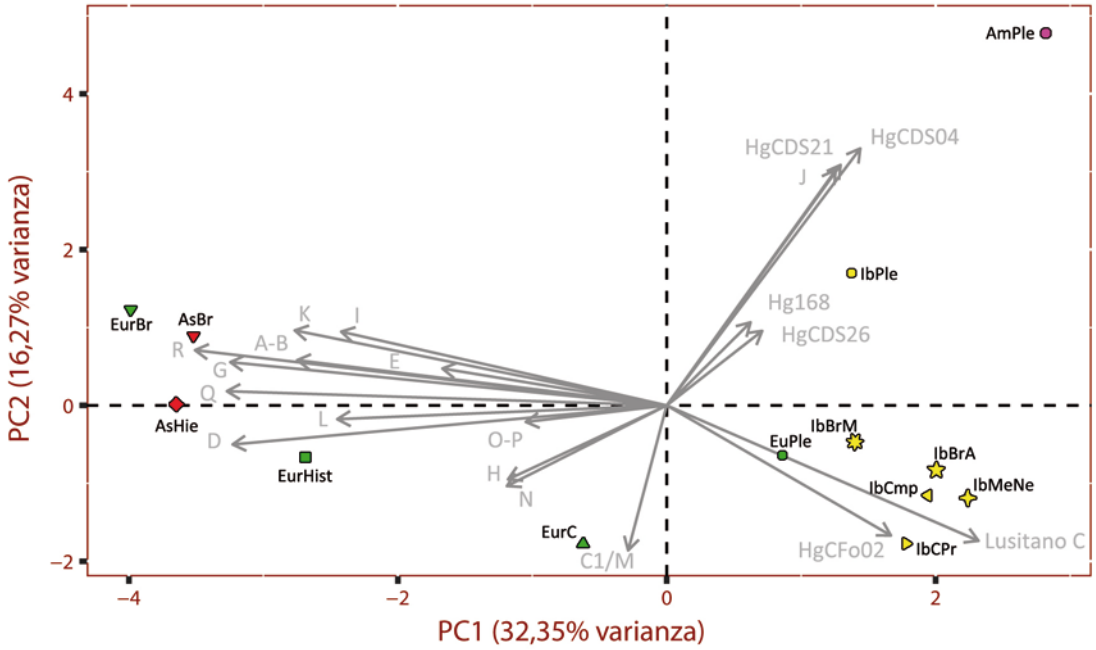


Figura 8.1.15.2. ***PCA realizado a partir del análisis combinado de gráficos de redes y análisis de ML con poblaciones antiguas, eliminando las poblaciones con tamaños muestrales menores a cinco secuencias***. Código de colores**: Amarillo** para caballos ibéricos; **verde** para caballos europeos; **rojo** para caballos asiáticos, **violeta** para caballos americanos. **Círculo** para pleistocenos; **cruz** para mesolíticos/neolíticos; **triángulo** para calcolíticos**, triángulo invertido** para Edad del Bronce; **diamante** para Edad del Hierro; **cuadrado** para poblaciones históricas. Las poblaciones ibéricas precampaniformes, campaniformes, del Bronce antiguo y del Bronce medio presentan iconos exclusivos: **triángulo apuntando a la derecha** para precampaniformes; **triángulo apuntando a la izquierda** para campaniformes, **estrella de cinco puntas** para Bronce antiguo; **estrella a de siete puntas** para Bronce medio.

Las poblaciones que se han eliminado han sido: Iberia Edad del Bronce (*n*=3), Iberia Edad del Hierro (*n*=3), Iberia momentos históricos (*n*=3), Europa Edad del Hierro (*n*=1), Asia Pleistoceno (*n*=2) y Asia momentos históricos (*n*=3) (Anexo XXa). Estas poblaciones se suman a las poblaciones europeas y asiáticas mesolíticas/neolíticas y asiáticas calcolíticas, de las que no se habían analizado secuencias previamente (Tabla 8.1.14.1). Aunque en esta ocasión hemos pasado de analizar 327 a 312 secuencias antiguas (Anexo XXc), la distribución de porcentajes de representación de haplogrupos no modifica los resultados anteriormente obtenidos y las interpretaciones realizadas para las poblaciones ibéricas (Anexo XXb).

Los dos primeros CP agrupan el 48,6% de la variación total de las variables analizadas. Este nuevo PCA vuelve a separar a las muestras pleistocenas americanas tanto por su CP1 como por su CP2 (Figura 8.1.15.2). De nuevo, las muestras pleistocenas ibéricas vuelven a

presentar una posición intermedia entre las muestras pleistocenas europeas y americanas. Entre las muestras holocenas, el CP1 presenta una clara separación entre las poblaciones euroasiáticas y las ibéricas (Figura 8.1.15.2). Nuevamente, las muestras ibéricas presentan homogeneidad en la composición de haplogrupos de sus poblaciones, siendo la población del Bronce medio la que más separada está del resto de poblaciones holocenas ibéricas (Figura 8.1.15.2).

8.1.15.3. PCA del análisis combinado de gráficos de redes: influencia de los haplogrupos --/M y A6/C

Aunque los haplogrupos ---/M y A6/C de Jansen/Achilli se eliminaron del análisis combinado de gráficos de redes y filogenias ML, se ha elaborado este PCA para analizar la posible influencia de estos haplogrupos sobre la distribución de las poblaciones. Este PCA se ha realizado a partir del histograma de frecuencias de haplogrupos obtenido con la información combinada de los gráficos de redes para muestras antiguas (Figura 8.1.12.1). Este PCA refleja la distribución de poblaciones antiguas de Iberia, Europa, Asia y América del Norte. Las únicas poblaciones que no aparecen representadas en este PCA por carecer de representantes son la población asiática mesolítica/neolítica y la asiática calcolítica.

Los dos primeros CP agrupan el 33,2% de la variación total de las variables analizadas. La separación reflejada por el CP1 entre las poblaciones pleistocenas, indica entre la población europea y asiática mayor afinidad en la configuración de haplogrupos, mientras que la población americana y la ibérica son las más diferentes a las euroasiáticas (Figura 8.1.15.3). Esta característica ya se pudo observar en la Figura 8.1.12.1, y está detallada en el apartado *8.1.12. Distribución de haplogrupos en poblaciones ibéricas, euroasiáticas y americanas a partir de los gráficos de redes*.

En relación a las poblaciones holocenas, el PC1 indica una clara separación entre las poblaciones euroasiáticas e ibéricas (Figura 8.1.15.3), con algunos matices para la población europea mesolítica/neolítica y la europea de la Edad del Hierro, que son las poblaciones holocenas euroasiáticas más cercanas a las poblaciones holocenas ibéricas. Estas poblaciones europeas se caracterizan por presentar solamente a un integrante en cada población, situación que provoca que solo aparezca un haplogrupo dominante en cada una de estas poblaciones.

Por ese motivo, consideramos que sus relaciones con las poblaciones ibéricas se modificarán a medida que aumente el tamaño muestral de las poblaciones europeas.

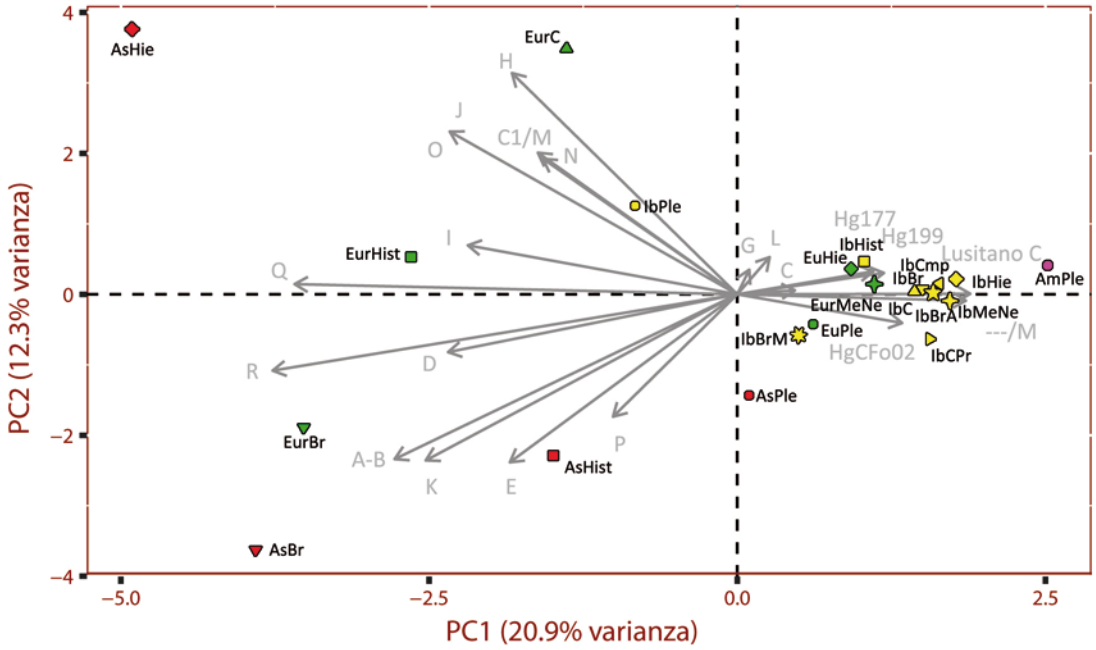


Figura 8.1.15.3. ***PCA realizado a partir del análisis combinado de gráficos de redes con todas las poblaciones antiguas. Influencia de los haplogrupos ---/M y A6/C.*** Código de colores: **Amarillo** para caballos ibéricos; **verde** para caballos europeos; **rojo** para caballos asiáticos, **violeta** para caballos americanos. **Círculo** para pleistocenos; **cruz** para mesolíticos/neolíticos; **triángulo** para calcolíticos, **triángulo invertido** para Edad del Bronce; **diamante** para Edad del Hierro; **cuadrado** para poblaciones históricas. Las poblaciones ibéricas precampaniformes, campaniformes, del Bronce antiguo y del Bronce medio presentan iconos exclusivos: **triángulo apuntando a la derecha** para precampaniformes; **triángulo apuntando a la izquierda** para campaniformes, **estrella de cinco puntas** para Bronce antiguo; **estrella a de siete puntas** para Bronce medio. Las poblaciones ibéricas calcolíticas y de la Edad del Bronce se encuentran superpuestas y lo mismo ocurre entre las poblaciones ibéricas campaniformes y del Bronce antiguo, pero en esta figura se presentan contiguas para una mejor apreciación.

Entre las poblaciones holocenas ibéricas podemos observar nuevamente una gran homogeneidad desde el Mesolítico/Neolítico hasta la Edad del Hierro, a excepción de las poblaciones del Bronce medio y de momentos históricos. Las poblaciones ibéricas se caracterizan por presentar en la mayoría de sus poblaciones a los haplogrupos Lusitano C, CFo02, ---/M y C (Figura 8.1.12.1). De hecho, la asociación que aparece ahora en los caballos ibéricos de la Edad del Hierro con el resto de caballos ibéricos, a excepción de los del Bronce medio y los de momentos históricos, se debe a la presencia en estas poblaciones del haplogrupo ---/M. Las poblaciones ibéricas que más separadas aparecen del resto de poblaciones antiguas ibéricas holocenas son las del Bronce medio y las de momentos históricos (Figura 8.1.15.3). Estas dos poblaciones se van a caracterizar por no presentar a ---/M entre sus integrantes.

La población del Bronce medio va a presentar la incorporación, por primera vez en el Holoceno, del haplogrupo A-B. Por su parte, la población ibérica de momentos históricos va a presentar un aumento marcado del haplogrupo L entre sus efectivos. Este haplogrupo L se detecta por primera vez entre las poblaciones ibéricas a partir de la Edad del Hierro, que presentan para los haplogrupos L y --/M unos porcentajes de representación similares (50% en cada uno de ellos).

8.1.16. Análisis de diversidad nucleotídica

Se analizó la diversidad genética de las muestras de ADN antiguo para las posiciones nucleotídicas 15.494 – 15.740 en las poblaciones ibéricas, europeas, asiáticas y americanas (Anexo XXI, Figura 8.1.16.1, Tabla 8.1.16.1). La Figura 8.1.16.1 representa las distribuciones de los 10.000 valores de diversidad nucleotídica generados por bootstrap para cada una de las poblaciones (asociaciones) analizadas. Dentro de cada área geográfica, la diversidad nucleotídica no está centrada en un valor concreto, siendo las poblaciones ibéricas holocenas las más homogéneas entre ellas. En la península ibérica se observa una disminución de la diversidad entre los caballos pleistocenos y holocenos. Esta situación también ocurre en las poblaciones europeas. Sin embargo, a partir de la Edad del Bronce, las poblaciones europeas aumentan la diversidad nucleotídica, alcanzando valores superiores a los de las poblaciones pleistocenas anteriores. Para las poblaciones asiáticas se observa un aumento en la diversidad nucleotídica entre el Pleistoceno y la Edad el Bronce pero, la ausencia de muestras mesolíticas/neolíticas y calcolíticas no permite analizar la tendencia de esta variable en Asia desde el Pleistoceno hasta la Edad del Bronce.

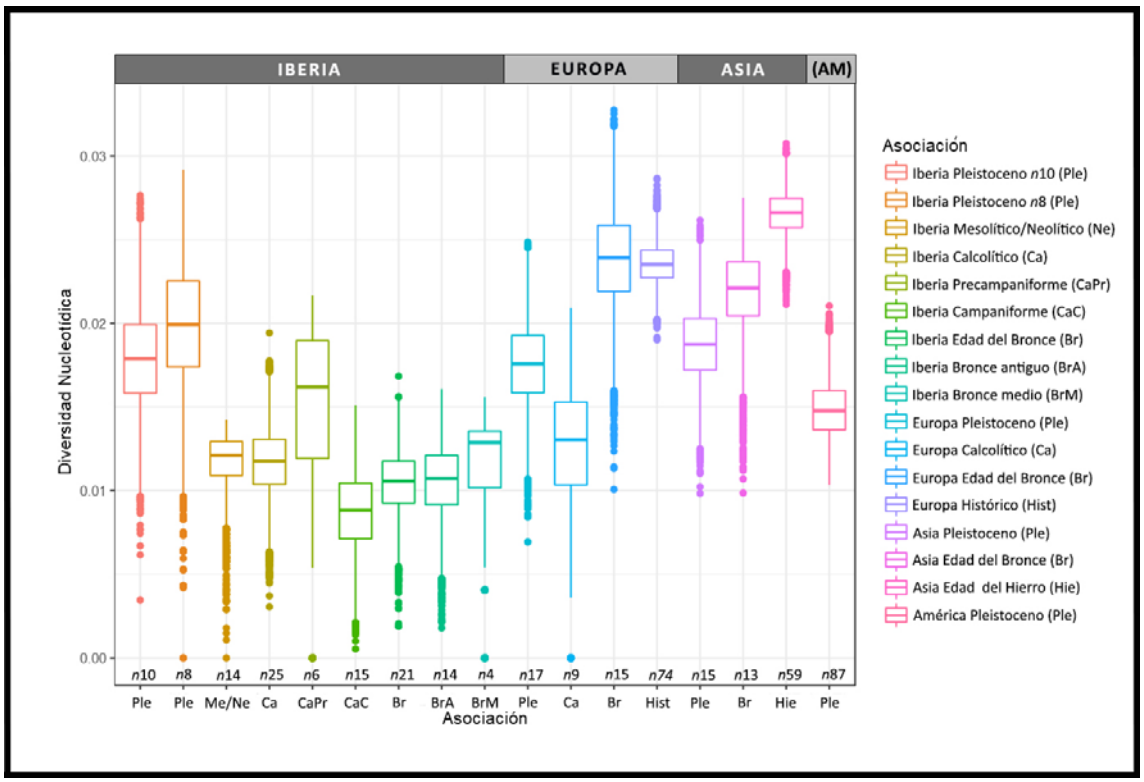


Figura 8.1.16.1. ***Distribución de la diversidad nucleotídica de las poblaciones ibéricas, europeas, asiáticas y americanas (AM).***

Se observa unos valores similares para la diversidad nucleotídica en las poblaciones pleistocenas ibéricas (π =0,018 – 0,020), europeas (π =0,018) y asiáticas (π =0,019), con solapes entre sus intervalos de confianza (Tabla 8.1.16.1). Aunque la población americana muestra unos valores ligeramente inferiores (π =0,015), sus intervalos de confianza solapan con los de las poblaciones pleistocenas euroasiáticas (Tabla 8.1.16.1, Figura 8.1.16.2).

Tabla 8.1.16.1. ***Cálculo de la diversidad nucleotídica*** . El valor obtenido es el promedio de 10.000 replicaciones de bootstrap sobre los valores de diversidad nucleotídica. La muestra ibérica "Pleistoceno n8" no incluye las secuencias de Bora Gran.

Origen	Asociación	*n*	Posiciones	Longitud	Nh	Diversidad Nucleotídica	Intervalo de Confianza 95%	
							Inferior	Superior
Iberia	Pleistoceno	10	15.494 - 15.740	247	8	0,018	0,012	0,024
	Pleistoceno	8		247	6	0,020	0,011	0,027
	Mesolítico/Neolítico	14		247	5	0,012	0,007	0,014
	Calcolítico	25		248	9	0,012	0,008	0,015
	Calcolítico Precampaniforme	6		248	4	0,015	0,005	0,022
	Campaniforme	15		247	7	0,009	0,004	0,013
	Edad del Bronce	21		247	9	0,010	0,007	0,014
	Bronce antiguo	14		247	8	0,011	0,006	0,014
	Bronce medio	4		247	4	0,012	0,004	0,016
Europa	Pleistoceno	17		247	16	0,018	0,013	0,022
	Calcolítico	9		247	5	0,013	0,004	0,019
	Edad del Bronce	15		247	13	0,024	0,018	0,029
	Histórico	74		248	31	0,024	0,021	0,026
Asia	Pleistoceno	15		248	14	0,019	0,014	0,023
	Edad del Bronce	13		247	11	0,022	0,017	0,026
	Edad del Hierro	59		247	40	0,027	0,024	0,029
América	Pleistoceno	87		247	44	0,015	0,012	0,018

En cambio, durante el Holoceno se van a observar cambios más marcados en la diversidad nucleotídica de las poblaciones (Tabla 8.1.16.1). Aunque no tenemos información sobre las poblaciones mesolíticas/neolíticas europeas, las poblaciones europeas calcolíticas van a presentar valores de diversidad nucleotídica (π =0,013) más bajos que las poblaciones europeas pleistocenas, pero con solape en los intervalos de confianza. Sin embargo, a partir de la Edad del Bronce las poblaciones europeas van a experimentar un aumento considerable de su diversidad nucleotídica (π =0,024), con apenas solape entre los intervalos de confianza con respecto a la población calcolítica (Figura 8.1.16.2). Además, esta circunstancia se mantendrá en Europa durante tiempos históricos (π =0,024) (Figura 8.1.16.2). Con respecto a Asia en el Holoceno, las poblaciones más antiguas de las que tenemos información corresponden a la Edad del Bronce. En este caso, también se observa un aumento en la diversidad nucleotídica (π =0,022) con respecto a las poblaciones del Pleistoceno, pero con un solape en los intervalos de confianza. Sin embargo, el aumento más significativo se observa a partir de la Edad del Hierro (π =0,027), con un intervalo de confianza que solapa ligeramente con el de la población de la Edad del Bronce, y totalmente diferente al de la población pleistocena.

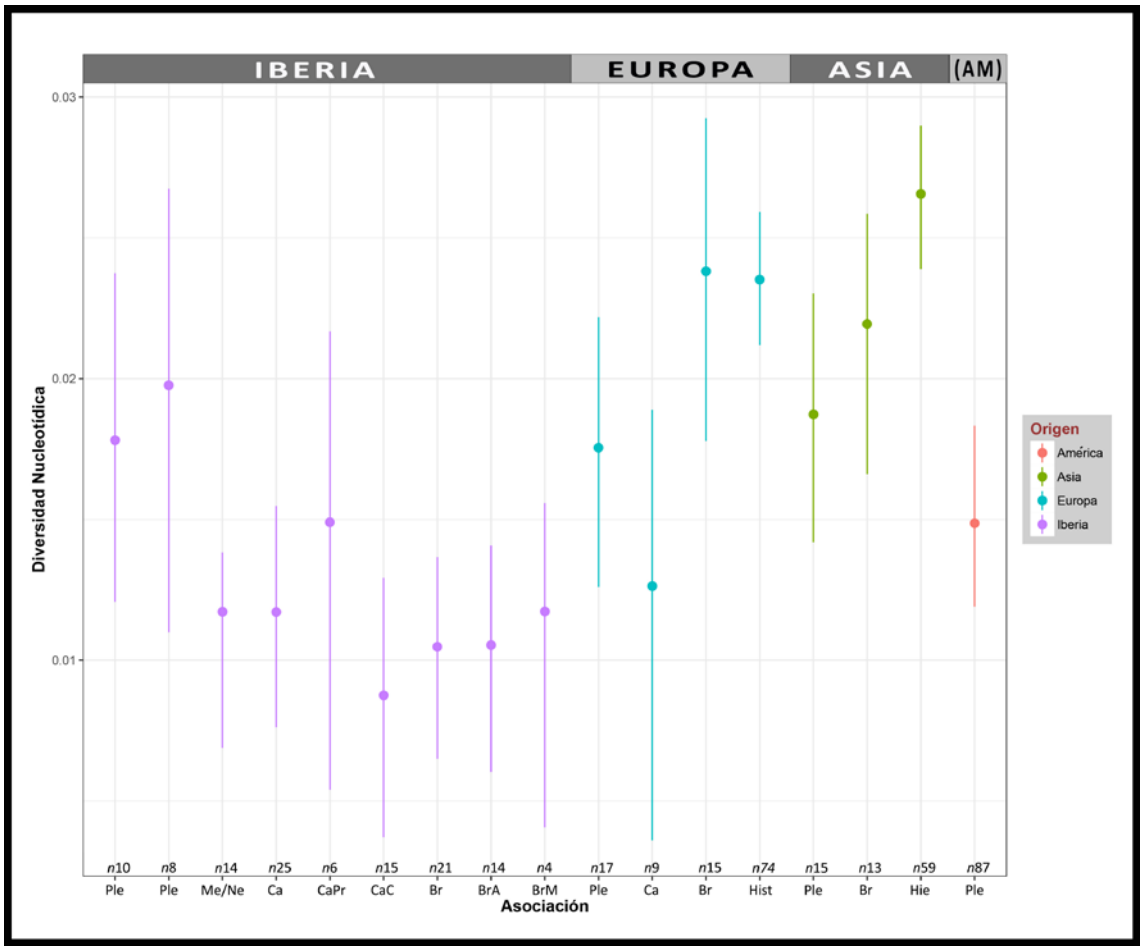


Figura 8.1.16.2. ***Diversidad nucleotídica de las poblaciones ibéricas, europeas, asiáticas y americanas (AM).*** Se presenta el promedio y los intervalos de confianza al 95%. Por encima del eje de abscisas, para cada población se detalla el tamaño muestral inicial. Ple, Pleistoceno; Me/Ne, Mesolítico/Neolítico; Ca, Calcolítico; CaPr, Calcolítico precampaniforme; CaC, Calcolítico campaniforme; Br, Edad del Bronce; BrA, Bronce antiguo; BrM, Bronce medio; Hist, Histórico.

En Iberia se observa una marcada disminución de la diversidad nucleotídica en las poblaciones mesolítico/neolíticas (π =0,012) en relación a las poblaciones pleistocenas ibéricas, con un mínimo solape entre sus intervalo de confianza. Los valores bajos de diversidad nucleotídica se mantendrán para las poblaciones calcolíticas (π =0,012) y de la Edad del Bronce (π =0,010), con intervalos de confianza ampliamente solapantes entre ellas (Figura 8.1.16.2). Comparando con otras poblaciones euroasiáticas, los valores de diversidad nucleotídica obtenidos por la población ibérica calcolítica (π =0,012) son similares a los reflejados por la población europea calcolítica (π =0,013). En cambio, y para la Edad del Bronce, los valores obtenidos para las poblaciones ibéricas (π =0,010) son marcadamente diferentes de los obtenidos para las poblaciones europeas (π =0,024) y asiáticas (π =0,022), respectivamente (Tabla 8.1.16.1, Figura 8.1.16.2).

Cuando diferenciamos las poblaciones ibéricas calcolíticas entre precampaniforme y campaniforme, se observa un ligero aumento en la población precampaniforme (π =0,015) respecto al valor obtenido para la población calcolítica general (π =0,012), aunque con intervalos de confianza solapantes. En cambio, las poblaciones campaniformes presenta unos valores (π =0,009) menores que los de la población calcolítica general (π =0,012), pero con intervalos de confianza solapantes (Figura 8.1.16.2).

Cuando se diferencian las poblaciones ibéricas de la Edad del Bronce entre Bronce antiguo y Bronce medio, los valores de diversidad nucleotídica de las poblaciones del Bronce antiguo (π =0,011) y Bronce medio (π =0,012) son similares a los ofrecidos por las poblaciones de la Edad del Bronce en general (π =0,010) (Figura 8.1.16.2).

8.1.17. Dinámica del tamaño efectivo poblacional en los caballos ibéricos.

8.1.17.1. Análisis de aleatorización de fechas de radiocarbono

En la Figura 8.1.17.1 se observa la gráfica obtenida con la función *PlotDRT* para la tasa de evolución. Se verifica que el promedio de la tasa de evolución estimada a partir del conjunto de datos originales no aparece contenido en ninguno de los intervalos del 95% HPD de los 20 conjuntos de datos aleatorizados. Este resultado permite determinar que hay suficiente señal temporal en la matriz de datos original, y por tanto se puede utilizar sus fechas asociadas como puntos de calibración internos.

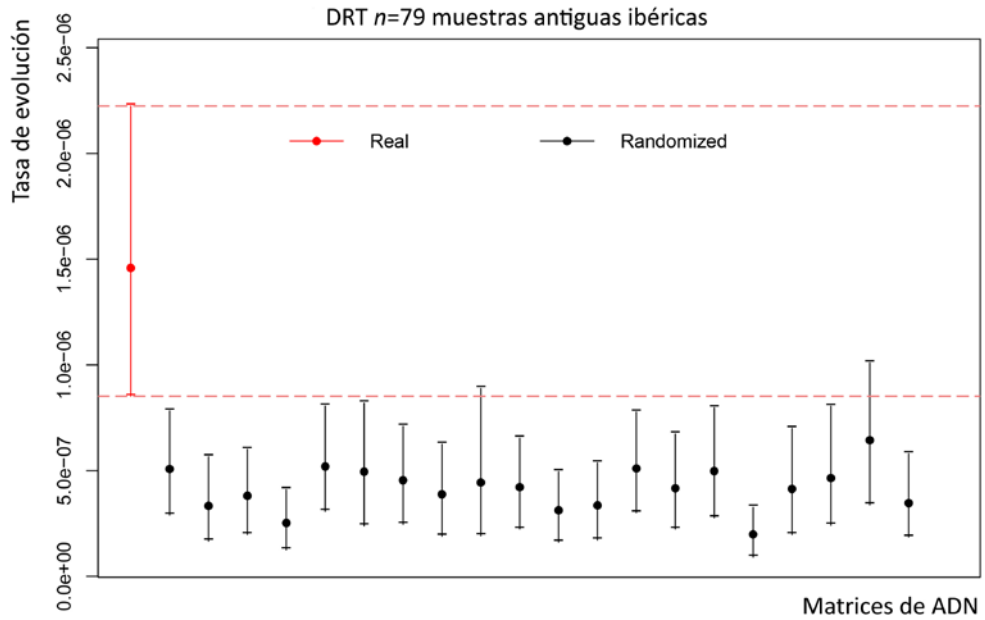


Figura 8.1.17.1. ***Resultados del análisis de aleatorización de fechas de radiocarbono para la matriz de 79 secuencias antiguas*.**

8.1.17.2. Análisis de la variación en el tamaño efectivo de la población

8.1.17.2.1. Matriz de datos con las 79 secuencias antiguas

Los resultados de los análisis ejecutados con BEAST se analizaron con el programa Tracer v1.5. En todos los parámetros analizados se pudo observar convergencia de las cadenas de Markov en la fase estacionaria. Además, el tamaño efectivo de la muestra ESS (*Effective*

Sample Size, ESS) asociado a cada parámetro ofreció valores superiores a 200. Estos valores son indicativos de un proceso de mezcla eficiente, obteniéndose por tanto muestras independientes y que representan una óptima distribución posterior.

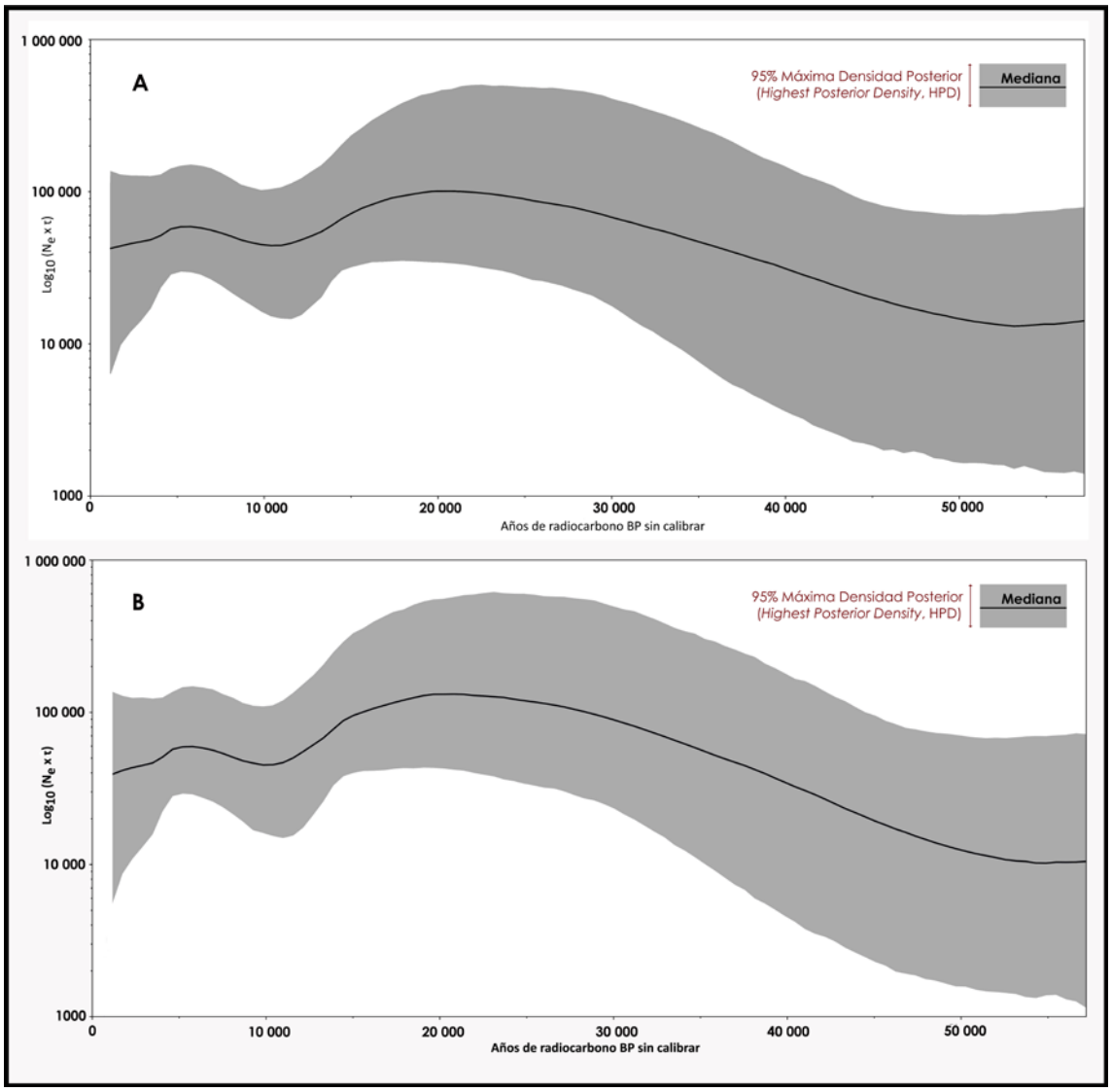


Figura 8.1.17.2. ***Fluctuaciones en el tamaño efectivo de las poblaciones de caballos ibéricos durante los últimos 50.000 años.*** Matriz de 79 secuencias antiguas de caballos ibéricos: A) aplicando el modelo PMD, B) sin aplicar el modelo PMD.

No considerar el daño molecular cuando se encuentra presente entre las secuencias de la matriz puede provocar una sobreestimación en los valores de algunos parámetros como la tasa de evolución. Para detectar y cuantificar esta situación hemos analizado las muestras con el modelo y sin el modelo PMD. La aplicación del modelo PMD ha arrojado unos resultados similares a los obtenidos sin PMD, en términos de valores estimados para el parámetro tasa de evolución (intervalos de 95% HPD similares), situación análoga a la descrita en Rambaut *et al*. (2009). Con PMD la tasa de cambio obtenida fue de 8,13 x 10^{-7} sustituciones por sitio y por año

(95% HPD: 4,58 x 10^{-7}– 1,22 x 10^{-6}). Sin PMD, los resultados obtenidos para la tasa de cambio fueron de 7,43 x 10^{-7} sustituciones por sitio y por año (95% HPD: 4,36 x 10^{-7}– 1,08 x 10^{-6}). La tasa de daño estimada fue de 9,08 x 10^{-8} posiciones dañadas por año (95% HPD: 2,13 x 10^{-8} – 1,72 x 10^{-7}). Además, este nivel de PMD tampoco ha producido diferencias cualitativas en la reconstrucción de la historia demográfica propuesta por *GMRF Bayesian Skyride* (Figura 8.1.17.2).

La reconstrucción demográfica muestra la dinámica del tamaño efectivo poblacional, donde la mediana del tamaño poblacional escalado (Neτ) y el intervalo de 95% HPD se distribuyen respecto al tiempo (Figura 8.1.17.2). El eje de las ordenadas no representa un tamaño poblacional absoluto, sino un tamaño poblacional escalado producto entre el tamaño efectivo de la población (Ne) y el tiempo de generación (τ, expresado en las mismas unidades que los tiempos de divergencia – años en este análisis-). No se presentan los tamaños efectivos directos de las poblaciones, debido a los diversos valores que varias publicaciones han ofrecido para el tiempo de generación de los caballos [10 años en Lippold *et al*. (2011b); 5 años en Lorenzen *et al*. (2011); 8 años en Achilli *et al*. (2012) o 12 años en Campana *et al* (2012)]. Sin embargo, la división del valor de Neτ por el tiempo de generación considerado, ofrece el valor absoluto del tamaño poblacional efectivo (Campana *et al*. 2012).

En aquellas ocasiones en las que la distribución posterior tiene un cola muy larga, las medianas suelen ser estimadores más robustos que las medias. Además, el logaritmo de Neτ ofrece una mejor visualización de la dinámica poblacional cuando se producen variaciones significativas sobre órdenes de magnitud, situación que puede ocurrir durante periodos de crecimiento o declive exponencial. Los valores de la mediana de este análisis oscilan entre 10.000 y 100.000 Neτ.

La Figura 8.1.17.2 y Figura 8.1.17.3 muestran la fluctuación demográfica de las poblaciones de caballos ibéricos durante los últimos 50.000 años. El eje de abscisas representa el tiempo en años de radiocarbono sin calibrar. Para contextualizar la dinámica poblacional de los caballos ibéricos, se han añadido los intervalos cronológicos de los principales eventos paleoclimáticos con disminución marcada de las temperaturas de los últimos 20.000 años (Figura 8.1.17.3). Estos eventos dejaron cambios de manera diferencial en la actividad geomorfológica de la península ibérica, que a su vez se vieron reflejados en cambios en las comunidades vegetales (López Sáez *et al.*, 2008; Clark *et al*., 2009; Cacho *et al*., 2010; García Ruiz *et al*., 2016a; b). Las cronologías de estos eventos están definidas en años b2k (*before 2000*), según como aparecen reflejadas a partir del esquema revisado sobre los sondeos NGRIP

(*North Greenland Ice Core Project*), GRIP (*Greenland Ice Core Project*) y GISP (*Greenland Ice Sheet Project*) de los hielos de Groenlandia (Rasmussen *et al*., 2014). Estas cronologías se han considerado en ocasiones análogas a las dataciones de radiocarbono cal. BP (García Ruiz *et al*., 2016b), teniendo en cuenta el desfase de 50 años presente entre ellas. Dos eventos paleoclimáticos pertenecen al Pleistoceno (el Último Máximo Glaciar Global y el Dryas Reciente) y uno al Holoceno (el evento árido 8.2). Además, con una línea verde paralela al eje de ordenadas se señala el momento cronológico de aparición de los caballos domésticos de Botai (Kazajistán) y su datación de radiocarbono asociada sin calibrar, así como calibradas BP y aC. Las tres representaciones de figuras hacen referencia a caballos ibéricos pleistocenos y holocenos en distintos estadios (salvajes, en posible proceso de domesticación y por último, como animales domésticos). Siempre que ha sido posible, se han ofrecido las dataciones de radiocarbono convencionales BP y también calibradas BP y aC de esas figuras. Las dataciones asociadas al jinete del barranco de Gasulla (Castellón) son aproximadas. La representación paleolítica pertenece a uno de los caballos de la Galería inferior de La Garma. Las representaciones holocenas pertenecen al arte postpaleolítico de Selva Pascuala (Cuenca) y del Cingle de la Mola Remigia del barranco de Gasulla (Castellón) (para una información más detallada sobre las representaciones holocenas, remitimos al apartado *4.2 La domesticación del caballo en el arte rupestre postpaleolítico*).

Se puede observar un aumento continuado en el tamaño efectivo de la población desde hace unos 50.000 años hasta hace unos 20.000 años de radiocarbono sin calibrar, donde alcanza un pico máximo. A partir de este momento comienza a disminuir el tamaño efectivo poblacional ibérico, y este suceso continúa durante todo el estadio frío (*Greenland Stadial,* GS) GS 2.1b, comprendido entre 21.000 – 17.500 años b2k y, asociado al Último Máximo Glaciar (*Last Glacial Maximum*, LGM) (Rasmussen *et al*., 2014) (Figura 8.1.17.3). El proceso de disminución en el tamaño poblacional continúa durante el GS 2.1a (17.500 – 14.500 años b2k) y durante el interestadio cálido (*Greenland Interstadial,* GI) GI 1, comprendido entre 14.700 – 12.900 años b2k (Rasmussen *et al*., 2014). Durante el GS 1 (comprendido entre 12.900 – 11.700 años b2k y asociado con el Dryas Reciente), cesa la disminución en el tamaño efectivo de las poblaciones ibéricas, y se mantiene estable durante todo el GS 1. El final del GS 1 coincide con el final del Pleistoceno y comienzos del Holoceno.

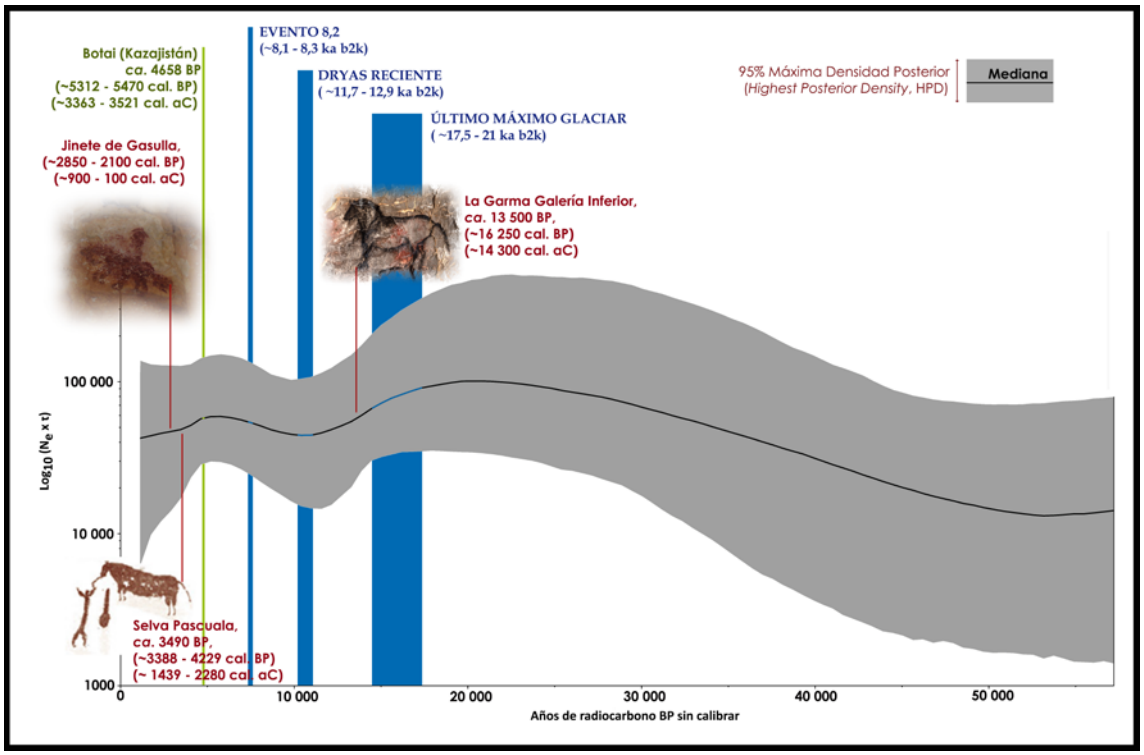


Figura 8.1.17.3. ***Fluctuación del tamaño efectivo de las poblaciones de caballos ibéricos durante los últimos 50.000 años.*** Dinámica obtenida con GMRF Bayesian Skyride. A modo de comparativa se presenta su relación con los principales eventos paleoclimáticos asociados a disminución de la temperatura de los últimos 20.000 años: Último Máximo Glaciar, Dryas Reciente y el evento 8.2, en cronologías b2k (*before 2000*). También se detalla el momento cronológico en el que aparecen los primeros caballos domésticos de Botai, así como representaciones de arte rupestre ibéricas de: caballos salvajes, caballos en posible proceso de domesticación y caballos domésticos. Imágenes: *La Garma*, R. Asiaín; *Gasulla*, J.Lira; *Selva Pascuala*, J.F. Ruiz López *et al*. (2012).

Durante la primera mitad del Holoceno se puede observar un nuevo aumento en el tamaño efectivo de las poblaciones. La crisis climática del evento 8.2 no se refleja en ningún tipo de variación en la dinámica demográfica de los caballos salvajes ibéricos, que continúan aumentando de tamaño durante ese periodo (Figura 8.1.17.3). Se alcanza un nuevo pico máximo (pero menor que el anterior) sobre los 5000 años de radiocarbono sin calibrar, momento a partir del cual el tamaño efectivo poblacional disminuye. Esta disminución se observa incluso durante el proceso por el cual individuos de las poblaciones salvajes ibéricas pasaron a formar parte de las poblaciones domésticas (Figura 8.1.17.3). La fluctuación demográfica no llega hasta la actualidad debido a que la muestra más moderna utilizada en este análisis es un caballo medieval.

Sin embargo, el análisis de contraste mediante factores bayes (BF) y Stepping Stone (SS) entre los dos modelos analizados para describir la dinámica de la población (*GMRF Bayesian Skyride* frente al modelo de tamaño poblacional constante), ofreció para *GMRF Bayesian*

Skyride los valores más bajos de verosimilitud marginal, señalándolo por lo tanto como modelo que mejor se ajusta a los datos al modelo de tamaño poblacional constante (Tabla 8.1.17.1).

Tabla 8.1.17.1. ***Valores de verosimilitud marginal de los modelos demográficos y resultados de factores bayes*.**

Análisis	Nº Modelo	Modelo demográfico	Logaritmo de la verosimilitud marginal del modelo con Stepping Stone	Factores Bayes
n 79	1	Skyride	-1008,786903	-6,54
	2	Constante	-1002,244385	
n 150	1	Skyride	-1493,245424	-47,28
	2	Constante	-1445,963288	
n 222	1	Skyride	-2136,143021	-132,83
	2	Constante	-2003,309727	
n 160	1	Skyride	-1765,167066	-38,77
	2	Constante	-1726,399851	

8.1.17.2.2. Matriz de datos con 150 secuencias antiguas y modernas ibéricas segregadas y emergentes

Los resultados de los análisis de la matriz de 150 secuencias antiguas y modernas ibéricas segregadas y emergentes se analizaron con el programa Tracer v1.5, de manera similar a los análisis de la matriz con 79 secuencias antiguas.

Nuevamente, la aplicación del modelo PMD ha arrojado unos resultados similares a los obtenidos sin PMD, en términos de valores estimados para el parámetro tasa de cambio (intervalos de 95% HPD similares). Con PMD la tasa de cambio obtenida fue de 2,49 x 10^{-6} sustituciones por sitio y por año (95% HPD: 6,42 x 10^{-7}– 4,11 x 10^{-6}). Sin PMD, los resultados obtenidos para la tasa de cambio fueron de 2,47 x 10^{-6} sustituciones por sitio y por año (95% HPD: 6,07 x 10^{-7}– 4,20 x 10^{-6}).

La tasa de daño estimada fue de 4,87 x 10^{-8} posiciones dañadas por año (intervalo de 95% HPD: 9,61 x 10^{-11} – 1,02 x 10^{-7}). Además, este nivel de PMD tampoco ha producido diferencias cualitativas en la reconstrucción de la historia demográfica bajo *GMRF Bayesian Skyride* (Figura 8.1.17.4).

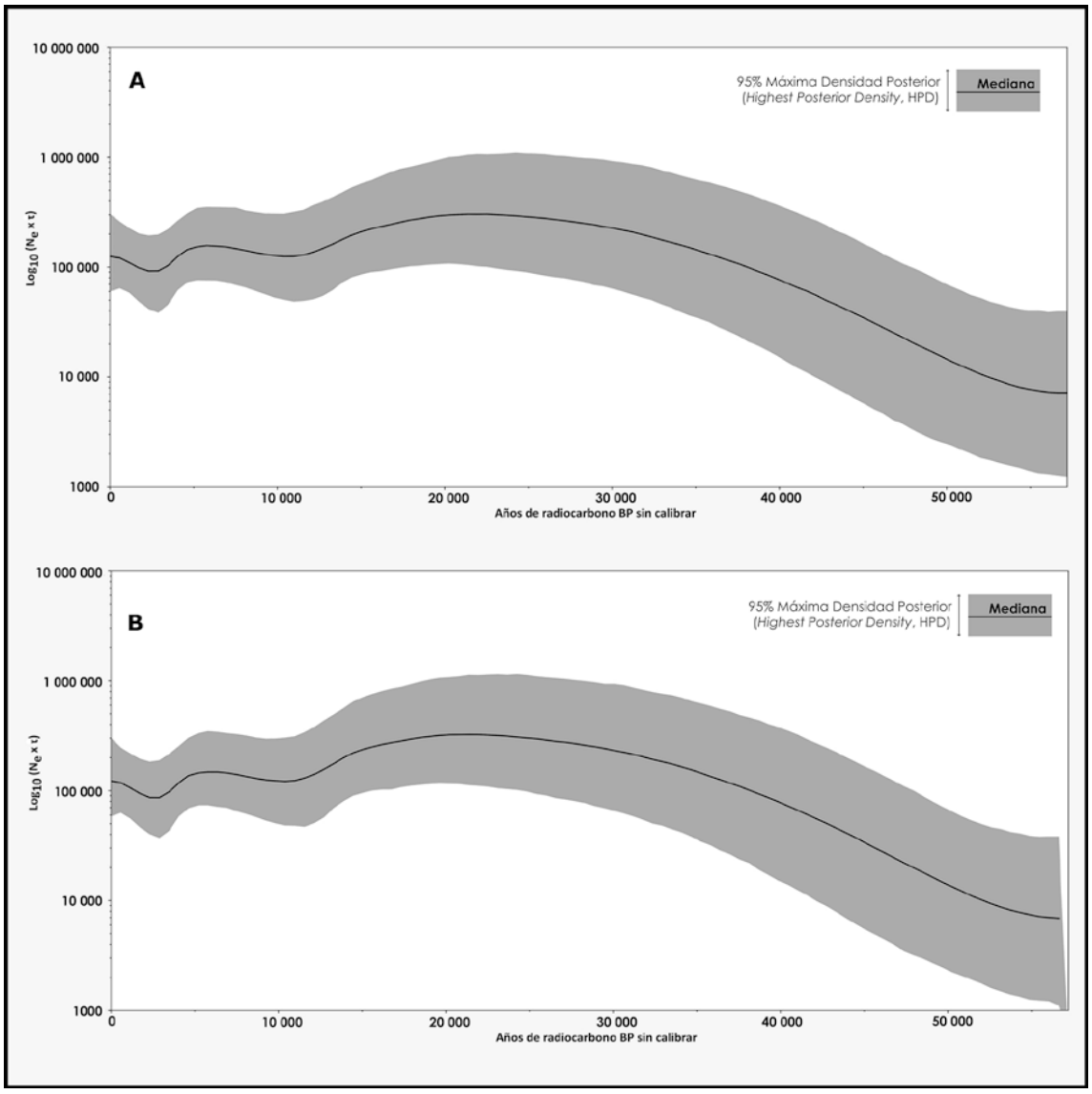


Figura 8.1.17.4. ***Fluctuaciones en el tamaño efectivo de las poblaciones de caballos ibéricos durante los últimos 50.000 años.*** Dinámica obtenida con GMRF Bayesian Skyride. Matriz de 150 secuencias antiguas y modernas de caballos ibéricos: A) aplicando el modelo PMD, B) sin aplicar el modelo PMD.

El análisis demográfico presenta unos valores de tamaño efectivo poblacional que oscilan entre 60.000 – 1.000.000 Neτ durante la mayor parte de los últimos 50.000 años de radiocarbono sin calibrar. En esta ocasión, se observa un aumento en el tamaño poblacional entre ~50.000 y 20.000 BP, momento en el que se alcanza un pico máximo. A continuación se observa una disminución hasta los aproximadamente 10.000 BP, con una pendiente menos acusada que en el análisis con 79 secuencias antiguas. Nuevamente, el comienzo del Holoceno viene acompañado de un ligero aumento en el tamaño efectivo, pero menos marcado que en el caso del análisis con 79 secuencias antiguas. Este ligero aumento se observa hasta aproximadamente 5000 BP y, a partir de ese momento, se observa una disminución en el tamaño efectivo poblacional, más marcada que la observada con el análisis de las 79

secuencias antiguas. Tras la disminución en el tamaño efectivo observada ~5000 años de radiocarbono sin calibrar, las poblaciones ibéricas presentan un nuevo aumento ~3000 - 2000 años BP sin calibrar, con una tendencia positiva que llega hasta momentos actuales.

Sin embargo, los cálculos de verosimilitud marginal a partir del estimador Stepping Stone (SS) y su contraste mediante factores bayes (BF), han puesto de manifiesto que el modelo *GMRF Bayesian Skyride* no es el más idóneo para explicar estos datos, proponiendo al modelo de tamaño poblacional constante como modelo demográfico que mejor se ajusta a la matriz de datos (Tabla 8.1.17.1).

8.1.17.2.3. Matriz de datos con 222 secuencias antiguas y modernas ibéricas arcaicas y autóctonas

Los resultados del análisis de la matriz con las 222 muestras antiguas y modernas ibéricas arcaicas y autóctonas se analizaron con el programa Tracer v1.5, de manera similar a los análisis anteriores.

Nuevamente, la aplicación del modelo PMD ha arrojado unos resultados similares a los obtenidos sin PMD, en términos de valores estimados para el parámetro tasa de cambio (intervalos de 95% HPD similares). Con PMD la tasa de cambio obtenida fue de 8,53 x 10^{-7} sustituciones por sitio y por año (95% HPD: 4,28 x 10^{-7}– 1,24 x 10^{-6}). Sin PMD, los resultados obtenidos para la tasa de cambio fueron de 7,47 x 10^{-7} sustituciones por sitio y por año (95% HPD: 4,05 x 10^{-7}– 1,11 x 10^{-6}).

La tasa de daño estimada fue de 9,19 x 10^{-8} posiciones dañadas por año (intervalo de 95% HPD: 3,07 x 10^{-8} – 1,6 x 10^{-7}). Además, este nivel de PMD tampoco ha producido diferencias cualitativas en la reconstrucción de la historia demográfica de bajo *GMRF Bayesian Skyride* (Figura 8.1.17.5).

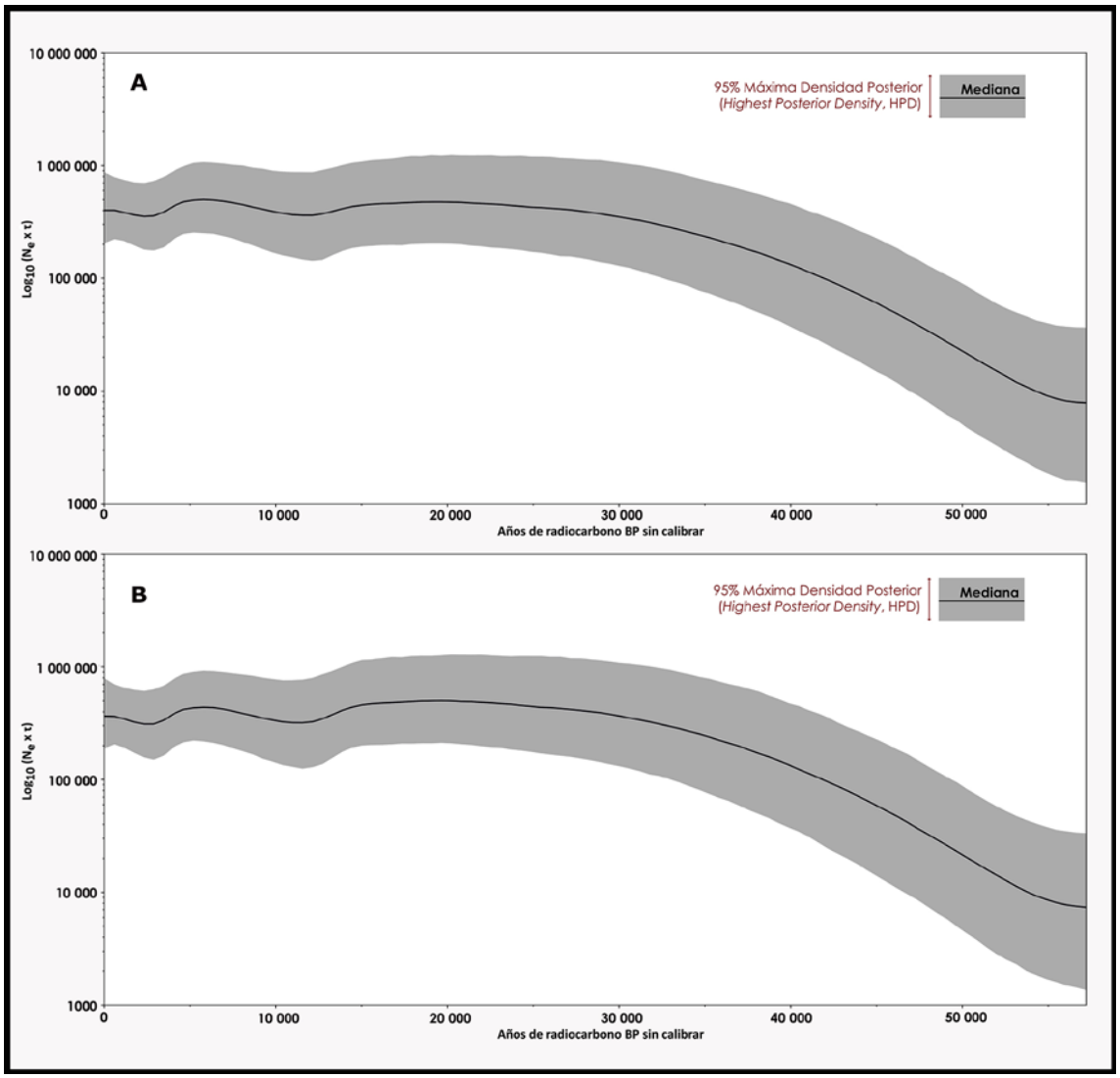


Figura 8.1.17.5. ***Fluctuaciones en el tamaño efectivo de las poblaciones de caballos ibéricos durante los últimos 50.000 años.*** Dinámica obtenida con GMRF Bayesian Skyride. Matriz de 222 secuencias antiguas y modernas de caballos ibéricos: A) aplicando el modelo PMD, B) sin aplicar el modelo PMD.

El resultado del análisis con 222 secuencias es muy parecido al del análisis con 150, tanto en el intervalo de Neτ en el que oscila la dinámica poblacional, como en los momentos cronológicos en los que se producen los cambios y, además, en la suavidad de la pendiente de los mismos. El análisis demográfico presenta unos valores de tamaño efectivo poblacional que oscilan entre 100.000 – 1.000.000 Neτ durante la mayor parte de los últimos 50.000 años BP sin calibrar. Nuevamente, se observa un aumento en el tamaño poblacional entre ~50.000 y 20.000 BP. La población se mantiene estable hasta aproximadamente 15.000 BP, momento en el que se observa una disminución demográfica que durará hasta los aproximadamente 10.000 BP. De manera similar a los casos anteriores, el comienzo del Holoceno viene acompañado de un ligero aumento en el tamaño efectivo, pero menos marcado que en el caso del análisis con 79 secuencias antiguas y similar al observado con 150 muestras. Nuevamente, este ligero

aumento se observa hasta aproximadamente 5000 BP y, a partir de ese momento, se observa una disminución marcada en el tamaño efectivo poblacional, de manera similar a la observada en el análisis de las 150 secuencias. Tras la disminución en el tamaño efectivo observada ~5000 años BP sin calibrar, las poblaciones ibéricas presentan un nuevo aumento ~3000 - 2000 años BP sin calibrar, con una tendencia positiva que llega hasta momentos actuales.

Sin embargo y como en los casos anteriores, los cálculos de verosimilitud marginal a partir del estimador Stepping Stone (SS) y su contraste mediante factores bayes (BF), han puesto de manifiesto que el modelo *GMRF Bayesian Skyride* no es el más idóneo para explicar estos datos, considerando como modelo demográfico que mejor se ajusta a la matriz de datos al modelo de tamaño poblacional constante (Tabla 8.1.17.1).

8.1.17.2.4. Matriz de datos con 160 secuencias antiguas y los caballos de Achilli et al *(2012)*

Los resultados del análisis de la matriz con las 160 muestras se analizaron con el programa Tracer v1.5. Como en los casos anteriores, la aplicación del modelo PMD no se diferencia de los resultados obtenidos sin tener en cuenta PMD, en términos de valores estimados para el parámetro tasa de evolución (intervalos de 95% HPD similares). Con PMD la tasa de cambio obtenida fue de 1,69 x 10^{-6} sustituciones por sitio y por año (95% HPD: 1,03 x 10^{-6}– 2,41 x 10^{-6}). Sin PMD, los resultados obtenidos para la tasa de cambio fue de 1,62 x 10^{-6} sustituciones por sitio y por año (95% HPD: 1,02 x 10^{-6}– 2,29 x 10^{-6}).

La tasa de daño estimada fue de 7,44 x 10^{-8} posiciones dañadas por año (intervalo de 95% HPD: 1,63 x 10^{-8} – 1,38 x 10^{-7}). Además, este nivel de PMD tampoco ha producido diferencias cualitativas en la reconstrucción de la historia demográfica bajo *GMRF Bayesian Skyride* (Figura 8.1.17.6).

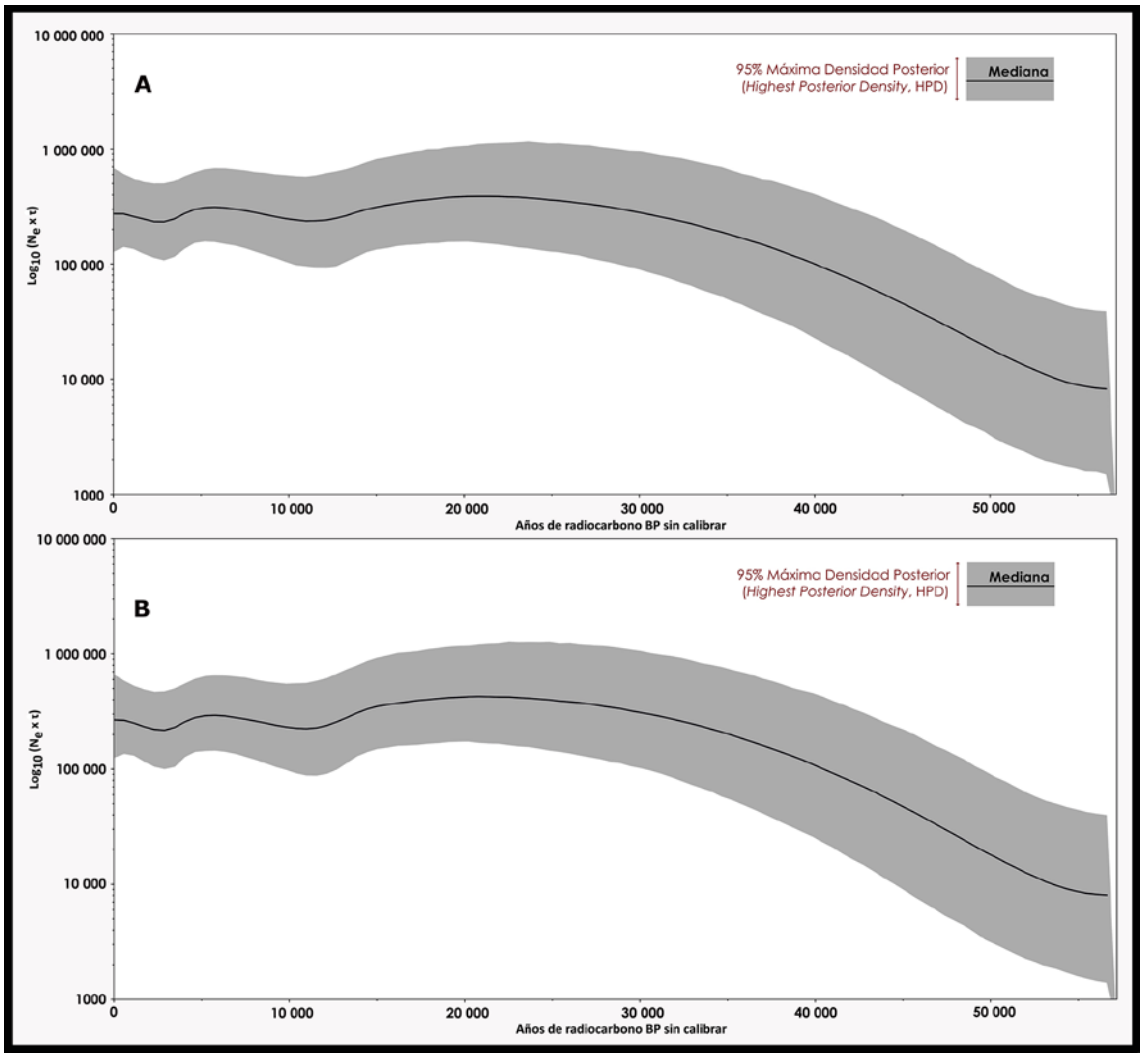


Figura 8.1.17.6. ***Fluctuaciones en el tamaño efectivo de las poblaciones de caballos ibéricos y no ibéricos durante los últimos 50.000 años.*** Dinámica obtenida con GMRF Bayesian Skyride. Matriz de 160 secuencias antiguas y los caballos de Achilli *et al.* (2012): A) aplicando el modelo PMD, B) sin aplicar el modelo PMD.

El resultado del análisis con 160 secuencias ibéricas y no ibéricas es similar al análisis con 150 y 222 muestras antiguas y modernas ibéricas, tanto en el intervalo de Neτ en el que oscila la dinámica poblacional, como en los momentos cronológicos en los que se producen los cambios y, además, en la suavidad de la pendiente de los mismos. En relación al análisis con 160 secuencias, los valores de los tamaños demográficos son ligeramente mayores que con 150 secuencias. El análisis demográfico presenta unos valores de tamaño efectivo poblacional que oscilan entre 100.000 – 1.000.000 Neτ durante la mayor parte de los últimos 50.000 años BP sin calibrar. Nuevamente, se observa un aumento en el tamaño poblacional entre ~50.000 y 20.000 BP. La población se mantiene estable hasta aproximadamente 15.000 BP, momento en el que se observa una disminución demográfica que durará hasta los aproximadamente 10.000 BP. Como hemos comentado para los casos anteriores, el comienzo del Holoceno viene acompañado de un ligero aumento en el tamaño efectivo, pero menos marcado que en el caso

del análisis con 79 secuencias antiguas y similar al observado con 150 y 222 muestras. Nuevamente, este ligero aumento se observa hasta aproximadamente 5000 BP y, a partir de ese momento, se observa una disminución en el tamaño efectivo poblacional, de manera similar a la observada en el análisis de las 150 y 222 secuencias. Tras la disminución en el tamaño efectivo observada ~5000 BP sin calibrar, las poblaciones presentan un nuevo aumento ~3000 - 2000 BP sin calibrar, con una tendencia positiva que llega hasta momentos actuales.

Sin embargo, y como en los casos descritos anteriormente, el análisis de contraste de modelos demográficos ha propuesto que el modelo que mejor se ajusta a los datos es el de tamaño poblacional constante (Tabla 8.1.17.1).

8.2. Análisis sobre *Equus hydruntinus*

8.2.1. Muestra de la Galería de las Estatuas (sierra de Atapuerca, Burgos)

8.2.1.1. Descripción morfológica de la muestra AT-GE-189

En el nivel 3 de la Cata I del yacimiento de la Galería de las Estatuas, se recuperó el resto dental de équido AT-GE-189. Siguiendo la nomenclatura de Eisenmann (1981), se ha identificado como un molar 1-2 inferior derecho. En un principio, la morfología triangular de la superficie oclusal sugirió su diferenciación como uno de los dientes de los extremos de la serie comprendida por P2 – M3, considerándose como un M3 inferior derecho, debido a la morfología triangular asociada al desarrollo del hipoconúlido en el plano distal (Figura 8.2.1.1.A). Sin embargo, la ausencia del pilar distal característico de la pared externa de los M3 inferiores ha llevado a diferenciarlo como un M1-2 (Figura 8.2.1.1.B), determinándose con más probabilidad como un molar 1, con la peculiaridad de presentar un hipoconúlido elongado debido a que todavía no se habría desgastado por el contacto con el molar 2 (Stirton, 1941; A. Gómez, comunicación personal).



Figura 8.2.1.1. ***AT-GE-189, molar 1-2 inferior derecho atribuido a*** **Equus hydruntinus**. A) Plano oclusal. B) Plano vestibular.

Por su parte, las orientaciones del parastílido, del hipoconúlido y del doble bucle formado por el metacónido y el metastílido han permitido ubicarlo en el lado derecho de la mandíbula.

8.2.1.1.1. Superficie oclusal

En el complejo del doble bucle, el pliegue lingual interno o linguafléxido (Davis, 1980; Eisenmann *et al*., 1988) formado entre el metacónido y el metastílido presenta una abertura en forma de "V". Esta morfología se ha considerado como característica de *Equus hemionus*, *Equus asinus*, *Equus hydruntinus* y de las cebras (Davis, 1980). El metacónido presenta una forma redondeada y el metastílido presenta los ángulos redondeados, siguiendo las descripciones de Eisenmann (1981).

Los bordes linguales del metacónido y del metástilido son convexos a lo largo de su longitud (Eisenmann, 1981), presentando una morfología característica de la dentición de tipo estenoniana.

El pliegue bucal externo, pliegue vestibular o ectofléxido (Davis, 1980; Eisenmann *et al.*, 1988) penetra en la zona del pedículo del doble bucle. Como Eisenmann (1981) detalla, el pedículo es la zona comprendida entre el prefléxido y el postfléxido. Además, el pliegue vestibular casi contacta con el pliegue lingual. Esta característica se ha descrito en los molares de *Equus hydruntinus* y en los de las cebras, donde la penetración del pliegue bucal externo es tan pronunciada que llega a contactar incluso con el pliegue lingual interno o linguafléxido (Davis, 1980) (Figura 8.2.1.1).

8.2.1.1.2. Superficie de la pared externa o bucal

Aunque no es una buena característica discriminante, se ha considerado que la curvatura de la pared externa del protocónido y del hipocónido de los molares permiten discriminar entre *Equus hydruntinus* y cebras por un lado, y *Equus hemionus*, *Equus asinus* y *Equus caballus* por otro (Davis, 1980). Aunque esta observación corresponde a una variable cualitativa de difícil valoración (Davis, 1980), se ha considerado que *Equus hydruntinus* presenta una morfología redondeada, mientras que en los otros taxones las paredes externas del protocónido y del hipocónido son aplanadas.

En el fósil AT-GE-189 se observa un patrón de curvatura en las paredes externas del protocónido y del hipocónido ligeramente redondeado, y similar al registrado por Arceredillo (2008) para las muestras de *Equus hydruntinus* del yacimiento burgalés de Valdegoba.

Por lo tanto, este rasgo morfológico también apoya la propuesta de que AT-GE-189 pertenezca a *Equus hydruntinus*.

8.2.1.2. Resultados genéticos obtenidos sobre AT-GE-189

Para recuperar el fragmento de ADN mitocondrial comprendido entre las posiciones nucleotídicas 15.444 – 15.926 (posiciones relativas a la nueva secuencia de Referencia para *Equus caballus* JN398377, Achilli *et al*., 2012), se llevaron a cabo dos extracciones independientes con el protocolo de extracción número 1. La estrategia de amplificación de PCR que se diseñó consistió en la amplificación de cuatro fragmentos genéticos solapantes, con un tamaño promedio de 170 pares de bases.

Se obtuvieron resultados positivos de los cuatro fragmentos solapantes. Con la muestra 1 se obtuvieron resultados positivos para las regiones 1, 2 y 4 y se realizaron varias amplificaciones independientes de la región 2. Con la muestra 2 se obtuvo ADN para la región 3, y se aumentó el número de copias de los regiones 1 y 3 (Tabla 8.2.1.1).

Tabla 8.2.1.1. ***Resultados de ADN obtenidos en la muestra de la Galería de las Estatuas***. Se indican las regiones amplificadas y, para cada región, la cantidad de extractos de los que se ha recuperado ADN y la cantidad de secuencias Forward y Reverse obtenidas.

MUESTRA	REGIÓN 1			REGIÓN 2			REGIÓN 3			REGIÓN 4		
	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse
AT-GE-189	2	2	2	1	4	4	2	2	2	1	1	1

En ninguna de las extracciones de ADN se obtuvieron resultados positivos en las muestras de bovinos o en las muestras de agua. Tampoco se visualizaron resultados positivos en los controles de PCR.

La secuencia consenso que se obtuvo con los programas de edición de secuencias (BioEdit y Sequencher versión 4,5) fue idéntica.

El examen de la secuencia de ADN mitocondrial de la muestra AT-GE-189 presenta una deleción de 28 pb comprendida entre las posiciones 15.533 – 15.560 (en relación a la

secuencia JN398377, Achilli *et al*., 2012) (Figura 8.2.1.2). Esta deleción ya se había descrito previamente en otras secuencias de ADN mitocondrial de *Equus hydruntinus*, así como en secuencias de *Equus kiang* y de *Equus hemionus* (Orlando *et al.,* 2006). Al no presentar ninguna otra especie de équido esta deleción, se ha sugerido que pudiera haberse originado en la rama ancestral del linaje de *Equus hydruntinus* / *Equus kiang* / *Equus hemionus* y, considerarse una sinapomorfía de este clado (Orlando *et al*., 2006). La presencia de esta deleción permite sugerir una aproximación filogenética del fósil AT-GE-189 al subgénero *Hemionus*.

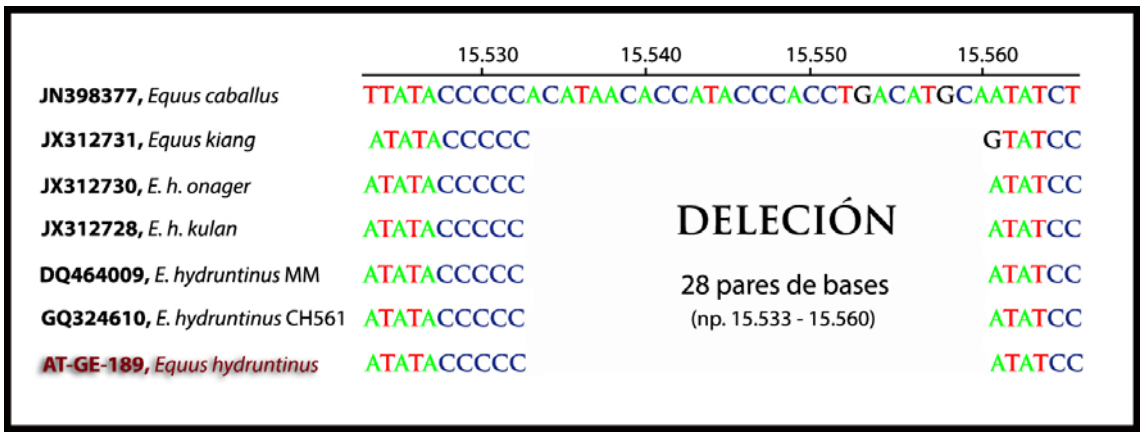


Figura 8.2.1.2. ***Representación de la deleción característica del ADN mitocondrial HVR-I de*** **Equus kiang** ***y*** **Equus hemionus*****, y compartida también por*** **Equus hydruntinus**.

Las posiciones nucleotídicas variables de la muestra AT-GE-189 se presentan contrastando esta muestra con la muestra de referencia de *Equus asinus* (X97337) (Tabla 8.2.1.2).

Tabla 8.2.1.2. ***Posiciones nucleotídicas variables de la muestra AT-GE-189***. Las posiciones polimórficas se presentan en relación a secuencia de referencia de *Equus asinus* (X97337) para las posiciones 15.439-15.921. Y (C o T), W (A o T). La deleción característica de *Equus hydruntinus* se presenta entre las posiciones 15.528 - 15.555.

| Muestra | Posición nucleotídica | | |

8.2.1.3. Resultados de los análisis de radiocarbono sobre AT-GE-189

Una muestra del fósil AT-GE-189 se envió a datar a los laboratorios de Oxford Radiocarbon Acelerator Unit (Reino Unido). El análisis de radiocarbono arrojó una edad de 44.000 ± 1900 BP (OxA-21525). Este análisis ha permitido datar la muestra de manera directa y, además, ofrecer una fecha radiométrica del nivel 3 del depósito litoestratigráfico de la Cata I del yacimiento de la Galería de las Estatuas. Sin embargo, debido a los resultados ofrecidos por otras dataciones de los niveles 1 y 2 de la Cata I, se ha considerado la posibilidad de que la datación OxA-21525 esté en realidad asociada a una edad mínima para este nivel litoestratigráfico (Arsuaga *et al*., 2017). De hecho, en un reciente estudio sobre dataciones OSL (*optically stimulated luminiscence*) realizadas en este yacimiento, el nivel 3 de la Cata I ha arrojado unas cronologías estimadas de ~110.000 años (Demuro *et al*., in press).

8.2.2. Muestras de El Mirador (sierra de Atapuerca, Burgos)

En el yacimiento de El Mirador se recuperaron dos restos de équidos que se atribuyeron a *Equus hydruntinus* (Martín *et al*., 2014). Uno de los restos se había recuperado en el nivel neolítico MIR-11 (Figura 8.2.2.1). Este nivel se ha asociado culturalmente al Neolítico, con uno resultado de radiocarbono de 5360 ± 50 BP (Beta-181087) (6277 – 6002 cal. BP ó 4328 – 4053 cal. aC, un listado completo de las dataciones de todos los niveles de El Mirador se encuentra en el Capítulo 7, apartado *7.5.2 El yacimiento de El Mirador*, Tabla 7.5.1).

El otro resto procede del nivel MIR-4 (Figura 8.2.2.1), asociado a la Edad del Bronce (Martín *et al*., 2014). Para este nivel hay varios resultados de radiocarbono, en torno al 3400 ± 40 BP (una vez más, remitimos a la Tabla 7.5.1 para mayor detalle sobre las dataciones de este nivel).



Figura 8.2.2.1. ***Équidos de El Mirador***. Muestras atribuidas a *Equus hydruntinus*: ARRIBA, MIR4-P20-251, vista oclusal**;** ABAJO, MIR11-Q21-171 **a)** vista bucal; **b)** vista distal; **c)** vista oclusal.

8.2.2.1. Resultados genéticos obtenidos

Con la primera extracción independiente, se realizó una primera amplificación con la pareja de cebadores 15.425F – 15.625R (región 1). Únicamente la muestra de équido MIR4-P20-251 ofreció resultados positivos. Además, ninguno de los controles de extracción y de amplificación ofreció resultados positivos de ADN.

La muestra MIR4-P20-251 se había adscrito a *Equus hydruntinus*. No obstante, el análisis exploratorio del fragmento de la región 1, utilizando el algoritmo heurístico de alineamiento BLAST (*Basic Local Aligment Search Tool*) bajo la aplicación (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi), arrojó como resultado su similitud con *Equus caballus* / *Equus ferus*.

Con esta información, se amplificó el resto del fragmento genético comprendido entre las posiciones 15.537 – 15.862 del ADN mitocondrial (posiciones relativas a la nueva secuencia de Referencia para *Equus caballus* JN398377, Achilli *et al*., 2012).

Por su parte, la muestra MIR11-Q21-171 no ofreció resultados positivos en ninguna de las amplificaciones.

El extracto de ADN de la primera extracción se utilizó para generar nuevas reacciones de PCR con las parejas de cebadores de *Equus caballus*: 15.425F – 15.625R (región 1), 15.537F – 15.728R y 15.546F – 15.708R (región 2), y 15.668F – 15.862R (región 3).

Se llevó a cabo una segunda extracción de ADN de los dos restos faunísticos, y se volvieron a amplificar las tres regiones del ADN mitocondrial. Como en el caso anterior, solamente se obtuvieron resultados positivos sobre la muestra MIR4-P20-251.

Por lo tanto, solamente se pudo extraer ADN de la muestra MIR4-P20-251, previamente adscrita a *Equus hydruntinus* (Martín *et al*., 2014). La secuencia consenso se generó a partir de múltiples amplificaciones procedentes de dos extractos independientes de ADN (Tabla 8.2.2.1).

Tabla 8.2.2.1. ***Resultados de ADN obtenidos en las muestras de El Mirador***. Se indican las regiones amplificadas y, para cada región, la cantidad de extractos se los que se ha recuperado ADN y la cantidad de secuencias Forward y Reverse obtenidas.

MUESTRA	REGIÓN 1			REGIÓN 2			REGIÓN 3		
	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse	Extractos de ADN	Forward	Reverse
MIR4-P20-251	2	3	3	2	4	4	2	0	0
MIR11-Q21-171	2	0	0	2	0	0	2	0	0

La secuencia consenso obtenida presenta una longitud de 264 pares de bases, comprendida entre las posiciones nucleotídicas 15.444 – 15.708 de HVR-I del ADN mitocondrial de *Equus caballus* (según la nueva secuencia de Referencia para *Equus caballus*, JN398377, Achilli *et al.*, 2012).

En la Tabla 8.2.2.2, se presentan la relación de posiciones nucleotídicas polimórficas de la muestra MIR4-P20-251 (número de laboratorio 14EL60, Tabla 7.5.2) en relación a la nueva secuencia de Referencia para *Equus caballus* JN398377 (Achilli *et al*., 2012).

Tabla 8.2.2.2. ***Posiciones nucleotídicas variables de la muestra MIR4-P20-251, np. 15.444-15.708***. Las posiciones polimórficas se presentan en relación a la nueva secuencia de Referencia JN398377. El símbolo "." refleja identidad nucleotídica, "-" representa un hueco en la secuencia.

Muestra	Posición nucleotídica						
	1	1	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5	5	5
	4	5	5	5	6	6	6
	9	2	3	3	0	0	8
	5	4	3	6	2	4	6
JN398377	**T**	**T**	**A**	**T**	**C**	**G**	**A**
14EL60	C	C	-	C	T	A	G

8.2.3. Selección de *Equus asinus* y *Equus africanus*

Para profundizar en el análisis de las relaciones filogenéticas de las muestras atribuidas a *Equus hydruntinus* con las muestras de asnos salvajes y domésticos, previamente se realizó un análisis de distribución haplotípica exclusivamente sobre muestras de asnos.

El gráfico de redes realizado sobre las 89 secuencias de asno salvaje nubio *Equus africanus africanus*, asno salvaje somalí *Equus africanus somaliensis* y asno doméstico *Equus asinus,* permitió diferenciar 41 haplotipos que se distribuyen en tres haplogrupos principales (Figura 8.2.3.1, Figura suplementaria 5, Anexo IV, Anexo XXII). Se han podido diferenciar los dos clados que se han definido entre los asnos salvajes (Beja-Pereira *et al*., 2004; Kimura *et al*., 2011), así como los dos clados principales de asnos domésticos (Kimura *et al*., 2011).

Todas las secuencias de asno salvaje somalí se distribuyen en el haplogrupo que se había definido como Clado somalí (Kimura *et al*., 2011). Todas las muestras de asno salvaje nubio, a excepción de una, se distribuyen en el Clado 1. La muestra de asno salvaje nubio restante aparece distribuida en el Clado 2. Esta muestra pertenece a un ejemplar capturado en los años 30 del siglo XX en Eritrea (Kimura *et al*., 2011). Los asnos domésticos se distribuyen entre los Clados 1 y 2, de manera análoga a las descripciones de investigaciones anteriores (Kimura *et al*., 2011).

Mientras que para las secuencias CR68 y CR69 se pudo obtener el fragmento completo de ADN comprendido entre las posiciones nucleotídicas 15.439 - 15.837, para la muestra CR63 se recuperó el fragmento comprendido en las posiciones nucleotídicas 15.439 – 15.698, y para la muestra CR64 el fragmento comprendido entre las posiciones nucleotídicas 15.563 – 15.837 de HVR-I del ADN mitocondrial. Al ser las secuencias de las muestras CR63 y CR64 fragmentos complementarios y potencialmente pertenecer al mismo individuo (Lira, J. *et al*., 2012), para este caso particular, se han fusionado conformando la secuencia artificial CR63-64.

Las muestras de la Edad del Hierro de Cancho Roano aparecen distribuidas entre los Clados 1 y 2. La secuencia fusionada CR63-64 aparece en el Clado 1, mientras que las muestras CR68 y CR69 se localizan en el Clado 2.

Este análisis permite descartar cualquier asociación entre estos asnos de la Edad del Hierro de Cancho Roano y el Clado somalí, constituido exclusivamente por asnos salvajes. También se descarta su relación con un posible clado diferente, que según algunos autores definiría a una población de asnos salvajes del Atlas del norte de África (Kimura *et al*., 2011).

Recientemente se ha recuperado mitogenoma casi completo de un resto de asno procedente de niveles del Calcolítico final de la fortificación de Leceia (Portugal), que se ha datado en 3790 ± 40 BP[23] (Beta-260293) (Cardoso *et al*., 2013). En el análisis de redes de haplotipos de ese estudio, esta muestra apareció distribuida en el Clado 1 (Figura 5 de Cardoso *et al*., 2013).

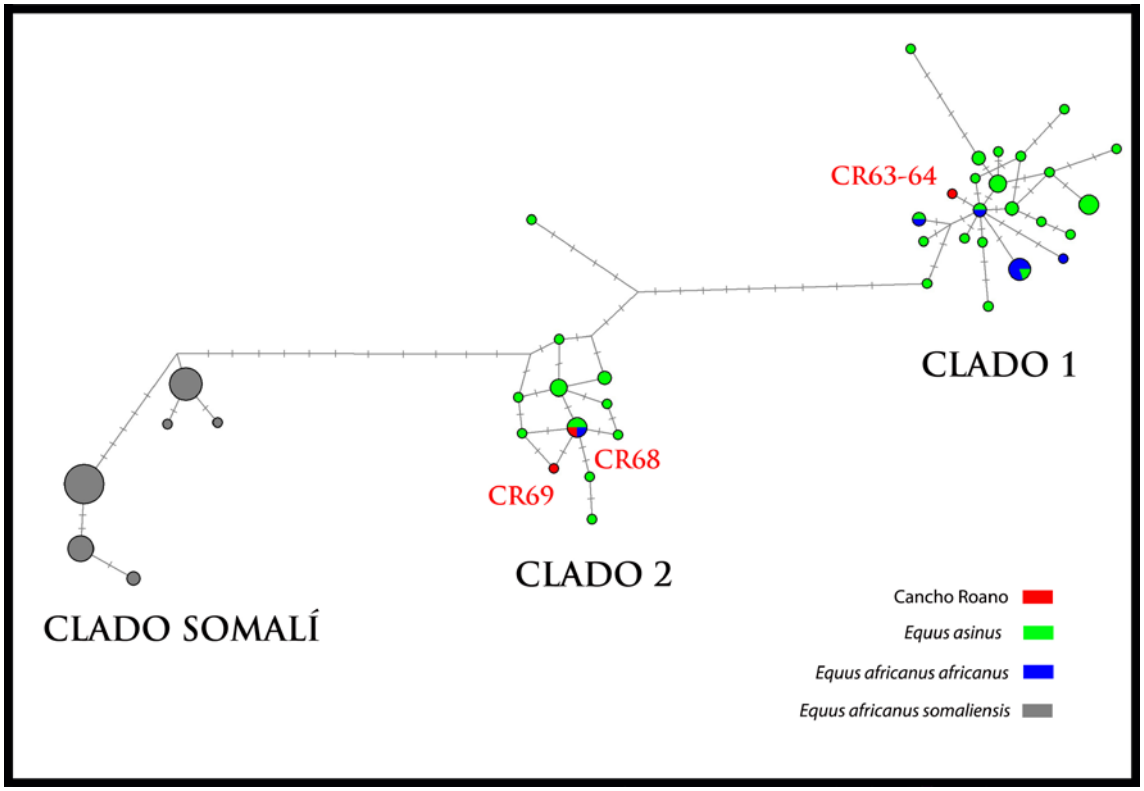


Figura 8.2.3.1. ***Gráfico de redes de*** **Equus asinus** ***y*** **Equus africanus, ADN mitocondrial np. 15.439 – 15.837.** Relación de secuencias de *Equus africanus africanus*, *Equus africanus somaliensis* y *Equus asinus*. Código de colores: *Azul*: *Equus africanus africanus*; *Gris*: *Equus africanus somaliensis*; *Verde*; *Equus asinus Rojo*: Cancho Roano.

Nuestro análisis reafirma los resultados obtenidos por Cardoso *et al*. (2013) sobre la presencia de individuos del Clado 1 en Iberia y pone de manifiesto que, por lo menos a mediados del I milenio aC., también había individuos del Clado 2, siendo ésta la primera evidencia sobre la presencia de este clado en Iberia. De manera análoga a los resultados de Cardoso *et al*. (2013), desde la perspectiva del ADN mitocondrial estas muestras podrían pertenecer a asnos salvajes nubios o a asnos domésticos. Pero, teniendo en cuenta el contexto arqueológico en el que se recuperaron estas muestras y que, en el Clado 2 solamente hay documentado un ejemplar de asno salvaje nubio, lo más probable es que ambos restos estén

[23] Calibrado a 2σ con el programa OxCal 4,2 y la curva de calibración IntCal13: 4350 – 3995 cal. BP; 2401 – 2046 cal. aC.

relacionados con individuos domésticos. Un estudio biométrico más detallado permitirá obtener información adicional.

Para los análisis filogenéticos posteriores se seleccionaron cuatro muestras. Del Clado somalí se escogió la muestra 04 del Anexo IV (nº de acceso de GenBank HM622666). Del Clado 1, la muestra 40 de *Equus africanus africanus* del Anexo IV (nº de acceso de GenBank HM622630) y la muestra 52 de *Equus asinus* (nº de acceso de GenBank AY569473). Del Clado 2, la muestra 47 de *Equus asinus* (nº de acceso de GenBank AF532125). Además, se añadió la muestra antigua GQ324609 de Orlando *et al*. (2009), también asociada a *Equus asinus*. De manera adicional, se incluyeron también las cuatro secuencias de *Equus asinus* de Cancho Roano.

8.2.4. Análisis filogenéticos globales

Se elaboró una matriz con 63 secuencias publicadas de otras investigaciones y ocho de nuestra investigación: Galería de las Estatuas (*n*=1), El Mirador (*n*=1), Cancho Roano (*n*=4) y los caballos de Cova Fosca CFo01 y CFo02 (*n*=2), alcanzando un total de 71 secuencias, para las posiciones nucleotídicas 15.444 – 15.063 de la secuencia de referencia JN398377 de *Equus caballus* (Achilli *et al*., 2012).

El modelo evolutivo más adecuado para nuestros datos que se obtuvo con AICc en jModelTest fue TrN + I (0.4860) + G (0.6810), y se usó como base para la elaboración de las filogenias.

La filogenia de ML aparece representada en la Figura 8.2.4.1. Las filogenias bayesianas aparecen representadas del siguiente modo: la filogenia sin tratamiento de indels en la Figura 8.2.4.2 y la filogenia con los indels codificados en la Figura 8.2.4.3.

Para cada especie, la distribución de los individuos en los clados se ha mantenido constante entre los tres análisis realizados. En todos los análisis se han diferenciado siete clados monofiléticos y un clado parafilético. Los clados monofiléticos han sido los de *Hippidion saldiasi*, *Equus ovodovi*, *Equus ferus*/*Equus caballus*, *Equus asinus*/*Equus africanus*, *Equus zebra*, *Equus quagga* y *Equus grevy*. El clado parafilético es el de *Equus kiang*, ya que contiene a un representante de *Equus hemionus* en todas las filogenias. Por su parte, considerando el antepasado común más reciente de *Equus hemionus* (con muestras modernas y antiguas) esta taxón aparece como parafilético, de manera similar a los resultados obtenidos por L. Orlando *et al*. (2009).

En las tres topologías, las muestras de Galería de las Estatuas y de El Mirador no aparecen en el mismo clado (Figura 8.2.4.1, Figura 8.2.4.2, Figura 8.2.4.3). La muestra de Galería de las Estatuas aparece distribuida entre *Equus hemionus* y *Equus kiang*, mientras que la muestra de El Mirador aparece localizada en el clado de los caballos. De este modo, la evidencia mitocondrial descarta la asociación de la muestra de El Mirador con *Equus hydruntinus*, y proponemos para la muestra MIR4-P20-251 la revisión de su adscripción taxonómica.

El fósil AT-GE-189 de Galería de las Estatuas aparece distribuido siempre entre los no caballinos con los asnos salvajes, pero sus relaciones topológicas varían en función de análisis

filogenético realizado. En ninguno de los análisis forman un grupo monofilético con el resto de *Equus hydruntinus* y *Equus cf. hydruntinus* analizados.

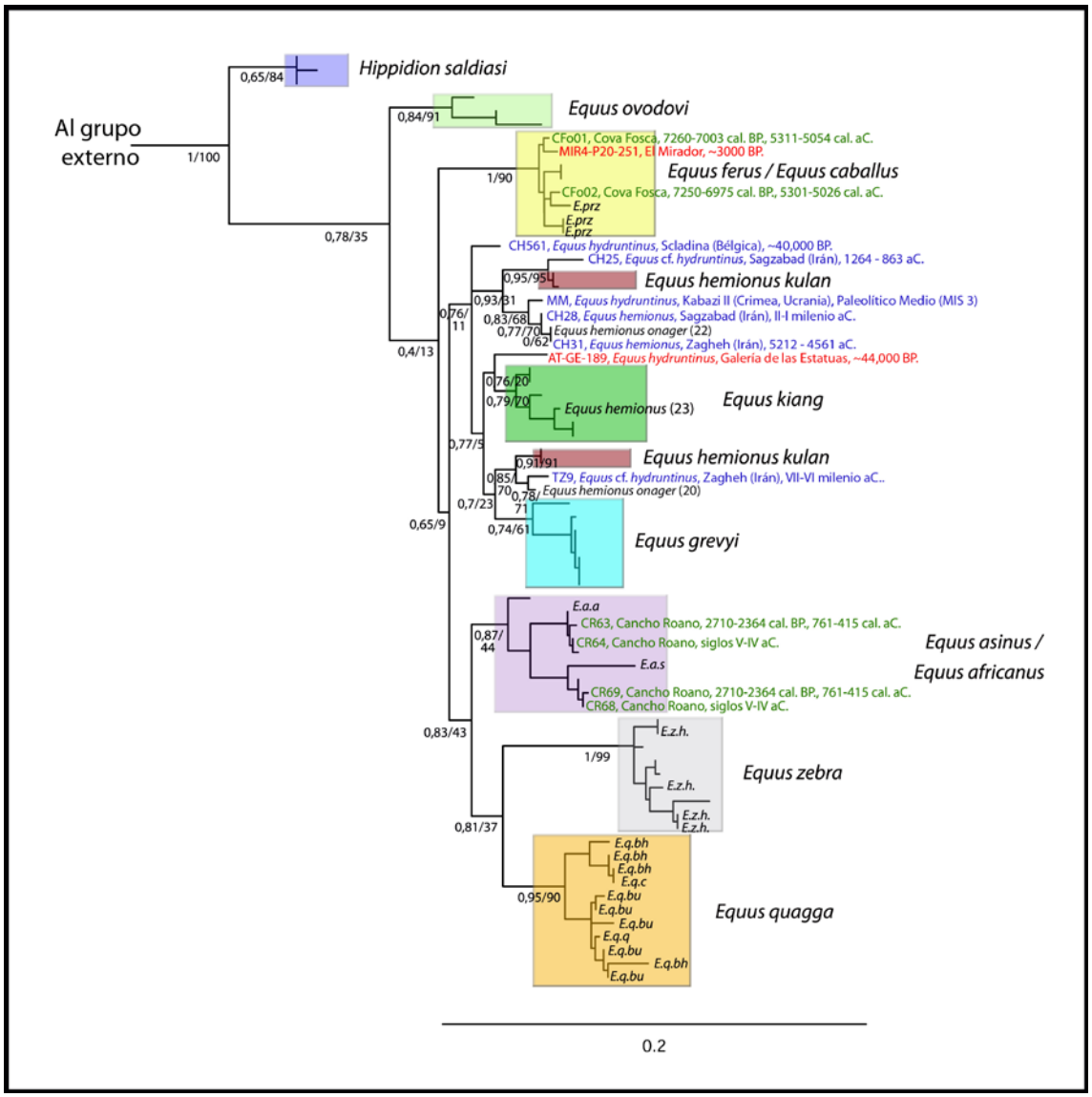


Figura 8.2.4.1. ***Análisis filogenético de ML sobre las muestras de*** **Equus hydruntinus**. Color rojo: muestras de Galería de las Estatuas y El Mirador. Color verde: muestras de caballos de Cova Fosca y de asnos de Cancho Roano, Color azul: muestras antiguas de *Equus hydruntinus*, *Equus* cf. *hydruntinus* y *Equus hemionus*. Bajo las ramas aparecen los valores de soporte de ramas: SH-aLRT / porcentaje de Bootstrap. Abreviaturas: *Equus przewalskii* (E.prz*), Equus africanus africanus* (E.a.a), *Equus africanus somaliensis* (E.a.s.), *Equus zebra hartmannae* (E.z.h), *Equus quagga boehmi* (E.q.bh), *Equus quagga chapmani* (E.q.c), *Equus quagga burchelli* (E.q.bu), *Equus quagga quagga* (E.q.q.). Los números entre paréntesis después de algunos *Equus hemionus* hacen mención al código de diferenciación de individuos detallado en el Anexo V.

La filogenia de ML (Figura 8.2.4.1) presenta a AT-GE-189 como grupo hermano del clado que contiene a los ejemplares de *Equus kiang*, pero con valores de bootstrap bajos (BP=20). La filogenia bayesiana sin tratamiento de indels (Figura 8.2.4.2) presenta al fósil de Galería de las Estatuas en una zona de la topología no resuelta formando un clado con el *Equus hydruntinus* de Scladina, pero con valores de probabilidad posterior bajos (PP=0,53). La filogenia bayesiana con los indels codificados (Figura 8.2.4.3) presenta a la muestra de la Galería de las Estatuas en una posición basal al clado que da origen al resto de ejemplares de *Equus hydruntinus*, *Equus hemionus* y *Equus kiang*, pero también está acompañada de valores de probabilidad posterior bajos (PP=0,55).

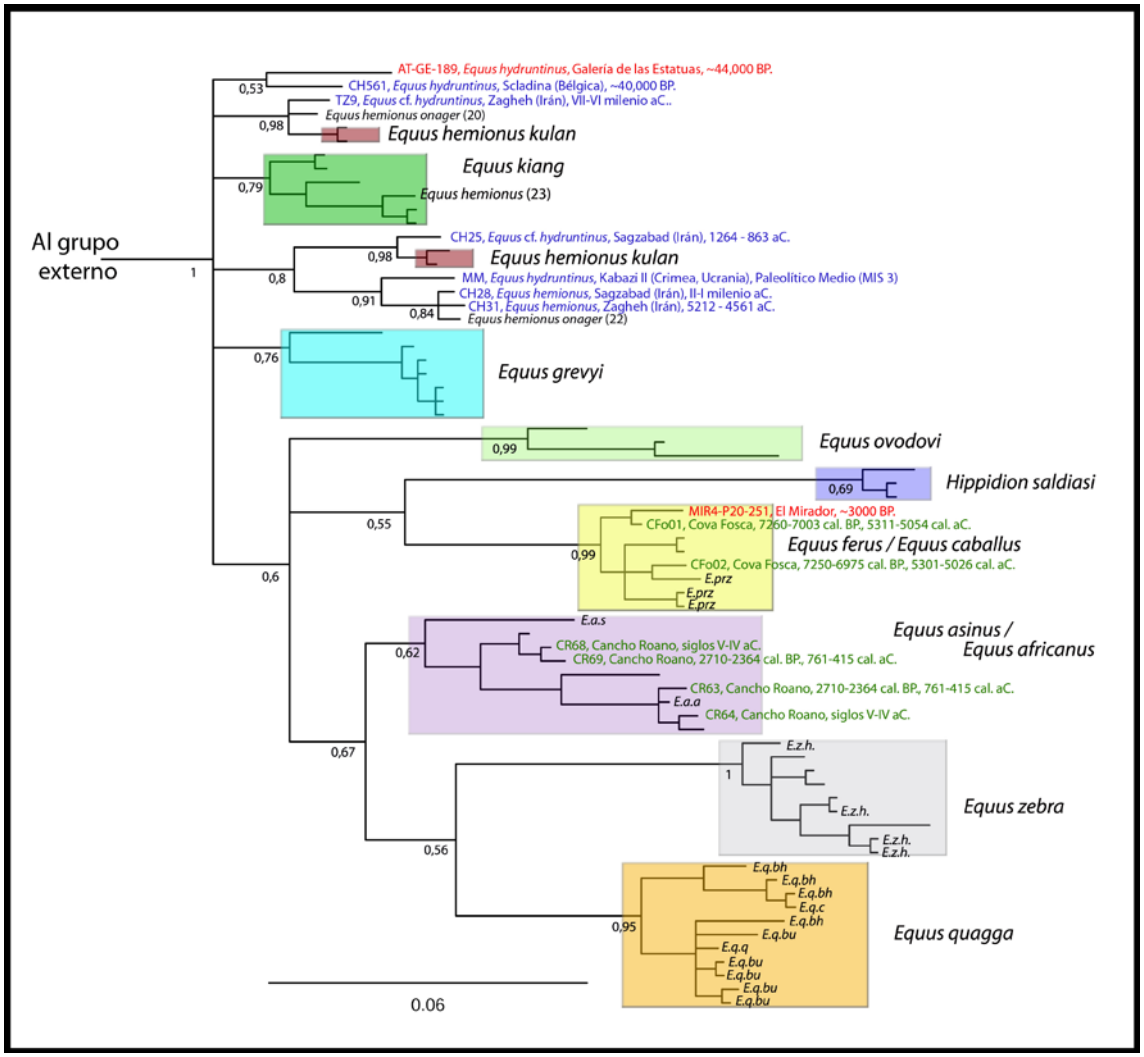


Figura 8.2.4.2. ***Análisis bayesiano sin tratamiento de indels sobre las muestras de*** **Equus hydruntinus**. Color rojo: muestras de Galería de las Estatuas y El Mirador. Color verde: muestras de caballos de Cova Fosca y de asnos de Cancho Roano, Color azul: muestras antiguas de *Equus hydruntinus*, *Equus* cf. *hydruntinus* y *Equus hemionus*. Bajo las ramas aparecen los valores de probabilidad posterior. Abreviaturas: *Equus przewalskii* (E.prz*), Equus africanus africanus* (E.a.a), *Equus africanus somaliensis* (E.a.s.), *Equus zebra hartmannae* (E.z.h), *Equus quagga boehmi* (E.q.bh), *Equus quagga chapmani* (E.q.c), *Equus quagga burchelli* (E.q.bu), *Equus quagga quagga* (E.q.q.). Los números entre paréntesis después de algunos *Equus hemionus* hacen mención al código de diferenciación de individuos detallado en el Anexo V.

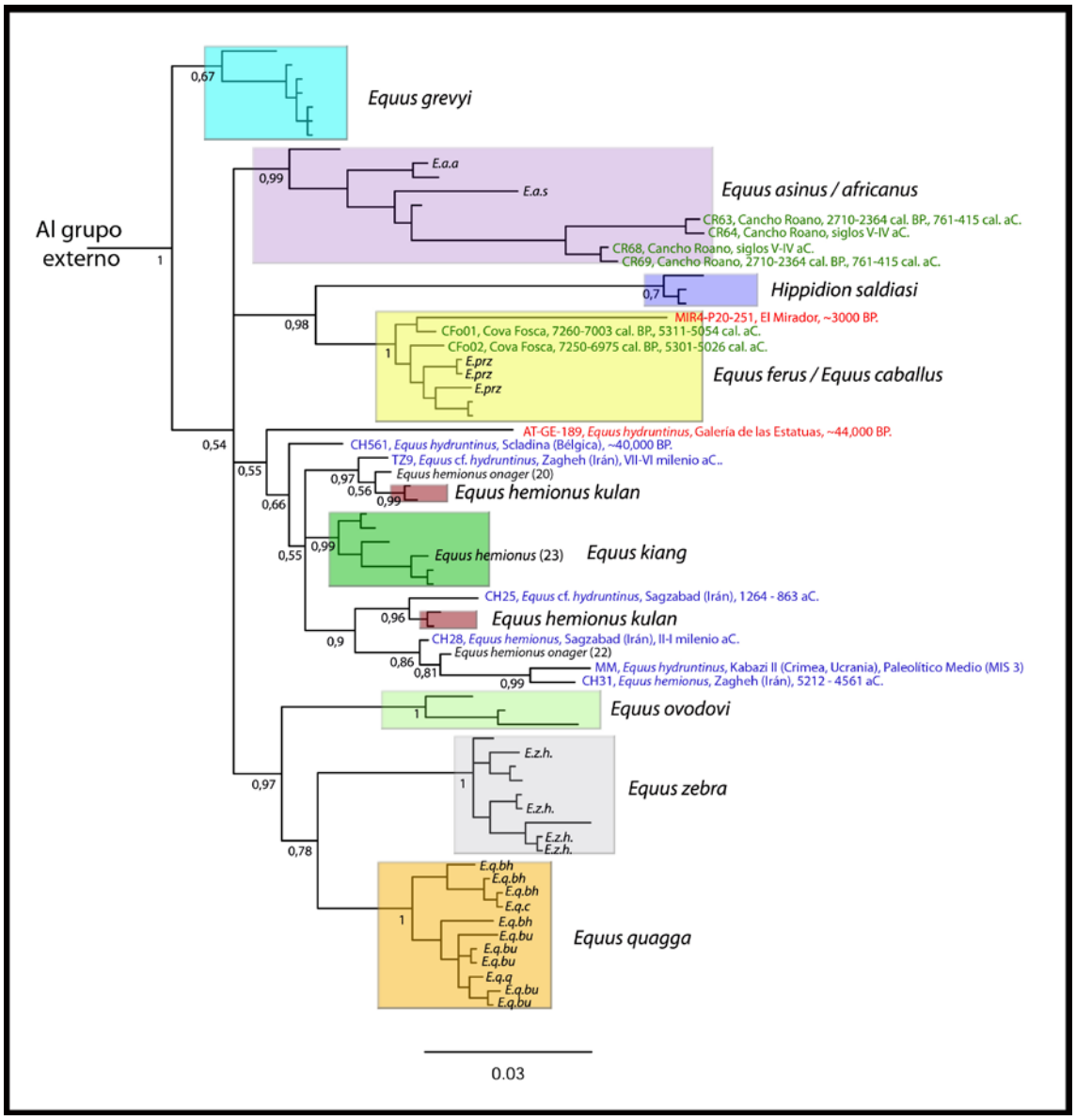


Figura 8.2.4.3. ***Análisis bayesiano con codificación de indels sobre las muestras de*** **Equus hydruntinus**. Color rojo: muestras de Galería de las Estatuas y El Mirador. Color verde: muestras de caballos de Cova Fosca y de asnos de Cancho Roano, Color azul: muestras antiguas de *Equus hydruntinus*, *Equus* cf. *hydruntinus* y *Equus hemionus*. Bajo las ramas aparecen los valores de probabilidad posterior. Abreviaturas: *Equus przewalskii* (E.prz*), Equus africanus africanus* (E.a.a), *Equus africanus somaliensis* (E.a.s.), *Equus zebra hartmannae* (E.z.h), *Equus quagga boehmi* (E.q.bh), *Equus quagga chapmani* (E.q.c), *Equus quagga burchelli* (E.q.bu), *Equus quagga quagga* (E.q.q.). Los números entre paréntesis después de algunos *Equus hemionus* hacen mención al código de diferenciación de individuos detallado en el Anexo V.

Como en análisis anteriores (Orlando, L. *et al*., 2006; 2009), los *Equus hydruntinus* y *Equus* cf. *hydruntinus* aparecen topológicamente relacionados con muestra de *Equus hemionus* antiguas, y muestras modernas de *Equus hemionus onager* y *Equus hemionus kulan* (Figura 8.2.4.1, Figura 8.2.4.2, Figura 8.2.4.3).

Por último, con la finalidad de profundizar en las relaciones haplotípicas de la muestra MIR4-P20-251 con otros caballos ibéricos antiguos, se llevo a cabó un gráfico de redes MJ

donde se comparó está muestra con las 42 secuencias del yacimiento cercano de El Portalón, distribuidas entre el Calcolítico, Edad del Bronce y Edad Media (Anexo XXIIIa, Anexo XXIIIb). Se pudo comprobar que la muestra MIR4-P20-251 se distribuye con los caballos que forman el haplogrupo Lusitano C (Figura 8.2.4.4).

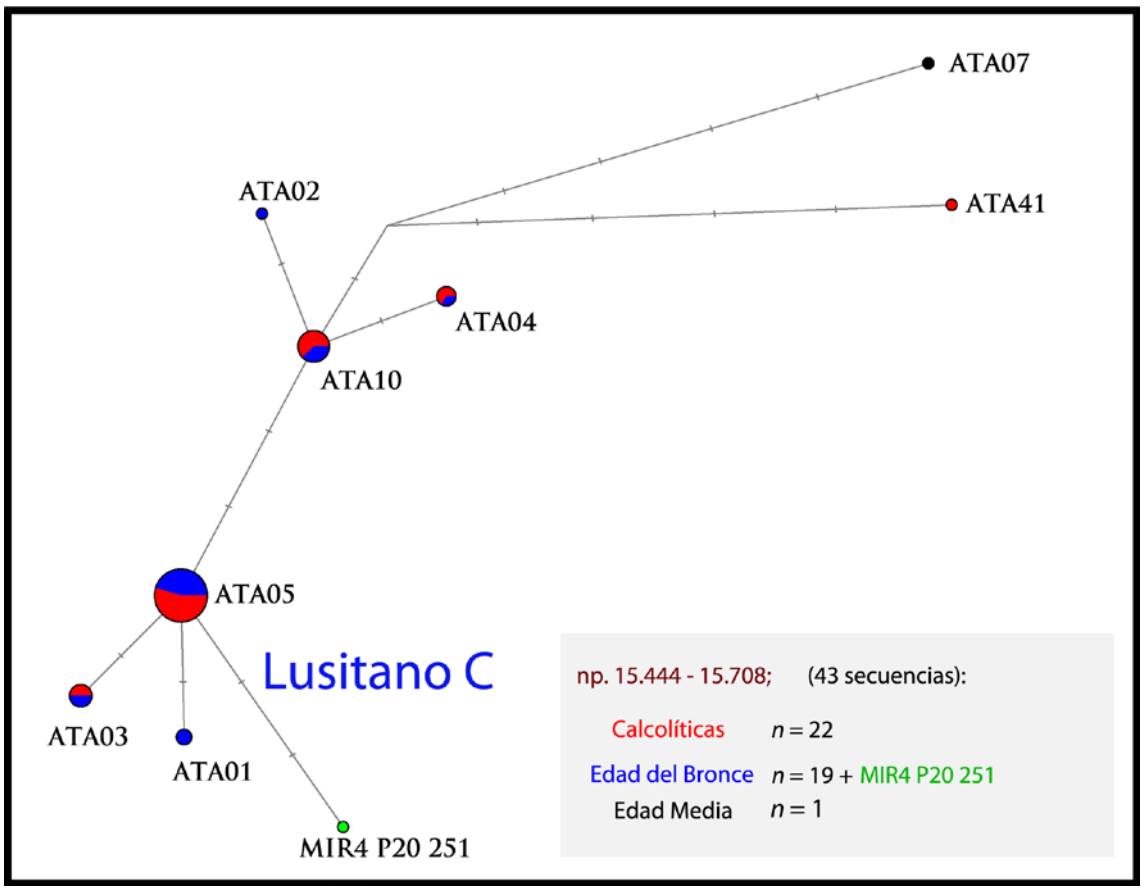


Figura 8.2.4.4. ***Distribución del haplotipo de la muestra de El Mirador MIR4-P20-251 de la Edad del Bronce con otros caballos ibéricos calcolíticos, de la Edad del Bronce y Edad Media, ADN mitocondrial, np. 15.444-15.708.***

Además, la asociación de la muestra MIR4-P20-251 al haplogrupo Lusitano C se mantuvo cuando se analizó por ML su relación con los caballos de Achilli *et al*. (2012) y los caballos de El Portalón de Lira *et al*. (2010) (Figura 8.2.4.5). El análisis se llevó a cabo utilizando el modelo TrN + I (0,626) + G (0,945) obtenido por jModelTest v2.1.5 bajo aproximación AICc, utilizando 88 modelos con 4 categorías para la tasa de variación, a partir de una topología inicial ML optimizada con SPR + NNI. La filogenia se desarrolló para las posiciones nucleotídicas 15.444 – 15.842 utilizando la plataforma PhyML con la opción SPR y con soporte de ramas SH-aLRT. El grupo externo fueron las tres secuencias de *Hippidion saldiasi* utilizadas en otros análisis.

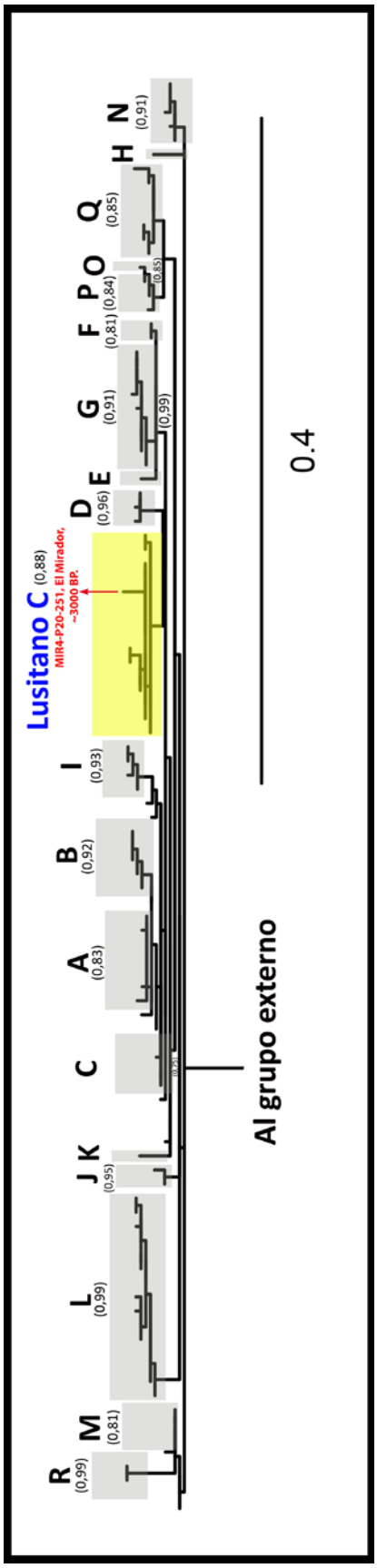


Figura 8.2.4.5. ***Filogenia de ML con los caballos de Achilli*** **et al.** ***(2012) y los de El Portalón de Lira*** **et al.** ***(2010), ADN mitocondrial np. 15.444 – 15.842.*** En rojo, la muestra MIR4-P20-251. Los valores de SH-aLRT aparecen debajo de los haplogrupos.

8.2.5. Identificación de clados de *Equus kiang/Equus hemionus/Equus hydruntinus* con las muestras de Bennett *et al*. (2017)

El análisis filogenético se realizó para un fragmento de ADN de 329 pares de bases comprendido entre las posiciones nucleotídicas 15.512 - 15.839 de la secuencia de referencia de *Equus asinus* X97337 (Xu *et al*., 1996). Este fragmento es más largo que el analizado por Bennett *et al*. (2017), que tiene una longitud de 229 pares de bases. El modelo de sustitución nucleotídica seleccionado por jMoldeltest2 para esta matriz de ADN fue el de Kimura80 (K80).

El análisis de ML ofreció una topología donde pudimos diferenciar los clados identificados por Bennett *et al*. (2017): K y KD (para kiang y dziggetai), I (para el onagro iraní), D1 y D2 (para dziggetai), CI (para el onagro caucásico iraní), S (para el hemippus sirio), TI y su variante TI* (para el kulan turkmeno iraní), Kh (para el khur de la India), H1 y H2 (para las muestras previamente asociadas a *Equus hydruntinus*). La topología obtenida ha respetado el código de colores propuesto por Bennett *et al*. (2017) para los clados comentados (Figura 8.2.5.1). Aunque en nuestra topología se identifican todos los clados definidos por Bennett *et al*. (2017), presenta algunas variaciones que pueden relacionarse con las diferencias en la longitud de la matriz de ADN utilizada por nosotros. Destacamos que los clados H1 y H2 no sean grupos hermanos de un mismo grupo monofilético, como aparecen en Bennett *et al*. (2017). De hecho, en nuestro análisis el grupo H1 no es monofilético, ya que sus integrantes se distribuyen en dos clados diferentes de la topología con distintos tamaños (*n*=23 y *n*=2). El clado de H1 con n=23 individuos está soportado por un valor de SH-aLRT de 0,78, ligeramente menor a los considerados como valores aceptables para soporte de ramas y comprendidos entre 0,8-0,9. El clado de H1 con *n*=2 está formado por la muestra de la AT-GE-189 de Galería de las Estatuas y una muestra de Asikli Höyük (Anatolia) y datada ~ 7850 – 7300 años cal. BC. Sin embargo, este clado no está soportado por un valor de SH-aLRT adecuado, por lo que la asociación de estas muestras debe considerarse con cautela.

El otro clado asociado a *Equus hydruntinus* está formado por dos muestras (un resto fósil procedente de la cueva francesa de Artenac datado ~100.000 años y la muestra de un *Equus hemionus* nacido en el zoológico de París en 1895) (Figura 8.2.5.1).

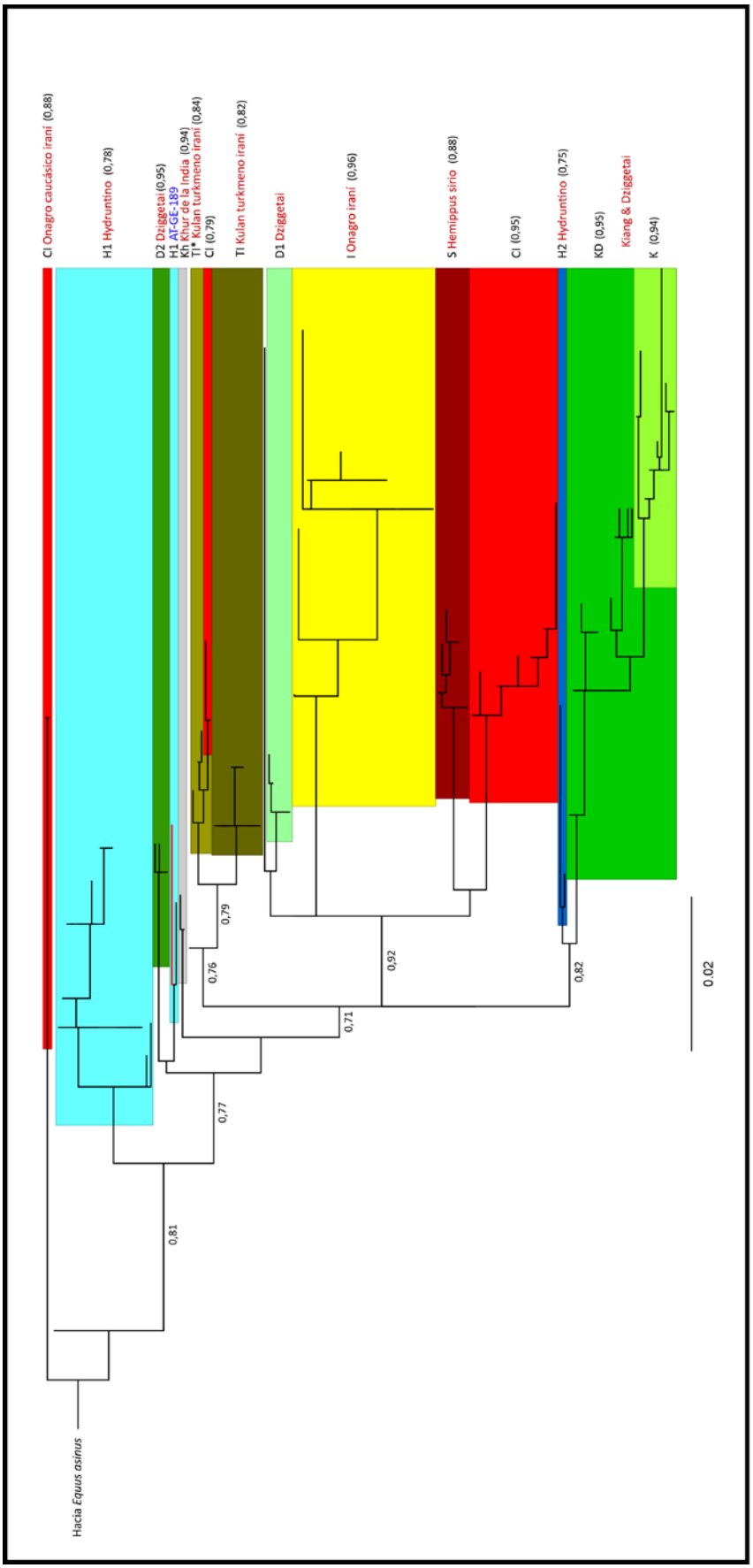


Figura 8.2.5.1. ***Filogenia de ML con la representación de los clados de*** **Equus kiang/Equus hemionus/Equus hydruntinus.** ***Se representan los valores de SH-aLRT de los clados principales cuando son superiores a 0,7. Entre paréntesis al lado del nombre de cada clado, se presentan los valores de SH-aLRT correspondientes***

CAPÍTULO 9

-Usted se empeña en no aplicar mi precepto – contestó Holmes, moviendo negativamente la cabeza -. ¿Cuántas veces le tengo dicho que, una vez eliminado todo lo que es imposible, la verdad está en lo queda, por improbable que parezca?

Arthur Conan Doyle. *El signo de los cuatro.*

9. DISCUSIÓN

9.1. Autenticidad de las muestras de ADN antiguo

Uno de los principales problemas en las investigaciones con ADN está relacionado con la contaminación de las muestras, pudiendo enmascarar de este modo la validez de los resultados. Este problema es todavía más difícil de detectar con los estudios de ADN humano que con los estudios sobre restos faunísticos, ya que la capacidad para poder aislar el ADN endógeno del ADN humano actual ha resultado ser extremadamente complicada (Abbot, 2003; Green *et al*., 2006; Wall y Kim, 2007). Sin embargo, las nuevas tecnologías de secuenciación masiva en paralelo han ofrecido valiosos análisis para diferenciar el ADN endógeno del contaminante (Green *et al*., 2010).

En nuestra investigación hemos realizado las extracciones de ADN en el laboratorio de ADN antiguo del Centro Mixto UCM-ISCIII de Evolución y Comportamiento Humanos de Madrid. En este laboratorio nunca se han llevado a cabo extracciones de ADN moderno de caballos, ni de ningún otro tipo individuo moderno de algún taxón (Cooper y Poinar, 2000; Willerslev y Cooper, 2005). Es un laboratorio exclusivamente dedicado a la extracción de ADN antiguo. Tampoco ha habido caballos en las cercanías del laboratorio durante las labores de extracción de ADN. El doctorando tampoco ha estado en contacto con caballos antes de entrar al laboratorio y, tampoco ha utilizado prendas o complementos fabricados a partir de materias primas de origen caballar antes de entrar en contacto con las muestras.

Todas las extracciones se han llevado a cabo con el investigador protegido para no contaminar la muestra. Además, se han aplicado medidas de limpieza, desinfección e irradiación con UVC de los espacios de trabajo y de los reactivos que entraron en contacto con las muestras. Aparte, también se han sometido las muestras a irradiación UVC bajo tiempos de exposición cortos (Willerslev y Cooper, 2005).

De este modo, la vía más probable de contaminación de las muestras se ha restringido a posibles eventos de contaminación cruzada entre muestras de ADN antiguo o mediante productos de PCR (Cai *et al*., 2009). En esta investigación se han desarrollado varias precauciones para asegurar que los resultados son genuinos y no se deben a eventos de contaminación.

En relación a las precauciones en el laboratorio de ADN antiguo, se han utilizado controles de extracción negativos en todos los pasos de las extracciones de ADN, según recomendaciones que se encuentran ampliamente aceptadas (Cooper y Poinar, 2000, Hofreiter *et al*., 2001; Pääbo *et al*., 2004; Willerslev y Cooper, 2005; Cai *et al*., 2009). Todas las extracciones se acompañaron, como mínimo, de dos controles. Un control constituido por ddH_2O y otro control constituido por una muestra de otro taxón. Además, durante las amplificaciones de PCR las muestras se acompañaron, como mínimo de un control de amplificación de PCR. Durante los experimentos no se detectó contaminación con ADN de caballo en ninguno de los controles utilizados.

De manera similar a los estudios publicados con otros taxones faunísticos (Edwards *et al*., 2004; Colominas *et al*. 2015; Rodríguez Varela *et al*. 2015; 2016), no hemos realizado clonación de los productos de PCR. En su lugar, y siguiendo la metodología de los trabajos referenciados en la frase anterior, con las muestras de varios yacimientos (por ejemplo El Portalón, Cova Fosca o Cancho Roano), hemos realizado por lo menos dos extracciones independientes, y varias amplificaciones de las regiones delimitadas por los cebadores, con la finalidad de obtener resultados congruentes (Cooper y Poinar, 2000; Hofreiter *et al*., 2001; Willerslev y Cooper, 2005). En los casos en los que no se han podido obtener resultados congruentes, debido a que solo se obtuvo ADN de una amplificación de un extracto, o no hubo consenso entre varias amplificaciones (incluso de varios extractos), se presentan las ambigüedades posibles asociadas a esas posiciones nucleotídicas.

Además, en el caso del yacimiento de El Portalón, hemos evaluado la recuperación de ADN endógeno de algunas de las muestras de bovinos utilizadas como muestras control Cooper y Poinar, 2000; Willerslev y Cooper, 2005). Este examen se ha realizado amplificando ADN mitocondrial de bovino con cebadores específicos, y hemos obtenido resultados positivos sobre muestras que, al usarlas como controles negativos, no produjeron ADN.

Para valorar la autenticidad de los resultados también hemos tenido en cuenta el patrón de degradación del ADN y los tamaños de amplificación esperados (Cooper y Poinar, 2000; Hofreiter *et al*., 2001; Pääbo *et al*., 2004). En ocasiones, algunas muestras de caballo han presentado resultados de amplificación de fragmentos superiores a 1000 pares de bases. Debido a la naturaleza fragmentada del ADN antiguo y a la especificidad de los cebadores que hemos utilizado, este resultado no se ha asociado con ADN de caballo. Esta situación la hemos tenido en los yacimientos de Cova Negra, Cova Beneito y Cova de Les Cendres. En estos mismos yacimientos se pudieron obtener en algunas muestras resultados positivos con un

tamaño de fragmento similar al tamaño de fragmento que nosotros hemos buscado en el ADN mitocondrial del caballo. Los resultados de secuenciación pusieron de manifiesto que, en realidad, habíamos extraído, amplificado y secuenciado ADN de bacterias.

Después de la muerte, los organismos pueden sufrir procesos de colonización de hongos y bacterias, siendo los genomas de estos agentes externos susceptibles de ser recuperados en los análisis de ADN antiguo. De este modo, puede ocurrir que los extractos de ADN antiguo presenten cantidades muy bajas de ADN endógeno y cantidades muy altas de ADN contaminante (Pääbo *et al*., 1988; Höss *et al*., 1996a; Noonan *et al*., 2005). Como ejemplo de este fenómeno, cabe destacar el primer estudio que se llevó a cabo sobre ADN nuclear de neandertal utilizando las nuevas plataformas de secuenciación masiva en paralelo. A partir del fragmento fósil de neandertal Vi-80 (posteriormente Vi33.16) recuperado en la cueva croata de Vindija, se obtuvieron 254.933 secuencias de las cuales únicamente se pudieron utilizar 15.701 secuencias (6,2% del total) (Green *et al*., 2006). Esto se debió a la gran disparidad de secuencias de diferentes organismos que encontraron en el extracto de ADN. Entre los órdenes taxonómicos que diferenciaron, el 6,8% de las secuencias obtenidas (17.213) pertenecían a organismos del orden Actynomicetales, el 0,8 % de las secuencias (1912) a organismos del orden taxonómico Burkholderiales, el 0,6% (1470 secuencias) a organismos del orden Pseudomonadales, y el 0,5% de las secuencias (1230) a individuos del orden Rhizobiales (Green *et al*., 2006), entre otros.

Las replicaciones en otro laboratorio de un subconjunto de muestras es una medida de precaución que comúnmente se ha usado para dar validez a las pruebas de ADN antiguo (Cooper y Poinar, 2000, Hofreiter, *et al*., 2001; Pääbo, *et al*., 2004; Willerslev y Cooper, 2005). Además, es recomendable que la replicación del subconjunto la realice un investigador diferente al que ha realizado las extracciones de todas las muestras. Sin embargo, hay estudios recientes sobre restos faunísticos donde este proceso no se ha llevado a cabo (Rodríguez Varela *et al*., 2015; 2016). Varias de las muestras que se han presentado en esta investigación han sido ya replicadas por otros laboratorios, y algunos resultados publicados (Lira *et al*., 2010). En concreto, se han replicado un total de 16 muestras procedentes de El Portalón. La replicación total o de regiones parciales se llevó a cabo para: seis muestras en el laboratorio de ADN antiguo del Departamento de Biología Evolutiva de Uppsala (Suecia) (ATA02, ATA04, ATA07, ATA08, ATA12, ATA16) y 10 muestras en el Centre for GeoGenetics de Dinamarca (ATA24, ATA35, ATA36, ATA37, ATA39, ATA40, ATA41, ATA42, ATA44, ATA48). No obstante, no hemos ofrecido la información sobre la replicación en apartados anteriores, ya que estas

labores no las ha realizado el doctorando y por lo tanto, aunque forman parte de la investigación sobre la domesticación del caballo en Iberia, no han sido competencias directamente desarrolladas por la persona que presenta esta tesis.

Otra de las medidas que se han sugerido para evaluar positivamente los resultados de ADN antiguo consiste en la realización de diversas pruebas de preservación biomolecular (Cooper y Poinar, 2000, Hofreiter *et al*., 2001; Pääbo *et al*., 2004; Willerslev y Cooper, 2005). Este tipo de análisis se ha realizado con muestras del yacimiento de El Portalón y sus resultados están publicados (Lira *et al*., 2010). Como en el caso comentado en el párrafo anterior, estas labores no han sido realizadas por la persona que presenta esta tesis por lo que, no se desarrollan en la misma.

Otro de los análisis realizados ha consistido en evaluar la exclusión de inserciones del ADN mitocondrial en el ADN nuclear (Hofreiter *et al*., 2001; Pääbo *et al*., 2004; Willerslev. y Cooper, 2005). Con muestras de caballos de varios yacimientos hemos evaluado esta posibilidad amplificando la región 2 del ADN mitocondrial del caballo con dos parejas diferentes de cebadores. En todos los casos en los que se realizó este experimento los resultados fueron coherentes. Por otro lado, el uso de cebadores específicos como los usados en este trabajo y, la ausencia de múltiples bandas en los geles de electroforesis de los productos de PCR, son factores que han disminuido la probabilidad de recuperar este tipo de inserciones (den Text *et al.,* 2010; Rodríguez Varela *et al*. 2015).

Otra de las herramientas que hemos utilizado para validar nuestros resultados ha sido contrastar el significado filogenético de los resultados (Kefi, 2011). Todos los resultados obtenidos se distribuyen dentro del rango de variación genético del ADN mitocondrial del género *Equus.*

En relación a las precauciones para evitar contaminación por productos de PCR, el laboratorio donde se han realizado los experimentos está ubicado en un edificio que está físicamente separado del lugar donde se han realizado las amplificaciones (Cooper y Poinar, 2000; Willerslev y Cooper, 2005). Además, ningún investigador ha trabajo en el laboratorio de ADN antiguo después de haber estado en un laboratorio de PCR o post-PCR.

9.2. Sobre los yacimientos donde no se ha obtenido ningún resultado positivo

En esta investigación se han recuperado fragmentos de ADN antiguo utilizando aproximaciones de PCR convencional. No obstante, para muchas muestras, no ha sido posible recuperar con éxito ADN en ninguna de las tres regiones de estudio, incluso utilizando cebadores que amplificaban fragmentos de diferentes longitudes.

En 49 muestras procedentes de 9 yacimientos ibéricos, no se pudo obtener ADN de ninguna de las muestras seleccionadas. Aunque se realizaron varias extracciones independientes y varias amplificaciones independientes con PCR convencionales, no se pudo recuperar con éxito ADN en ninguna de las muestras de équidos analizadas.

En otros yacimientos en cambio, aunque se ha conseguido recuperar ADN de algún resto fósil, el porcentaje de éxito ha sido mínimo. Esta situación ha ocurrido en el yacimiento de Jarama VI (Guadalajara), Cova Foradada (Valencia) o en el yacimiento de Bora Gran (Girona).

Es muy probable que estos resultado negativos se deban relacionar con el patrón de degradación del ADN que han sufrido estos restos, debido a su localización geográfica y a su historia tafonómica (Campos *et al*., 2012).

Respecto a las localizaciones geográficas de los yacimientos, la península ibérica no es uno de los lugares más adecuados para la preservación del ADN antiguo. En diversos estudios se ha argumentado que hay más probabilidad de obtener ADN de muestras recuperadas en ambientes fríos que de otras de edades similares pero procedentes de regiones cálidas (Smith *et al*., 2001; Smith *et al*. 2003, Campos *et al*., 2012). Además, en el estudio de radiocarbono que se ha llevado cabo sobre 215 restos fósiles de por lo menos 10 yacimientos ibéricos, también se ha vinculado la variable temperatura al bajo éxito en la recuperación de restos orgánicos (Wood *et al*., 2013). Pero, aunque los análisis realizados sobre las muestras ibéricas cuentan de partida con unas probabilidades de éxito más bajas que las de muestras de otras zonas geográficas del centro y norte de Europa (Lorenzen *et al.*, 2011), el papel que ha jugado la península ibérica durante el Pleistoceno como área refugio (Valdiosera *et al*., 2007; Rodríguez Varela *et al*., 2011) o durante la Prehistoria reciente como punto de unión de diversas culturas (Anderung *et al*., 2005; Gamba *et al*., 2011; Colominas *et al*., 2015), ha convertido a los restos fósiles y subfósiles de este territorio en un material de gran valor para los estudios de ADN antiguo.

Por otro lado, también influye en la recuperación de ADN mediante PCR convencional, el tipo de yacimiento donde se ha desarrollado la fosildiagénesis de las muestras. Mientras que en los yacimientos de cueva las variaciones de temperatura y humedad son muy bajas, con muy poca variación estacional, en los yacimientos expuestos hay más fluctuación de temperatura y humedad (Smith *et al*., 2003). Los yacimientos de la cueva del Conde, la Cueva del Camino en Pinilla del Valle, o la Peña de Estebanvela se caracterizan por ser abrigos, y por lo tanto muy expuestos a los factores ambientales. Es probable que esta característica haya repercutido negativamente sobre la tasa de degradación del ADN de las muestras.

En el caso de la Bora Gran (Serinyà, Girona) solamente tres de 20 muestras han ofrecido resultados positivos (si exceptuamos la muestra contemporánea de *Equus asinus*). Bora Gran no es una cueva propiamente dicha, con sedimentos arcillosos de cueva y factores externos estables, Bora Gran es un gran abrigo abierto al exterior (Cazurro, 1908). Este factor provoca que las condiciones bioestratinómicas y fosildiagenéticas que actuaron sobre los restos faunísticos no hayan sido estables, presentando una mayor exposición a la dinámica del clima. Por otro lado, debido a los métodos antiguos de excavación con los que se excavó Bora Gran, desconocemos las características de las zonas concretas donde fueron encontrados los restos analizados. Además, en Bora Gran se han descrito otros fenómenos que pueden actuar negativamente sobre la preservación del ADN. En concreto, se han documentado zonas con infiltraciones de agua que han acabado formando concreciones calizas que engloban en su interior clastos y fragmentos de huesos fracturados (Cazurro, 1908). Sin embargo, en la inspección que realizamos a Bora Gran en julio de 2015, no se pudo detectar ninguna zona con concreciones calizas que albergaran huesos en su interior. Si los restos analizados han sido lavados de manera recurrente, este factor también ha podido actuar sobre la preservación de los fósiles, disminuyendo la tasa de éxito en la recuperación de ADN.

En los análisis sobre las muestras del yacimiento de Cova Foradada (Xàbia, Valencia), solamente dos muestras de un total de 12 han ofrecido resultados de ADN. Además, solo hemos podido recuperar fragmentos aislados de ADN mitocondrial. Estos resultados nos permiten sugerir que la tasa de preservación del ADN en Cova Foradada es baja. Del mismo modo que se ha comentado para el caso de la Bora Gran (Serinyà, Girona), la baja proporción de resultados positivos puede deberse a las características del yacimiento. Cova Foradada es un abrigo de ~ 60m^2 abierto al exterior (Casabó i Bernad, 2001). Debido a esta característica, los factores ambientales pudieron actuar de manera más significativa dificultando la

preservación de los restos fósiles. Como resultado, las moléculas orgánicas se degradarían más rápidamente, comprometiendo su posterior recuperación.

En el caso de la Cueva del Conde (Asturias), ninguna de las dos muestras analizadas tampoco ofreció resultados genéticos, a pesar de haber utilizado cebadores con distintas longitudes. Queremos destacar que, en paralelo a estos análisis genéticos, se enviaron a los laboratorios de Oxford Radiocarbon Acelerator Unit (Reino Unido), cinco muestras para análisis de radiocarbono. Sobre cuatro de ellas no se pudo obtener ningún resultado debido a la ausencia o escasez de colágeno en las muestras. La quinta muestra (OxA-21514) arrojó una edad de 47.600 ± 3100 años BP. Esta muestra ofreció una cantidad de colágeno por debajo de los niveles considerados óptimos, por lo que se ha aconsejado tratar este resultado de radiocarbono con prudencia.

Una situación similar hemos encontrado en la cueva de la Zarzamora (Segovia), donde los laboratorios de Oxford Radiocarbon Acelerator Unit (Reino Unido), no pudieron datar muestras por ausencia de colágeno (Sala *et al*., 2011), incluyendo una de las muestras utilizadas en nuestro análisis.

En el caso de Jarama VI (Guadalajara), solamente una de las 20 muestras de caballos analizadas en este estudio ha ofrecido resultados positivos. Además, de momento no se ha podido recuperar toda la secuencia que se estudia en este análisis, únicamente un fragmento parcial de 70 pares de bases, que comprende las posiciones 15.491 – 15.561 de la región control del ADN mitocondrial.

Entre los posibles factores que pueden estar detrás de estos resultados destacamos el hecho de que Jarama VI es un abrigo, y por lo tanto los materiales paleontológicos recuperados en este yacimiento podrían haber estado más expuestos a las alteraciones de los factores ambientales que los materiales procedentes de una cueva más cerrada. Además, este bajo porcentaje de éxito en la recuperación de ADN en Jarama VI se puede correlacionar con los resultados obtenidos en los análisis de radiocarbono realizados por Beta Analytic Inc. con muestras de restos óseos (Jordá Pardo, 2001; 2007), y también con los resultados publicados por el Oxford Radiocarbon Accelerator Unit (ORAU) (Wood *et al*., 2013).

Con el objeto de obtener una cronología isotópica de los niveles de Jarama VI se enviaron al laboratorio de Beta Analytic Inc. dos conjuntos de muestras. Uno de los conjuntos estaba constituido por carbones de origen vegetal recuperados en el nivel 2. El otro conjunto estaba constituido por dos muestras de restos óseos, procedentes de los niveles 1 y 3 (Jordá

Pardo, 2001), los mismos niveles de los que proceden los materiales analizados en nuestra investigación. Mientras que los carbones del nivel 2 ofrecieron resultados, en cambio de los restos óseos no se pudo obtener ningún resultado de radiocarbono (Jordá Pardo, 2001). La razón de este resultado infructuoso descansaba en la poca cantidad de colágeno que tenían los restos faunísticos (Jordá Pardo, 2001).

A partir de esta información, se han propuesto diferentes interpretaciones tafonómicas en relación al origen de la formación de los niveles 1 y 3. Por un lado se había propuesto que los materiales habrían estado expuestos durante bastante tiempo antes de su enterramiento. De este modo, habrían estado sometidos a una alteración subaérea significativa, que sería la causante de la degradación de la estructura y calidad del colágeno, justificando de este modo la ausencia de colágeno en las muestras (Jordá Pardo, 2001; 2007). No obstante, recientemente se ha publicado un análisis de la fauna de Jarama VI donde se propone el caso contrario, ya que el estudio de las superficies óseas se ha asociado a un rápido enterramiento con mínimas alteraciones sedimentarias (Jordá Pardo *et al*., 2014).

Posteriormente, Wood *et al*. (2013) realizaron nuevos análisis de radiocarbono sobre 30 restos óseos con marcas de corte recuperados de las unidades litoestratigráficas JVI.1, JVI.2 y JVI.3. Los análisis del %N presente en las muestras pusieron de manifiesto que únicamente dos muestras podían presentar la suficiente cantidad de colágeno como para continuar con los análisis de radiocarbono, mientras que otras cinco muestras ofrecieron resultados marginales de %N. Sin embargo, ninguna de las muestras datadas ofreció resultados de radiocarbono que se pudieran considerar consistentes. Se consideró que las altas temperaturas que se registran en la península ibérica son un factor limitante para la preservación de los restos orgánicos requeridos para este tipo de análisis (Wood *et al*., 2013).

El bajo porcentaje de muestras que han ofrecido ADN en este estudio concuerda con la baja tasa de éxito obtenida en los análisis de radiocarbono. Es muy probable que esto se deba a una mayor exposición de las muestras a las oscilaciones de las variables ambientales involucradas en la fosildiagénesis de las mismas. Además, consideramos que el efecto de la temperatura (Wood *et al*., 2013), podría ser también uno de los factores que ha resultado limitantes para la extracción de ADN de las muestras de Jarama VI, ya que se ha comprobado que ésta es la principal variable involucrada en la preservación del ADN (Smith *et al*., 2001; Campos *et al*., 2012); las bajas temperaturas disminuyen la tasa de degradación del material genético (Lindahl, 1993; 2000; Höss *et al*., 1996a).

La única muestra de la que se ha obtenido ADN procede del cuadro C-2, que es uno de los situados más hacia el interior del abrigo. Su localización en una zona interna en el yacimiento, podría estar relacionada con una preservación diferencial del material genético en Jarama VI.

A las características de los yacimientos debemos añadir, además, las limitaciones asociadas a las amplificaciones de PCR convencionales. Teniendo en cuenta el factor limitante de la longitud de los cebadores (~20 nucleótidos de longitud), se ha comprobado que los fragmentos más pequeños que se pueden recuperar con PCR convencional oscilan entre 50-60 pb, con los cebadores incluidos (Krause *et al*., 2010a).

Los avances que se han realizado en los últimos años con las nuevas tecnologías de secuenciación masiva en paralelo, han demostrado que para muchas muestras los tamaños de los fragmentos de ADN antiguo que son potencialmente recuperables tienen menos de 50 pb, (Krause *et al*., 2010a) tamaños no accesibles mediante PCR convencional. De hecho, en la secuenciación del borrador del genoma nuclear de un resto de caballo recuperado en Yukón con una antigüedad de 780.000 – 560.000 años, se pudo observar que entre el 13,3 – 6% de los fragmentos recuperados tenían ~25pb (Orlando *et al*., 2013).

Por lo tanto, no descartamos la posibilidad de que, para muchos de estos restos faunísticos que no han ofrecido ADN, la situación cambie positivamente si se sometieran a análisis de secuenciación masiva de ADN. Desde un punto de vista tafonómico este tipo de análisis no solo permitiría conocer el tamaño promedio de los fragmentos de ADN de los fósiles de estos yacimientos, sino que además, se podría correlacionar el patrón de degradación con los factores externos que han actuado en la preservación diferencial de los restos en cada yacimiento.

Además, las estrategias de amplificación que hemos usado han tenido en cuenta la recuperación de fragmentos de diferentes tamaños en muestras de siete yacimientos (Cova Fosca, Cueva del Conde, Jarama VI, Zarzamora, Cova Negra, Cova Beneito y Cova de Les Cendres). Mientras que de Cova Fosca se recuperó ADN de las regiones 1, 2 y 3 a partir de fragmentos de ADN amplificado de entre 163 - 201 pares de bases, en los otros yacimientos mencionados no se obtuvieron resultados positivos. Cuando la estrategia consistió en la amplificación de fragmentos de ADN de un tamaño comprendido entre 96 -130 pares de bases, nuevamente en Cova Fosca se obtuvieron resultados positivos con los seis fragmentos

diseñados. En la cueva del Conde en cambio, no se obtuvo ADN de ninguna de esos seis fragmentos.

En los restantes yacimientos se intentó amplificar los fragmentos de las parejas de cebadores 15.425F – 15.520R y 15.470F – 15.583R (región 1), con unas longitudes de producto amplificado de 96 y 114 pares de bases respectivamente. Únicamente se obtuvieron resultados positivos en una de las 20 muestras de Jarama VI (la muestra JVI3).

De momento, sobre estas muestras de Jarama VI solamente hemos aplicado las dos parejas de cebadores comentadas en el párrafo anterior. No sabemos si en la muestra JVI3, o en las restantes muestras de Jarama VI, se podrá recuperar el ADN con las otras parejas de cebadores que amplifican fragmentos de tamaños pequeños, comprendidos entre 96 - 130.

Sobre las muestras de los yacimientos de la cueva de El Portalón de Tejadilla, la Cueva del Camino (Pinilla del Valle, Madrid) o la cueva de la Carihuela (Piñar, Granada), no hemos aplicado las estrategias de amplificación con las parejas de cebadores que amplifican fragmentos de tamaños pequeños. Sería deseable contrastrar estas parejas de cebadores con los fósiles de esos yacimientos.

Además, para algunos yacimientos donde nosotros hemos obtenido resultados negativos en todas las muestras, otros investigadores que han intentado recuperar ADN de otros taxones han obtenido similares resultados negativos. En los análisis efectuados sobre nueve muestras de *Capra pyrenaica* del abrigo de la Peña de Estebanvela, tampoco se obtuvieron resultados positivos, a pesar de haber realizado varias amplificaciones independientes sobre las muestras con PCR convencional (I. Ureña, comunicación personal).

9.3. Diferencias entre las filogenias de ML e IB

En esta investigación se han realizado análisis filogenéticos de ML y de IB sobre las mismas matrices de datos, observándose resultados inconsistentes entre ambos métodos. Estos resultados ha sido más patentes con las filogenias de IB que han analizado grupos muestrales con ~300 y ~400 secuencias (las filogenias 2 y 3 con IB, respectivamente). Estas topologías se caracterizan por presentar prácticamente todos los clados sin resolver, generando árboles que no ofrecen información filogenética. Consideramos que estos resultados están directamente relacionados con el modo en el que IB genera el árbol definitivo.

Como se ha comentado en el apartado 7.4.14.3. *Análisis bayesianos*, mientras que en Máxima Verosimilitud solamente se obtiene una única topología, con la inferencia bayesiana se obtiene una gran muestra de árboles (Huelsenbeck *et al*., 2001; Abascal *et al*., 2014). Este conjunto de árboles generalmente contiene al árbol de máxima verosimilitud y también otros árboles con valores de verosimilitud menor (Abascal *et al*., 2014). Posteriormente, el método de IB genera el árbol definitivo combinando aquellos clados que aparecen en, por lo menos, un 50 % de las topologías de la *fase estacionaria* (Ronquist *et al*., 2009; Aguado *et al*., 2014). La ventaja de integrar varios árboles en la inferencia bayesiana, es que se tiene en cuenta la incertidumbre presente en la estimación de: la topología, las longitudes de rama y los parámetros del modelo evolutivo (Abascal *et al*., 2014).

Sin embargo, si entre los árboles generados por IB las relaciones filogenéticas de los clados no se mantienen en el 50% de los casos, el resultado final no representará ese o esos clados, y ofrecerá una topología no resuelta. Además, hemos comprobado que esta situación se ha acrecentado aún más al incorporar más secuencias al análisis bayesiano. El proceso de aumentar el tamaño de la muestra de estudio ha aumentado también la incertidumbre, generando al final topologías no resueltas en las filogenias 2 y 3 con IB.

Por estos motivos, consideramos más adecuado trabajar con los resultados obtenidos mediante ML. Aunque este tipo de análisis solamente genera una topología (el árbol que tiene la mayor probabilidad de haber generado los datos incorporando la información ofrecida por el modelo evolutivo), hemos podido comprobar la consistencia de los clados de las topologías de ML a lo largo de 3 análisis, que además se han generado a partir de modelos evolutivos diferentes, como por ejemplo el haplogrupo Lusitano C o el haplogrupo L.

9.4. Evidencias de la domesticación del caballo en la península ibérica

A partir del análisis del ADN mitocondrial, esta investigación ha permitido detectar y cuantificar los cambios genéticos ocurridos entre las poblaciones de caballos ibéricos pleistocenos y holocenos. Los caballos pleistocenos de la península ibérica se han caracterizado por pertenecer a algunos haplogrupos singulares, algunos no compartidos con otras poblaciones euroasiáticas. Además, se han identificado los haplogrupos ibéricos que se perdieron en el tránsito Pleistoceno/Holoceno y estuvieron acompañados de disminuciones en la diversidad nucleotídica en las poblaciones ibéricas de caballos salvajes. Durante el Holoceno, las distintas poblaciones de caballos ibéricos estudiadas se han caracterizado por su homogeneidad genética. Los análisis en la dinámica del tamaño efectivo de la población no han encontrado evidencias para justificar grandes cambios en los tamaños de las poblaciones de caballos ibéricos de finales del Pleistoceno y del Holoceno. Sin embargo, hemos detectado al menos un haplogrupo holoceno endémico de la península ibérica (el Lusitano C) que contribuyó con efectivos en la formación de las poblaciones domésticas ibéricas. Además, la evidencia del haplogrupo A-B entre las poblaciones del Bronce medio, y considerado un haplogrupo alóctono, nos ha permitido señalar esta etapa cultural como un momento en el que ya había caballos domésticos en la península ibérica. Por último, no hemos encontrados evidencias sólidas que permitan confirmar que el haplogrupo L es originario de Iberia. En su lugar, todos los análisis realizados refuerzan la propuesta de que en realidad se trata de un haplogrupo alóctono, procedente del este de Europa y que entró en Iberia al menos a partir de la Edad del Hierro.

Las poblaciones de caballos modernos ibéricos y de origen ibérico tienen una composición de haplogrupos muy heterogénea, y similar a la identificada entre las poblaciones de caballos domésticos no ibéricos. Todos los análisis realizados sobre los caballos de Sorraia no han permitido confirmar su exclusividad a la península ibérica, ya que esta raza ibérica comparte haplogrupos con caballos antiguos de distintas procedencias y caballos modernos de diferentes razas ibéricas y no ibéricas. Sin embargo, otras razas de caballos ibéricos se han caracterizado por presentar individuos asociados al haplogrupo Lusitano C, que durante el Holoceno fue exclusivo de la península ibérica. Pasamos a discutir los resultados que hemos comentado en los párrafos anteriores.

9.4.1. Líneas maternas de caballos pleistocenos

A finales del Pleistoceno superior, en la península ibérica había caballos pertenecientes a, por lo menos, siete haplogrupos diferentes: Lusitano C, A-B, O-P, y los denominados HgCDS21, HgCDS26, HgCDS04 y Hg168-169, identificados en esta investigación (Figura 8.1.14.1). Problamente también estuvieran presentes los haplogrupos I y C1/M pero, hasta no confirmar la antigüedad de las muestras asociadas a estos haplogrupos, los consideramos con cautela. Además hemos encontrado una distribución diferencial entre estos haplogrupos. El haplogrupo con una mayor representación ibérica es HgCDS26 (~19%), seguido de los haplogrupos Lusitano C, A-B y O-P (~6%). Los cinco haplogrupos restantes (I, C1/M, HgCDS21, HgCDS04, Hg168-169) tiene una representación menor (~3%) (Figura 8.1.14.1).

Hemos detectado una relación entre poblaciones restringidas a la península ibérica y a América del Norte, representadas por los haplogrupos HgCDS21 y HgCDS04, que se ha interpretado como 1) un sesgo en el muestreo debido a la gran extensión del área geográfica analizada, y a la muestra representativa de Europa (*n*=21, no considerando Iberia) y Asia (*n*=15) o, 2) fragmentación de una población inicial antigua que debió estar ampliamente distribuida. Futuros análisis sobre muestras pleistocenas euroasiáticas permitirán definir en detalle estas interpretaciones. Cabe destacar que estos dos haplogrupos no se han detectado entre las 256 muestras holocenas antiguas estudiadas (incluidas las ibéricas) y tampoco entre los 1952 caballos modernos analizados. Por este motivo y en base a los datos analizados, consideramos a los haplogrupos HgCDS21 y HgCDS04 como extintos.

A finales del Pleistoceno los haplogrupos Lusitano C, A-B, C1/M y HgCDS26, se han encontrado también en poblaciones europeas, mientras que los haplogrupos I (asumiendo su asociación pleistocena), O-P, y Hg168-169 solamente se han identificado en territorio ibérico (Figura 8.1.14.1). En Europa, los haplogrupos Lusitano C, A-B y muy probablemente HgCDS26 han ofrecido ejemplares más jóvenes y con fechas posteriores al LGM que otros caballos ibéricos de estos mismos haplogrupos (Tabla 8.1.14.2). Estos representantes se han identificado en caballos de lo que hoy es el sur y el centro de Alemania. Entre los ungulados se ha detectado un patrón similar con ciervos ibéricos, considerándose como una evidencia de recolonización europea desde el refugio ibérico después del LGM (Meiri *et al*., 2013). Los resultados de nuestro trabajo han permitido identificar líneas maternas de caballos ibéricos que siguieron un patrón similar al descrito por los ciervos ibéricos a finales del Pleistoceno, pudiendo considerarse como una evidencia de la recolonización europea después del LGM.

Solamente hemos encontrado en Europa un representante de cada haplogrupo, lo cual no permite realizar análisis de diversidad genética. Futuros estudios que permitan conocer la frecuencia y los valores de diversidad genética de estos haplogrupos en Iberia y en Europa durante y después del LGM, permitirán profundizar en este aspecto del papel recolonizador.

En la tesis doctoral sobre la revisión de los équidos de la península ibérica del Pleistoceno medio y superior (Maldonado, 1996), se identificaron dos subespecies de caballos para las que se propuso una línea evolutiva independiente dentro de Iberia y que tendrían un origen en el Pleistoceno medio. Se consideró a *Equus caballus torralbae* como la subespecie más antigua de esta línea evolutiva asociada el Pleistoceno medio, y a *Equus caballus antunesi*, como el representante del Pleistoceno superior. Esta línea evolutiva se ha caracterizado por desarrollar un modelo caballino cada vez más esbelto y grácil, en contraposición a los caballos centroeuropeos que se muestran cada vez más robustos y de menor alzada (Maldonado, 1996).

Con esta investigación hemos podido detectar al menos siete haplogrupos mitocondriales entre los caballos salvajes ibéricos pleistocenos. Aunque la región control del ADN mitocondrial no codifica para ninguna proteína, sería interesante realizar análisis que compararan los grupos genéticos a los que pertenecen los caballos considerados como *Equus caballus antunesi*, con el fin de determinar si existe algún tipo de correlación entre el tipo morfológico grácil y algún haplogrupo preferente.

9.4.2. Líneas maternas de caballos holocenos

Asumiento la asociación pleistocena de los haplogrupos I y C1/M, de los nueve haplogrupos detectados entre los caballos pleistocenos ibéricos, en las poblaciones holocenas antiguas ibéricas se documentan cinco (los haplogrupos Lusitano C, A-B, C1/M, O-P y Hg168-169). De los otros cuatro haplogrupos (I, HgCDS21, HgCDS26 y HgCDS04), solamente el haplogrupo I tendrá un desarrollo en poblaciones holocenas europeas, pudiendo considerar al haplogrupo HgCDS26 como extinto, de manera similar a lo propuesto para los haplogrupos de HgCDS21 y HgCDS04 (Figura 8.1.14.1).

9.4.2.1. Haplogrupo Lusitano C

Entre las muestras ibéricas holocenas destaca el haplogrupo Lusitano C, el único con un desarrollo exclusivamente ibérico durante el Holoceno. Es uno de los cinco haplogrupos pleistocenos que se identifican durante el Holoceno ibérico, detectándose desde el Mesolítico/Neolítico hasta el Bronce medio. Además, su representación es significativa entre las poblaciones antiguas holocenas, oscilando entre el ~80% durante el Calcolítico campaniforme o el Bronce antiguo y el 17% durante el Calcolítico precampaniforme. Además, los individuos que se han considerado genéricamente como calcolíticos o de la Edad del Bronce son todos del Lusitano C (Figura 8.1.14.1).

Uno de los aspectos más relevantes del haplogrupo Lusitano C es su presencia en caballos actuales exclusivamente ibéricos o de origen ibérico. Como ya se ha comentado en otros apartados, las razas donde se ha detectado el Lusitano C son Pura Sangre Lusitana (*n*=2, Lopes *et al*., 2005), Criollo Argentino (*n*=1, Mirol *et al*., 2002), Marismeño (*n*=1, Royo *et al*., 2005), Garrano (*n*=1, Luís *et al*., 2006b) y Paso Fino de Puerto Rico (*n*=1, Luís *et al*., 2006b). Analizando secuencias de la región control de individuos actuales, se había sugerido la posibilidad de que las poblaciones suramericanas retuviesen haplotipos antiguos y perdidos en el continente europeo por la intensificación de la cría caballar ocurrida durante los últimos siglos (Mirol *et al*., 2002; Luís *et al*., 2006b). La relación encontrada entre los caballos del Lusitano C corrobora esta propuesta (Lira *et al*., 2010).

La presencia continuada del Lusitano C en Iberia desde finales del Pleistoceno hasta el Bronce medio permite considerarlo como un haplogrupo holoceno exclusivamente ibérico, y

que ha estado involucrado en el proceso de domesticación del caballo en Iberia (Lira *et al*., 2010). Con los resultados obtenidos, sabemos que al menos en la península ibérica ocurrieron episodios de introgresión, donde las yeguas salvajes ibéricas estuvieron involucradas en el proceso de domesticación del caballo en la península ibérica, incorporando efectivos a las poblaciones domésticas locales. Para confirmar si este evento de domesticación fue totalmente independiente, sería necesario realizar análisis del cromosoma Y en individuos ibéricos de distintas cronologías y cotejarlo con el de individuos de diferentes zonas geográficas, de manera similar al estudio que presentamos con las líneas maternas.

Además, ya en tiempos históricos el Lusitano C surtiría de efectivos para el desarrollo de algunas razas americanas. Según las denominaciones del Catálogo Oficial de Razas de España del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente – MAGRAMA, y complementándose con las denominaciones de Sánchez Belda (2012), las razas representadas por el Lusitano C están consideradas como *emergentes* (Pura Sangre Lusitana y Marismeña) y *segregadas* (Garrana, Criolla Argentina y Paso Fino de Puerto Rico). En la actualidad, la presencia del Lusitano C entre los caballos ibéricos y de origen ibérico es mínima, representado en el 1,1% de los 524 caballos analizados. Por esta razón, sería aconsejable emprender labores de protección del patrimonio genético caballar de la península ibérica que consideraran, al menos, al haplogrupo Lusitano C.

Cabe recordar que a la raza Marismeña se la ha considerado como un representante de las poblaciones antiguas de caballos ibéricos y, en base a determinados caracteres fenotípicos, se la ha vinculado con la raza Sorraia (Sánchez Belda, 2012). Esta investigación pone de manifiesto la presencia entre algunos integrantes de la raza Marismeña, de características genéticas que los asocian de manera exclusiva con las poblaciones antiguas ibéricas holocenas y pleistocenas.

9.4.2.2. Haplogrupo C1/M (Jansen/Achilli) y haplogrupo O-P de Achilli

Asumiendo una cronología pleistocena para la muestra BG12 de Bora Gran, el haplogrupo C1/M se habría detectado en Iberia desde finales del Pleistoceno y habría tenido un desarrollo durante el Holoceno ibérico por lo menos hasta el Calcolítico. Además, se ha detectado también en poblaciones actuales ibéricas y de origen ibérico, pero con valores de representación bajos (Figura 8.1.14.1). Esta presencia en muestras ibéricas y de origen ibérico

modernas podría asociarse a una permanencia durante el Holoceno en territorio ibérico hasta la actualidad. Sin embargo, no podemos descartar la posibilidad de que, independientemente de su presencia en territorio ibérico, este haplogrupo entrara en Iberia de la mano de efectivos domésticos en momentos posteriores al Campaniforme. Su presencia en caballos europeos y asiáticos por lo menos desde el Calcolítico, no nos permite descartar completamente esta posibilidad.

El haplogrupo O-P es otro de los haplogrupos pleistocenos con continuidad durante el Holoceno en Iberia (Figura 8.1.14.1). Se ha detectado durante el Calcolítico precampaniforme, pero su presencia no es exclusiva de Iberia. Las poblaciones más antiguas no ibéricas donde ha aparecido son asiáticas de la Edad del Bronce y la Edad del Hierro, con frecuencias bajas. Posteriormente, aparece también en Europa y Asia en momentos históricos. En la actualidad, el haplogrupo O-P está representado en muy pocos caballos ibéricos y de origen ibéricos (<1%) y caballos no ibéricos (2,5%) (Figura 8.1.14.1). Los resultados de esta investigación proponen la presencia de este haplogrupo en Iberia desde finales del Pleistoceno. El haplogrupo O-P se habría desarrollado hasta la actualidad en territorio ibérico y además, en otras zonas de Eurasia. Aunque los resultados son compatibles con una continuidad de este haplogrupo en Iberia hasta la actualidad, por su presencia en Europa desde tiempos históricos, no podemos descartar su entrada en Iberia en algún momento reciente de la mano de caballos domésticos, y presentando por tanto una situación parecida a la del haplogrupo C1/M. En la actualidad, la representación del haplogrupo O-P entre las poblaciones modernas ibéricas y de origen ibérico es muy baja, similar a la obtenida para el haplogrupo Lusitano C.

Debido a que los representantes ibéricos holocenos más antiguos de los haplogrupos C1/M y O-P pertenecen al Calcolítico precampaniforme de El Portalón de la sierra de Atapuerca (2908 – 2700 años cal. aC), hemos estudiado la posibilidad de que hubieran entrado en Iberia asociados a las migraciones masivas desde las estepas pontico-caspianas hacia Europa central, y vinculadas a la cultura Yamnaya (Haak *et al*., 2015; Allentoft *et al*., 2015). Estas migraciones están documentadas entre ~2800 – 2300 años cal. aC, y presentan un pequeño solape con las cronologías asociadas a los caballos ibéricos de El Portalón de Atapuerca. Sin embargo, hemos descartado la posibilidad de que estos haplogrupos estuvieran entre los caballos domésticos asociados a estos movimientos migratorios masivos en base a una serie de consideraciones sobre los haplogrupos de caballos y sobre las poblaciones humanas contemporáneas. Las evidencias europeas más antiguas del haplogrupo C1/M pertenecen a un caballo calcolítico de Ucrania. Este individuo está considerado salvaje y con

una antigüedad de 3250 – 3100 años aC (Cieslak, *et al*., 2010) es anterior a las expansiones migratorias. Si este haplogrupo hubiera entrado en Europa con la cultura Yamnaya y se hubiera expandido, sería previsible encontrarlo durante la Edad del Bronce. Sin embargo, durante la Edad del Bronce europeo el haplogrupo C1/M no se ha identificado entre los nueve haplogrupos detectados en Europa. Por su parte, el haplogrupo O-P no se ha detectado entre los caballos europeos del Calcolítico y de la Edad del Bronce. Además, en la búsqueda de la señal genética de la cultura Yamnaya en poblaciones europeas meridionales, los análisis sobre restos humanos italianos de la cultura calcolítica del Remedello no ofrecieron señales de esta entrada masiva (Allentoft *et al*., 2015), y tampoco se detectaron entre los restos humanos calcolíticos de El Portalón, contemporáneos a este movimiento démico (Günther *et al*. 2015).

9.4.2.3. Haplogrupo Hg168-169

En esta investigación hemos identificado al haplogrupo Hg168-169 a partir de las muestras de Seco Morais *et al*. (2007). Este haplogrupo contiene a la única muestras ibérica pleistocena publicada y accesible hasta el momento y a una muestra de la Edad del Hierro datada entre 789 - 401 aC. Esta asociación permite proponer la persistencia de este grupo en Iberia por lo menos hasta la Edad del Hierro. Sin embargo, a lo largo del Holoceno, no hemos encontrado más representantes ni en Iberia ni en el resto de Eurasia entre las muestras antiguas o modernas, motivo por el que lo consideramos como un haplogrupo extinto.

9.4.2.4. Haplogrupo A-B de Achilli

Por otro lado, también destacamos los resultados obtenidos a partir del análisis del haplogrupo A-B. En Iberia se ha documentado a finales del Pleistoceno y durante el Holoceno en el Bronce medio (Figura 8.1.14.1). Pero, como con los haplogrupos C1/M y O-P, la península ibérica no es el único territorio donde aparece el haplogrupo A-B durante el Holoceno. Para periodos no históricos, se detecta en Europa durante el Calcolítico y la Edad del Bronce con valores de representación de 10% y 40% en cada población respectivamente. Además, en Asia se detecta a partir de la Edad del Bronce en el 21,4% de la población, disminuyendo su presencia durante la Edad del Hierro hasta valores del 5% (Figura 8.1.14.1).

Aunque no podemos descartar la posibilidad de que el haplogrupo A-B se desarrollase en Iberia de manera continuada desde finales del Pleistoceno hasta el Bronce medio, no lo hemos encontrado en ninguna de las 50 muestras holocenas ibéricas analizadas y anteriores a esta etapa cultural (Tabla 8.1.14.1). Debido a su presencia en Europa a partir del Calcolítico y el aumento en su representación a partir de la Edad del Bronce, consideramos más probable que este haplogrupo entrara en Iberia con caballos domésticos procedentes de Europa. Esta propuesta permite considerar al Bronce medio como la etapa cultural en la que ya tenemos caballos domésticos en la península ibérica, al menos por aporte de efectivos foráneos. En concreto, esta muestra se ha detectado en el yacimiento de El Portalón de la sierra de Atapuerca, y está asociada a una cronología de 1752 – 1533 años cal. aC.

Esta propuesta de presencia de caballos domésticos en Iberia a partir del Bronce medio concuerda con las evidencias zooarqueológicas sobre la llegada de caballos desde otras regiones documentadas en el cerro de la Virgen de la Cabeza en Granada durante la Edad del Bronce (Uerpmann, 1990), y con las propuestas de presencia de caballos domésticos en la Edad del Bronce del cerro de la Encina en Granada (Lauk, 1976) o en el poblado de Peñalosa en Jaén (Sanz y Morales, 2000) e incluso con las sugerencias de caballos domésticos en el propio yacimiento de El Portalón (Castaños, 2005b; Galindo-Pellicena *et al*., 2017b). En el apartado *4.1.3. El caballo durante la Edad del Bronce*, se comentan estos estudios con más detalle.

Cabe recordar que entre las representaciones rupestres, el panel de Selva Pascuala (Cuenca) se ha interpretado como una captura con lazo de un caballo salvaje, un caballo llevado por un ronzal o incluso una escena del proceso de domesticación (Camón, 1954; Hernández Pacheco, 1959; Beltrán, 1968). Esta escena pudo tener lugar entre 2280 – 1439 años cal. aC y esta cronología concuerda con la datación asociada al caballo con el haplogrupo A-B.

La representación actual del haplogrupo A-B entre los caballos modernos ibéricos y de origen ibérico es de 15,6% y entre los modernos no ibéricos del 10,4% (Figura 8.1.14.1).

9.4.2.5. Haplogrupo HgCFo02

Otro haplogrupo que tuvo una amplia representación entre las muestras ibéricas holocenas de la Prehistoria reciente ha sido el caracterizado por la muestra CFo02 (Lira *et al*., 2010). Las evidencias más antiguas se han detectado a finales del Pleistoceno en poblaciones

de los Urales y durante el Holoceno, no hemos observado su presencia entre las diferentes poblaciones antiguas euroasiáticas analizadas. Aunque no podemos descartar que su ausencia entre las poblaciones ibéricas pleistocenas se deba a un sesgo en el muestreo, después de analizar las secuencias pleistocenas ibéricas y europeas junto a más de 160 secuencias holocenas euroasiáticas antiguas, los resultados son más compatibles con una presencia durante el Pleistoceno en Europa y una posible entrada en Iberia debido a movimientos migratorios, a finales del Pleistoceno o comienzos de Holoceno.

Durante el Holoceno, el haplogrupo CFo02 se ha detectado entre las poblaciones antiguas solamente en Iberia (Figura 8.1.14.1). Las primeras evidencias holocenas son del Mesolítico/Neolítico, con ~33% de representación, y por su antigüedad permiten descartar la entrada de CFo02 debida a factores antrópicos. Su representación aumenta en el Calcolítico precampaniforme hasta valores del 50%, y disminuye durante el Calcolítico campaniforme y Bronce antiguo hasta alcanzar valores ~7%. En Iberia se detecta por última vez durante el Bronce antiguo y en la actualidad carece de representantes entre las poblaciones actuales ibéricas o de origen ibérico. Aunque para el resto de Eurasia durante el Holoceno no se detecta su presencia entre las poblaciones antiguas, hay algunos caballos modernos no ibéricos que pertenecen al haplogrupo CFo02, con una representación residual del 0,2% (Figura 8.1.14.1, Anexo XIX).

9.4.2.6. Haplogrupo K de Achilli

A partir de la Edad del Hierro se detectan en Iberia haplogrupos que no se habían documentado previamente. Junto al haplogrupo 168 – 169 antes comentado, se documenta la presencia del haplogrupo K y con seguridad la del haplogrupo L, representando cada uno al 20% de población ibérica de la Edad del Hierro analizada (Figura 8.1.14.1).

El haplogrupo K se detecta en Eurasia a partir de la Edad del Bronce y en la península ibérica a partir de la Edad del Hierro. Aunque su presencia en Europa durante la Edad del Hierro no se ha podido determinar debido al reducido número de muestras analizadas de esta época, es muy probable que se identifique a medida que aumente el tamaño de la muestra europea en próximos estudios. Estas evidencias permiten proponer para el haplogrupo K una entrada en Iberia con caballos domésticos durante la segunda mitad del II milenio aC o comienzos del I milenio aC. En concreto, este haplogrupo se ha detectado en un animal

sacrificado en el conjunto arquitectónico de Cancho Roano en Badajoz a finales del siglo V – principios del IV aC y relacionado con la cultura tartésica (Celestino, 2008). Su presencia en Cancho Roano está asociada al complejo proceso de amortización del edificio, en un contexto de rituales de despedida y abandono del territorio por circunstancias todavía desconocidas (Celestino *et al*., 2016). En la actualidad el haplogrupo K tiene una presencia residual entre los caballos modernos, está presentado en el 0,4% de los caballos ibéricos o de origen ibérico, y en el 0,1% de los caballos no ibéricos.

9.4.2.7. Haplogrupo L de Achilli

El primer trabajo metapoblacional que analizó la diversidad del ADN mitocondrial de los caballos a nivel mundial (Jansen *et al*. 2002), identificó al haplogrupo D1 (ahora incluido en el haplogrupo L de Achilli *et al*., 2012) como un candidato a un evento de domesticación local, ocurrido en Iberia o en el Norte de África. Trabajos concretos sobre razas ibéricas (Lopes *et al*., 2005; Royo *et al*., 2005) señalaron la importancia de este haplogrupo en las poblaciones modernas ibéricas y acentuaron su importancia como señal de un evento de domesticación local. Por otro lado, posteriores estudios metapoblacionales con nuevas razas detectaron un distribución diferencial de frecuencias del haplogrupo D1 en Eurasia, siendo muy abundante en Europa occidental y disminuyendo en frecuencia en un gradiente en sentido Oeste – Este (McGahern *et al*. 2006a).

Esta investigación ha contrastado la hipótesis del haplogrupo L como el resultado de un evento de domesticación local en Iberia. Se ha analizado el ADN mitocondrial de 80 restos pleistocenos y holocenos ibéricos, que se han comparado con 348 secuencias de ADN antiguo, 524 de caballos modernos ibéricos y de origen ibérico y 1428 secuencias de caballos modernos no ibéricos. No hemos encontrado evidencias sólidas de la presencia del haplogrupo L en Iberia hasta la Edad del Hierro. De hecho, la evidencia más antigua de este haplogrupo en Eurasia (fuera de Iberia) se ha detectado en poblaciones europeas de la Edad del Bronce (~7%) (Figura 8.1.14.1), en una muestra de Moldavia asociada al haplogrupo D2 de Jansen (incluido ahora en el haplogrupo L), y con una cronología de 1500 – 1000 años aC. En Asia, la evidencia más antigua procede de un caballo mongol de la Edad del Hierro, datado en el 900 aC y asociado al haplogrupo D1-D3 de Jansen (también incluido en el haplogrupo L). Durante la Edad del Hierro, el haplogrupo L va a estar representado en ~13% de las poblaciones asiáticas (Figura 8.1.14.1) y, aunque nosotros no hemos detectado este haplogrupo en las poblaciones europeas de la

Edad del Hierro analizadas, recientemente se ha detectado en Suiza en cronologías comprendidas entre 150 – 80 aC (Elsner *et al*., 2016).

Para el caso de la península ibérica, el haplogrupo L se documenta con seguridad por primera vez en la muestra CR65 de Cancho Roano (Badajoz). Este caballo está cronológicamente asociado a finales del siglo V aC – comienzos del IV aC, con una datación directa de 774 – 517 cal. aC y, vinculado mitocondrialmente al haplogrupo D1-D3 de Jansen.

Posteriormente, el haplogrupo L se vuelve a detectar en momentos históricos en Iberia (40%) y en el resto de Europa (~20% de representación). En la actualidad, su presencia entre poblaciones de caballos modernos es significativa. El haplogrupo L se encuentra representado en el ~41% de la población ibérica y de origen ibérico analizada, y en el 21% de la población no ibérica (Figura 8.1.14.1).

El estudio de la constitución del haplogrupo D1-D3 de Jansen, ahora integrado en el haplogrupo L de Achilli, ha detallado que se encuentra distribuido en 412 caballos modernos de, por lo menos, 89 razas o variedades de las 124 analizadas en este estudio y procedentes de todas partes del mundo (Tabla 8.1.11.2.12). El haplogrupo D1-D3 de Jansen no solo se encuentra representado principalmente en las razas de caballos de origen ibérico y del norte de África, sino que también está representado en todas las razas de caballos asiáticos, y en la mitad de las razas de caballos europeos (exceptuando las ibéricas) y en prácticamente todas las razas de caballos americanos analizadas (Tabla 8.1.11.2.12). El haplogrupo D1-D3 presenta una gran distribución global y, al ser un subconjunto del haplogrupo L de Achilli, permite concluir que el haplogrupo L es el más representado en la actualidad, contribuyendo con efectivos de manera significativa en las razas de caballos modernos.

De manera similar a lo propuesto para el haplogrupo K, la presencia del haplogrupo L en Iberia es compatible con una entrada en la península ibérica de caballos ya domésticos. Nuevamente y, en base a las evidencias documentadas para el haplogrupo L en Eurasia, proponemos su entrada en Iberia durante la segunda mitad del II milenio aC o comienzos del I milenio aC.

El norte de África se presenta como el foco de origen más plausible del haplogrupo L y, un reciente estudio de ADN antiguo de poblaciones caballares ibéricas y norteafricanas, ha señalado aparentemente la presencia del haplogrupo L en el norte de África entre muestras de la Edad del Hierro (Matoso Silva *et al*. 2015). Un análisis de poblaciones norteafricanas de

distintas cronologías desde finales del Pleistoceno hasta momentos históricos, permitiría conocer en profundidad el origen y distribución del haplogrupo L en el norte de África.

Además, debido a la localización de los representantes más antiguos del haplogrupo D1-D3/L en Asia y, directamente relacionados con las muestras de nuestra investigación, no descartamos una llegada de D1-D3/L a Iberia a partir de migraciones de poblaciones asiáticas, de Próximo Oriente o del Mediterráneo oriental, moviendo caballos con linajes directamente relacionados con estas poblaciones asiáticas. Este haplogrupo se ha detectado en Cancho Roano, donde el estudio de los atalajes ecuestres ha propuesto para los bocados influencias de Luristán, Asiria y la Grecia clásica (Blech, 2003). En el marco de esta propuesta, sugerimos como hipótesis a contrastar la entrada en Iberia del haplogrupo D1-D3/L (o incluso D1, D2, D3/L), como resultado de contactos e intercambios comerciales con fenicios o griegos.

Los primeros contactos fenicios con comunidades indígenas en tierras del sur peninsular corresponden a los comienzos del primer milenio aC (Celestino y Rodríguez, 2017). Se considera a *Gadir* (Cádiz) como la colonia fenicia más antigua del extremo occidental del Mediterráneo, con unas cronologías de fundación de finales del siglo IX aC (Celestino y Rodríguez, 2017) o ligeramente más antigua (Mederos, 2008). Además, el área de contacto fenicio en Iberia aumentó en los siguientes siglos. En una segunda etapa colonial posterior a la fundación de *Gadir*, se ha documentado un aumento de los asentamientos fenicios de carácter permanente partir del siglo VIII aC, en un territorio que comprende desde el estrecho de Gibraltar hasta la actual provincia de Almería (Celestino y Rodríguez, 2017). Aparte, en una tercera y última etapa colonial, los fenicios fundaron enclaves en la costa atlántica hasta el estuario del río Mondego, al norte de Lisboa (Celestino y Rodríguez, 2017).

Para la propuesta de los griegos como vehículos introductores del haplogrupo L en Iberia, recordamos que las primeras evidencias seguras de carros en la península ibérica proceden de las representaciones grabadas de tipo esquemático en las “Estelas del Suroeste” (Quesada, 1997a), cronológicamente asociadas entre los siglos X – VII aC (Quesada, 2005b, 2006). Para más detalle sobre estas representaciones grabadas remitimos al apartado *4.2.2. Las representaciones de caballos y jinetes en el arte postpaleolítico*. Estas estelas muestran carros ligeros con caja en forma D y ruedas con radios que tipológicamente se han asociado a carros de tipo egeo (Quesada, 2008), para los que se ha propuesto una llegada a la Península procedentes del Mediterráneo Oriental (Quesada, 2005b, 2006). En concreto, se ha considerado que estos carros ibéricos habrían recibido influencias procedente de los carros griegos de la época asociada a la Edad Oscura (*ca*. 1200 – 750 aC) (Quesada, 2006; 2008).

9.4.2.8. Haplogrupos con caballos de Sorraia

En la búsqueda de los ancestros de los caballos domésticos ibéricos, los estudios morfológicos efectuados sobre la raza portuguesa de Sorraia han servido para proponerlos como representantes de los antepasados salvajes que se domesticaron en suelo ibérico (D'Andrade, 1945). Está considerada como una raza arcaica que además y, debido a sus características fenotípicas, incluso se la ha propuesto como posible descendiente del cebro ibérico (Pascual, 2008). Para más detalles sobre esta asociación, remitimos al *Capítulo 5. Estudios sobre* Equus hydruntinus *ibéricos.* Los estudios con ADN mitocondrial han detectado que los caballos de Sorraia se distribuyen solamente en los linajes maternos Azambuja, Cigana y Pomba (Luís *et al*., 2002; Luís *et al*., 2006a), donde solamente el linaje Pomba está asociado al haplogrupo L (Luís *et al*., 2006a).

Siguiendo la nomenclatura de Achilli *et al*. (2012), en el estudio metapoblacional realizado por nosotros, el linaje Azambuja se encuentra distribuido en el haplogrupo G de Achilli y el linaje Cigana en el haplogrupo E de Achilli.

Ninguna de las muestras antiguas ibéricas analizadas por nosotros, o utilizadas del GenBank, han aparecido asociadas a los haplotipos que definen los linajes de la raza Sorria. Por ese motivo, para discutir la presencia de esta raza en Iberia, hemos analizado los haplogrupos a los que pertenecen estos linajes.

El haplogrupo G (que integra a Azambuja) solamente se ha detectado en la península ibérica a partir de momentos históricos, con una muestra de la Edad Media que representa el 20% de la población analizada para este momento (Figura 8.1.14.1). En Eurasia este haplogrupo se documenta a partir de la Edad del Bronce y con una representación de ~7% tanto para Europa como para Asia. Su presencia se mantiene durante la Edad del Hierro. Al margen del sesgo que presenta la muestra europea de estudio para esta época, con solo un individuo que pertenece a este haplogrupo, en Asia el haplogrupo G está representado en ~12% de la población de la Edad de Hierro. Posteriormente, el haplogrupo G se vuelve a detectar en Europa en momentos históricos, representado en el 2,6% de la población. En la actualidad, el haplogrupo G se encuentra representado en el ~10% de los caballos ibéricos o de origen ibérico y en ~4% de los caballos no ibéricos.

Por su parte, en el haplogrupo E (que integra a Cigana) no hemos detectado muestras ibéricas antiguas. Aparece en muestras euroasiáticas pleistocenas, en ~5% de la población

europea y en ~13% de la población asiática analizada, respectivamente. Durante el Holoceno, se observa por primera vez en Asia a partir de la Edad del Bronce, representando al ~30% de esta población. En cambio durante la Edad del Hierro su representación disminuye al ~2% de la población asiática. En Europa durante el Holoceno, se documenta por primera vez a partir de momentos históricos, observándose en ~1% de esa población. En la actualidad se encuentra representado en poblaciones ibéricas o de origen ibérico (~3%) y en caballos no ibéricos (1%).

Ninguna de las muestras antiguas analizadas (ibéricas o no ibéricas) comparte haplotipo con el linaje Pomba. Sin embargo, el linaje Pomba está incluido en el haplogrupo L de Achilli. A partir de los resultados obtenidos para este haplogrupo, podríamos sugerir la presencia del linaje Pomba en Iberia a partir de la Edad del Hierro.

En base a los resultados expuestos para los caballos de Sorraia, no podemos confirmar la propuesta de que sean representantes de un evento de domesticación alternativo. En su lugar, estos resultados proponen que los haplogrupos que caracterizan a los caballos de Sorraia entraron en Iberia en tiempos recientes como caballos domésticos. Las evidencias más antiguas podrían ser de la Edad del Hierro, asociadas a Pomba y al haplogrupo L, como se ha comentado en el párrafo anterior.

Además, en base a la presencia de los linajes Azambuja y Gigana en caballos de otras razas no ibéricas, los caballos de Sorraia no reflejan un desarrollo exclusivo en la península ibérica. Solamente el linaje Pomba se podría relacionar a este desarrollo exclusivo en Iberia. Sin embargo, al no encontrar muestras antiguas directamente asociadas en este haplotipo, hemos inferido su antigüedad a partir de las evidencias más antiguas del haplogrupo L. Como se ha comentado en el párrafo anterior, esta propuesta asociaría al linaje Pomba a la Edad del Hierro, a partir de la evidencia del caballo de Cancho Roano.

9.5. Las poblaciones antiguas ibéricas y su relación con otras poblaciones antiguas

9.5.1. Distribución de haplogrupos

Los Análisis de Componentes Principales han puesto de manifiesto una interesante distribución de las poblaciones en función de la composición de haplogrupos y la variación presente en ellos (Figura 8.1.15.1, Figura 8.1.15.3). Durante el Holoceno, las poblaciones ibéricas han presentado un desarrollo diferente al del resto de poblaciones euroasiáticas. Además, las poblaciones ibéricas, desde el Mesolítico/Neolítico hasta el Bronce antiguo, se han caracterizado por ser homogéneas en la composición y variación de sus haplogrupos, lo que sugiere un periodo de continuidad genética de, por lo menos, 3600 años.

Además, estos resultados contrastan con las sugerencias propuestas por Warmuth *et al*. (2011) para los caballos ibéricos calcolíticos. A partir del análisis de los patrones espaciales de la diversidad genética en microsatélites autosómicos de caballos de razas europeas, se ha propuesto que la península ibérica pudo actuar como un centro de domesticación de caballos (Warmuth *et al*., 2011). Se investigaron los patrones espaciales en la diversidad genética analizando 12 microsatélites autosómicos en más de 1000 caballos de 24 razas europeas y del occidente asiático. La distribución geográfica de la diversidad genética permitió destacar dos zonas geográficas con mucha diversidad, una en la región del mar Caspio y la otra en la península ibérica. Por el contrario, la diversidad genética observada en el resto de Europa fue significativamente más baja (Warmuth *et al*., 2011). Este resultado permitió sugerir que a mediados del Holoceno (hace ~6000 años), la región del mar Caspio y de la península ibérica pudieron actuar como un refugio de poblaciones de caballos salvajes, debido principalmente a la presencia de espacios abiertos en estas áreas, en claro contraste con el predominio de áreas boscosas características del resto de Europa. Esta circunstancia habría provocado que las poblaciones de caballos salvajes de estas dos zonas hubiesen contribuido genéticamente a las poblaciones domésticas locales y que, posteriormente, se exportaran efectivos domésticos a otras partes de Europa. Este movimiento caballos domésticos habría estado asociado a una pérdida de diversidad debida a un efecto fundador, en concordancia con los valores de diversidad observados (Warmuth *et al*., 2011).

La distribución de haplogrupos por poblaciones de nuestra investigación nos permite proponer un escenario donde descartamos el aporte de efectivos de las poblaciones europeas

calcolíticas sobre las poblaciones ibéricas del mismo periodo, o viceversa. La composición de haplogrupos de las poblaciones europeas e ibéricas durante el Calcolítico es marcadamente diferente. Solamente comparten al haplogrupo C1/M (Figura 8.1.14.1) y, al menos el representante europeo de este haplogrupo, está asociado a un caballo salvaje. Además, estas diferencias tampoco concuerdan con lo que se esperaría si los caballos calcolíticos hubieran sido los vehículos que provocasen la rápida distribución del vaso campaniforme por toda Europa, como se propuso inicialmente (Schule, 1969).

Sin embargo, a partir del Bronce medio las poblaciones ibéricas van a presentar diferencias, que serán más marcadas con las poblaciones de la Edad del Hierro y momentos históricos (Figura 8.1.15.1, Figura 8.1.15.3). Las diferencias observadas en las poblaciones del Bronce medio se pueden relacionar con la presencia del haplogrupo A-B entre sus integrantes, y se han comentado en el apartado anterior. Estas evidencias permiten considerar de manera más probable la presencia del haplogrupo A-B en el Bronce medio ibérico como resultado de la entrada de efectivos en Iberia y proponen el Bronce medio como el momento cultural a partir del cual encontramos caballos domésticos en la península ibérica (Figura 8.1.15.1, Figura 8.1.15.3). La presencia de nuevos haplogrupos a partir de la Edad del Hierro evidencia nuevas entradas de caballos domésticos en territorio ibérico (Figura 8.1.15.1, Figura 8.1.15.3). El reemplazo de los haplogrupos antiguos por otros nuevos haplogrupos a partir de la Edad del Hierro podría deberse a la escasa muestra analizada para la Edad del Hierro y momentos históricos. Un estudio en detalle de caballos de la Edad del Hierro y de momentos cronológicos posteriores permitirá obtener un conocimiento más detallado de la composición de los haplogrupos de los caballos ibéricos.

9.5.2. Análisis de diversidad nucleotídica

Los análisis sobre la diversidad nucleotídica para el fragmento comprendido entre las posiciones 15.494 – 15.740, ponen de manifiesto una disminución en la diversidad genética con el cambio del Pleistoceno al Holoceno. Esta circunstancia se observa en las poblaciones ibéricas holocenas y en las europeas calcolíticas. La falta de muestras asiáticas de la primera mitad del Holoceno, no nos ha permitido realizar este tipo de análisis con la misma seguridad. Sin embargo, observamos un aumento de diversidad nucleotídica en las poblaciones europeas y asiáticas a partir de la Edad del Bronce, que es muy marcado en Europa a partir de la Edad del Bronce y en Asia a partir de la Edad del Hierro.

El caso de la península ibérica es singular, ya que durante el Holoceno sus poblaciones no reflejan los cambios de diversidad tan visibles como los observados en Europa y Asia. En Iberia, desde el Mesolítico/Neolítico hasta la Edad del Bronce, los valores de diversidad nucleotídica no van a presentar cambios marcados, incluso cuando se diferencian las poblaciones calcolíticas entre Precampaniforme y Campaniforme, y las de la Edad del Bronce entre Bronce antiguo y Bronce medio. Cabe destacar que los valores de diversidad nucleotídica de las poblaciones ibéricas calcolíticas van a ser similares a los de las poblaciones calcolíticas europeas aunque, como hemos observado en al apartado *8.1.15 Análisis de Componentes Principales*, la composición tan diferente de haplogrupos entre estas poblaciones ibéricas y europeas no permite realizar ningún tipo de asociación que sugiera la entrada de efectivos a Iberia durante el Calcolítico, o la salida de los mismos hacia el continente.

Sin embargo, a partir de la Edad del Bronce se observan diferencias marcadas entre Eurasia y la península ibérica. Mientras que las poblaciones europeas y asiáticas se caracterizan por presentar valores de diversidad muy altos, las poblaciones ibéricas van a presentar valores de diversidad bajos, y similares a los de las poblaciones ibéricas holocenas de momentos anteriores. Estas diferencias entre los valores de diversidad nucleotídica y sus intervalos de confianza la 95%, permiten proponer que las poblaciones de la Edad del Bronce ibéricas eran genéticamente más homogéneas que las europeas y asiáticas de la misma época. Además, las muestras del Bronce ibérico eran más similares a las poblaciones ibéricas de momentos holocenos anteriores, situación que no se observa al menos con la muestra europea.

9.6. Análisis de la dinámica del tamaño efectivo poblacional de los caballos ibéricos

El estudio de las fluctuaciones en el tamaño efectivo de las poblaciones de caballos ibéricos se realizó utilizando cuatro matrices de datos complementarias. Se analizó la historia demográfica de las poblaciones ibéricas antiguas (matriz *n*79), y se estudió el efecto que sobre estas poblaciones pudieron tener: 1) caballos ibéricos de razas segregadas y emergentes (matriz *n*150), 2) caballos de razas ibéricas arcaicas y autóctonas (*n*222), 3) los caballos del estudio de Achilli *et al*. (2012) (*n*160).

Aunque para los cuatro análisis el modelo de *GMRF Bayesian Skyride* ofreció variación en los tamaños poblacionales, el análisis de selección de modelos mediante el estimador Stepping Stone (SS) ha señalado que *GMRF Bayesian Skyride* no es el modelo que mejor se ajusta a las matrices de ADN, siendo el modelo que propone un tamaño constante el que mejor explica los datos analizados. Es probable que la razón por la cual el modelo de *GMRF Bayesian Skyride* no ha sido seleccionado mediante el estimador SS, esté relacionada en parte con la precisión del intervalo al 95% HPD en todas las pruebas. La obtención de intervalos de 95% HPD amplios es una característica común al análisis de secuencias genéticas cortas, observándose una mejoría en la precisión del intervalo a medida que se analizan secuencias genéticas con longitudes cada vez mayores, del orden de kilobases (Debruyne y Poinar, 2009). Si a esta característica se suma el efecto de unas fluctuaciones demográficas poco marcadas, los resultados obtenidos pueden no pasar la prueba de selección de modelos frente al modelo de tamaño constante con este estimador. Hemos realizado la misma prueba con HME, uno de los estimadores de verosimilitud marginal más utilizados (Lippold *et al*., 2011b; Achilli *et al*., 2012), obteniéndose en este caso que el modelo de coalescencia bajo *GMRF Bayesian Skyride* sí es el que mejor se ajusta a los datos. Sin embargo, al haberse observado que HME es un estimador que sobreestima la verosimilitud marginal en favor de los modelo más complejos, el resultado propuesto por HME ofrecería un resultado sesgado y por lo tanto incorrecto, como se ha descrito en otros análisis (Xie *et al*., 2011; Baele *et al*., 2012; Ho y Duchêne, 2014).

Aparte, intervalos de 95% HPD amplios con cambios demográficos poco marcados ya se habían obtenido en análisis previos realizados sobre la región control del ADN mitocondrial de caballos (Lorenzen *et al*. 2011), siendo más llamativos sobre todo en Campana *et al*. (2012). El análisis con *GMRF Bayesian Skyride* de ~130 caballos antiguos mayoritariamente pleistocenos y de latitudes septentrionales de Europa, Asia y América, no ofreció cambios en la trayectoria

demográfica de las poblaciones de caballos de los últimos 50.000 años (Lorenzen *et al*. 2011). Tampoco se observaron cambios demográficos en el análisis con BSP de un conjunto de caballos islandeses modernos (*n*=21) e históricos (*n*=35) asociados al siglo XIX (Campana *et al*. 2012).

Aunque se ha comprobado que el poder estadístico de este tipo de pruebas demográficas mejora sustancialmente al analizar muestras de distintos momentos temporales (Chang y Shapiro, 2015), el estudio de los caballos islandeses de Campana *et al*. (2012) no corrobora esta propuesta. Es probable que esta circunstancia se haya debido, además, a la escasa información ofrecida por las muestras históricas del estudio de Campana *et al*. (2012), todas asociadas a la misma época y por lo tanto, con una escasa señal temporal. De hecho, aunque se utilizan muestras heterócronas, Campana *et al*. (2012) no menciona la realización de ningún tipo de análisis de aleatorización de fechas de radiocarbono. Sin embargo, el análisis conjunto de secuencias de caballos antiguos (*n*=138) y modernos (*n*=13) de Lorenzen *et al*. (2011), sí ofrecio cambios en la trajectoria demográfica de las poblaciones. No obstante, este trabajo tampoco ofrece información sobre análisis de la señal temporal de las muestras heterócronas. La representación gráfica de la trayectoria demográfica de las poblaciones septentrionales euroasiáticas y americanas de caballos de los últimos 50.000 años ofreció un patrón de fluctuación menos marcado que los obtenidos en nuestro estudio (Figura 2 y Figura suplementaria 3.7 en Lorenzen *et al*., 2011).

Por su parte, con genomas mitocondriales completos de ~30 caballos antiguos y ~20 modernos, analizando la coalescencia mediante BSP se detectó un aumento del tamaño efectivo en el intervalo de tiempo comprendido entre 50.000 – 25.000 años, seguido de una disminución general en el tamaño efectivo hasta momentos actuales (Orlando *et al*., 2013). Sin embargo, este trabajo no ofrece información sobre el análisis del rendimiento del modelo de coalescencia de BSP en comparación con el modelo poblacional constante.

Otros trabajos desarrollados con genomas mitocondriales completos de caballos modernos bajo modelos de BSP, también han identificado algunos cambios en el tamaño efectivo de las poblaciones, pero en momentos recientes. El estudio de Lippold *et al*. (2011b) con ~60 individuo y el de Achilli *et al*. (2012) con ~ 80 efectivos, detectaron cambios en la trayectoria demográfica de las poblaciones únicamente hace ~5000 – 8000 años, fechas que Lippold *et al*. (2011b) asoció con el comienzo de su domesticación. Curiosamente, para fechas anteriores al intervalo temporal mencionado, se observó que el tamaño efectivo de las

poblaciones se había mantenido constante, durante decenas de miles de años (Lippold *et al.* 2011b).

Nuestra investigación presenta por primera vez, datos sobre la variación del tamaño poblacional de caballos europeos antiguos de latitudes mediterráneas. El patrón en la variación del tamaño poblacional que caracteriza a estas poblaciones de caballos es similar al descrito para las poblaciones septentrionales de Eurasia y América. Al menos para Europa, estos resultados permiten proponer que los cambios climáticos ocurridos en los últimos 50.000 años, no modificaron significativamente los tamaños poblacionales de las poblaciones de caballos salvajes.

9.7. Análisis sobre *Equus hydruntinus*

En esta investigación hemos tenido la oportunidad de analizar 27 muestras que se habían asociado a *Equus hydruntinus* por criterios biométricos o morfológicos, y procedentes de seis yacimientos: Las Caldas (*n*=2), Cueva Oscura de Ania (*n*=4), Bora Gran (*n*=15), Cova Foradada (*n*=3), Galería de las Estatuas (*n*=1) y El Mirador (*n*=2), siendo estas últimas las únicas procedentes de niveles holocenos.

Los análisis genéticos de nuestra investigación han puesto de manifiesto que todas las muestras que han ofrecido ADN, a excepción del fósil AT-GE-189 de Galería de las Estatuas, pertenecieron a caballos o al menos, a individuos con una mitocondria característica de caballos.

Desde la perspectiva paleontológica, estos resultados ofrecen una aportación a tener en cuenta sobre los análisis taxonómicos de *Equus ferus* y *Equus hydruntinus*. Algunas muestras como las piezas dentales CDS23 y CDS24 de Las Caldas, el metápodo COA10 de Cueva Oscura de Ania, se habían atribuido a *Equus hydruntinus* probablemente debido a su tamaño y, sin embargo, han presentado un ADN característico de caballo.

Equus hydruntinus es un taxón de équido extinto difícil de identificar en las colecciones paleontológicas. En buena medida, este problema se debe a la escasez de restos fósiles de esta especie que puedan ser atribuidos inequívocamente a *Equus hydruntinus*. Entre las características que se utilizan para diferenciar a esta especie, destaca su tamaño pequeño y su gracilidad. Por este motivo, hay una tendencia a atribuir a *Equus hydruntinus* restos fósiles de équidos de pequeño tamaño. En el Capítulo 5 *Estudios sobre* Equus hydruntinus *ibéricos*, se ha ofrecido más información sobre las características morfológicas y biométricas que se han utilizado en la literatura de manera general para identificar a este taxón.

Los resultados obtenidos en nuestra investigación han puesto de manifiesto que es posible recuperar ADN de tipo caballino procedente de restos fósiles de équidos pequeños. Además, al tener desde hace unos años la secuencia de la región control del ADN mitocondrial de *Equus hydruntinus* (Orlando, L. *et al*., 2006; 2009), es posible cotejar la secuencia de este taxón y las de formas caballinas, observando que existen diferencias significativas entre ellas.

Realizamos dos observaciones a partir de este resultado. La primera hace referencia a los criterios paleontológicos de identificación de restos de *Equus hydruntinus* que, tras

nuestros resultados, deducimos que no tienen el poder de resolución necesario. Además, esta propuesta tiene una implicación directa sobre el rango de variabilidad del tamaño de los caballos salvajes ibéricos. Nuestra experiencia nos permite concluir que se están excluyendo del rango de variación del tamaño de *Equus ferus* elementos anatómicos de este animal, por ser considerados demasiado pequeños como para pertenecer a esta especie

Además, esta problemática ha sido comentada por Geigl y Grange (2012) y por Bennett *et al*. (2017) donde se describe que durante el proceso de selección de restos de *Equus hydruntinus* de distintos yacimientos euroasiáticos, hubo paleontólogos y arqueozoólogos que asignaron a este taxón, en ocasiones de manera segura, restos faunísticos que después ofrecieron ADN de caballo.

Por lo tanto, nuestros resultados obtenidos a partir de los restos de Las Caldas o Cueva Oscura de Ania, junto a los publicados y comentados por Bennett *et al*. (2017), ponen de manifiesto la necesidad de reexaminar los criterios utilizados para una identificación correcta de *Equus hydruntinus*.

La segunda observación estaría relacionada con cuestiones etológicas de *Equus hydruntinus* y *Equus ferus*, y su posible capacidad de hibridación. Asumiendo que podemos estar frente a individuos híbridos, podría ocurrir que las muestras de las que hemos obtenido ADN fuera realmente de un *Equus hydruntinus*, cuya madre hubiera sido una yegua que le habría transmitido un ADN mitocondrial típicamente caballino. Esta circunstancia no se puede desechar debido, entre otras evidencias, a que durante los últimos años los estudios genéticos con ADN antiguo han puesto de manifiesto casos de hibridación entre diferentes taxones, como los resultados publicados para humanos modernos y neandertales (Green *et al*., 2010), o los de humanos modernos y Denisovanos (Krause *et al*., 2010b; Reich *et al*., 2010).

Recientemente se ha podido corroborar la evidencia de flujo génico entre diferentes especies contemporáneas de équidos, aunque sus cariotipos tengan una variación significativa de pares de cromosomas. Concretamente se han ofrecido evidencias empíricas de eventos de hibridación entre équidos, diferenciándose hasta cuatro principales episodios de flujo génico a pesar de las diferencias en los cariotipos de los taxones (Jónsson *et al*., 2014). Estas evidencias contemplan entre otras, flujo génico de *Equus kiang* (2*n*=51-52) al linaje de los asnos (2*n*=62-64) entre *Equus africanus somaliensis* (2*n*=62) y *Equus grevyi* (2*n*=46), y uno entre los asnos africanos (2*n*=62-64) y *Equus zebra* (2*n*=32) (Jónsson *et al*., 2014).

Por este motivo y para poder responder a esta posibilidad de hibridación, sería necesario realizar análisis genéticos sobre el genoma nuclear de individuos correctamente identificados como *Equus hydruntinus*, como la muestra AT-GE-189 de Galería de las Estatuas.

Por otro lado y en relación a la posición filogenética de *Equus hydruntinus*, y las relaciones filogenéticas en general de los distintos representantes del género *Equus*, las filogenias obtenidas en este trabajo presentan un problema recurrente en los estudios filogenéticos llevados a cabo sobre équidos actuales. Entre los mamíferos, la familia Equidae (orden Perissodactyla) se ha caracterizado por no presentar filogenias resueltas, aunque se han realizado una gran cantidad de estudios moleculares sobre los representantes actuales del género *Equus*, el único género presente en la actualidad en la familia Equidae (Steiner y Ryder, 2011; Steiner *et al*., 2012). Sus estudios evolutivos han ofrecido una gran cantidad de filogenias diferentes que además se caracterizan por presentar en general nodos con valores bajos de soporte de ramas (Oakenfull *et al*., 2000; Orlando *et al*., 2006; 2009; Steiner y Ryder, 2011; Steiner *et al*., 2012; Vilstrup *et al*., 2013).

De manera general, los estudios moleculares consideran dos grandes grupos, caballinos (caballos domésticos y caballos de Przewalski) y no caballinos (asnos y cebras), donde cada uno es monofilético (Steiner y Ryder, 2011; Steiner *et al*., 2012; Vilstrup *et al*., 2013). Las relaciones topológicas de nuestro análisis de ML entre los representantes actuales del género *Equus* presentan esta distribución. Sin embargo, no se mantiene en los otros análisis bayesianos, los cuales ofrecen para la filogenia con indels codificados unas relaciones parecidas a las ofrecidas en Orlando *et al*. (2006), donde cebras aparecían como taxón basal a los demás.

En nuestro estudio los valores de SH-aLRT, bootstrap y probabilidades posteriores son moderados o altos en todas las filogenias globales para los clados que definen los taxones *Equus ovodovi*, *Equus ferus*/*Equus caballus*, *Equus zebra* y *Equus quagga*. Sin embargo, aunque el fragmento de HVR-I estudiado permite identificar a los principales grupos taxonómicos, carece de resolución para diferenciar las relaciones topológicas entre taxones concretos, como en el caso de *Equus grevyi*. La filogenia de ML presenta a *Equus grevyi* filogenéticamente más relacionado con los asnos asiáticos que con las cebras, de modo similar a la topología presentada por Orlando *et al*. (2009). No obstante, esta relación topológica no se mantiene en los análisis bayesianos. Por su parte, en los tres análisis se ha mantenido constante la relación de grupos hermanos entre *Equus zebra* y *Equus quagga,* aunque los niveles de soporte de ramas son bajos (excepto en ML para SH-aLRT). Además, en ML e inferencia bayesiana sin codificación de indels, *Equus asinus*/*Equus africanus* es el grupo hermano del clado que

comprende a *Equus zebra* y *Equus quagga*, y también caracterizado por valores de soporte de ramas bajos para probabilidad posterior y porcentaje de bootstrap.

En las filogenias globales con la región HVR-I, considerando el antepasado común más reciente a *Equus hemionus*, este taxón aparece como parafilético en la filogenia con ML y en la filogenia bayesiana con los indels codificados, pero presentando unos valores moderados o bajos de SH-aLRT, bootstrap y probabilidades posteriores, por lo que estos datos deberían tratarse con precaución. Esta relación de parafilia también la observó Orlando *et al*. (2009). Este resultado contrasta con las posteriores relaciones topológicas llevadas a cabo con el Citocromo *b* y con la región ARNr 12S de las mitocondrias así como con 20 genes nucleares, donde los datos por separado y combinados presentaron un origen monofilético para los asnos asiáticos, y *Equus grevyi* apareció asociado con las cebras (Steiner *et al*., 2012). Por otro lado, el análisis de mitogenomas completos de *Equus hemionus onager* y *Equus hemionus kulan* ha confirmado que son un grupo monofilético donde ambos taxones se agrupan juntos, aunque han presentado valores de soporte de ramas bajos (Vilstrup *et al*., 2013).

Además, en este mismo estudio con mitogenomas completos también se pudo observar que la información mitocondrial no es concluyente para determinar las relaciones topológicas entre los principales grupos no caballinos (*Equus ovodovi*, cebras, asnos asiáticos, asnos salvajes africanos y asnos domésticos (Vilstrup *et al*., 2013).

Se ha considerado que una de las razones para explicar estas filogenias ambiguas sin valores de confianza altos para los soportes de ramas, se encuentra en la rápida y reciente divergencia que ha ocurrido entre los miembros del género *Equus*, provocando fenómenos de segregación incompleta de linajes y/o eventos de introgresión genética (Oakenfull *et al*., 2000; Steiner y Ryder, 2011; Vilstrup *et al*., 2013). En la segregación incompleta de linajes tras el fenómeno de especiación, diferentes especies pueden compartir información genética debido a la retención de polimorfismos ancestrales y, con posterioridad, los descendientes podrán fijar diferentes alelos. Por su parte, los fenómenos de introgresión genética tienen lugar entre especies estrechamente relacionadas, cuando una especie incorpora genes al conjunto genético de otra, generalmente asociado a un flujo génico asimétrico (Steiner *et al*., 2012).

En relación a la posición filogenética de *Equus hydruntinus*, nuestro análisis pone de manifiesto la pertenencia al subgénero *Hemionus* de la muestra ibérica AT-GE-189 asociada a este taxón. Sin embargo, en las filogenias globales su relación con otras muestras de *Equus hydruntinus* o *Equus* cf. *hydruntinus* ha mostrado distintas alternativas topológicas. La muestra

AT-GE-189 aparece formando un clado con la muestra belga de *Equus hydruntinus* solamente en una de las filogenias, en una zona de la topología bayesiana no resuelta y acompañada de valores de probabilidad posterior bajos. En el resto de topologías, la muestra AT-GE-189 aparece asociada a muestras antiguas taxonómicamente designadas como *Equus hydruntinus*, *Equus* cf. *hydruntinus,* además de muestras modernas de otros taxones. De hecho, las cinco muestras de *Equus hydruntinus* y *Equus* cf. *hydruntinus* utilizadas (incluyendo AT-GE-189) no presentan monofilia en ninguno de los análisis realizados, aspecto que ya se había observado previamente (Orlando *et al*., 2006; 2009).

A partir del análisis de la HVR-I, las relaciones filogenéticas que presenta *Equus hydruntinus* con *Equus hemionus* corroboran la posibilidad de que sean taxones conespecíficos pertenecientes a la misma especie (Orlando *et al*., 2006), o que *Equus hydruntinus* sea una subespecie de *Equus hemionus* (Orlando *et al*., 2009). De hecho, la reciente publicación de Bennett *et al*. (2017) sobre las filogenias mitocondriales de *Equus kiang*, *Equus hemionus* y *Equus hydruntinus*, apoyan la posibilidad de que en realidad, *Equus hydruntinus* sea una subespecie de *Equus hemionus* (*Equus hemionus hydruntinus*) con rango de distribución principalmente europeo. El análisis que hemos realizado contrastando AT-GE-189 con las muestras de Bennett *et al*. (2017) y las filogenias globales apoyan esta sugerencia.

Además, en el análisis para identificar el clado (H1 o H2) al que pertenece AT-GE-189, esta muestra ha aparecido asociada a otra muestra (KY749224, ID23) considerada previamente del clado H1 por Bennet *et al*. (2017). Sin embargo, las dos muestras han aparecido separadas del resto de muestras del clado H1. Presentan un patrón similar a los clados D1 y D2 que caracterizan a las poblaciones de *Equus hemionus hemionus*, también denominado como el kulan mongol o dziggetai y que, tanto en nuestra filogenia como en las filogenias de Bennett *et al*. (2017) ocupan posiciones distantes en las topologías. Esta circunstancia permitiría sugerir la posibilidad de que las muestras AT-GE-189 y KY749224 representen un nuevo clado para *Equus hemionus hydruntinus*. Sin embargo, al estar este clado asociado a valores bajos de soporte de ramas, esta sugerencia se realiza con prudencia. Además, nuestro análisis ha puesto de manifiesto que los clados H1 y H2 no son grupos hermanos monofiléticos, aunque albergan a representantes de la misma subespecie. La situación que presentan es similar a la comentada para los clados D1 y D2. Otros análisis filogenéticos y el procesamiento de nuevas muestras permitirán profundizar en estas cuestiones.

Otro aspecto importante de este análisis ha sido la determinación de la muestra de El Mirador MIR4-P20-251 como perteneciente a *Equus caballus* / *Equus ferus*, al menos a partir de la información obtenida de la HVR-I.

La presencia de *Equus hydruntinus* en la península ibérica durante la Prehistoria reciente se había sustentado en las propuestas ofrecidas a partir de restos faunísticos procedentes de un grupo reducido de yacimientos, donde destacan el Cerro de la Virgen y la Carihuela (ambos en Granada), Terrera Ventura (Almería), la Morra del Quintanar (Albacete), la Ereta del Pedregal (Navarrés, Valencia), la cueva del Moro (Huesca) o la cueva de El Mirador en la sierra de Atapuerca. Sin embargo, nuevos análisis de la fauna, de su cronología o de las características estratigráficas de los yacimientos donde aparecieron, han desvinculado esos restos con *Equus hydruntinus* o han ofrecido dudas sobre su adscripción taxonómica en la mayoría de las evidencias propuestas inicialmente (Driesch, 2000; Castaños, 1991a; Cardoso *et al.*, 2013; Bennett *et al*. 2017).

En El Mirador se identificaron dos restos que se atribuyeron a *Equus hydruntinus* (la muestra neolítica MIR11-Q21-171 y la de la Edad del Bronce MIR4-P20-251). La muestra MIR11-Q21-171 no ofreció resultados genéticos a pesar de realizar dos extracciones independientes sobre esa muestra, y múltiples amplificaciones sobre las diferentes regiones diseñadas en el experimento. La coloración de la superficie externa de la muestra MIR11-Q21-171 es compatible con haber estado expuesta a altas temperaturas, factor que podría haber influido negativamente en la recuperación de ADN (Figura 8.2.2.1. a, b, c).

La muestra de la Edad del Bronce recuperada en el nivel MIR4 (MIR4-P20-251) se había descrito como un M1/M2 superior izquierdo. Su adscripción a *Equus hydruntinus* se había determinado por carecer de pliegue caballino, presentar fosetas simples y unos valores del índice protocónico que entraban en el rango de variabilidad de los asnos salvajes y domésticos (Martín *et al*., 2014). El resultado genético arrojado por este resto faunístico pone de manifiesto que, al menos la mitocondria de este individuo, no está relacionada con *Equus hydruntinus*. Este resultado se une al conjunto de restos pleistocenos que previamente se habían adscrito a *Equus hydruntinus*, y que en el trascurso de esta investigación hemos comprobado que presentan una mitocondria de *Equus ferus*. Sin embargo, para poder descartar definitivamente su relación con *Equus hydruntinus*, será necesario recuperar información nuclear, al menos del cromosoma Y. De momento, este resultado es una nueva prueba que se suma al conjunto de evidencias anteriormente comentadas que niegan la presencia de *Equus hydrutinus* en Iberia durante la Prehistoria reciente. Sin embargo, todavía

quedan restos susceptibles de ser analizados como el resto de astrágalo de la Carihuela (Granada) (Driesch, 2000) o la falange III anterior de la Ereta del Pedregal (Navarrés, Valencia) (Pérez Ripoll, 1990).

Recientemente se ha sugerido que la fecha global para la extinción de *Equus hydruntinus* fue ~ 580 años aC. (95%CI: 963 aC. – 635 AD.), o de 2708 años aC. (95%CI: 2986 - 1780 aC.) si solo se tenía en cuenta la población más numerosa y localizada en el Danubio (Crees y Turvey, 2014). Estos resultados descartan la posibilidad de que *Equus hydruntinus* sobreviviera en la península ibérica durante la Edad Media, y fuera por tanto el taxón que se conoció como cebro ibérico.

El cebro se ha caracterizado por no presentar registro arqueozoológico evidente, razón que limita significativamente llevar a cabo estudios genéticos sobre sus restos faunísticos. Sin embargo, algunos de los restos conocidos y previamente asociados a *Equus hydruntinus* podrían ser objeto de análisis, en concreto una de las falanges recuperadas en el Cerro de la Virgen (Granada). Previamente asociada a cronologías calcolíticas, la datación de radiocarbono efectuada sobre la falange anterior (F938) recuperada en el Cerro de la Virgen ofreció una cronología de 1170 ± 20 BP. (774 – 943 AD). Atendiendo a su cronología medieval, esta muestra se descartó como perteneciente a un *Equus hydruntinus* prehistórico (Driesch, 2000). Pero esta cronología sitúa a la falange en un momento cronológico en el que había supuestas poblaciones de cebros en al-Ándalus, y que posteriormente fueron descritas en el siglo XII por Mohidín Ibn Al-Alrabi su obra *Fotuhat*. El análisis de este resto, permitiría acercarnos todavía más a la problemática del cebro ibérico.

CAPÍTULO 10

La historia del caballo se pierde en la antigüedad.

Charles Darwin*, La variación de los animales y las plantas bajo domesticación.*

10. CONCLUSIONES

Este trabajo ha permitido obtener las siguientes conclusiones, estructuradas en los dos objetivos principales de esta investigación:

A. Hipótesis de la domesticación del caballo en la península ibérica.

1. A finales del Pleistoceno superior las poblaciones de caballos ibéricos pertenecían, al menos, a siete haplogrupos: Lusitano C, A-B, O-P, y los denominados HgCDS21, HgCDS26, HgCDS04 y Hg168-169. Aunque es probable que los haplogrupos I y C1/M también estuvieran presentes en poblaciones ibéricas pleistocenas, es necesario confirmar la antigüedad de las muestras ibéricas identificadas en esos dos haplogrupos. Además, destacamos los casos de los haplogrupos I, O-P, y Hg168-169, que a finales del Pleistoceno superior se han identificado solamente en Iberia.

2. A finales del Pleistoceno superior, las poblaciones con los haplogrupos Lusitano C, A-B y muy probablemente HgCDS26, se desarrollaron en Iberia durante el Último Máximo Glaciar o incluso en fechas anteriores. Para Europa, los mismos haplogrupos se detectan a partir de fechas posteriores al Último Máximo Glaciar. Este resultado podría considerarse como una evidencia de recolonización europea por parte de las poblaciones de caballos desde el refugio ibérico, después del Último Máximo Glaciar.

3. El tránsito del Pleistoceno al Holoceno en los caballos ibéricos está marcado por una pérdida de haplogrupos y una pérdida en la diversidad nucleotídica. De los haplogrupos detectados en el Pleistoceno, en las muestras antiguas holocenas solamente se han documentado los haplogrupos Lusitano C, A-B, O-P, Hg168-169 y C1/M (si se confirma su presencia pleistocena) y con distintas frecuencias. Sobre los cuatro haplogrupos restantes, solamente el haplogrupo I (si se confirma su presencia pleistocena) tiene representantes holocenos, pero en muestras no ibéricas. Para los haplogrupos HgCDS26, HgCDS21 y HgCDS04 no se han encontrado representantes euroasiáticos en ningún momento del Holoceno, por lo que se consideran extintos posiblemente desde el comienzo del Holoceno.

4. Durante el Holoceno, el haplogrupo Lusitano C es el único que presenta un desarrollo exclusivo en la península ibérica. Este haplogrupo se ha encontrado en

caballos salvajes, posteriormente en caballos que podían ser ya domésticos y, además, en caballos modernos domésticos ibéricos y de origen ibérico. Este haplogrupo es la evidencia directa del uso de yeguas salvajes locales en el proceso de formación de las poblaciones domésticas ibéricas. Posteriormente en tiempos históricos, individuos de este haplogrupo se utilizaron en la formación de algunas razas americanas.

5. En la actualidad el haplogrupo Lusitano C tiene una representación muy baja, ~1% de los caballos modernos ibéricos y de origen ibérico analizados (*n*=524). Solo se documenta en seis caballos de las razas Pura Sangre Lusitana, Marismeño, Garrano, Criollo Argentino y Paso Fino de Puerto Rico.

6. La distribución de haplogrupos en Iberia y en Europa durante el Calcolítico descarta el intercambio de caballos entre ambas poblaciones, debido a que la composición de haplogrupos de las poblaciones europeas e ibéricas calcolíticas es marcadamente diferente.

7. A partir de la evidencia observada sobre la presencia holocena del haplogrupo A-B en Europa y en la península ibérica, proponemos que este haplogrupo entró en Iberia a partir del Bronce medio con caballos domésticos procedentes de Europa. Esta propuesta considera al Bronce medio como la etapa cultural en la que ya tenemos caballos domésticos en la península ibérica, al menos por aporte de efectivos foráneos.

8. La evidencia segura más antigua del haplogrupo L en la península ibérica corresponde a la Edad del Hierro. Las evidencias más antiguas de este haplogrupo en el resto de Eurasia se han detectado en poblaciones europeas de la Edad del Bronce y asiáticas de la Edad del Hierro. Por lo tanto, el origen del haplogrupo L en Iberia es compatible con una entrada en la península ibérica de caballos domésticos de este haplogrupo durante la segunda mitad del II milenio aC o comienzos del I milenio aC.

9. No hemos encontrado evidencias para considerar a la raza Sorraia como la representante de un evento de domesticación ibérico. Las evidencias más antiguas de los linajes Azambuja y Cigana se han detectado en caballos asiáticos de la Edad del Bronce y de la Edad del Hierro. Del linaje Pomba no se han detectado muestras antiguas en ninguna parte de Eurasia. Considerando los haplogrupos a los que

pertenecen, el haplogrupo G de Achilli (Achilli *et al*., 2012; a partir de ahora "Achilli"), que contiene a la línea Azambuja, se detecta en Iberia por primera vez durante la Edad Media. El haplogrupo E de Achilli (que contiene a Cigana) no se ha detectado en las muestras antiguas ibéricas. Por otro lado, el haplogrupo L de Achilli (que contiene a Pomba) se detecta por primera vez con seguridad en Iberia en la Edad del Hierro. Estas evidencias no confirman la propuesta de los caballos de Sorraia como representantes de los caballos salvajes que se domesticaron en Iberia. En su lugar, estos resultados proponen un origen foráneo para los haplogrupos que integran a los linajes conocidos de los caballos de Sorraia, entrando en Iberia a partir de la Edad del Hierro.

10. Desde el Mesolítico/Neolítico hasta el Bronce antiguo, las poblaciones ibéricas se han caracterizado por ser homogéneas en la composición de sus haplogrupos y por presentar unos valores de diversidad nucleotídica similares. A partir de la Edad del Bronce, se observan marcadas diferencias entre las poblaciones ibéricas y las europeas: mientras que la composición de haplogrupos y diversidades nucleotídicas de las poblaciones ibéricas calcolíticas y de la Edad del Bronce son similares, las poblaciones europeas de estos momentos culturales no reflejan el mismo patrón.

11. Los análisis realizados con el estimador de verosimilitud marginal *Stepping Stone* (SS) no han permitido encontrar evidencias para afirmar que las poblaciones de caballos ibéricos experimentaran cambios significativos de tamaño efectivo poblacional durante los últimos 50.000 años.

B. Hipótesis de la persistencia de* Equus hydruntinus *en Iberia por lo menos hasta la Edad del Bronce.

12. Los análisis sobre restos atribuidos a *Equus hydruntinus* han ofrecido ADN mitocondrial de caballo en casi todas las muestras. Esta circunstancia pone de manifiesto la dificultad de identificar y adscribir correctamente restos fósiles a *Equus hydruntinus*.

13. La recuperación de ADN mitocondrial de caballo procedente de restos fósiles de équidos pequeños previamente atribuidos a *Equus hydruntinus*, tiene una implicación directa sobre el rango de variabilidad del tamaño de los caballos salvajes. Por lo tanto, consideramos que se debe ampliar el rango inferior de

variación de tamaño de los restos faunísticos de *Equus ferus/Equus caballus* ibéricos.

14. Los análisis filogenéticos realizados sobre la muestra AT-GE-189 de la Galería de las Estatuas, morfológicamente determinada como *Equus hydruntinus*, presenta unas relaciones filogenéticas más estrechas con *Equus hemionus* que con *Equus ferus*/*Equus caballus*. Con estos resultados, apoyamos la propuesta de que este taxón sea una subespecie de *Equus hemionus*, pasando a denominarse *Equus hemionus hydruntinus*.

15. Los análisis filogenéticos efectuados sobre la muestra MIR4-P20-251 de la Edad del Bronce de El Mirador de Atapuerca no corroboran su adscripción a *Equus hydruntinus*. Este resultado es una nueva evidencia que apoya la propuesta de que *Equus hydruntinus* no formó parte de las listas faunísticas del Holoceno ibérico.

BIBLIOGRAFÍA

Medita en los principios rectores de otros, de qué huyen y qué persiguen.

Marco Aurelio. *Meditaciones*

BIBLIOGRAFÍA

1. Abascal, F., *et al.* (2014) Filogenia y evolución molecular. In *Bioinformática con Ñ* (Sebastián, Á., y Pascual-García, A., eds.), 231-260, Libro autoeditado e Impreso por CreateSpace (http://www.createspace.com).
2. Abbott, A. (2003) Anthropologists cast doubt on human DNA evidence. *Nature* 423, 468-468.
3. Achilli, A., *et al.* (2008) Mitochondrial genomes of extinct aurochs survive in domestic cattle. *Current Biology* 18, R157-R158.
4. Achilli, A., *et al.* (2012) Mitochondrial genomes from modern horses reveal the major haplogroups that underwent domestication. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109, 2449-2454.
5. Adán, G.E., *et al.* (1995) Prospecciones y excavaciones arqueológicas en el Alto Valle del Jarama (Valdesotos, Guadalajara, Castilla-La Mancha). In *Arqueología en Guadalajara. Patrimonio Histórico-Arqueología* (de Balbín, R., *et al.*, eds.), 112-124, Servicio de Publicaciones, Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha.
6. Adán, G.E., *et al.* (1999) El Aziliense de Cueva Oscura de Ania (Las Regueras, Asturias): primera aproximación a su contexto en la cuenca del Nalón. *Espacio, Tiempo y Forma, Serie I, Prehistoria y Arqueología* 12, 215-267.
7. Adán, G.E., *et al.* (2001) Cueva Oscura de Ania (Las Regueras, Asturias). Contribución al conocimiento del Aziliense cantábrico. *Complutum* 12, 9-32.
8. Adán, G.E., *et al.* (2002) La industria ósea magdaleniense de Cueva Oscura de Ania (Las Regueras, Asturias). Estudio tecnomorfológico y cronoestratigrafía. *Trabajos de Prehistoria* 59, 2002.
9. Adán, G.E., *et al.* (2007) Avance al estudio del Magdaleniense en Cueva Oscura de Ania (Las Regueras, Asturias, España). *Caesaraugusta* 78, 91-106.
10. Aebischer, P. (1957) Le zebro "âne sauvage" de la Péninsula Ibérique et Brunetto Latini. *Boletim de Filologia* 16, 165-175.
11. Agero, S. (1947) *Zebro "onagro": una contribución al estudio de los representantes románicos de "separare", y una tentativa etimológica acerca del nombre hispánico del onagro*.
12. Aguado, M.T., *et al.* (2014) *Métodos y técnicas para el estudio de la Filogenia*. Universidad Autónoma de Madrid.
13. Aguiló, M. (1983) El paisaje de las alcarrias de Horche. *Wad-al-Hayara. Revista de Estudios de Guadalajara* 10, 257-282.
14. Alcolea, J.J., y de Balbín, R. (2006) *El arte paleolítico al aire libre. El yacimiento rupestre de Siega Verde, Salamanca*. Junta de Castilla y León. Consejería de Cultura y Turismo.
15. Alday, A., *et al.* (2011) La industria ósea de El Portalón de Cueva Mayor (sierra de Atapuerca, Burgos). Biapuntados, puntas de flecha y agujas, morfología y funcionalidad. *Munibe* 62, 227-249.
16. Alemany, J. (1921) *La Geografía de la Península Ibérica en los escritores árabes*. Tipografía El Defensor.
17. Alfonso X El Sabio. (Edición del año 2011) *Las Siete Partidas*. Red Ediciones, SL.
18. Allentoft, M.E., *et al.* (2015) Population genomics of Bronze Age Eurasia. *Nature* 522, 167-172.
19. Almagro Basch, M. (1949) Un nuevo grupo de pinturas rupestres en Albarracín. La cueva de Doña Clotilde. *Teruel* I.2, 91-116.
20. Almagro Basch, M. (1951) La cronología del arte levantino en España. In *Crónica del VI Congreso Arqueológico del Sudeste. Alcoy 1950*, 67-80.

21. Almagro Basch, M. (1970) El arte rupestre levantino español. In *Manual de Historia Universal*, 336-383, Espasa-Calpe.
22. Almagro Gorbea, M. (1973) Cascos del Bronce Final en la Península Ibérica. *Trabajos de Prehistoria* 30, 349-362.
23. Alonso, A., y Grimal, A. (1994) El arte levantino o el "trasiego" cronológico de un arte prehistórico. *Pyrenae* 25, 51-70.
24. Altschul, S.F.*, et al.* (1990) Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215, 403-410.
25. Altuna, J. (1972) Fauna de mamíferos de los yacimientos prehistóricos de Guipúzcoa. *Munibe* 24, 1-464.
26. Altuna, J. (1973) Fauna de mamíferos del yacimiento prehistórico de Los Casares (Guadalajara). In *La Cueva de Los Casares (en Riba de Saelices, Guadalajara). Excavaciones Arqueológicas en España* (Barandiarán, I., ed.), 97-116.
27. Altuna, J. (1980) *Historia de la domesticación animal en el País Vasco desde sus orígenes hasta la romanización*. .
28. Altuna, J. (1994) La relación fauna consumida-fauna representada en el Paleolítico Superior Cantábrico. *Complutum* 5, 303-311.
29. Altuna, J. (1995) Faunas de mamíferos y cambios ambientales durante el Tardiglacial cantábrico. In *El Final del Paleolítico cantábrico. Transformaciones ambientales y culturales durante el Tardiglacial y comienzos del Holoceno en la región cantábrica* (Moure Romanillo, J.A., y González Sainz, C., eds.), 77-117, Servicio de Publicaciones de la Universidad de Cantábria.
30. Altuna, J. (1998) The horse at the end of de Würm glaciation and the postglacial period in the North of Spain. In *Man and the animal world: Studies in archaeozoology, archaeology, anthropology and palaeolinguistics in memoriam Sándor Bökönyi* (Anreiter, P.*, et al.*, eds.), 31-40, Archaeolingua.
31. Altuna, J. (2002) Los animales representados en el arte rupestre de la península Ibérica. Frecuencias de los mismos. *Munibe* 54, 21-33.
32. Altuna, J., y Apellaniz, J.M. (1976) Las figuras rupestres paleolíticas de la Cueva de Altxerri (Guipúzcoa). *Munibe* 28, 1-244.
33. Altuna, J., y Mariezkurrena, K. (1986) Introduction de l'âne (*Equus asinus*) au Pais Basque. . *Archeozoología* número inicial, 125-130.
34. Altuna, J., y Mariezkurrena, K. (2001) La cabaña ganadera del yacimiento de La Renke (Álava, País Vasco). *Munibe* 53, 75-86.
35. Altuna, J., y Mariezkurrena, K. (--------) El caballo al final de la última glaciación y en el periodo postglacial del País Vasco. In *El libro sobre Pottokas.*
36. Alvar, M. (1953) Estudio lingüístico y vocabulario. In *Los Fueros de Sepúlveda* (Segovia, Publicaciones históricas de la Excelentísima Diputación Provincial de Segovia, ed.), 573-807, Gómez-Pamplona.
37. Álvarez Laó, D. (2003) Macromamíferos fósiles del Pleistoceno de Asturias. Revisión bibliográfica y datos actuales. *Naturalia Cantabrieae* 2, 11-23.
38. Álvarez Llana, J.*, et al.* (1995) *Asturcones*. Caja de Asturias.
39. Álvarez Rico, M.G. (2003) La cuestión de la herradura en la Antigüedad. In *El caballo en la antigua Iberia. Estudios sobre équidos en la Edad del Hierro* (Quesada Sanz, F., y Zamora Merchán, M., eds.), 145-178, Real Academia de la Historia y Universidad Autónoma de Madrid.
40. Álvarez Sanchís, J. (2008) *Vettones. Pastores y Guerreros de la Edad del Hierro*. Museo Arqueológico Regional de la Comunidad de Madrid.
41. Anderson, S.*, et al.* (1982) Complete sequence of bovine mitochondrial DNA conserved features of the mammalian mitochondrial genome. *Journal of Molecular Biology* 156, 683-717.

42. Anderung, C*., et al.* (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, 8431-8435.
43. Anderung, C*., et al.* (2008) Fishing for ancient DNA. *Forensic science international. Genetics* 2, 104-107.
44. Anisimova, M., y Gascuel, O. (2006) Approximate Likelihood-Ratio Test for branches: A fast, accurate, and powerful alternative. *Systematic Biology* 55, 539-552.
45. Anisimova, M*., et al.* (2011) Survey of branch support methods demonstrates accuracy, power, and robustness of fast likelihood-based approximation schemes. *Systematic Biology* 60, 685-699.
46. Anthony, D.W. (2007) *The horse, the wheel and language. How Bronze Age riders from the Eurasian steppes shaped the modern world*. Princenton University Press.
47. Anthony, D.W., y Brown, D.R. (2003) Eneolithic horse rituals and riding in the steppes: new evidence. In *Prehistoric steppe adaptation and the horse* (Levine, M.A*., et al.*, eds.), 55-68, McDonald Institute for Archaeological Research.
48. Antonius, O. (1937) On the geographical distribution, in former times and today, of the recent Equidae. *Proceedings of the Zoological Society of London* B107, 557-564.
49. Antunes, M.T. (2006) The *zebro* (Equidae) and its extinction in Portugal, with an Appendix on the noun *zebro* and modern "zebra". In *Equids in Time and Space* (Mashkour, M., ed.), 210-235, Oxbow Books.
50. Aranda, G., y Molina, F. (2005) Intervenciones arqueológicas en el yacimiento de la Edad del Bronce del Cerro de la Encina (Monachil, Granada). *Trabajos de Prehistoria* 62, 165-179.
51. Aranda, G., y Molina, F. (2006) Wealth and power in the Bronze Age of the South-East of the Iberian Peninsula: the funerary record of Cerro de la Encina. *Oxford Journal of Archaeology* 25, 47-59.
52. Aranda, G*., et al.* (2008) El poblado y necrópolis argáricos del Cerro de la Encina (Monachil, Granada). Las campañas de excavación de 2003-05. *Cuadernos de Prehistoria y Arqueología de la Universidad de Granada* 18, 219-264.
53. Arbizu, M*., et al.* (2005) La Cueva del Forno / Conde (Tuñón, Asturias): un yacimiento del tránsito del Paleolítico Medio y Superior en la Cornisa Cantábrica. In *Neandertales cantábricos. Estado de la cuestión* (Montes, R., and Lasheras, J.A., eds), 423-441, Ministerio de Cultura.
54. Arceredillo, D. (2008) Morphometric differences among the equids of the Upper Pleistocene from Valdegoba (Burgos, Spain). *Bulletin of the International Association for Paleodontology* 2, 21-26.
55. Arévalo, A. (2003) La moneda hispánica del jinete ibérico: estado de la cuestión. In *El caballo en la antigua Iberia. Estudios sobre équidos en la Edad del Hierro* (Quesada Sanz, F., and Zamora Merchán, M., eds.), 63-74, Real Academia de la Historia y Universidad Autónoma de Madrid.
56. Arias, P. (2007-2008) Falange grabada de la Galería Inferior de La Garma. *Veleia: Revista de prehistoria, historia antigua, arqueología y filología clásicas* 24-25, 97-129.
57. Arias, P*., et al.* (2000) La Zona Arqueológica de La Garma (Cantabria): investigación, conservacion y uso social. *Trabajos de Prehistoria* 57, 41-56.
58. Arias, P., y Ontañón, R. (2008) La zona arqueológica de La Garma (Omoño, Ribamontán al Monte). Campañas 2000-2003). In *Actuaciones arqueológicas en Cantabria 2000-2003* (Gobierno de Cantabria), 41-60.
59. Arias, P*., et al.* (2005) La estructura magdaleniense de La Garma A. Aproximación a la organización espacial de un hábitat paleolítico In *O Paleolítico : Actas do IV Congresso de Arqueologia Peninsular (Faro, 14 a 19 de Setembro de 2004)* (Centro de Estudos de Patrimonio, Departamento de Historia, Arqueologia e Patrimonio, Universidade do Algarve, ed.), 123-142.

60. Arias, P*., et al.* (2011) Magdalenian Floors in the Lower Gallery of La Garma. A preliminary report. In *Site-internal spatial organization of hunter-gatherer societies: Case studies from the European Paleolithic and Mesolithic* (Gaudzinski-Windheuser, S*., et al.*, eds.), 31-51, Verlag des Römisch-Germanischen Zentralmuseums.
61. Arias, P*., et al.* (2010) Castro de El Alto de la Garma (Omoño, Ribamontán al Monte). In *Castros y castra en Cantabria. Fortificaciones desde los orígenes de la Edad del Hierro a las guerras con Roma* (Cantabria, Acanto. Federación de asociaciones para la defensa del Patrimonio Cultural y Natural de Cantabria ed.), 501-514.
62. Arribas Herrera, A*., et al.* (1995) El yacimiento cuaternario de la cueva de los Torrejones (Tamajón, Guadalajara, Castilla-La Mancha): Resultados preliminares. In *Arqueología en Guadalajara* (de Balbín, R*., et al.*, eds.), 97-110, Servicio de Publicaciones de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha.
63. Arribas Herrera, A*., et al.* (1997) Primeras ocupacionies en los depósitos pleistocenos de la cueva de los Torrejones (Sistema Central español, Tamajón, Guadalajara): Litoestratigrafía y actividad biológica. *Cuaternario y Geomorfología* 11, 55-66.
64. Arribas Herrera, A., y Jordá Pardo, J.F. (1999) Los mamíferos del cuaternario kárstico de Guadalajara (Castilla-La Mancha, España). In *La huella del Pasado. Fósiles de Castilla La Mancha (Patrimonio Histórico. Arqueología de Castilla La Mancha)* (Aguirre, E., y Rábano, I., eds.), 327-353.
65. Arribas Palau, A*., et al.* (1974) Excavaciones en el poblado de la Edad del Bronce "Cerro de la Encina" Monachil (Granada) (El corte estratigráfico nº3). *Excavaciones Arqueológicas en España* 81, 1-164.
66. Arsuaga, J.L. (2006) El Portalón, la Galería del Sílez y la Cueva del Silo. In *Atapuerca, Patrimonio de la Humanidad.* (Arsuaga, J.L*., et al.*, eds.), 268-283, Junta de Castilla y León.
67. Arsuaga, J.L*., et al.* (2003) Nuevas observaciones sobre la estratigrafía en la cueva del Conde (Santo Adriano de Tuñón, Asturias). In *Actas de la XI Reunión Nacional de Cuaternario (Oviedo, 2003)* (Flor, G., ed.), 267-274, Principado de Asturias.
68. Arsuaga, J.L*., et al.* (2010) El yacimiento kárstico del Pleistoceno Superior de la Cueva del Camino en el Calvero de la Higuera (Pinilla del Valle, Madrid). In *Actas de la 1ª Reunión de científicos sobre cubiles de hiena (y otros grandes carnívoros) en los yacimientos arqueológicos de la Península Ibérica* (Baquedano, E., y Rosell, J., eds.), 349 - 368, Museo Arqueológico Regional de Madrid.
69. Arsuaga, J.L*., et al.* (1997a) Size variation in Middle Pleistocene humans. *Science* 277, 1086-1088.
70. Arsuaga, J.L*., et al.* (1997b) Sima de los Huesos (Sierra de Atapuerca, Spain). The site. *Journal of Human Evolution* 33, 109-127.
71. Arsuaga, J.L*., et al.* (1997c) Preface. *Journal of Human Evolution* 33, 105-421.
72. Arsuaga, J.L*., et al.* (2017) Evidence of paleoecological changes and Mousterian occupations at the Galería de las Estatuas site (sierra de Atapuerca, northern Iberian plateau, Spain). *Quaternary Research* 88, 345 – 367.
73. Arsuaga, J.L*., et al.* (2014) Neandertal roots: Cranial and chronological evidence from Sima de los Huesos. *Science* 344, 1358-1363.
74. Arsuaga, J.L*., et al.* (1993) Three new human skulls from the Sima de los Huesos Middle Pleistocene site in Sierra de Atapuerca, Spain. *Nature* 362, 534-537.
75. Arteaga, O., y Schubart, H. (1980) Fuente Álamo: excavaciones de 1977. *Noticiario Arqueológico Hispánico* 9, 245-279.
76. Asín, M. (1925) El místico murciando Abenarabi. *Boletín de la Real Academia de la Historia* 82, 96-173.
77. Awadalla, P*., et al.* (1999) Linkage disequilibrium and recombination in hominid mitochondrial DNA. *Science* 286, 2524-2525.
78. Azzaroli, A. (1992) Ascent and decline of monodactyl equids: a case for prehistoric overkill. *Annales Zoologici Fennici* 28, 151-163.

79. Baele, G.*, et al.* (2012) Improving the accuracy of demographic and molecular clock model comparison while accommodating phylogenetic uncertainty. *Molecular Biology and Evolution* 29, 2157-2167.
80. Baldellou, V., y Utrilla, P. (1985) Nuevas dataciones de radiocarbono de la Prehistoria oscense. *Trabajos de Prehistoria* 83-95.
81. Bandelt, H.J.*, et al.* (1995) Mitochondrial portraits of human populations using median networks. *Genetics* 141, 743-753.
82. Bandelt, H.-J.*, et al.* (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16, 37-48.
83. Barone, R. (1976) *Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome premier Osteologie. Fascicule 2 (Atlas)*.
84. Barrero, A.M. (1980) El Fuero breve de Salamanca, sus redacciones. *Anuario de Historia del Derecho Español* 50, 439-468.
85. Barrio-Caballero, P.A. (2013) Revisión de métodos de extracción de ADN a partir de restos óseos en el laboratorio forense. *Revista Española de Medicina Legal* 39, 54-62.
86. Barroso, C.*, et al.* (2003a) Cuadro bioestratigráfico y geocronológico de los depósitos cuaternarios de la Cueva del Boquete de Zafarraya. In *El Pleistoceno Superior de la Cueva del Boquete de Zafarraya* (Barroso, C., ed), 135-144, Junta de Andalucía.
87. Barroso, C.*, et al.* (2003b) Las faunas de grandes mamíferos del Pleistoceno Superior de la Cueva del Boquete de Zafarraya. Estudio Paleontológico y Paleoecológico. In *El Pleistoceno Superior de la Cueva del Boquete de Zafarraya* (Barroso, C., ed.), 169-222, Junta de Andalucía.
88. Beja-Pereira, A.*, et al.* (2004) African origins of the domestic donkey. *Science* 304, 1781.
89. Bellver, J.A. (1995) La necrópolis vaccea de "Las Ruedas", Padilla de Duero (Valladolid): una aproximación arqueozoológica. In *Arqueología y medio ambiente. El primer milenio aC. en el Duero medio* (Delibes de Castro, G.*, et al.*, eds.), 515-527, Junta de Castilla y León.
90. Beltrán, A. (1968) Sobre la pintura rupestre levantina de un caballo cazado a lazo, del abrigo de "Selva Pascuala", de Villar del Humo (Cuenca). In *Miscelánea ofrecida al Ilmo. Señor José María Lacarra y de Miguel*, 81-84, Facultad de Filosofía y Letras de la Universidad de Zaragoza.
91. Beltrán, A. (1982) *De cazadores a pastores. El arte rupestre del levante español*. Ediciones Encuentro.
92. Benirschke, K.*, et al.* (1965) Chromosome complement: Differences between *Equus caballus* and *Equus przewalskii*, Poliakoff. *Science* 148, 382-383.
93. Benito, A., y Pérez, A. (2007) Erosion surfaces and Neogene landscape evolution in the NE Duero Basin (north-central Spain). *Geomorphology* 88, 226-241.
94. Bennett, D., y Hoffmann, R.S. (1999) *Equus caballus*. *Mammalian Species* 628, 1-14.
95. Bennett, E.A.*, et al.* (2017) Taming the late Quaternary phylogeography of the Eurasiatic wild ass through ancient and modern DNA. *PLoS ONE* 12, e0174216.
96. Berger, G.W.*, et al.* (2008) Luminescence chronology of cave sediments at the Atapuerca paleoanthropological site, Spain. *Journal of Human Evolution* 55, 300-311.
97. Bermúdez de Castro, J.M.*, et al.* (1997) A hominid from the Lower Pleistocene of Atapuerca, Spain: possible ancestor to Neandertals and modern humans. *Science* 276, 1392-1395.
98. Bertsch, S. (2012) *La teoría que nunca murió*. Crítica.
99. Blanchard, J. (1964) Informations recherchées d'après les Équidés européen figurés. In *Prehistoric art of the Western Mediterranean and the Sahara* (García, L.P., ed), 3-34, Wenner Green.
100. Blanco, J.F. (2003) Iconografía del caballo entre los pueblos prerromanos del centro-norte de Hispania. In *El caballo en la antigua Iberia. Estudios sobre équidos en la Edad del Hierro* (Quesada Sanz, F., y Zamora Merchán, M., eds.), 75-123, Real Academia de la Historia y Universidad Autónoma de Madrid.

101. Blánquez, J., y Quesada, F. (1999) El santuario ibérico de "El Cigarralejo". Nuevas perspectivas en su estudio. In *La cultura ibérica a través de la fotografía de principios de siglo: Las colecciones madrileñas*, 175-189.
102. Blasco, M.C. (2001) El poblamiento en las cuencas de los ríos Duero y Tajo durante la Edad del Hierro. In *Entre celtas e íberos. Las poblaciones protohistóricas de las Galias e Hispania* (Berrocal-Rangel, L., and Gardes, P., eds.), 201-212, Real Academia de la Historia.
103. Blech, M. (2003) Elementos de atalaje de Cancho Roano. In *Cancho Roano IX: los materiales arqueológicos II* (Celestino Pérez, S., ed.), 159-192.
104. Boessneck, J., y Driesch, A.v.d. (1980) Tierknochenfunde aus vier südspanischen höhlen. In *Studien über frühe Tierknochenfunde von der Iberischen Halbinsel*, 1-83, Deutsches Archäologisches Institut Abteilung Madrid.
105. Bökönyi, S. (1974) The Horse. In *History of domestic mammals in Central and Eastern Europe*, 230-296, Akadémiai Kiadó.
106. Bökönyi, S. (1978) The earliest waves of domestic horses in East Europe. *The Journal of Indo-European Studies* 6, 17-76.
107. Bollongino, R*., et al.* (2006) Early history of European domestic cattle as revealed by ancient DNA. *Biology Letters* 2, 155-159.
108. Bonet, H., y Mata, C. (2001) Organización del territorio y poblamiento en el País Valenciano entre los siglos VII al II aC. In *Entre celtas e íberos. Las poblaciones protohistóricas de las Galias e Hispania* (Berrocal-Rangel, L., and Gardes, P., eds.), 175-186, Real Academia de la Historia.
109. Bonifay, M.-F. (1991) *Equus hydruntinus* Regalia *minor* n. ssp. from the Caves of Lunel-Viel (Herault, France). In *Equids in the Ancient World* (Meadow, R.H. y Uerpmann, H.P., eds.), ed), 178-216, Dr. Ludwig Reichert Verlag.
110. Bonmatí, A*., et al.* (2010) Middle Pleistocene lower back and pelvis from an aged human individual from the Sima de los Huesos site, Spain. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107, 18386-18391.
111. Boulbes, N. (2009) Étude comparée de la denture d'*Equus hydrutinus* (Mammalia, Perissodactyla) dans le Sud-Est de la France. Implications biogéographiques et biostratigraphiques. *Quaternaire* 20, 449-465.
112. Bouman, I., y Bouman, J. (1994) The history of the Przewalski's horse. In *Przewalski's horse. The history and biology of an endangered species* (Boyd, L., y Houpt, K.A., eds.), 5-38, The State University of New York Press.
113. Bouwman, A., y Brown, T.A. (2002) Comparison between silica-based methods for the extraction of DNA from human bones from 18th to Mid-19th century London. *Ancient Biomolecules* 4, 173-178.
114. Bower, M.A*., et al.* (2011) The cosmopolitan maternal heritage of the Thoroughbred racehorse breed shows a significant contribution from British and Irish native mares. *Biology Letters* 7, 316-320.
115. Bowling, A.T*., et al.* (2000) A pedigree-based study of mitochondrial d-loop DNA sequence variation among Arabian horses. *Animal Genetics* 31, 1-7.
116. Boyd, L., y Keiper, R. (2005) Behavioural ecology of feral horses. In *The domestic horse: The origins, development and management of its behaviour* (Mills, D.S., y McDonnell, S.M., eds.), 55-82, Cambridge University Press.
117. Bradley, D.G*., et al.* (1998) Genetics and domestic cattle origins. *Evolutionary Anthropology* 6, 79-86.
118. Brandt, G*., et al.* (2013) Ancient DNA reveals key stages in the formation of central European mitochondrial genetic diversity. *Science* 342, 257-261.
119. Breuil, H. (1920) Les peintures rupestres de la Péninsule Ibérique XI. Les roches peintes de Minateda (Albacete). *L'Anthropologie (Paris)* 30, 1-50.
120. Breuil, H. (1933) *Les peintures rupestres schématiques de la Péninsule Ibérique*. Fondation Singer-Polignac.

121. Breuil, H., y Obermaier, H. (1914) Travaux en Espagne. *L'Anthropologie (Paris)* 25, 233-253.
122. Bronk, C. (1995) Radiocarbon calibration and analysis of stratigraphy: The Oxcal program. *Radiocarbon* 37, 425-430.
123. Bronk, C*., et al.* (2004) Improvements to the pretreatment of bone at Oxford. *Radiocarbon* 46, 155-163.
124. Brown, W.M*., et al.* (1979) Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 76, 1967-1971.
125. Bruford, M.W*., et al.* (2003) DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Nature Reviews Genetics* 4, 900-910.
126. Bruford, M.W., y Townsend, S. (2006) Mitochondrial DNA diversity in modern sheep. In *Documenting Domestication. New genetic and archaeological paradigms* (Zeder, M.A*., et al.*, eds.), 306-316, University of California Press.
127. Burgess, L.C., y Hall, J.O. (1999) UV light irradiation of plastic reaction tubes inhibits PCR. *BioTechniques* 27, 252-256.
128. Burke, A*., et al.* (2003) The systematic position of *Equus hydruntinus*, an extinct species of Pleistocene equid. *Quaternary Research* 59, 459-469.
129. Cabré, J. (1915) *El arte rupestre en España (Regiones septentrional y oriental)*. Museo Nacional de Ciencias Naturales.
130. Cáceres, I*., et al.* (2007) Evidence for Bronze Age cannibalism in El Mirador Cave (Sierra de Atapuerca, Burgos, Spain). *American Journal of Physical Anthropology* 133, 899-917.
131. Cacho, I*., et al.* (2010) Review of paleoclimate reconstructions in the Iberian Peninsula since the last glacial period. In *Report: Climate in Spain: Past, present and future* (Pérez, F.F., and Boscolo, R., eds.), 9-24.
132. Cacho Quesada, C*., et al.* (2003) El registro arqueológico del Pleistoceno superior final en el abrigo de la Peña de Estevanbela (Sur de la cuenca del Duero, Segovia, España). In *Actas de la XI Reunión Nacional de Cuaternario (Oviedo, 2003)* (Flor, G., ed.), 191-198, Principado de Asturias.
133. Cai, D*., et al.* (2009) Ancient DNA provides new insights into the origin of the Chinese domestic horse. *Journal of Archaeological Science* 36, 835-842.
134. Camón, J. (1954) *Las artes y los pueblos de la España primitiva*. Espasa-Calpe.
135. Campana, M.G*., et al.* (2012) Genetic stability in the Icelandic horse breed. *Animal Genetics* 43, 447-449.
136. Campeny, G. (2009) Anàlisi morfotècnica de les atzagaies de la Bora Gran d'En Carreras (Serinyà, Pla de l'Estany). *Quadern de Prehistòria Catalana* 17, 57-83.
137. Campos, P.F*., et al.* (2012) DNA in ancient bone - Where is it located and how should we extract it? *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger* 194, 7-16.
138. Cann, R.L*., et al.* (1984) Polymorphic sites and the mechanism of evolution in human mitochondrial DNA. *Genetics* 106, 479-499.
139. Capitan, L*., et al.* (1924) *Les Combarelles aux Eyzies (Dordogne)*. Masson.
140. Carbonell, E*., et al.* (1999) Preface. *Journal of Human Evolution* 37, 309-311.
141. Carbonell, E*., et al.* (2008) The first hominin of Europe. *Nature* 452, 465-469.
142. Cardinali, I*., et al.* (2016) An overview of ten Italian horse breeds through mitochondrial DNA. *PLoS ONE* 11, e0153004.
143. Cardoso, J.L. (1995) Presença de *Equus hydruntinus* REGALIA, 1905 no Würm recente de Portugal. *Comunicaçoes Instituto Geológico e Mineiro* 81, 97-108.
144. Cardoso, J.L., y Eisenmann, V. (1989) *Equus caballus antunesi*, nouvelle sous-espece quaternaire du Portugal. *Palaeovertebrata* 19, 47-72.
145. Cardoso, J.L*., et al.* (2013) First evidence of *Equus asinus* L. in the Chalcolithic disputes the Phoenicians as the first to introduce donkeys into the Iberian Peninsula. *Journal of Archaeological Science* 40, 4483-4490.
146. Carrer, L. (1839) *Il Tesoro di Brunetto Latini volgarizzato da Bono Giamboni*.

147. Carretero, J.M*., et al.* (2008) A late Pleistocene-Early Holocene archaeological sequence of Portalón de Cueva Mayor (Sierra de Atapuerca, Burgos, Spain). *Munibe* 59, 67-80.
148. Caruana, J. (1974) *El Fuero Latino de Teruel. Edición preparada y con estudio preliminar*. Instituto de Estudios Turolenses.
149. Casabó i Bernad, J. (1997) Cova Foradada (Xàbia). Aproximación a la economía y al paisaje de la costa norte alicantina durante el Paleolítico superior inicial. *Cuaternario y Geomorfología* 11, 67-80.
150. Casabó i Bernat, J.A. (1999) Cova Foradada (Xàbia): economia i paleogeografia d'un assentament de caçadors recol·lectors de principi del Paleolític superior. In *Geoarqueologia i Quaternari Litoral. Memorial Maria Pilar Fumanal* (València, U.d., ed.), 113-124.
151. Casabó i Bernad, J. (2001) Cova Foradada (Xàbia, Alacant). In *De neandertales a cromañones. El inicio del poblamiento humano en las tierras valencianas* (Villaverde, V., ed.), 407-410, Universitat de València.
152. Castañé, J. (1989) *El Fuero de Teruel. Edición crítica con introducción y traducción*. Ayuntamiento de Teruel.
153. Castaños, P. (1985-1986) Estudio del material dentario de caballo procedente del Pleistoceno Terminal del norte de la península Ibérica. *KOBIE (Serie Paleoantropología)* 15, 87-181.
154. Castaños, P. (1991a) Estudio de los restos faunísticos de la Cueva del Moro (Olvena - Huesca). *Bolskan: Revista de arqueología del Instituto de Estudios Altoaragoneses* 8, 79-107.
155. Castaños, P. (1991b) Animales domésticos y salvajes en Extremadura. Origen y Evolución. *Revista de Estudios Extremeños* 47, 9-66.
156. Castaños, P. (1992) Estudio arqueozoológico de la fauna del Cerro de la Horca (Plasenzuela, Cáceres). *Archaeofauna* 1, 127-146.
157. Castaños, P. (1997) Estudio de la fauna del Cerro I de "Los Castillejos" (Fuente de Cantos, Badajoz). *Norba. Revista de Arqueología* 14, 11-45.
158. Castaños, P. (2004) Estudio arqueozoológico de los macromamíferos del Neolítico de la cueva de Chaves (Huesca). *Saldvie: Estudios de Prehistoria y Arqueología* 4, 125-171.
159. Castaños, P. (2005a) Revisión actualizada de las faunas de macromamíferos del Würm antiguo en la Región Cantábrica. In *Neandertales cantábricos, estado de la cuestión. Actas de la reunión científica celebrada en el Museo de Altamira los días 20-22 de octubre de 2004* (Lasheras, J.A., and Montes, R., eds.), 201-207.
160. Castaños, P. (2005b) Estudio de la fauna de Cueva Mayor de Atapuerca. In *Estudios Sobre Atapuerca (Burgos): III. Los Materiales del Bronce Final de ‘‘El Portalón’’ de Cueva Mayor* (Mínguez, M.T., ed), 247–257, Universidad de Deusto y Excma. Diputación Provincial de Burgos.
161. Castilla, M*., et al.* (2014) Evidence of rickets and/or scurvy in a complete Chalcolithic child skeleton from the El Portalón site (Sierra de Atapuerca, Spain). *Journal of Anthropological Sciences* 92, 257-271.
162. Castro, A. (1928) La palabra "zebro". *Revista de Filología Española* 15, 173-179.
163. Castro, A., y de Onís, F. (1916) *Fueros Leoneses de Zamora, Salamanca, Ledesma y Alba de Tormes*.
164. Cátedra, P.M. (1994) Tratado de Fascinación o de aojamiento. In *Obras completas de Enrique de Villena, Volumen I* (Arroyo Stephens, M., ed), 325-341, Fundación José Antonio de Castro.
165. Cazurro, M. (1908) Las cuevas de Serinyá y otras estaciones prehistóricas del NE. de Cataluña. *Anuari de l'Institut d'Estudis Catalans* 43-88.
166. Cebrián, A. y Cano, J*.* (1992) *Relaciones topográficas de los pueblos del Reino de Murcia (1575-1579)*. Universidad de Murcia, Secretariado de Publicaciones.

167. Celestino, S. (2001) Los santuarios de Cancho Roano. Del indigenismo al Orientalismo arquitectónico. In *Arquitectura Oriental y Orientalizante en la Península Ibérica* (Ruiz, D., y Celestino, S., eds.), 17-56.
168. Celestino, S. (2008) Tartessos. In *De Iberia a Hispania* (Gracia Alonso, F., ed.), 93-345, Ariel.
169. Celestino, S., y Cabrera, A. (2008) El banquete privado y el banquete comunal en el santuario de Cancho Roano. *Cuadernos de Prehistoria y de Arqueología de la Universidad de Granada* 18, 189-215.
170. Celestino, S*., et al.* (2003) La funcionalidad de Cancho Roano. In *Cancho Roano IX: los materiales arqueológicos II* (Celestino, S., ed.), 301-358.
171. Celestino, S*., et al.* (2016) La arquitectura en adobe en Tarteso: el Turuñuelo de Guareña (Badajoz), un ejemplo excepcional para el conocimiento de las téncias constructivas. In *Arquitectura en tierra. Patrimonio Cultural. XII CIATTI. Congreso de arquitectura en tierra en Cuenca de Campos 2015* (Jové, F., y Sáinz, J.L., eds.), 41-50, Universidad de Valladolid.
172. Celestino, S., y Rodríguez, E. (2017) Tarteso: una cultura entre el Atlántico y el Mediterráneo. In *La protohistoria en la península ibérica* (Celestino, S., ed.), 15-147, Ediciones Akal.
173. Cervera, J*., et al.* (1998) *Atapuerca. Un millón de años de historia*. PLOT Ediciones.
174. Chang, D., y Shapiro, B. (2015) Using ancient DNA and coalescent-based methods to infer extinction. *Biology Letters* 12.
175. Chen, S.Y*., et al.* (2006) Mitochondrial DNA diversity and population structure of four Chinese donkey breeds. *Animal Genetics* 37, 427-429.
176. Ciapparelli, L.B. (2005) Medicina y Literatura en el *Tratado de Fascinación* de Enrique de Villena. *Cuadernos de historia de España* 79, 31-56.
177. Cieslak, M*., et al.* (2010) Origin and history of mitochondrial DNA lineages in domestic horses. *PLoS ONE* 5, e15311.
178. Clark, G.A*., et al.* (1979) The North Burgos archaeological survey: an inventory of cultural remains. In *The North Burgos archaeological survey. Bronze Age and Iron Age archaeology on the Meseta del Norte (Province of Burgos, North-Central Spain)* (Clark, G., ed.), 18-156, Arizona State University.
179. Clark, P.U*., et al.* (2009) The Last Glacial Maximum. *Science* 325, 710-714.
180. Clayton, D. (2000) Vertebrate Mitochondrial DNA - A circle of surprises. *Experimental Cell Research* 255, 4-9.
181. Clayton, D. (2003) Mitochondrial DNA Replication: What we know. *IUBMB Life* 55, 213-217.
182. Clutton Brock, J. (1987) Horses. In *A Natural History of domesticated mammals*, 80-90, British Museum (Natural History).
183. Clutton Brock, J. (1992) *Horse Power. A history of the horse and the donkey in human societies*. Harvard University Press.
184. Clutton Brock, J. (1999) Horses. In *A Natural History of domesticated mammals (second edition)* (The Natural History Museum, eds), 100-113, Cambridge University Press.
185. Collado, H. (2007) *Arte rupestre en la cuenca del Guadiana: El conjunto de grabados del Molino Manzánez (Alconchel-Cheles, Badajoz)*. EDIA.
186. Colominas, L*., et al.* (2015) Detecting the T1 cattle haplogroup in the Iberian Peninsula from Neolithic to medieval times: new clues to continuous cattle migration through time. 110-117.
187. Contreras, F., y Cámara, J.A. (2000) Formación y fases del yacimiento. In *Proyecto Peñalosa. Análisis histórico de las comunidades de la Edad del Bronce del piedemonte meridional de Sierra Morena y depresión Linares-Bailén* (Contreras, F., ed.), 47-70, Junta de Andalucia. Consejería de Cultura.
188. Contreras, F*., et al.* (2000) Objetivos y planteamiento metodológico de los trabajos de campo. In *Proyecto Peñalosa. Análisis histórico de las comunidades de la Edad del Bronce del piedemonte meridional de Sierra Morena y depresión Linares-Bailén* (Contreras, F., ed.), 39-46, Junta de Andalucia. Consejería de Cultura.

189. Cooper, A. (1994) DNA from museum specimens. In *Ancient DNA* (Herrmann, B., and Hummel, S., eds.), 149-165, Springer Verlag.
190. Cooper, A., y Poinar, H.N. (2000) Ancient DNA: do it right or not at all. *Science* 289, 1139.
191. Corchón, M.S. (1981) El yacimiento de la cueva de Las Caldas. In *Cueva de Las Caldas. San Juan de Priorio (Oviedo)* (Corchón, M.S., ed.), 57-257, Ministerio de Cultura.
192. Corchón, M.S. (1991-1992) Representaciones de fauna fría en el Arte mueble de la Cueva de Caldas (Asturias, España). Significación e implicaciones en el arte parietal. *Zephyrus* 44-45, 35-64.
193. Corchón, M.S. (1995) Reflexiones acerca de la cronología del Magdaleniense cantábrico. Las dataciones 14C de la cueva de Las Caldas (Asturias, España). *Zephyrus* 48, 3-19.
194. Corchón, M.S. (1998) Nuevas representaciones de antropomorfos en el Magdaleniense medio cantábrico. *Zephyrus* 51, 35-60.
195. Corchón, M.S. (1999) Solutrense y Magdaleniense del Oeste de la cornisa Cantábrica: Dataciones ^{14}C (Calibradas) y marco cronológico. *Zephyrus* 52, 3-32.
196. Corchón, M.S. (2014) La Cueva de Las Caldas (Priorio, Norte de España). In *Los cazadores recolectores del Pleistoceno y del Holoceno en Iberia y el estrecho de Gibraltar: Estado actual del conocimiento del registro arqueológico* (Sala Ramos, R., ed.), 64-71, Universidad de Burgos y Fundación Atapuerca.
197. Corchón, M.S., y Álvarez, E. (2008) Nuevas evidencias de restos de mamíferos marinos en el Magdaleniense: los datos de la Cueva de Las Caldas (Asturias, España). *Munibe* 59, 47-66.
198. Corchón, M.S*., et al.* (1997) *La cueva de La Griega de Pedraza (Segovia)*. Consejería de Educación y Cultura de la Junta de Castilla y León.
199. Corchón, M.S*., et al.* (2009) Documentación, modelado y reconstrucción 3D de la cueva de Las Caldas (Oviedo): el yacimiento y el arte parietal. In *Excavaciones arqueológicas en Asturias 2003-2006* (Gobierno del Principado de Asturias: Trabe, ed.), 355-366.
200. Cramer, B. (2002) *Morphometrische unterschungen an quartären Pferden in Mitteleuropa*. Eberhard Karls Universität Tübingen.
201. Crees, J.J., y Turvey, S.T. (2014) Holocene extinction dynamics of Equus hydruntinus, a late-surviving European megafaunal mammal. *Quaternary Science Reviews* 91, 16-29.
202. Cuadrado, E. (1956) La diosa ibérica de los caballos. In *Actas de la Cuarta Sesión del Congreso Internacional de Ciencias Prehistóricas y Protohistóricas*, 797-810.
203. D´Andrade, R. (1945) O cavalo do Sorraia. *Boletim Pecuário* 3, 105-117.
204. da Silveira, J. (1948) Estudos sobre o vocabulario português (Formas, sentidos, prosódia, origens) 8. Zevro, zebra. *Revista Portuguesa de Filológia* 2, 220-247.
205. Darriba, D*., et al.* (2012) jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9, 772-772.
206. Darwin, C. (1868) *The variation of animals and plants under domestication. Primera edición*. John Murray. Vol.1., www.darwin-online.org.uk.
207. Darwin, C. (1875) *The variation of animals and plants under domestication. Segunda edición*. John Murray. Vol.1, www.darwin-online.org.uk.
208. Davis, S.J. (1980) Late Pleistocene and Holocene equid remains from Israel. *Zoological Journal of the Linnean Society* 70, 289-312.
209. de Aragón, E. (1766) Arte Cisoria o tratado del arte del cortar del cuchillo. 197.
210. de Fraga, E. (1958) Catálogo bibliográfico de la fauna cuaternaria asturiana. *Speleon* Año IX, 71-143.
211. de Francesco, L*., et al.* (1980) Uniparental propagation of mitochondrial DNA in mouse-human cell hybrids. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 77, 4079-4083.
212. de Palol, P. (1983) Una hiposandalia o "solea ferrea", de Clunia. In *Homenaje al Prof. Martín Almagro Basch*, 423-428, Ministerio de Cultura.
213. de Ureña y Smejaud, R., y Bonilla y San Martín, A. (1907) *Fuero de Usagre (Siglo XIII) anotado con las variantes del de Cáceres*. Hijos de Reus, Editores.

214. Debruyne, R., y Poinar, H.N. (2009) Time dependency of molecular rates in ancient DNA data sets, a sampling artifact? *Systematic Biology* 58, 348-360.
215. del Pan, I. (1948) Agero Merino (Santos) - "Zebro, Onagro". *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural* 46, 277-278.
216. del Rincón, M.Á. (2002) El Calcolítico y la Edad del Bronce. In *Prehistoria de la Península Ibérica* (Barandiarán, I.*, et al.*, eds.), 219-343, Ariel.
217. Delgado, A. (2008) Fenicios en Iberia. In *De Iberia a Hispania* (Gracia, F., ed.), 347-474, Ariel.
218. Delibes de Castro, G. (1980) Un presunto depósito del Bronce Final del Valle de Vidriales (Zamora). *Trabajos de Prehistoria* 37, 221-246.
219. Delibes de Castro, G.*, et al.* (1995) Panorama arqueológico de la Edad del Hierro en el Duero medio. In *Arqueología y medio ambiente en el primer milenio aC. en el Duero medio* (Delibes de Castro, G.*, et al.*, eds.), 49-146, Junta de Castilla y León.
220. Demuro, M.*, et al.* (*in press*) Single-grain OSL dating of the Middle Palaeolithic site of Galería de las Estatuas, Atapuerca (Burgos, Spain). *Quaternary Geochronology*.
221. den Tex, R.-J.*, et al.* (2010) Nuclear copies of mitochondrial genes: another problem for ancient DNA. *Genetica* 138, 979-984.
222. Dent, A., y Machin, D. (1962) Roman Britain. In *A history of British native ponies*, 35-52, Allen, J.A.
223. Der Sarkissian, C.*, et al.* (2015a) Mitochondrial genomes reveal the extinct *Hippidion* as an outgroup to all living equids. *Biology Letters* 11, 20141058.
224. Der Sarkissian, C.*, et al.* (2015b) Evolutionary genomics and conservation of the endangered Przewalski's Horse. *Current Biology* 25, 2577-2583.
225. Di Bernardo, G.*, et al.* (2004) Genetic characterization of Pompeii and Herculaneum Equidae buried by Vesuvius in 79 AD. *Journal of Cellular Physiology* 199, 200-205.
226. Diamond, J. (2002) Evolution, consequences and future of plant and animal domestication. *Nature* 418, 700-707.
227. Díez, J.C.*, et al.* (1998) Torrejones (Tamajón, Guadalajara, Spain). A hyaena den on human occupation. In *Économie Préhistorique: Les comportements de subsistance au paléolithique. Actes des VIII^{e} Rencontres Internationales d' Archéologie et d' Histoire d' Antibes, 23-25 octobre 1997* (Brugal, J.-P.*, et al.*, eds.), 63-72, APDCA, Sophia Antipolis.
228. Domenech, E. (2001) Cova Beneito (Muro, Alacant). In *De neandertales a cromañones. El inicio del problamiento humano en las tierras valencianas* (Villaverde, V., ed.), 403-406, Universitat de València.
229. Domingo, M.S.*, et al.* (2005) La fauna cuaternaria de la cornisa cantábrica en las colecciones del Museo Nacional de Ciencias Naturales. *Munibe* 57, 5-30.
230. Dovc, P.*, et al.* (2006) Development of the Lipizzan horse breed. *Reproduction in Domestic Animals* 41, 280-285.
231. Driesch, A.v.d. (1972) Osteoarchaologische Untersuchungen auf der Iberischen Halbinsel. In *Studien über frühe Tierknochenfunde von der Iberischen Halbinsel*, 1-267, Deutsches Archäologisches Institut Abteilung Madrid.
232. Driesch, A.v.d. (1974) Informe preliminar acerca de los huesos de animales del corte 3 del "Cerro de la Encina" (Monachil, Granada). *Excavaciones Arqueológicas en España. Excavaciones en el poblado de la Edad del Bronce "Cerro de la Encina", Monachil (Granada) (El corte estratigráfico nº3)* 81, 151-157.
233. Driesch, A.v.d. (2000) Revision zum Vorkommen des *Equus* (*Asinus*) *hydruntinus* (Regalia 1907) im Chalkolithikum der Iberischen Halbinsel. *Archaeofauna* 9, 35-38.
234. Driesch, A.v.d., y Boessneck, J. (1969) Die fauna des Cabezo Redondo bei Villeba (Prov. Alicante). In *Studien uber fruhe Tierknochenfunde von der Iberische Halbinsel*, 43-95.
235. Driesch, A.v.d., y Boessneck, J. (1976) Die fauna vom Castro do Zambujal. In *Studien über frühe Tierknochenfunde von der Iberischen Halbinsel*, 1-129, Deutsches Archäologisches Institut Abteilung Madrid.

236. Driesch, A.v.d*., et al.* (1985) Tierknochenfunde aus der Bronzezeitlichen höhensiedlung Fuente Álamo, provinz Almería. In *Studien über frühe Tierknochenfunde von der Iberischen Halbinsel 9*, 1-75, Deutsches Archäologisches Institut Abteilung Madrid.
237. Driesch, A.v.d., y Morales, A. (1977) Los restos animales del yacimiento de Terrera Ventura (Tabernas, Almería). *Cuadernos de Prehistoria y Arqueología* 4, 15-34.
238. Drummond, A.J., y Bouckaert, R.R. (2015) *Bayesian Evolutionary Analysis with BEAST*. Cambridge University Press.
239. Drummond, A.J*., et al.* (2007) A rough guide to BEAST v1.4. 41.
240. Drummond, A.J*., et al.* (2003) Measurably evolving populations. *Trends in Ecology y Evolution* 18, 481-488.
241. Drummond, A.J., y Rambaut, A. (2007) BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* 7, 214.
242. Drummond, A.J., y Rambaut, A. (2009) Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. In *The Phylogenetic Handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing* (Lemey, P*., et al.*, eds), 564-591, Cambridge Universtiy Press.
243. Drummond, A.J*., et al.* (2005) Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Molecular Biology and Evolution* 22, 1185-1192.
244. Drummond, A.J*., et al.* (2012) Bayesian Phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution* 29, 1969-1973.
245. Duchêne, S*., et al.* (2015) The performance of the Date-Randomization Test in phylogenetic analyses of time-structured virus data. *Molecular Biology and Evolution* 32, 1895-1906.
246. Edwards, C.J*., et al.* (2004) Ancient DNA analysis of 101 cattle remains: limits and prospects. *Journal of Archaeological Science* 31, 695-710.
247. Eisenmann, V. (1979) Caractères évolutifs et phylogénie du genre *Equus* (Mammalia; Perissodactyla). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Série D* 288, 497–500.
248. Eisenmann, V. (1981) Étude des dents jugales inférieures des *Equus* (Mammalia, Perissodactila) actuels et fossiles. *Palaeovertebrata* 10, 127-226.
249. Eisenmann, V. (1992) Systematic and biostratigraphical interpretation of the equids from Qafzeh, Tabun, Shkul and Kebara (Acheuloyabrudian to Upper Paleolithic of Israel). *Archaeozoologia* 1, 43-62.
250. Eisenmann, V. (1998) Folivores et tondeurs d'herbe: forme de la symphyse mandibulaire des équidés et des tapiridés (Perisodactyla, Mammalia). *Geobios* 31, 113-123.
251. Eisenmann, V*., et al.* (1988) *Studying fossil horses. Volume I: Methodology. Collected papers after the "New York International Hipparion Conference, 1981"*. E.J. Brill.
252. Eisenmann, V*., et al.* (2008) Old World Hemiones and New World slender species (Mammalia, Equidae). . *Palaeovertebrata* 36, 159-233.
253. Eisenmann, V., y Mashkour, M. (1999) The small equids of Binagady (Azerbaidjan) and Qazvin (Iran): *E. hemionus binagadensis* nov. subsp. and *E. hydruntinus*. *Geobios* 32, 105–122.
254. Eisenmann, V., y Patou, M. (1980) La faune de la grotte Felines-Termenes (Aude). Résultats préliminaires et étude détaillée des restes d'*Equus hydruntinus* (Mammalia, Perissodactyla). *L'Anthropologie (Paris)* 84, 633-649.
255. Elsner, J*., et al.* (2016) Mitochondrial d-loop variation, coat colour and sex identification of Late Iron Age horses in Switzerland. *Journal of Archaeological Science: Reports* 6, 386-396.
256. Ervynck, A*., et al.* (2001) Born free? New evidence for the status of *Sus scrofa* at Neolithic Çayönü Tepesi (Southeastern Anatolia, Turkey). *Paléorient* 27, 47-73.
257. Estévez, J. (1986) Avance al estudio de los restos óseos de las escombreras de la Cruz de San Pelayo y Entrecaminos. In *La Edad del Hierro en el valle medio del Duero. Rauda (Roa, Burgos)* (Sacristán de Lama, J.D., ed.), 261-262, Consejería de Educación y Cultura de la Junta de Castilla y León y Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Valladolid.

258. Estévez, J. (1988) Estudio de los restos faunísticos. In *Cova Fosca. Un asentamiento meso-neolítico de cazadores y pastores en la serranía del Alto Maestrazgo*, 281-337, Servicio de Arqueología de la Diputación de Castellón.
259. Estrabón (Edición del año 1998) *Geografía, Libro III*. Editorial Gredos.
260. Falkenberg, M.*, et al.* (2007) DNA replication and transcription in mammalian mitochondria. *Annual Review of Biochemistry* 76, 679-699.
261. FAO (2007) *The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture*.
262. Felsenstein, J. (1985) Confidence limits on phylogenies: and approach using the bootstrap. *Evolution* 39, 783-791.
263. Felsenstein, J. (2004) *Inferring Phylogenies*. Sinauer Associates, Inc.
264. Fernández Tresguerres, J.A. (1989) Thoughts on the transition from the Magdalenian to the Azilian in Cantabria: Evidences from the Cueva de los Azules, Asturias. In *The Mesolithic in Europe: Papers presented at the Third International Symposium* (Bonsall, C., ed), 582-588, John Donald Publishers.
265. Fernández Vega, A., y Hernando, A. (2010a) El horizonte campaniforme. In *Prehistoria II. Las sociedades metalúrgicas* (Fernández Vega, A., ed.), 189-204, Editorial Centro de Estudios Ramón Areces.
266. Fernández Vega, A., y Hernando, A. (2010b) El calcolítico en Europa: diversidad geográfica, cultural y cronológica. In *Prehistoria II. Las sociedades metalúrgicas* (Fernández Vega, A., ed.), 157-187, Editorial Centro de Estudios Ramón Areces.
267. Fernández Galiano, D. (1957) El encebro o asno salvaje en el Teruel medieval y consideraciones sobre su extinción. *Teruel* 17/18, 127-141.
268. Fluxus Technology Ltd (2012) Network 4.6.1.1. User guide.
269. Foltz, R.C. (2006) *Animals in Islamic tradition and Muslim cultures*. Oneworld.
270. Forsten, A. (1986) A review of the Süssenborn horses and the origin of *Equus hydruntinus* Regàlia. *Quartärpaläontologie* 6, 43-52.
271. Forsten, A. (1990) Old World "asses". *Quartärpaläontologie* 8, 71-78.
272. Forsten, A. (1999) A review of *Equus stenonis* Cocchi (Perissodactyla, Equidae) and related forms. *Quaternary Science Reviews* 18, 1373-1408.
273. Forsten, A., y Ziegler, R. (1995) The horses (Mammalia, Equidae) from the early Wuermian of Villa Seckendorff, Stuttgart-Bad Cannstadt, Germany. *Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde, Series B (Geologie und Paläontologie)* 224 1–22.
274. Fortea, J. (1975) En torno a la cronología relativa del inicio del arte levantino. Avance sobre las pinturas rupestres de la Cueva de la Cocina. *Papeles del Laboratorio de Arqueología de Valencia* 11, 185-197.
275. Fortea, J.*, et al.* (2008) Excavation protocol of bone remains for Neandertal DNA analysis in El Sidrón Cave (Asturias, Spain). *Journal of Human Evolution* 55, 353-357.
276. Fulton, T.L. (2012) Setting up an ancient DNA laboratory. In *Ancient DNA.Methods and Protocols*, 1-11, Humana Press.
277. Galindo-Pellicena, M.Á. (2014a) Estudio de la macrofauna de los niveles holocenos del yacimiento de El Portalón (Sierra de Atapuerca, Burgos). In *Departamento de Paleontología*, 611, Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Ciencias Geológicas.
278. Galindo-Pellicena, M.Á.*, et al.* (2014b) La gestión de *Ovis aries* y *Capra hircus* en los niveles calcolítico y bronce del yacimiento de El Portalón (Atapuerca, Burgos). In *Investigaciones arqueológicas en el valle del Duero: Del Paleolítico a la Antigüedad Tardía. III Jornadas de Jóvenes Investigadores del Valle del Duero. Salamanca, 20, 21 y 22 de noviembre de 2013* (González de la Fuente, F.J.*, et al.*, eds.), 83-100, Glyphos Publicaciones.
279. Galindo-Pellicena, M.Á.*, et al.* (2017a) Evidences of the use of cattle as draught animals in Chalcolithic of El Portalón (Sierra de Atapuerca, Burgos). *Quaternary International* 438, 1-10.
280. Galindo-Pellicena, M.Á.*, et al.* (2017b) The equids from the Bronze Age levels of the El Portalón site (Atapuerca, Burgos, Spain). *Quaternary International* 433, 124-141.

281. Gallart, M.D., y Martí, B. (1980) La secuencia estratigráfica y las dataciones absolutas. In *Cova de l'Or (Beniarrés, Alicante)*, 13-25, Servicio de Investigación Prehistórica. Diputación Provincial de Valencia.
282. Galobart, Á*., et al.* (1996) Las faunas cuaternarias de mamíferos de la cuenca de Banyoles-Besalú (Girona). *Revista Española de Paleontología* Nº Extraordinario, 248-255.
283. Gamba, C*., et al.* (2011) Ancient DNA from an Early Neolithic Iberian population supports a pioneer colonization by first farmers. *Molecular Ecology* 21, 45-56.
284. Garcés, I. (2007) El empleo del ronzal caballar en el norte del Ebro durante la Edad del Hierro y la época ibérica. *Gladius* XXVII, 67-84.
285. Garcés, I., and Graells, R. (2011) Ancient bronze horse muzzels of the Iberian Peninsula. *Gladius* XXXI, 7-42.
286. García de Salazar, L. (Edición del año 1999) *Istoria de la bienandanzas e fortunas* (Marían, A.M., ed.) (http://parnaseo.uv.es/Lemir/Textos/bienandanzas/Menu.htm)
287. García Dory, M.Á. (1980) *Asturcón. Caballo de los astures*. Caja de Ahorros de Asturias.
288. García Fitz, F. (2010) *La Reconquista*. Universidad de Granada.
289. García Ruiz, J.M*., et al.* (2016a) Mountain glacier evolution in the Iberian Peninsula during the Younger Dryas. *Quaternary Science Reviews* 138, 16-30.
290. García Ruiz, J.M*., et al.* (2016b) Evidencias de actividad glaciar durante el Dryas Reciente (12,9 - 11,7 ka BP) en la península Ibérica. *Cuaternario y Geomorfología* 30, 9-21.
291. Garesse, R., y Vallejo, C.G. (2001) Animal mitochondrial biogenesis and function: a regulatory cross-talk between two genomes. *Gene* 263, 1-16.
292. Gascón, E. (1986) La ceremonia como ciencia: El "arte cisoria" de Enrique de Villena. In *Actas del VIII Congreso de la Asociación Internacional de Hispanistas : 22-27 agosto 1983* (Kossoff, A.D*., et al.*, eds), 587-595.
293. Gascuel, O. (1997) BIONJ: an improved version of the NJ algorithm based on a simple model of sequence data. *Molecular Biology and Evolution* 14, 685-695.
294. Gaunitz, C*., et al.* (2018) Ancient genomes revisit the ancestry of domestic and Przewalski's horses. *Science* 360, 111-114.
295. Gautier, A. (1998) The "unacceptable face" of the Western European Paleolithic revisited: The evidence for the presumed domestication of the horse during that period In *International Union of Prehistoric and Protohistoric Sciences. Workshops-6*, 45-50, A.B.A.C.O.
296. Geigl, E.-M., y Grange, T. (2012) Eurasian wild asses in time and space: Morphological versus genetic diversity. *Annals of Anatomy* 194, 88-102.
297. Gentry, A*., et al.* (2004) The naming of wild animal species and their domestic derivatives. *Journal of Archaeological Science* 31: 645-651.
298. Gilbert, M.T.P*., et al.* (2006) Insights into the processes behind the contamination of degraded human teeth and bone samples with exogenous sources of DNA. *International Journal of Osteoarchaeology* 16, 156-164.
299. Gilbert, M.T.P*., et al.* (2005) Biochemical and physical correlates of DNA contamination in archaeological human bones and teeth excavated at Matera, Italy. *Journal of Archaeological Science* 32, 785-793.
300. Gimbutas, M. (1977) The first wave of Eurasian steppe pastoralists into Copper Age Europe. *Journal of Indoeuropean Studies* 5, 277-338.
301. Gómez Tabanera, J.M*., et al.* (1975) Première prospection de "Cueva Oscura de Ania" dans le bassin du Nalon (Las Regueras, Oviedo) et connaissance de ses vestiges d'Art Rupestre. *Bullletin de la Société Préhistorique de l'Ariège* 30, 59-67.
302. Gómez-Sánchez, D*., et al.* (2014) Mitochondrial DNA from El Mirador Cave (Atapuerca, Spain) Reveals the Heterogeneity of Chalcolithic Populations. *PLoS ONE* 9, e105105.
303. González, D. (1996) Codificación de las inserciones-delecciones en el análisis filogenético de secuencias génicas. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 59, 115-129.

304. Götherström, A., y Lidén, K. (1996) A modified DNA extraction method for bone and teeth. . *Laborativ Arkeologi* 9, 53-56.
305. Goto, H*., et al.* (2011) A massively parallel sequencing approach uncovers ancient origins and high genetic variability of endangered Przewalski's horses. *Genome Biology and Evolution* 3, 1096-1106.
306. Gracia, A*., et al.* (2009) Craniosynostosis in the Middle Pleistocene human Cranium 14 from the Sima de los Huesos, Atapuerca, Spain. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 6573-6578.
307. Gracia, A., y Lira, J. (2012) N 42° 22' 17''; 3° 32' 50'': El corazón de Atapuerca *Cadernos do GEEvH* 1, 9-16.
308. Graells, R*., et al.* (2014) *Cascos hispano-calcídicos. Símbolo de las élites guerreras celtibéricas*. Verlag des Römisch-Germanischen Zentralmuseums.
309. Green, R.E*., et al.* (2010) A draft sequence of the Neandertal genome. *Science* 328, 710-722.
310. Green, R.E*., et al.* (2006) Analysis of one million base pairs of Neanderthal DNA. *Nature* 444, 330-336.
311. Gromova, V. (1955) Traduction by Pietresson de Saint-Aubin from Gromova, V., 1949. Histoire des chevaux (genre *Equus*) de l'ancien monde (Première partie): Revue et description des formes, Vol 17. Travaux de l'Institut Paléontologique, Académie des Sciences de l'URSS. t.17 n1 p.1-373. *Annales du Centre d'études et de documentation paleontologiques* 13, 1-203, 253 fig., 208 pl., 220 tab.
312. Groves, C.P. (1986) The taxonomy, distribution, and adaptations of recent equids. In *Equids in the Ancient World* (Meadow, R.H., y Uerpmann, H.P., eds.), 11-65, Reichert Verlag, Ludwig.
313. Groves, C.P. (1994) Morphology, habitat and taxonomy. In *Przewalski's horse. The history and biology of an endangered species.* (Boyd, L., y Houpt, K.A., eds.), 39-60, State University of New York Press.
314. Groves, C.P. (1995) On the nomenclature of domestic animals. *Bulletin of Zoological Nomenclature* 52, 137-141.
315. Guillem, P.M*., et al.* (2015) Genets en l'art rupestre de les terres valencianes. *Cuadernos de Prehistoria y Arqueología Castellonenses* 33, 155-165.
316. Guindon, S*., et al.* (2010) New algorithms and methods to estimate Maximum-Likelihood phylogenies: Assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology* 59, 307-321.
317. Guindon, S., y Gascuel, O. (2003) A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by Maximum Likelihood. *Systematic Biology* 52, 696-704.
318. Guindon, S*., et al.* (2005) PHYML Online-a web server for fast maximum likelihood-based phylogenetic inference. *Nucleic Acids Research* 33, W557-W559.
319. Günther, T*., et al.* (2015) Ancient genomes link early farmers from Atapuerca in Spain to modern-day Basques. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112, 11917-11922.
320. Gutiérrez, C*., et al.* (2014) La industria ósea del sector 3C de Cova Fosca (Castellón). *Anejos a Cuadernos de Prehistoria y Arqueología Universidad Autónoma de Madrid* 1, 23-38.
321. Haak, W*., et al.* (2015) Massive migration from the steppe was a source for Indo-European languages in Europe. *Nature* 522, 207-211.
322. Hagelberg, E*., et al.* (1989) Ancient bone DNA amplified. *Nature* 342, 485.
323. Hall, S.J.G. (2005) The horse in human society. In *The domestic horse: The origins, development and management of its behaviour* (Mills, D.S., y McDonnell, S.M., eds.), 23-32, Cambridge University Press.
324. Hall, T.A. (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95／98／NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41, 95-98.
325. Hamilton Smith, C. (1866) *The Natural History of Horses, with memoir of Gesner*. Henry G. Bohn.
326. Handt, O*., et al.* (1994) Ancient DNA: Methodological Challenges. *Experientia* 50, 524-529.

327. Harrison, R., y Moreno, G. (1990) Moncín: Una secuencia cultural de la Edad del Bronce (Borja, Zaragoza). *Cuadernos de Estudios Borjanos* 23/24, 13-28.
328. Harrison, R.G. (1989) Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology. *Trends in Ecology y Evolution* 4, 6-11.
329. Hernández Pacheco, E. (1917) Los caballos del Cuaternario superior según el arte paleolítico. *Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de Madrid* 16, 505-531.
330. Hernández Pacheco, E. (1919) *La caverna de la Peña de Candamo (Asturias)*. Museo Nacional de Ciencias Naturales.
331. Hernández Pacheco, E. (1924) *Las pinturas prehistóricas de las cuevas de la araña (Valencia): evolución del arte rupestre de España*. Museo Nacional de Ciencias Naturales.
332. Hernández Pacheco, E. (1952) Tiempos Prehistóricos y Protohistóricos. In *El Solar en la Historia de España*, 1-62, Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de Madrid.
333. Hernández Pacheco, E. (1959) Arte rupestre hispano mesolítico. In *Prehistoria del Solar Hispano. Orígenes del arte pictórico*, 341-531, Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.
334. Hernández Pérez, M.S. (2006) Arte esquemático en la fachada oriental de la Península Ibérica. 25 años después. *Zephyrus* 59, 199-214.
335. Hernández Pérez, M.S. (2009) Arte rupestre postpaleolítico en el Arco Mediterráneo de la península ibérica. Balance de 10 años de descubrimientos y estudios. 10 años en la lista del Patrimonio Mundial de la UNESCO. Actas del IV Congreso (Valencia, 3, 4 y 5 de diciembre de 2008). In *El arte rupestre del Arco Mediterráneo de la península ibérica* (López, J.A*., et al.*, eds.), 59-79.
336. Hernández Pérez, M.S., y Martí, B. (2000-2001) El arte rupestre de la fachada mediterránea: entre la tradición epipaleolítica y la expansión neolítica. *Zephyrus* 53-54, 241-265.
337. Hernando, A. (1999) *Los primeros agricultores de la Península Ibérica. Una historiografía crítica del Neolítico*. Síntesis.
338. Heródoto (Edición del año 2000) *Los Nueve Libros de la Historia. Libro IV*. elaleph.com.
339. Hill, E.W*., et al.* (2002) History and integrity of thoroughbred dam lines revealed in equine mtDNA variation. *Animal Genetics* 33, 287-294.
340. Hillis, D.M., y Bull, J.J. (1993) An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology* 42, 182-192.
341. Ho, S.Y.W. (2012) Phylogenetic analysis of ancient DNA using BEAST. In *Ancient DNA: Methods y Protocols. Methods in Molecular Biology* (Shapiro, B., y Hofreiter, M., eds), 229-241, Springer Science + Business Media, LLC.
342. Ho, S.Y.W., y Duchêne, S. (2014) Molecular-clock methods for estimating evolutionary rates and timescales. *Molecular Ecology* 23, 5947-5965.
343. Ho, S.Y.W., y Shapiro, B. (2011) Skyline-plot methods for estimating demographic history from nucleotide sequences. *Molecular Ecology Resources* 11, 423-434.
344. Hofreiter, M*., et al.* (2001) Ancient DNA. *Nature Reviews Genetics* 2, 353-359.
345. Holder, M., y Lewis, P.O. (2003) Phylogeny estimation: traditional and Bayesian approaches. *Nature Reviews Genetics* 4, 275-284.
346. Hooijer, D.A. (1985) A further note on the fossil Anglo-Dutch ass from the North Sea. *Lutra* 28, 26-30.
347. Hordijk, W., y Gascuel, O. (2005) Improving the efficiency of SPR moves in phylogenetic tree search methods based on maximum likelihood. *Bioinformatics* 21, 4338-4347.
348. Höss, M*., et al.* (1996a) Molecular phylogeny of the extinct ground sloth *Mylodon darwinii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 93, 181-185.
349. Höss, M*., et al.* (1996b) DNA damage and DNA sequence retrieval from ancient tissues. *Nucleic Acids Research* 24, 1304-1307.
350. Höss, M., y Pääbo, S. (1993) DNA extraction from Pleistocene bones by a silica-based purification method. *Nucleic Acids Research* 21, 3913-3914.

351. Hoyos, M. (1981) Estudio Geológico de la Cueva de Las Caldas. In *Cueva de Las Caldas. San Juan de Priorio (Oviedo)* (Corchón, M.S., ed.), 9-56, Ministerio de Cultura.
352. Huber, K.T., y Moulton, V. (2005) Phylogenetic networks. In *Mathematics of evolution and phylogeny* (Gascuel, O., ed), 178-204, Oxford University Press.
353. Huelsenbeck, J.P., and Ronquist, F. (2001) MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17, 754-755.
354. Huelsenbeck, J.P*., et al.* (2001) Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. *Science* 294, 2310-2314.
355. Huson, D.H*., et al.* (2011) *Phylogenetic networks: concepts, algorithms and applications*. Cambridge University Press.
356. Huson, D.H., y Scornavacca, C. (2011) A survey of combinatorial methods for phylogenetic networks. *Genome Biology and Evolution* 3, 23-35.
357. Hutchison, C.A*., et al.* (1974) Maternal inheritance of mammalian mitochondrial DNA. *Nature* 251, 536-538.
358. Iñigo, C*., et al.* (1998) Los carnívoros del yacimiento pleistoceno de Cueva del Búho (Segovia, España) y sus huellas de actividad. *Estudios Geológicos* 54, 67-73.
359. Ishida, N*., et al.* (1995) Mitochondrial DNA sequences of various species of the genus *Equus* with special reference to the phylogenetic relationship between Przewalskii's wild horse and domestic horse. *Journal of Molecular Evolution* 41, 180-188.
360. Iturbe, G*., et al.* (1993) Cova Beneito (Muro, Alicante): Una perspectiva interdisciplinar. *Recerques del Museu d'Alcoi* 2, 23-88.
361. Izaguirre, N*., et al.* (1998) Genética y Arqueología: Análisis molecular de ADN procedente de restos esqueléticos. *Munibe* 50, 3-14.
362. Jansen, T*., et al.* (2002) Mitochondrial DNA and the origins of the domestic horse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99, 10905-10910.
363. Jia, S*., et al.* (2010) A new insight into cattle's maternal origin in six Asian countries. *Journal of Genetics and Genomics* 37, 173-180.
364. Jiménez, J. (2002) Elementos de carro y atalajes. In *La toréutica orientalizante en la Península Ibérica*, 213-233, Real Academia de la Historia.
365. Jiménez, J. (2005) Cancho Roano: el proceso de privatización de un espacio ideológico. *Trabajos de Prehistoria* 62, 105-124.
366. Jiménez, J. (2015) Alamares metálicos: un sistema de cierre para correajes ecuestres en la protohistoria de la península ibérica. *Gladius* XXXV, 35-60.
367. Jónsson, H*., et al.* (2014) Speciation with gene flow in equids despite extensive chromosomal plasticity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111, 18655-18660.
368. Jordá Cerdá, F. (1966) Notas para una revisión de la cronología del Arte Rupestre-levantino. *Zephyrus* 17, 47-76.
369. Jordá Cerdá, F. (1980) Reflexiones en torno al Arte Levantino. *Zephyrus* 30-31, 87-105.
370. Jordá Pardo, J.F. (2001) Dataciones isotópicas del yacimiento del Pleistoceno superior de Jarama VI (Alto valle del Jarama, Guadalajara, España) y sus implicaciones cronoestratigráficas. In *Studien in memoriam Wilhelm Schüle* (Büchner, D., ed.), 225-235, Verlag Marie Leidorf GmbH.
371. Jordá Pardo, J.F. (2007) The wild river and the last Neanderthals: a palaeoflood in the geoarchaeological record of the Jarama Canyon (Central Range, Guadalajara Province, Spain). *Geodinamica Acta* 20/4, 209-217.
372. Jordá Pardo, J.F*., et al.* (2003) El registro paleobiológico cuaternario del yacimiento arqueológico de la Cueva de Nerja (Málaga, España). *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural* 98, 73-89.
373. Jordá Pardo, J.F*., et al.* (2014) Jarama VI (Valdesotos, Guadalajara, Castilla-La Mancha). In *Los cazadores recolectores del Pleistoceno y del Holoceno en Iberia y el Estrecho de*

Gibraltar: Estado actual del conocimiento del registro arqueológico (Sala Ramos, R., ed), 531-533, Universidad de Burgos y Fundación Atapuerca

374. Jordá Pardo, J.F*., et al.* (2009) Radiocarbon and chronology of the Iron Age hillforts of Northwestern Iberia. In *Interpretierte Eisenzeiten. Fallstudien, Methoden, Theorie. Tagungsbeiträge der 3 Linzer Gespräche zur interpretativen Eisenzeitarchäologie. Studien zur Kulturgeschichte von Oberösterreich, 22* (Karl, R., y Leskovar, J., eds.), 81-98, Oberösterreichischen Landesmuseum.
375. Jover, F.J*., et al.* (2014) Radiocarbono y estadística bayesiana: aportaciones a la cronología de la Edad del Bronce en el extremo oriental del sudeste de la península ibérica. *Saguntum (P.L.A.V.)* 46, 41-69.
376. Juan-Cabanilles, J., y Martínez Valle, R. (1988) Fuente Flores (Requena, Valencia). Nuevos datos sobre el poblamiento y la economía del Neo-eneolítico valenciano. *Archivo de Prehistoria Levantina* 18, 181-231.
377. Juez, L. (2005) Estudio tipológico y contextualización de los materiales cerámicos recuperados en la campaña de 2000 en el yacimiento del Portalón de Cueva Mayor (Sierra de Atapuerca, Burgos). In *Departamento de Ciencias Históricas y Geografía*, 2007, Universidad de Burgos.
378. Kakoi, H*., et al.* (2007) Molecular analysis using mitochondrial DNA and microsatellites to infer the formation process of Japanese native horse populations. *Biochemical Genetics* 45, 375-395.
379. Kavar, T*., et al.* (2002) History of Lipizzan horse maternal lines as revealed by mtDNA analyses. *Genetics Selection Evolution* 34, 635-648.
380. Kavar, T*., et al.* (1999) Mitochondrial D-loop sequence variation among the 16 maternal lines of the Lipizzan horse breed. *Animal Genetics* 30, 423-430.
381. Kefi, R. (2011) Ancient DNA investigations: a review on their significance in different research fields. *International Journal of Modern Anthropology* 4, 61-76.
382. Kehl, M*., et al.* (2013) Late Neanderthals at Jarama VI (central Iberia)? *Quaternary Research* 80, 218-234.
383. Keyser-Tracqui, C*., et al.* (2005) Mitochondrial DNA analysis of horses recovered from a frozen tomb (Berel site, Kazakhstan, 3rd Century BC). *Animal Genetics* 36, 203-209.
384. Kim, K.-I*., et al.* (1999) Phylogenetic relationships of Cheju horses to other horse breeds as determined by mtDNA D-loop sequence polymorphism. *Animal Genetics* 30, 102-108.
385. Kimura, B*., et al.* (2011) Ancient DNA from Nubian and Somali wild ass provides insights into donkey ancestry and domestication. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 278, 50-57.
386. Kingman, J.F.C. (1982) The coalescent. *Stochastic Processes and their Applications* 13, 235-248.
387. Kitchin, P.A*., et al.* (1990) Avoidance of false positives. *Nature* 344, 201.
388. Knapp, M*., et al.* (2012) Setting the stage - Building and working in an ancient DNA laboratory. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger* 194, 3-6.
389. Kolman, C.J., y Tuross, N. (2000) Ancient DNA analysis of human populations. *American Journal of Physical Anthropology* 111, 5-23.
390. Krause, J*., et al.* (2010a) A complete mtDNA genome of an Early Modern Human from Kostenki, Russia. *Current Biology* 20, 231-236.
391. Krause, J*., et al.* (2010b) The complete mitochondrial DNA genome of an unknown hominin from southern Siberia. *Nature* 464, 894-897.
392. Krings, M*., et al.* (1997) Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans. *Cell* 90, 19-30.
393. Kuhner, M.K. (2009) Coalescent genealogy samplers: windows into population history. *Trends in Ecology y Evolution* 24, 86-93.
394. Kuznetsov, P.F. (2006) The emergence of Bronze Age chariots in eastern Europe. *Antiquity* 80, 638-645.

395. Larkin, M.A*., et al.* (2007) Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23, 2947-2948.
396. Larson, G*., et al.* (2007) Ancient DNA, pig domestication, and the spread of the Neolithic into Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104, 15276-15281.
397. Larson, G., y Burger, J. (2013) A population genetics view of animal domestication. *Trends in Genetics* 29, 197-205.
398. Larson, G*., et al.* (2005) Worldwide Phylogeography of Wild Boar Reveals Multiple Centers of Pig Domestication. *Science* 307, 1618-1621.
399. Larson, G., y Fuller, D.Q. (2014) The evolution of animal domestication. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 45, 115-136.
400. Lauk, H.D. (1976) Tierknochenfunde aus bronzezeitlichen Siedlungen bei Monachil und Purullena (Provinz Granada). In *Studien über frühe Tierknochenfunde von der Iberischen Halbinsel*, 1-117, Institut für Palaeoanatomie, Domestikationsforschung und Geschichte der Tiermedizin der Universität München.
401. Ledesma, M.L. (1989) La caza en las cartas de población y fueros de la extremadura aragonesa. *Aragón en la Edad Media* 8, 427-440.
402. Legge, A.J. (1994) Restos faunísticos y su interpretación. In *Moncín: una poblado de la Edad del Bronce (Borja, Zaragoza)* (Harrison, R*., et al.*, eds.), 453-483.
403. Lei, C.-Z*., et al.* (2007) African maternal origin and genetic diversity of Chinese domestic donkeys. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences* 20, 645-652.
404. Lei, C.-Z*., et al.* (2009) Multiple maternal origins of native modern and ancient horse populations in China. *Animal Genetics* 40, 933-944.
405. Levine, M. (2004) Exploring the criteria for early horse domestication. In *Traces of ancestry: studies in honour of Colin Renfrew* (Jones, M., ed.), 115-126, McDonald Institute for Archaeological Research.
406. Levine, M.A. (2005) Domestication and early history of the horse. In *The domestic horse: The origins, development and management of its behaviour* (Mills, D.S., y McDonnell, S.M., eds.), 5-22, Cambridge University Press.
407. Librado, P*., et al.* (2015) Tracking the origins of Yakutian horses and the genetic basis for their fast adaptation to subarctic environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112, E6889-E6897.
408. Librado, P*., et al.* (2017) Ancient genomic changes associated with domestication of the horse. *Science* 356, 442-445.
409. Librado, P., y Rozas, J. (2009) DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25, 1451-1452.
410. Liesau, C. (1998) El Soto de Medinilla: Faunas de mamíferos de la Edad del Hierro en el valle del Duero (Valladolid, España). *Archaeofauna* 7, 11-210.
411. Liesau, C. (2005) Arqueozoología del caballo en la antigua Iberia. *Gladius* XXV, 187-206.
412. Lillo, P.A*., et al.* (2004) *El caballo en la sociedad ibérica. Una aproximación al Santuario de El Cigarralejo*. Universidad de Murcia.
413. Lindahl, T. (1993) Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 362, 709-715.
414. Lindahl, T. (2000) Fossil DNA. *Current Biology* 10, R616.
415. Lindgren, G*., et al.* (2004) Limited number of patrilines in horse domestication. *Nature Genetics* 36, 335-336.
416. Lippold, S*., et al.* (2011a) Discovery of lost diversity of paternal horse lineages using ancient DNA. *Nature Communications* 2.
417. Lippold, S*., et al.* (2011b) Whole mitochondrial genome sequencing of domestic horses reveals incorporation of extensive wild horse diversity during domestication. *BMC Evolutionary Biology* 11.
418. Lira, J*., et al.* (2012) Genetic diversity during the first millenium BC of Iberian *Equus asinus* mitochondrial DNA samples. In *Book of abstracts of the 5th Archaeozoology and Genetics ICAZ Working Group* (Schlumbaum, A*., et al.*, eds.), 39.

419. Lira, J.*, et al.* (2010) Ancient DNA reveals traces of Iberian Neolithic and Bronze Age lineages in modern Iberian horses. *Molecular Ecology* 19, 64-78.
420. Lister, A.M.*, et al.* (1998) Ancient and modern DNA in a study of horse domestication. *Ancient Biomolecules* 2, 267-280.
421. Llorente, L. (2010) The hares from Cova Fosca (Castellón, Spain). *Archaeofauna* 19, 59-97.
422. Llorente, L.*, et al.* (2016) Hidden signatures of the Mesolithic-Neolithic transition in Iberia: The pine marten (*Martes martes* Linnaeus, 1758) and beech marten (*Martes foina* Erxleben, 1777) from Cova Fosca (Spain). *Quaternary International* 403, 174-186.
423. Llorente, L.*, et al.* (2014) Herders or Hunters? Discriminating butchery practices through phalanx breakage patterns at Cova Fosca (Castellón, Spain). *Quaternary International* 330, 61-71.
424. Loftus, R.T.*, et al.* (1994) Evidence for two independent domestications of cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91, 2757-2761.
425. Lopes, M.S.*, et al.* (2005) The Lusitano horse maternal lineage based on mitochondrial D-loop sequence variation. *Animal Genetics* 36, 196-202.
426. López Domech, R. (1999) Economía y religión: Apuntes para una Interpretación del Palacio-Santuario de Cancho Roano (Zalamea de la Serena, Badajoz). *Arys: Antigüedad: religiones y sociedades* 2, 49-68.
427. López Payer, M., y Soria, M. (1991) Análisis estilístico de los conjuntos del "Canjorro de Peñarrubia", "Doña Clotilde", "Abrigo del tío Campano" y "Selva Pascuala". *Espacio, Tiempo y Forma. Serie I, Prehistoria y Arqueología* 4, 219-239.
428. López Sáez, J.A.*, et al.* (2008) Crisis climáticas en la Prehistoria de la Península Ibérica: el Evento 8200 cal. BP como modelo. In *Actas VII Congreso Ibérico de Arqueometría (Madrid, 8-10 octubre 2007): 77-86* (Rovira, S.*, et al.*, eds.), 77-86, Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
429. López Torrijos, R. (2006) Visitas a las cuevas de Atapuerca y Santander en el siglo XVI. *Boletín del Museo e Instituto "Camón Aznar"* 97, 185-203.
430. Lorenzen, E.D.*, et al.* (2011) Species-specific responses of Late Quaternary megafauna to climate and humans. *Nature* 479, 359-364.
431. Lorenzo, C.*, et al.* (2012) New human fossil to the last Neanderthals in central Spain (Jarama VI, Valdesotos, Guadalajara, Spain). *Journal of Human Evolution* 62, 720-725.
432. Lorrio, A.J., y Royo Guillén, J.I. (2013) El guerrero celtibérico de Mosqueruela (Teruel): una pintura rupestre excepcional de la Edad del Hierro en el Alto Maestrazgo turolense. *Antiqvitas* 25, 85-107.
433. Lucas, M.R. (2004) Narigón y ronzal *versus* bocado de caballo: el arrastre de los équidos. *Gladius* XXIV, 99-108.
434. Lucas, M.R., y Rubio de Miguel, I. (1990) Introducción del caballo como animal de montura en la Meseta: problemática. *Zephyrus* 39-40, 437-444.
435. Ludwig, A.*, et al.* (2009) Coat color variation at the beginning of horse domestication. *Science* 324, 485.
436. Luikart, G.*, et al.* (2006) Origins and difussion of domestic goats inferred from DNA markers. In *Documenting Domestication. New genetic and archaeological paradigms* (Zeder, M.A.*, et al.*, eds.), 294-305, University of California Press.
437. Luikart, G.*, et al.* (2001) Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98, 5927-5932.
438. Luís, C.*, et al.* (2002) Variation in the mitochondrial control region sequence between the two maternal lines of the Sorraia horse breed. *Genetics and Molecular Biology* 25, 309-311.
439. Luís, C.*, et al.* (2006a) A lost Sorraia maternal lineage found in the Lusitano horse breed. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 123, 399–402.

440. Luís, C.*, et al.* (2006b) Iberian origins of New World horse breeds. *Journal of Heredity* 97, 107-113.
441. Luo, Y.*, et al.* (2011) Mitochondrial genome sequence of the Tibetan wild ass (*Equus kiang*). *Mitochondrial DNA* 22, 6-8.
442. MacHugh, D.E., y Bradley, D.G. (2001) Livestock genetic origins: Goats buck the trend. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98, 5382-5384.
443. MacHugh, D.E.*, et al.* (2000) The extraction and analysis of ancient DNA from bone and teeth: a survey of current methodologies. *Ancient Biomolecules* 3, 81-102.
444. Magaña, E.*, et al.-traductores* (2014) *Strategikon: Mauricio, emperador de Oriente*. Ministerio de Defensa.
445. Maldonado, E. (1996) Revisión de los équidos del Pleistoceno medio y superior de España. In *Departamento de Biología Animal I. Facultad de Ciencias Biológicas*, 249, Universidad Complutense de Madrid.
446. Maluquer, J. (1981) *El santuario protohistórico de Zalamea de la Serena, Badajoz. 1978-1981*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Institución Milá y Fontanals, Universidad de Barcelona, Instituto de Arqueología y Prehistoria
447. Maluquer, J.*, et al.* (1986) *El santuario protohistórico de Zalamea de la Serena, Badajoz. Volumen III, 1983-1986*. Universidad de Barcelona. Instituto de Arqueología y Prehistoria
448. Manhart, H.*, et al.* (2000) Investigaciones arqueozoológicas en Fuente Álamo. In *Fuente Álamo. Las excavaciones arqueológicas 1977-1991 en el poblado de la Edad del Bronce* (Schubart, H.*, et al.*, eds.), 223-240, Consejería de Cultura de la Junta de Andalucía.
449. Mariezkurrena, K. (1990) Caza y Domesticación durante el Neolítico y Edad de los Metales en el País Vasco. *Munibe* 42, 241-252.
450. Marklund, S.*, et al.* (1995) Extensive mtDNA diversity in horses revealed by PCR–SSCP analysis. *Animal Genetics* 26, 193-196.
451. Martí, B.*, et al.* (2001) Los tubos de hueso de la Cova de l'Or (Beniarrés, Alicante). Instrumentos musicales en el Neolítico antiguo de la Península Ibérica. *Trabajos de Prehistoria* 58, 41-67.
452. Martín, P.*, et al.* (2009) La gestión de los recursos faunísticos durante el Neolítico en la Sierra de Atapuerca (Burgos): los niveles 19 y 20 de la Cueva del Mirador. *Trabajos de Prehistoria* 66, 77-92.
453. Martín, P.*, et al.* (2014) The status problem of Iberian Holocene equids: new data from Cueva de El Mirador (sierra de Atapuerca, Spain). *International Journal of Osteoarchaeology* 26, 232-245.
454. Martínez, I.*, et al.* (2004) Auditory capacities in Middle Pleistocene humans from the Sierra de Atapuerca in Spain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101, 9976-9981.
455. Martínez Valle, R.*, et al.* (2016) Los caballos de Fuente Flores (Requena, Valencia). Una aportación al estudio de la domesticación del caballo en la península ibérica. In *The horse and the bull in Prehistory and History* (Coimbra, A., ed), 63-73, Cordero Editore.
456. Martínez-Pillado, V.*, et al.* (2010) Clima y ocupaciones en la Galería de Estatuas (Atapuerca, Burgos) en los últimos 14.000 años: Relatos de una estalagmita. *Munibe* 61, 89-102.
457. Matoso, R.*, et al.* (2015) Tracing the history of the horse in Iberia and North Africa through ancient DNA. In *ArchaeoAnalytics. Chromatography and DNA analysis in archaeology* (Oliveira, C.*, et al.*, eds), 217-227, Município de Esposende.
458. McGahern, A.*, et al.* (2006a) Evidence for biogeographic patterning of mitochondrial DNA sequences in Eastern horse populations. *Animal Genetics* 37, 494-497.
459. McGahern, A.M.*, et al.* (2006b) Mitochondrial DNA sequence diversity in extant Irish horse populations and in ancient horses. *Animal Genetics* 37, 498-502.
460. Mederos, A. (2008) El Bronce Final. In *De Iberia a Hispania* (Gracia, F., ed.), 19-91, Ariel.
461. Meiri, M.*, et al.* (2013) Late-glacial recolonization and phylogeography of European red deer (*Cervus elaphus* L.). *Molecular Ecology* 22, 4711-4722.

462. Meréa, P. (1925) A palavra "Zevro". *Revista Lusitana* 25, 284-286.
463. Meyer, M.*, et al.* (2016) Nuclear DNA sequences from the Middle Pleistocene Sima de los Huesos hominins. *Nature* 531, 504-507.
464. Meyer, M.*, et al.* (2014) A mitochondrial genome sequence of a hominin from Sima de los Huesos. *Nature* 505, 403-406.
465. Miller, M.A.*, et al.* (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, IEEE.
466. Mínguez, M.T. (2005) *Estudios sobre Atapuerca (Burgos): III. Los materiales del Bronce Final de "El Portalón" de Cueva Mayor*. Excma. Diputación de Burgos y Universidad de Deusto.
467. Minin, V.N.*, et al.* (2008) Smooth skyride through a rough skyline: bayesian coalescent-based inference of population dynamics. *Molecular Biology and Evolution* 25, 1459-1471.
468. Mirol, P.M.*, et al.* (2002) Phylogenetic relationships of Argentinean Creole horses and other South American and Spanish breeds inferred from mitochondrial DNA sequences. *Animal Genetics* 33, 356-363.
469. Molero, G.*, et al.* (1989) El yacimiento del Pleistoceno superior de la Cueva del Búho (Perogrodo, Segovia) y su fauna de vertebrados. In *Resúmenes V Jornadas de Paleontología*, 101-102.
470. Morales, A. (1991) Una fauna albacetense de la Edad del Bronce: La Morra del Quintanar (Munera). In *Jornadas sobre el medio natural albacetense*, 145-153, Instituto de Estudios Albacetenses de la Excma. Diputación de Albacete.
471. Morales, A., y Liesau, C. (1995) Análisis comparado de las faunas arqueológicas en el valle Medio del Duero (provincia de Valladolid) durante la Edad del Hierro. In *Arqueología y medio ambiente en el primer milenio aC. en el Duero medio* (Delibes de Castro, G.*, et al.*, eds), 455-514, Junta de Castilla y León
472. Morales, A.*, et al.* (1992) Primer informe sobre la fauna de mamíferos del yacimiento protohistórico de "Cueva Rubia" (Niveles III y IV), (Palencia). *Publicaciones de la Institución Tello Téllez de Meneses* 63, 133-159
473. Morell, I., y Garay, P. (1988) Aproximación al conocimiento kárstico y paleokárstico de la cavidad y su entorno. In *Cova Fosca. Un asentamiento meso-neolítico de cazadores y pastores en la serranía del Alto Maestrazgo*, 53-64, Servicio de Arqueología de la Diputación de Castellón.
474. Moreno, G. (1987) Informe sobre el yacimiento de Moncín (Borja, Zaragoza). *Boletín del Museo de Zaragoza* 6, 445-449.
475. Morrison, D.A. (2008) How to summarize estimates of ancestral divergence times. *Evolutionary Bioinformatics Online* 4, 75-95.
476. Moulton, V., y Huber, K.T. (2009) Split networks. A tool for exploring complex evolutionary relationships in molecular data. In *The Phylogenetic Handbook* (Lemey, P.*, et al.*, eds.), 631-653, Cambridge University Press.
477. Nadal, J.*, et al.* (1997) Nuevas aportaciones arqueozoológicas y arqueobotánicas del yacimiento magdaleniense de la Bora Gran d'en Carreras (Serinyà, Pla de l'Estany). In *El món mediterrani després del Pleniglacial (18.000-12.000 BP)* (Fullola, J.M., y Soler, N., eds), 365-373, Museu d'Arqueologia de Catalunya-Girona.
478. Nadal, J.*, et al.* (2005) Caballos y ciervos: una aproximación a la evolución climática y económica del Paleolítico superior en el Mediterráneo peninsular. *Munibe* 57, 313-324.
479. Naderi, S.*, et al.* (2008) The goat domestication process inferred from large-scale mitochondrial DNA analysis of wild and domestic individuals. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 17659-17664.
480. Naderi, S.*, et al.* (2007) Large-scale mitochondrial DNA analysis of the domestic goat reveals six haplogroups with high diversity. *PLoS ONE* 2, e1012.
481. Nei, M., y Kumar, S. (2000) *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press.
482. Nobis, G. (1971) *Vom Wildpferd zum Hauspferd, Böhland Verl.*

483. Nobis, G. (1974) Origen, domesticación y prehistoria del caballo doméstico. *Noticias Médico-Veterinarias* 3, 215-230.
484. Noonan, J.P*., et al.* (2005) Genomic sequencing of Pleistocene Cave Bears. *Science* 309, 597-599.
485. Nores, C., and Liesau, C. (1992) La zoología histórica como complemento de la arqueozoología. El caso del zebro. *Archaeofauna: International Journal of Archaeozoology* 1, 61-71.
486. Nores, C*., et al.* (2015) The Iberian zebro: what kind of beast was it? *Anthropozoologica* 50, 21-32.
487. Nunes, J. (1921-1922) Tentativa de identificaçao do animal chamado zevro nos documentos medievais. *Academia das Sciencias de Lisboa, Boletim da Segunda Classe* 16, 427-437.
488. Oakenfull, E.A*., et al.* (2000) A survey of equid mitochondrial DNA: Implications for the evolution, genetic diversity and conservation of *Equus*. *Conservation Genetics* 1, 341-355.
489. Obermaier, H. (1925) *El Hombre Fósil*. Ediciones Itsmo, Madrid.
490. Ogden, T.H., y Rosenberg, M.S. (2007) How should gaps be treated in parsimony? A comparison of approaches using simulation. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 42, 817-826.
491. Olària, C. (1988a) Cova Fosca: medio natural y entorno arqueológico. In *Cova Fosca. Un asentamiento meso-neolítico de cazadores y pastores en la serranía del Alto Maestrazgo*, 31-35, Servicio de Arqueología de la Diputación de Castellón.
492. Olària, C. (1988b) Resultado de las dataciones de radiocarbono. In *Cova Fosca. Un asentamiento meso-neolítico de cazadores y pastores en la serranía del Alto Maestrazgo*, 247-249, Servicio de Arqueología de la Diputación de Castellón.
493. Olària, C. (1988c) Fases de ocupación del yacimiento. In *Cova Fosca. Un asentamiento meso-neolítico de cazadores y pastores en la serranía del Alto Maestrazgo*, 251-254, Servicio de Arqueología de la Diputación de Castellón.
494. Olària, C. (1991) La fase reciente de Cova Fosca (Ares del Maestrat, Castellón). *Cuadernos de Prehistoria y de Arqueología Castellonenses* 15, 55-92.
495. Olària, C. (2012) El Parque de la Gasulla (Ares del Maestre, Castellón): un ensayo de interpretación para un territorio con testimonios rupestres. *Cuadernos de Prehistoria y de Arqueología Castellonenses* 30, 11-32.
496. Olària, C., y Gusi, F. (1981) Avance preliminar del yacimiento Neolítico antiguo de Cova Fosca (Castellón). *Cuadernos de Prehistoria y de Arqueología Castellonenses* 8, 129-145
497. Olària, C., y Gusi, F. (1988) Estratigrafía general de la cavidad. In *Cova Fosca. Un asentamiento meso-neolítico de cazadores y pastores en la serranía del Alto Maestrazgo*, 99-107, Servicio de Arqueología de la Diputación de Castellón.
498. Olsen, S. (1996) Horses through time. 222, Roberts Rinehart Publishers.
499. Oom, M.M., y Cothran, E.G. (1994) The genetic variation of an endangered breed: the Sorraia horse. *Animal Genetics* 27, 15.
500. Oota, H*., et al.* (1999) Molecular genetic analysis of remains of a 2,000-year-old human population in China - and ists relevance for the origin of the modern japanese population. *The American Journal of Human Genetics* 64, 250-258.
501. Orlando, L*., et al.* (2003) Morphological Convergence in *Hippidion* and *Equus* (*Amerhippus*) South American equids elucidated by ancient DNA analysis. *Journal of Molecular Evolution* 57, S29-S40.
502. Orlando, L*., et al.* (2013) Recalibrating *Equus* evolution using the genome sequence of an early Middle Pleistocene horse. *Nature* 499, 74-78.
503. Orlando, L*., et al.* (2008) Ancient DNA clarifies the evolutionary history of American Late Pleistocene equids. *Journal of Molecular Evolution* 66, 533-538.
504. Orlando, L*., et al.* (2006) Geographic distribution of an extinct equid (*Equus hydruntinus*: Mammalia, Equidae) revealed by morphological and genetical analyses of fossils. *Molecular Ecology* 15, 2083-2093.

505. Orlando, L*., et al.* (2009) Revising the recent evolutionary history of equids using ancient DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 21754-21759.
506. Ortega, A.I. (2009) La evolución geomorfológica del karst de la sierra de Atapuerca (Burgos) y su relación con los yacimientos pleistocenos que contiene. In *Departamento de Ciencias Históricas y Geografía. Facultad de Humanidades y Educación*, 761, Universidad de Burgos.
507. Ortega, A.I*., et al.* (2013) Evolution of multilevel caves in the Sierra de Atapuerca (Burgos, Spain) and its relation to human occupation. *Geomorphology* 196, 122-137.
508. Ortega, A.I*., et al.* (2008) El Neolítico en la nueva secuencia estratigráfica del yacimiento del Portalón de Cueva Mayor (sierra de Atapuerca, Burgos). In *Actas del IV Congreso del Neolítico Peninsular* (Hérnandez Pérez, M.S*., et al.*, eds.), 221-229, Diputación Provincial de Alicante.
509. Ortega, A.I., y Martín, M.A. (2005) Visita a la Cueva de Atapuerca en 1527, según la "Crónica Burlesca del emperados Carlos V" de Don Francés de Zúñiga. *Cubía* 8, 26-31.
510. Ortega, A.I*., et al.* (2005) El estudio de Cueva Mayor-Cueva del Silo: Un estudio morfogenético del endokarst de la Sierra de Atapuerca (Burgos, España). In *Geoarqueología y patrimonio en la Península Ibérica y el entorno mediterráneo* (Santonja, M*., et al.*, eds.), 161-179, Adema.
511. Ou, C.-Y*., et al.* (1991) Use of UV irradiation to reduce false positivity in Polymerase Chain Reaction. *BioTechniques* 10, 442-444.
512. Outram, A.K*., et al.* (2009) The earliest horse harnessing and milking. *Science* 323, 1332-1335.
513. Pääbo, S. (1989) Ancient DNA: extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 86, 1939-1943.
514. Pääbo, S. (2004) ADN antiguo. In *ADN. Cambios en la sociedad y en la ciencia* (Krude, T., ed.), 69-85, Akal Ciencia.
515. Pääbo, S*., et al.* (1988) Mitochondrial DNA sequences from a 7000-year old brain. *Nucleic Acids Research* 16, 9775-9787.
516. Pääbo, S*., et al.* (1989) Ancient DNA and the Polymerase Chain Reaction. *The Journal of Biological Chemistry* 264, 9709-9712.
517. Pääbo, S*., et al.* (2004) Genetic analyses from ancient DNA. *Annual Review of Genetics* 38, 645-679.
518. Pantoja, A*., et al.* (2011) Análisis paleontológicos del yacimiento del Pleistoceno superior de Cova Foradada (Xàbia, Alicante, España). *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural. Sección Geología* 105, 53-66.
519. Paradis, E. (2010) pegas: an R package for population genetics with an integrated-modular approach. *Bioinformatics* 26, 419-420.
520. Parsons, T.J*., et al.* (1997) A high observed substitution rate in the human mitochondrial DNA control region. *Nat Genet* 15, 363-368.
521. Pascual, J. (2008) Razas y empleos de los caballos de Hispania según los textos griegos y latinos de la Antigüedad. In *La transmisión de la Ciencia desde la Antigüedad hasta el Renacimiento* (Santamaría, M.T., ed.), 117 - 202, Ediciones de la Universidad de Castilla-La Mancha.
522. Pascual, J. (2012) Las propiedades terapéuticas del *equiferus* desde Plinio hasta el siglo XV. In *Textos médicos y grecolatinos antiguos y medievales: estudio sobre composición y fuentes* (Santamaría, M.T., ed.), 125-150, Ediciones de la Universidad de Castilla-La Mancha.
523. Pedrosa, S*., et al.* (2005) Evidence of three maternal lineages in near eastern sheep supporting multiple domestication events. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 272, 2211-2217.
524. Pérez Pérez, M. (1977) Presentación de algunos materiales procedentes de Cueva Oscura de Ania, Las Regueras (Asturias). In *Actas del XIV Congreso Nacional de Arqueología*, 179-196.

525. Pérez Pérez, M. (1978) Las varillas semicilíndricas decoradas de Cueva Oscura de Ania - Las Regueras - (Oviedo). *Sautuola* 3, 79-85.
526. Pérez Pérez, M. (1992) Un hueso grabado de "Cueva Oscura de Ania" (Las Regueras, Asturias). *Boletín del Real Instituto de Estudios Asturianos* 46, 625-650.
527. Pérez Ripoll, M. (1977) *Los mamíferos del yacimiento musteriense de Cova Negra (Játiva, Valencia)*. Diputación Provincial de Valencia.
528. Pérez Ripoll, M. (1980) La fauna de vertebrados. In *Cova de l'Or (Beniarrés-Alicante)* (Martí Oliver, B*., et al.*, eds), 338, Diputación Provincial de Valencia.
529. Pérez Ripoll, M. (1990) La ganadería y caza en la Ereta del Pedregal. *Archivo de Prehistoria Levantina* 20, 223-253.
530. Pérez Romero, A*., et al.* (2015) La gestión del utillaje óseo de la Edad del Bronce en el yacimiento de El Portalón de Cueva Mayor, sierra de Atapuerca, Burgos. *Complutum* 26, 113-131.
531. Pérez Romero, A*., et al.* (2017) An unusual Pre-bell beaker copper age cave burial context from El Portalónn de Cueva Mayor site (Sierra de Atapuerca, Burgos). *Quaternary International* 433, 142-155.
532. Pérez Romero, A*., et al.* (2010) Una dobla almohade del siglo XIII en el yacimiento del Portalón de Cueva Mayor, Sierra de Atapuerca (Burgos). *Numisma* 60, 85-106.
533. Persson, P. (1992) A method to recover DNA from ancient bones. *Ancient DNA Newsletter* 1, 25-27.
534. Peterson, A.T. (2006) Application of molecular clocks in ornithology revisited. *Journal of Avian Biology* 37, 541-544.
535. Piette, E. (1906) Le chevêtre et la semi-domestication des animaux aux temps pléistocènes. *L'Anthropologie (Paris)* 17, 27-53.
536. Piñón, F. (1982) *Las pinturas rupestres de Albarracín (Teruel)*. Monografías del Museo de Altamira, 199-207, Museo de Altamira, Santader.
537. Piñón, F. (1983) El abrigo del Tío Campano (Albarracín, Teruel). In *Homenaje al prof. Martín Almagro Basch*, 371-384, Ministerio de Cultura.
538. Plinio (Edición del año 2002) *Historia Natural*. Cátedra.
539. Poliakof, M. (1881) Supposed new species of horse from Central Asia. *The Annals and Magazine of Natural History, Zoology, Botany and Geology* 8, 16-26.
540. Polzin, T., y Daneshmand, S.V. (2003) On Steiner trees and minimum spanning trees in hypergraphs. *Operations Research Letters* 31, 12-20.
541. Portugaliae Monumenta Historica. Leges et consvetvdines (1866) Posturas Municipaes de Coimbra. *Portugaliae Monumenta Historica. Leges et consvetvdines* 1, 657-804.
542. Posada, D. (2008a) jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25, 1253-1256.
543. Posada, D. (2008b) *jModelTest 0.1.1 User Guide*.
544. Posada, D. (2009) Selecting models of evolution. In *The Phylogenetic Handbook* (Lemey, P*., et al.*, eds), 345-361, Cambridge University Press.
545. Posada, D., y Crandall, K.A. (1998) Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14, 817-818.
546. Posada, D., y Crandall, K.A. (2001) Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends in Ecology y Evolution* 16, 37-45.
547. Priskin, K*., et al.* (2010) Mitochondrial sequences variation in ancient horses from the Carphatian Basin and possible modern relatives. *Genetica* 138, 211-218.
548. QIAGEN (2008) QIAquick^{R}Spin HandBook.
549. Quesada, F. (1992) *Arma y símbolo: la falcata ibérica*. Instituto de Cultura Juan Gil-Albert (Diputación de Alicante).
550. Quesada, F. (1997a) De arma de guerra a vehículos del Más Allá. In *La guerra en la antigüedad: Una aproximación al origen de los ejércitos en Hispania.* (Ministerio de Cultura, Instituto del Patrimonio Histórico Español, Ministerio de Defensa), 157-164.

551. Quesada, F. (1997b) ¿Jinetes o caballeros?. En torno al empleo del caballo en la Edad del Hierro peninsular. In *La guerra en la antigüedad: Una aproximación al origen de los ejércitos en Hispania.* (Ministerio de Cultura, Instituto del Patrimonio Histórico Español, Ministerio de Defensa), 185-195.
552. Quesada, F. (1998) Aristócratas a caballo y la existencia de una verdadera caballería en la cultura ibérica: dos ámbitos conceptuales diferentes. In *Actas del Congreso Internacional "Los íberos, príncipes de Occidente"* (Aranegui, C., ed.), 169-183.
553. Quesada, F. (2001-2002) En torno a las espuelas articuladas ibéricas, artesanado y relaciones entre las regiones murciana y granadina. *Studia E. Cuadrado, AnMurcia* 16-17, 239-246.
554. Quesada, F. (2005a) El gobierno del caballo montado en la antigüedad clásica con especial referencia al caso de Iberia. Bocados, espuelas y la cuestión de la silla de montar, estribos y herraduras. *Gladius* XXV, 97-150.
555. Quesada, F. (2005b) Carros en el antiguo Mediterráneo: de los orígenes a Roma. In *Historia del carruaje en España* (Galán, E., ed.), 16-71, Cinterco.
556. Quesada, F. (2005c) L'utilisation du cheval dans le "Far West" méditerranéen Bilan des recherches et étude de cas le problème de l'apparition de la cavalerie en Ibérie. In *Les équidés dans le monde méditerranéen antique* (Gardeisen, A., ed.), 95-110, Publication de l'UMR 5140 du CNRS.
557. Quesada, F. (2006) De Egipto a Tartessos: el carro de caballos en el antiguo Mediterráneo. In *El caballo de pura raza española: un caballo olímpico. VI jornadas ecuestres* (Español, Foro de opinión el caballo español, ed.), 155-202.
558. Quesada, F. (2008) Two-wheeled light chariots, carts and wagons in the Iberian Peninsula during the Iron Age. In *Origin and spreading of chariots. Collection of scientific articles*, 297-316, Globus.
559. Quesada, F., y Gabaldón, M.d.M. (2008) ¿Hipolatría, epifanía, protección de un bien valioso? En torno al papel "religioso" de los équidos en la Protohistoria peninsular. In *De Dioses y bestias. Animales y religión en el mundo antiguo. Spal Monografías XI* (Ferrer, E*., et al.*, eds.), 143-162.
560. Quesada, F., y Tortajada, M. (1999) Caballos en arcilla de la Segunda Edad del Hierro en la península ibérica. *Cuadernos de Prehistoria y Arqueología de la Universidad Complutense de Madrid* 25, 9-53.
561. R Development Core Team (2017) R: A language and environment for statistical computing. (R Foundation fo Statistical Computing, ed) Viena, Austria, URL: http://www.R-project.org.
562. Radulesco, C., y Samson, P. (1965) Sur la présence de *Hydruntinus hydruntinus* (Regalia) en Roumanie. *Quaternaria* 7, 219-234.
563. Rambaut, A., y Drummond, A.J. (2003) Tracer: Available from http://evolve.zoo.ox.ac.uk/software/.
564. Rambaut, A., y Drummond, A.J. (2009) Tracer v1.5. http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer.
565. Rambaut, A*., et al.* (2009) Accommodating the effect of ancient DNA damage on inferences of demographic histories. *Molecular Biology and Evolution* 26, 245-248.
566. Ranz, J.A. (1991) Los nombres Arriaca, Alcarria y Guadalajara: su etimología, significado y otras particularidades. *Wad-al-Hayara. Revista de Estudios de Guadalajara* 18, 475-480.
567. Rasmussen, S.O*., et al.* (2014) A stratigraphic framework for abrupt climatic changes during the Last Glacial period based on three synchronized Greenland ice-core records: refining and extending the INTIMATE event stratigraphy. *Quaternary Science Reviews* 106, 14-28.
568. Reed, C.A. (1984) The beginnings of animal domestication. In *Evolution of domesticated animals* (Mason, I.L., ed.), 1-6, Longman Group Limited.
569. Regàlia, E. (1907) Sull'*Equus* (*Asinus*) *hydruntinus* Regalia della grotta di Romanelli (Castro, Lecce). *Archivio per l'Antropologia e l'Etnologia* 37, 375-390.
570. Reich, D*., et al.* (2010) Genetic history of an archaic hominin group from Denisova Cave in Siberia. *Nature* 468, 1053-1060.

571. Reimer, P.J*., et al.* (2013) IntCal13 and Marine13 radiocarbon age calibration curves 0-50,000 years cal. BP. *Radiocarbon* 55, 1869-1887.
572. Rieux, A., y Balloux, F. (2016) Inferences from tip-calibrated phylogenies: a review and a practical guide. *Molecular Ecology* 25, 1911-1924.
573. Rieux, A., and Khatchikian, C.E. (2017) TIPDATINGBEAST: an R package to assist the implementation of phylogenetic tip-dating tests using BEAST. *Molecular Ecology Resources* 17, 608-613.
574. Ripoll López, S*., et al.* (1999) *Domingo García. Arte rupestre paleolítico al aire libre en la meseta castellana*. Consejería de Educación y Cultura de la Junta de Castilla y León.
575. Ripoll Perelló, E. (1960) Arte rupestre. In *Primer Symposium de Prehistoria de la Península Ibérica. Septiembre 1959: ponencias*, 1-383, Diputación Foral de Navarra: Institución Príncipe de Viana.
576. Ripoll Perelló, E. (1961) *Los abrigos pintados de los alrededores de Santolea (Teruel)*.
577. Ripoll Perelló, E. (1962) Representación de un jinete en las pinturas rupestres del "Cingle de la Gasulla" (Castellón). *Zephyrus* 13, 91-93.
578. Ripoll Perelló, E. (1963) *Pinturas rupestres de la Gasulla (Castellón)*.
579. Ripoll Perelló, E. (1968) *Simposio internacional de arte rupestre: Barcelona, 1966*. Instituto de Prehistoria y Arqueología.
580. Ripoll Perelló, E. (1990) Acerca de algunos problemas del arte rupestre postpaleolítico en la Península Ibérica. *Espacio, Tiempo y Forma. Serie I, Prehistoria y Arqueología* 3, 7-104.
581. Ripoll Perelló, E. (2001) El debate sobre la cronología del arte levantino. *Quaderns de Prehistòria i Arqueologia de Castelló* 22, 267-280.
582. Riquelme, J.A. (1994) Estudio de la fauna recuperada en el yacimiento de Acinipo, Ronda (Málaga). Consideraciones económicas y medioambientales durante la primera mitad del II milenio. *Archaeofauna* 3, 21-51.
583. Riquelme, J.A. (1995) Presencia del caballo, *Equus caballus* en el sur de la Península Ibérica. Desde el Paleolítico Inferior a la Edad Moderna. In *Al-Andalus y el Caballo*, 17-29, Lunwerg Editores S.A.
584. Ríu, M. (1982) Agricultura y ganadería en el Fuero de Cuenca. *En la España medieval* 3, 369-386.
585. Rodríguez Varela, R*., et al.* (2011) 50,000 years of genetic uniformity in the critically endangered Iberian lynx. *Molecular Ecology* 20, 3785-3795.
586. Rodríguez Varela, R*., et al.* (2015) Ancient DNA evidence of Iberian lynx palaeoendemism. *Quaternary Science Reviews* 112, 172-180.
587. Rodríguez Varela, R*., et al.* (2016) Ancient DNA reveals past existence of Eurasian lynx in Spain. *Journal of Zoology* 298, 94-102.
588. Rohland, N., y Hofreiter, M. (2007) Ancient DNA extraction from bones and teeth. *Nature Protocols* 2, 1756-1762.
589. Romero, F*., et al.* (2008) El primer milenio aC. en las tierras del interior peninsular. In *De Iberia a Hispania* (Gracia, F., ed.), 649-731, Ariel.
590. Ronquist, F., y Huelsenbeck, J.P. (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19, 1572-1574.
591. Ronquist, F*., et al.* (2012) MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61, 539-542.
592. Ronquist, F*., et al.* (2009) Bayesian Phylogenetic analysis using MrBayes. In *The Phylogenetic Handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing* (Lemey, P*., et al.*, eds.), 210-266, Cambridge Universtiy Press.
593. Rosenbom, S*., et al.* (2015) Reassessing the evolutionary history of ass-like equids: Insights from patterns of genetic variation in contemporary extant populations. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 85, 88-96.
594. Royo Guillén, J.I. (2004) *Arte rupestre de época ibérica. Grabados con representaciones ecuestres*. Servei d'Investigacions Arqueològiques i Prehistòriques. Diputació de Castelló.

595. Royo Guillén, J.I. (2005) Las representaciones de caballos y de élites ecuestres en el arte rupestre de la Edad del Hierro de la península ibérica. *Cuadernos de Arte Rupestre* 2, 157-200.
596. Royo, L.J*., et al.* (2005) The origins of Iberian horses assessed via mitochondrial DNA. *Journal of Heredity* 96, 663-669.
597. Ruiz, J.F*., et al.* (2012) Calcium oxalate AMS 14C dating and chronology of post-Palaeolithic rock paintings in the Iberian Peninsula. Two dates from Abrigo de los Oculados (Henarejos, Cuenca, Spain). *Journal of Archaeological Science* 39, 2655-2667.
598. Ruiz, J.F*., et al.* (2009) Cronología del arte rupestre Postpaleolítico y datación absoluta de pátinas de oxalato cálcico. Primeras experiencias en Castilla-La Mancha (2004-2007). In *IV Congreso El Arte Rupestre del Arco Mediterráneo de la Península Ibérica. 10 años en la Lista del Patrimonio Mundial de la UNESCO*, 303-316.
599. Ryder, O.A. (1994) Genetic studies of Przewalski's horses and their impact on conservation. In *Przewalski's horse. The history and biology of an endangered species* (Boyd, L., y Houpt, K.A., eds), 75-92, The State University of New York Press.
600. Sacristán, J.D. (1986) La Primera Edad del Hierro. In *La Edad del Hierro en el valle medio del Duero. Rauda (Roa, Burgos)*, 41-70, Consejería de Educación y Cultura de la Junta de Castilla y León y Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Valladolid.
601. Sáez, E. (1953) Edición crítica y apéndice documental. In *Los Fueros de Sepúlveda* (Segovia, Publicaciones históricas de la Excma. Diputación Provincial de Segovia, ed.), 3-334, Gómez-Pamplona.
602. Saiki, R.K*., et al.* (1985) Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230, 1350-1354.
603. Sala, M.T.N*., et al.* (2009) Estudio preliminar del yacimiento del Pleistoceno superior de la Cueva de la Zarzamora (Segovia, España). In *VII Reunião do Quaternário Ibérico* (Boski, T*., et al.*, eds.), 163-167, CIMA – Centro de Investigação Marinha e Ambiental Universidade do Algarve.
604. Sala, M.T.N*., et al.* (2012) A taphonomic study of the Búho and Zarzamora caves. Hyenas and humans in the Iberian Plateau (Segovia, Spain) during the Late Pleistocene. *Journal of Taphonomy* 10, 477-497.
605. Sala, M.T.N*., et al.* (2011) Un paisaje de la Meseta durante el Pleistoceno superior. Aspectos paleontológicos de la Cueva de la Zarzamora. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural. Sección Geológica* 105, 67-85.
606. Salinas de Frías, M. (2010) Sobre algunos textos clásicos referentes a la caballería de los celtíberos y al simbolismo de sus armas. *Gladius* XXX, 137-154.
607. Samper, S.C. (2010) Caracterización sistemática de los équidos de La Carihuela (Piñar, Granada). *Cidaris* 30, 283-292.
608. Sampietro, M.L*., et al.* (2006) Tracking down human contamination in ancient human teeth. *Molecular Biology and Evolution* 23, 1801-1807.
609. Sánchez Belda, A. (2012) *Razas ganaderas españolas. V. Caballares*. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente y Federación Española de Asociaciones de Ganado Selecto.
610. Sánchez Moreno, E. (1995-1996) El caballo entre los pueblos prerromanos de la Meseta Occidental. *Studia Historica. Historia Antigua* 13-14, 207-229.
611. Sánchez Moreno, E. (2005) Caballo y sociedad en la Hispania Céltica: del poder aristocrático a la comunidad política. *Gladius* XXV, 237-264.
612. Sánchez Moreno, E. (2010) Los vacceos a través de las fuentes: Una perspectiva actual. In *De la región vaccea a la arqueología vaccea* (Romero, F., y Sanz, C., eds), Centro de Estudios Vacceos “Federico Wattenberg” de la Universidad de Valladolid.
613. Sánchez Chiquito de la Rosa, S. (1999) *Arte Rupestre del Arco Mediterráneo de la Península Ibérica*. Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha.

614. Sanchidrián, J.L. (1994) Arte paleolítico de la zona meridional de la península Ibérica. *Complutum* 5, 163-195.
615. Santamaría, D., y de la Rasilla, M. (2013) Datando el final del Paleolítico medio en la península ibérica. Problemas metodológicos y límites en la interpretación. *Trabajos de Prehistoria* 70, 242-263.
616. Sanz, J.L., y Morales, A. (2000) Los restos faunísticos. In *Proyecto Peñalosa. Análisis histórico de las comunidades de la Edad del Bronce del piedemonte meridional de Sierra Morena y depresión Linares-Bailén* (Contreras, F., ed.), 223-235, Junta de Andalucia. Consejería de Cultura.
617. Sarmiento, M. (Edición del año 1999) *Onomástico etimológico de la lengua gallega*. Servicio de Publicaciones de la Fundación Pedro Barrié de la Maza.
618. Sauquet, H. (2013) A practical guide to molecular dating. *Comptes Rendus Palevol* 12, 355-367.
619. Schmid, E. (1972) *Atlas of animal bones for Prehistorians, Archaeologist, and Quaternary Geologists*.
620. Schmidt, H.A., y von Haeseler, A. (2009) Phylogenetic inference using maximum likelihood methods. In *The Phylogenetic Handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing* (Lemey, P.*, et al.*, eds.), 181-209, Cambridge Universtiy Press.
621. Schubert, M.*, et al.* (2014) Prehistoric genomes reveal the genetic foundation and cost of horse domestication. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111, E5661-E5669.
622. Schüle, W. (1969) Glockenbecher und hauspferde. In *Archäologie und Biologie*, 88-93, Joachim Boessneck.
623. Schüle, W., y Pellicer, M. (1963) El Cerro de la Virgen, Orce (Granada). *Excavaciones Arqueológicas en España* 46, 1-66.
624. Seco Serra, I., y de la Villa, J. (2003) Fuentes literareas antiguas sobre los caballos en Hispania. In *El caballo en la antigua Iberia. Estudios sobre équidos en la Edad del Hierro* (Quesada, F., y Zamora, M., eds.), 125-140, Real Academia de la Historia y Universidad Autónoma de Madrid.
625. Seco Morais, J.*, et al.* (2007) Ancient Iberian horses: a method to recover DNA from archaeological samples buried under sub-optimal conditions for preservation. *Journal of Archaeological Science* 34, 1713-1719.
626. Shapiro, B.*, et al.* (2004) Rise and Fall of the Beringian Steppe Bison. *Science* 306, 1561-1565.
627. Simmons, M.P., y Ochoterena, H. (2000) Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. *Systematic Biology* 49, 369-381.
628. Smith, C.I.*, et al.* (2001) Neanderthal DNA: Not just old but old and cold? *Nature* 410, 771-772.
629. Smith, C.I.*, et al.* (2003) The thermal history of human fossils and the likelihood of successful DNA amplification. *Journal of Human Evolution* 45, 203-217.
630. Soler, J.M. (1987) *Excavaciones arqueológicas en el Cabezo Redondo (Villena, Alicante)* Auntamiento de Villena: Instituto de Estudios "Juan Gil-Albert".
631. Sommer, R.S.*, et al.* (2011) Holocene survival of the wild horse in Europe: a matter of open landscape? *Journal of Quaternary Science* 26, 805-812.
632. Soto, E., y Meléndez, G. (1981) Fauna de la Cueva de Las Caldas (Oviedo). In *Cueva de Las Caldas, San Juan de Priorio (Oviedo)* (Corchón, M.S., ed.), 259-268, Ministerio de Cultura. Dirección General de Bellas Artes, Archivos y Bibliotecas.
633. Spassov, N., e Iliev, N. (2002) The animal bones from the prehistoric necropolis near Durankulak (NE Bulgaria) and the latest record of *Equus hydruntinus* Regalia. In *Durankulak: die prähistorischen Gräberfelder von Durankulak (Bernhard Hänsel)* (Todorova, H., ed.), 313-324, Anubis.
634. Stehlin, H.G., y Graziosi, P. (1935) Ricerche sugli Asinidi fossili d'Europa. *Mémoires de la Société Paléontologique Suisse* 56, 1-73.

635. Steiner, C.C*., et al.* (2012) Molecular phylogeny of extant equids and effects of ancestral polymorphism in resolving species-level phylogenies. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 65, 573-581.
636. Steiner, C.C., y Ryder, O.A. (2011) Molecular phylogeny and evolution of the Perissodactyla. *Zoological Journal of the Linnean Society* 163, 1289-1303.
637. Stiller, M*., et al.* (2010) Withering away - 25,000 years of genetic decline preceded cave bear extinction. *Molecular Biology and Evolution* 27, 975-978.
638. Stirton, R.A. (1941) Development of characters in horse teeth and the dental nomenclature. *Journal of Mammalogy* 22, 434-446.
639. Strimmer, K., y von Haeseler, A. (2009) Genetic distances and nucleotide substitution models. In *The Phylogenetic Handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing* (Lemey, P*., et al.*, eds.), 111-141, Cambridge Universtiy Press.
640. Suzuki, Y*., et al.* (2002) Overcredibility of molecular phylogenies obtained by Bayesian phylogenetics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99, 16138-16143.
641. Tamariz, J*., et al.* (2006) The application of ultraviolet irradiation to exogenous sources of DNA in plasticware and water for the amplification of low copy number DNA. *Journal of Forensic Sciences* 51, 790-794.
642. Tamura, K*., et al.* (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30, 2725-2729.
643. Tellería, J.L. (2012) *Introducción a la conservación de las especies*. Tundra Ediciones.
644. Terrón, M. (1983) Los asnos salvajes, cebros o encebros de la España Medieval y Extremadura. Aspectos Histórico-Geográficos y caza. *Memorias de la Real Academia de Extremadura de las Letras y de las Artes* 1, 413-474.
645. Terrón, M. (1987) De la Extremadura agreste: notas para un estudio de la evolución histórica de la fauna de caza mayor. In *La caza en Extremadura*, 31-70, Diputación Provincial de Cáceres.
646. Tofanelli, S*., et al.* (1999) Recovering ancient DNA by streptavidin-coated magnetic beads and byotinylated oligonucleotides (Target-Hooking). *Ancient Biomolecules* 2, 307-320.
647. Topper, U., y Topper, U. (1988) *Arte rupestre en la provincia de Cádiz*.
648. Troy, C.S*., et al.* (2001) Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature* 410, 1088-1091.
649. Tuross, N. (1994) The biochemistry of ancient DNA in bone. *Experientia* 50, 530-535.
650. Turvey, S.T. (2009) Holocene mammal extinctions. In *Holocene extinctions* (Oxford University Press, ed), 41-61.
651. Ucko, P.J., y Rosenfeld, A. (1967) Arte parietal paleolítico. In *Arte paleolítico*, Ediciones Guadarrama.
652. Uerpmann, H.P. (1976) *Equus* (*Equus*) *caballus* und *Equus* (*Asinus*) *hydruntinus* im Postpleistozän der Iberischen Halbinsel (Perissodactyla, Mammalia). *Säugetierkundliche Mitteilungen* 24, 206-218.
653. Uerpmann, H.P. (1978) Informe sobre los restos faunísticos del Corte nº1. In *El Poblado de "Los Castillejos" en las Peñás de los Gitanos (Montefrío, Granada). Campaña de excavaciones de 1971. El corte nº1* (Arribas, A., y Molina, F., eds.), Universidad de Granada.
654. Uerpmann, H.P. (1987) *The ancient distribution of ungulate mammals in the Middle East. Fauna and archaeological sites in Southwest Asia and Northeast Africa*.
655. Uerpmann, H.P. (1990) Die domestikation des pferdes im Chalkolithikum West und Mitteleuropas. *Madrider Mitteilungen*, 109-153.
656. Uerpmann, H.P. (1995) Domestication of the horse- When, Where and Why? In *Le cheval et les autres équides: aspects de l´histoire de leur insertion dans les activités humaines*, 15-29, Université de Liège.

657. Uerpmann, H.P. (2005) Betrachtungen zum Verhältnis zwischen Wildpferd (*Equus ferus*) und Hydruntinus (*Equus hydruntinus*) im Jungpleistozän und Holozän auf der Iberischen Halbinsel. *Munibe* 57, 351-358.
658. Uerpmann, H.P., y Uerpmann, M. (1973) Tierknochenfunde aus der phönizischen Faktorei von Toscanos und anderen phönizisch beeinfluβten Fundorten der Provinz Málaga in Südspanien. *Studien über frühe Tierknochenfunde von der Iberischen Halbinsel* 4, 35-101
659. Utrilla, P., y Baldellou, V. (2001-2002) Cantos pintados neolíticos de la cueva de Chaves (Bastarás, Huesca). *Saldvie: Estudios de Prehistoria y Arqueología* 2, 45-126.
660. Utrilla, P., y Villaverde, V. (2004) *Los grabados levantinos del Barranco Hondo, Castellote (Teruel)*. Gobierno de Aragón.
661. V.V.A.A. (1999) *Atapuerca: Nuestros antecesores*. Junta de Castilla y León.
662. Valdelvira, G. (1996) La provincia de Albacete durante el reinado de Felipe II, según las "Relaciones Topográficas". *Al-Basit: Revista de estudios albacetenses* 39, 157-214.
663. Valdiosera, C*., et al.* (2007) Staying out in the cold: glacial refugia and mitochondrial DNA phylogeography in ancient European brown bears. *Molecular Ecology* 16, 5140-5148.
664. van de Peer, Y. (2009) Phylogenetic inference based on distance methods. In *The Phylogenetic Handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing* (Lemey, P*., et al.*, eds), 142-180, Cambridge Universtiy Press.
665. Vega Pla, J.L*., et al.* (2006) Saving feral horse populations: does it really matter? A case study of wild horses from Doñana National Park in southern Spain. *Animal Genetics* 37, 571-578.
666. Vega Toscano, G*., et al.* (2003) *La Prehistoria*. Editorial Síntesis.
667. Vergès, J.M*., et al.* (2002) La Sierra de Atapuerca durante el Holoceno: datos preliminaries sobre las ocupaciones de la Edad del Bronce en la Cueva de El Mirador (Ibeas de Juarros, Burgos). *Trabajos de Prehistoria* 59, 107-126.
668. Vergès, J.M*., et al.* (2008) Los niveles neolíticos de la cueva de El Mirador (Sierra de Atapuerca, Burgos): nuevos datos sobre la implantación y el desarrollo de la economía agropecuaria en la submeseta norte. In *IV Congreso del Neolítico Peninsular. Tomo I* (Hernández, M.S*., et al.*, eds.), 418-427, Museo de Arqueología de Alicante.
669. Vergès, J.M*., et al.* (2016) El Mirador cave (Sierra de Atapuerca, Burgos, Spain): A whole perspective. *Quaternary International* 414, 236-243.
670. Vilà, C*., et al.* (2001) Widespread origins of domestic horse lineages. *Science* 291, 474-477.
671. Villaverde, V. (1994) *Arte paleolítico de la Cova del Parpalló. Estudio de la colección de plaquetas y cantos grabados y pintados*. Diputació de València, Servei d'Investigació Prehistòrica.
672. Villaverde, V. (2001a) Cova Negra. In *De neandertales a cromañones. El inicio del problamiento humano en las tierras valencianas* (Villaverde, V., ed), 393-396, Universitat de València.
673. Villaverde, V. (2001b) Cova de les Cendres. In *De neandertales a cromañones. El inicio del problamiento humano en las tierras valencianas* (Villaverde, V., ed.), 411-414, Universitat de València.
674. Villaverde, V*., et al.* (1999) El Paleolítico Superior de la Cova de Les Cendres (Teulada-Moraira, Alicante). Datos proporcionados por el sondeo efectuado en los cuadros A/B-17. *Archivo de Prehistoria Levantina* XXIII, 9-65.
675. Vilstrup, J.T*., et al.* (2013) Mitochondrial phylogenomics of modern and ancient equids. *PLoS ONE* 8, e55950.
676. Viñas, R. (2014) Arte Rupestre Levantino: El testimonio gráfico de los últimos cazadores recolectores de Europa Occidental. In *Los cazadores recolectores del Pleistoceno y del Holoceno en Iberia y en el Estrecho de Gibraltar* (Sala Ramos, R., ed.), 679-695, Universidad de Burgos y Fundación Atapuerca.

677. Viñas, R., y Conde, M.J. (1989) Elementos ibéricos en el arte rupestre del Maestrazgo. In *XIX Congreso Nacional de Arqueología: Ponencias y comunicaciones* (Secretaría General de los Congresos Arqueológicos Nacionales, ed), 285-295.
678. Wakefield, S.*, et al.* (2002) Status and action plan for the Przewalski's horse (*Equus ferus przewalskii*). In *Equids: Zebras, Asses and Horses. Status survey and conservation action plan* (Moehlman, P.D., ed.), 82-92, IUCN/SSC Equid Specialist Group.
679. Wall, J.D., y Kim, S.K. (2007) Inconsistencies in Neanderthal genomic DNA sequences. *PLoS Genetics* 3, e175
680. Wallner, B.*, et al.* (2013) Identification of genetic variation on the horse Y chromosome and the tracing of male founder lineages in modern breeds. *PLoS ONE* 8, e60015.
681. Warmuth, V.*, et al.* (2012) Reconstructing the origin and spread of horse domestication in the Eurasian steppe. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109, 8202-8206.
682. Warmuth, V.*, et al.* (2011) European domestic horses originated in two Holocene refugia. *PLoS ONE* 6, e18194.
683. Warnow, T. (2012) Standard maximum likelihood analyses of alignments with gaps can be statistically inconsistent. *PLoS Currents* 4, RRN1308.
684. Weinstock, J.*, et al.* (2005) Evolution, systematics, and phylogeography of Pleistocene horses in the New World: A molecular perspective. *PLoS Biol* 3, e241.
685. Wilkins, A.S.*, et al.* (2014) The "Domestication Syndrome" in mammals: A unified explanation based on neural crest cell behavior and genetics. *Genetics* 197, 795-808.
686. Willerslev, E., y Cooper, A. (2005) Ancient DNA. *Proceedings of the Royal Society B* 272, 3-16.
687. Willerslev, E.*, et al.* (2003) Diverse plant and animal genetic records from Holocene and Pleistocene sediments. *Science* 300, 791-795.
688. Willerslev, E.*, et al.* (2004) Long-term persistence of bacterial DNA. *Current Biology* 14, R9-R10.
689. Wolinsky, H. (2010) History in a single hair. *EMBO Reports* 11, 427-430.
690. Wood, R.E.*, et al.* (2013) Radiocarbon dating casts doubt on the late chronology of the Middle to Upper Palaeolithic transition in southern Iberia. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110, 2781-2786.
691. Woolley, S.M.*, et al.* (2008) A comparison of phylogenetic network methods using computer simulation. *PLoS ONE* 3, e1913.
692. Xie, W.*, et al.* (2011) Improving marginal likelihood estimation for bayesian phylogenetic model selection. *Systematic Biology* 60, 150-160.
693. Xu, X., y Arnason, U. (1994) The complete mitochondrial DNA sequence of the horse, *Equus caballus*: extensive heteroplasmy of the control region. *Gene* 148, 357-362.
694. Xu, X., y Arnason, U. (1997) The complete mitochondrial DNA sequence of the white rhinoceros, *Ceratotherium simum*,and comparison with the mtDNA sequence of the Indian rhinoceros, *Rhinoceros unicornis*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 7, 189-194.
695. Xu, X.*, et al.* (1996) The complete mitochondrial DNA (mtDNA) of the donkey and mtDNA comparisons among four closely related mammalian species-pairs. *Journal of Molecular Evolution* 43, 438-446.
696. Yang, D.Y.*, et al.* (1998) Improved DNA extraction from ancient bones using silica-based spin columns. *American Journal of Physical Anthropology* 105, 539-543.
697. Yang, Y.H.*, et al.* (2002) Genetic diversity of Cheju horses (*Equus caballus*) determined by using mitochondrial DNA D-loop polymorphism. *Biochemical Genetics* 40, 175-186.
698. Yang, Z. (1994) Maximum likelihood phylogenetic estimation from DNA sequences with variable rates over sites: Approximate methods. *Journal of Molecular Evolution* 39, 306-314.
699. Yravedra, J. (2007) Zooarqueología y tafonomía en un yacimiento solutrense del sureste de la Península Ibérica: La Cueva de Ambrosio. *Saguntum (P.L.A.V.)* 39, 65-84.
700. Zeder, M.A. (2008) Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, diffusion, and impact. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 11597-11604.

701. Zeder, M.A. (2012) Pathways on animal domestication. In *Biodiversity in Agriculture: Domestication, Evolution, and Sustainability* (Gepts, P*., et al.*, eds.), 227-259, Cambridge University Press.
702. Zeder, M.A. (2015) Core questions in domestication research. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112, 3191-3198.
703. Zeder, M.A., y Hesse, B. (2000) The initial domestication of goats (*Capra hircus*) in the Zagros Mountains 10,000 years ago. *Science* 287, 2254-2257.
704. Zeuner, F.E. (1963) The horse. In *A history of domesticated animals*, 299-337, Hutchinson y CO.
705. Zheng, Y., y Wiens, J.J. (2015) Do missing data influence the accuracy of divergence-time estimation with BEAST? *Molecular Phylogenetics and Evolution* 85, 41-49.
706. Zilhao, J. (1993) The spread of agro-pastoral economies across Mediterranean Europe: a view from the Far West. *Journal of Mediterranean Archaeology* 6/1, 5-63.
707. Zilhao, J. (2001) Radiocarbon evidence for maritime pioneer colonization at the origins of farming in west Mediterranean Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98, 14180-14185.