

LINAJES MITOCONDRIALES DE LOS ABORIGENES DE TIERRA DEL FUEGO Y PATAGONIA

C. LALUEZA (1),
A. PÉREZ-PÉREZ, (1),
E. PRATS, (2), Y
D. TURBÓN, (1)

RESUMEN

Se han estudiado, mediante la técnica de la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) y restricción enzimática, setenta y cinco muestras dentarias y óseas pertenecientes a aborígenes de Tierra del Fuego/Patagonia, cuya antigüedad comprende desde el siglo pasado hasta 5.000 A.P. Se ha intentado caracterizar los cuatro linajes mitocondriales (ABCD) mayoritarios en el continente americano por medio de enzimas de restricción. Quince muestras no pudieron ser amplificadas por fallos específicos inherentes a la preservación del DNA antiguo. Las sesenta muestras restantes pudieron ser amplificadas y verificadas, indicando los resultados que, en la medida que son representadas por la muestra estudiada, en las poblaciones hoy extinguidas del extremo sur americano sólo había presentes dos linajes C y D, (39% y 61% respectivamente). La ausencia de los linajes A y B en los cuatro grupos étnicos estudiados (sélknam, aónikenk, yámana y kawéskar) parece indicar una afinidad genética ancestral entre los grupos considerados. En el contexto general del continente americano, los resultados apoyan la hipótesis de que el grupo de los amerindios actuales puede haberse formado a partir de dos migraciones superpuestas: la primera, que habría llegado a alcanzar el extremo sur, no poseía la delección de 9 bp que define el linaje B; mientras que la segunda, que no habría alcanzado Tierra del Fuego, sí la poseía. La hipótesis alternativa sería que el haplogrupo B no proviniera de Asia, sino que se hubiera generado en América por efecto de una mutación independiente.

Palabras Clave: Tierra del Fuego, Patagonia, DNA antiguo, poblamiento de América, DNA mitocondrial.

SUMMARY

Seventy five dental and bone samples of aborigines from Tierra del Fuego/Patagonia dating from 5.000 B.P to the XIX century, have been analyzed by PCR and restriction site-polymorphism analysis. The four major American mitochondrial lineages (ABCD) have been

¹ Secc. Antropología, Dept. Biología Animal. Fac. de Biología, Universidad de Barcelona. Avda. Diagonal 645, 08028 Barcelona.

² Dept. Biología Molecular y Celular. Centro de Investigación y Desarrollo de Barcelona. C.S.I.C.

characterized. Sixty samples gave positive amplifications, showing that only lineages C and D (39 % and 61 %, respectively), were present in these populations. The simultaneous absence of lineages A and B in the four of hunter-gatherer groups studied (selk'nam, aonikenk, yamana and kaweskar) points to the existence of an ancestral genetic relationship between all of them. Taking into account the whole continent, our results suggest that the present-day Amerind stock may include two different migrations: the first one, which arrived to the extreme south, did not have the 9 bp deletion of lineage B, while the second carried it. An alternative hypothesis would be to consider that haplogroup B did not enter the continent with the Asian migrants, appearing in America by an independent mutational event.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la técnica de la PCR ha hecho posible una eficaz recuperación del DNA preservado en los restos fósiles y estudiar directamente el genotipo de poblaciones hoy extinguidas (PÄÄBO 1985a, 1985b, 1989, 1990, PÄÄBO and WILSON 1987, PÄÄBO *et al.* 1988, HIGUCHI *et al.* 1984, HAGELBERG *et al.* 1989, HORAI *et al.* 1989, HAGELBERG and CLEGG 1991, 1993, HAGELBERG 1992, HANDT *et al.* 1994a, 1994b, entre otros). A pesar de que hay que salvar importantes dificultades técnicas, en los estudios de DNA antiguo, y especialmente en los orientados hacia marcadores mitocondriales, son ya posibles los estudios de variabilidad poblacional (STONE and STONEKING 1993). Es indudable su valor para la reconstrucción de la historia biológica de las poblaciones en zonas del planeta donde la población aborigen se ha mestizado o incluso ha desaparecido. Los estudios de DNA antiguo surgen de una base claramente interdisciplinaria que engloba campos científicos muy dispares, como la genética, la arqueología, la paleoantropología, o incluso la paleontología, lo que indudablemente redundará en el enriquecimiento mutuo.

Según el grupo de Douglas C. Wallace (Universidad de Emory), la totalidad de los aborígenes americanos pueden encuadrarse, de hecho, en cuatro haplogrupos o linajes mitocondriales, que en realidad son agrupaciones (clusters) de haplotipos estrechamente relacionados, denominados A, B, C y D (SCHURR *et al.* 1990, WALLACE and TORRONI 1992, TORRONI *et al.* 1992, TORRONI *et al.* 1993a, 1993b). Cada haplogrupo o linaje se define por la presencia o ausencia de un marcador mitocondrial simple. El haplogrupo A es un cambio A > G en la posición 663 en el gen del RNA ribosómico 12 S, que da lugar a la aparición de una diana de

restricción del enzima HaeIII. El haplogrupo B se caracteriza por presentar la delección de 9 bp COII/tRNA^{Lys}. El haplogrupo C presenta una A en lugar de una G en np 13263, lo que implica la desaparición de una diana para HincII en np 13259 y la aparición de otra para AluI en np 13262. Finalmente, el haplogrupo D se define por un cambio de una C por una A en la posición 5178, que corresponde al gen de la subunidad 2 de la NADH-deshidrogenasa, lo que elimina una diana para AluI en np 5176.

Parece existir una asociación entre el haplogrupo determinado por enzimas de restricción y la secuencia del D-loop mitocondrial, que muestra mutaciones específicas de cada grupo (HORAI *et al.* 1993, TORRONI *et al.* 1993a). El grupo A caracterizado por la región del D-loop, esto es, el grupo formado por las secuencias de D-loop presentes en los individuos del haplogrupo A, se caracteriza por presentar una T en 16290. El grupo B presenta en el D-loop 2 C en 16189 y 16217 respectivamente, y el grupo C tiene una C en 16298 y una T en 16327. El haplogrupo D puede definirse por la combinación de dos polimorfismos, 2 C en 16325 y 16362, presentes por separado en los haplogrupos A y C.

En el presente trabajo, se han estudiado los cuatro linajes mitocondriales, mayoritarios en amerindios, en los grupos aborígenes que habitaban Tierra del Fuego y Patagonia en el momento del contacto europeo (selk'nam, aonikenk, yamana y kaweskar) y que desaparecieron en su práctica totalidad entre la segunda mitad del s. XIX y las primeras décadas del siglo XX. El objetivo de este estudio es caracterizar genéticamente estos grupos e integrarlos en el contexto más amplio de todo el continente americano, para contribuir a la documentación del primer poblamiento humano del extremo austral de América.

MATERIAL Y METODOS

Se ha intentado determinar las frecuencias de los linajes del DNA mitocondrial más comunes en el continente americano, en restos de setenta y cinco amerindios procedentes de colecciones museísticas y de excavaciones arqueológicas. Aunque algunos restos se remontan a unos 4000-5000 años, la mayoría de las muestras pertenecen al período de contacto europeo. Las muestras analizadas fueron mayoritariamente dientes enteros o fragmentos de raíces dentarias, si bien se incluyeron también muestras de tejido óseo procedentes de costillas bien conservadas (Apéndice). La extracción del DNA se llevó a cabo a partir de un protocolo modificado de GINTHER *et. al.* (1992) y HAGELBERG and CLEGG (1991), que se detalla en LALUEZA *et. al.* (1993-94).

Para caracterizar los linajes descritos por el grupo de Wallace, se utilizaron cuatro pares de cebadores, tres de los cuales se diseñaron expresamente para este estudio, que flanqueaban las regiones del DNA mitocondrial en las que se encuentran las mutaciones específicas de cada haplogrupo (Tabla I). Al tratarse de mutaciones puntuales, fue posible diseñar cebadores que amplificaran regiones relativamente pequeñas, en torno a 100 bp, lo que mejora el rendimiento de este tipo de estudio, pues se ha observado una clara relación inversa entre la longitud del fragmento amplificado y la eficacia de la amplificación (HANDT *et. al.* 1994b). Cada marcador se amplificó por separado, mediante la técnica de la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). Las amplificaciones positivas fueron posteriormente sometidas a una digestión con los respectivos enzimas de restricción, siguiendo el protocolo de STONE and STONEKING (1993). Este no fue el caso del haplogrupo B que, al tratarse de una delección, puede ser valorada directamente en un gel. Las muestras se hicieron migrar, a continuación, en un gel de agarosa de bajo punto de fusión (NuSieve) a una concentración del 4%, en los que cabía esperar la aparición de dos bandas, si el enzima había encontrado la diana adecuada, o una única banda en el caso contrario. La lectura de las múltiples digestiones permitió asignar cada muestra a un determinado linaje mitocondrial.

Seguidamente se intentó la secuenciación de la zona del D-loop de diversas mues-

tras, siguiendo la metodología de SANGER *et. al.* (1977). Tras tantear diversos enfoques metodológicos, se optó por intentar la clonación de los productos de la PCR, a pesar de que éstos presentaban una eficiencia de clonación notablemente disminuída respecto de las muestras actuales de DNA. (Fig. 1).

Tabla I

Pares de cebadores empleados en el presente estudio para caracterizar los cuatro linajes mitocondriales mayoritarios en el continente americano. Los cebadores de los haplogrupos A, C y D fueron diseñados expresamente para el presente estudio, mientras que los del B fueron descritos por WRISCHNIK *et al.* (1987).

Haplogrupo A

Posición: 663

Cambio: A-> G

Enzima: + HaeIII; reconoce y corta la secuencia GG | CC

Región amplificada: 109 bp

Si hay polimorfismo, produce dos fragmentos de 50 y de 59 bp

L630 5'-ATGTTTACGACGGGCTC-3'

H708 5'-TGAACCTACTGGAACG-3'

Haplogrupo B

Posiciones: 8272-8289

Cambio: delección 9 bp

Región amplificada: 121 bp (sin delección)

Si hay polimorfismo, produce un fragmento de 112 bp

L8215 5' -ACAGTTTCATGCCCATCGTC-3'

H8297 5'-ATGCTAAGTTAGCTTTACAG-3'

Haplogrupo C

Posición: 13263

Cambio: A-> G

Enzima: - HincII (13259); reconoce y corta la secuencia GT(T/C) | (A/G)AC

Si no hay polimorfismo, produce dos fragmentos de 73 y 59 bp

Enzima: + AluI (13262); reconoce y corta: AG CT

Si hay polimorfismo, produce dos fragmentos de 75 y 57 bp

Región amplificada: 132 bp

L13204 5'-ACTCTGTTTCGCAGCAG-3'
H13305 5'-GTGCAGGAATGCTAGG-3'

Haplogrupo D

Posición: 5178

Cambio: C -> A

Enzima: - AluI (5176), reconoce y corta la secuencia AG I CT

Si no hay polimorfismo, produce dos fragmentos de 46 y 75 bp

Región amplificada: 121 bp

L5147 5'-AAACTCCAGCACCACG-3'
H5237 5'-CAAAAAGCCGGTTAGC-3'

Tabla II

Resultados globales de los haplogrupos mitocondriales americanos y de los cuatro grupos de aborígenes de Fuego/Patagonia estudiados.

	n	A	B	C	D	Otros E
Kawéskar	19	-	-	3	16	-
Aónikenk	15	-	-	4	11	-
Yámana	11	-	-	10	1	-
Selknam	13	-	-	6	6	1
?	2	-	-	-	2	-
Total	60	-	-	23	36	1

Tabla III

Esquematización de los polimorfismos observados en la zona del D-loop secuenciada en las muestras F14 y F18 de Tierra del Fuego. La numeración de las bases sigue la de NADERSON et al. (1981).

	3	6	4	8	5	7	2
	2	8	9	9	2	2	6
	2	2	2	2	3	3	3
	6	6	6	6	6	6	6
	1	1	1	1	1	1	1
Anderson	C	C	C	T	T	C	T
F14 (16195-16411)	T	.	.	C	C	T	.
F18 (16195-16420)	T	T	T		C	T	C

RESULTADOS

De las setenta y cinco muestras estudiadas, sesenta han podido ser amplificadas con éxito, lo que representa un 80 % de eficacia en la amplificación. Las frecuencias globales muestran que sólo están presentes los haplogrupos mitocondriales C (38.98%) y D (61.02%) en las muestras analizadas de Patagonia/Tierra del Fuego (Tabla II). La gran mayoría de los casos analizados (59 de 60, un 98.3 %) se enmarcan en los dos haplogrupos descritos por SCHURR *et al.* (1990) y TORRONI *et al.* (1992), con la excepción de la muestra procedente de Tres Arroyos, Isla Grande (F15). Este individuo es A-, B-, C- y D- al mismo tiempo lo que no se debe a un fallo en la digestión enzimática, pues se repitió sucesivas veces junto con otras muestras que sí

fueron digeridas correctamente por el enzima. Caben cuatro explicaciones para el resultado obtenido en esta muestra: un caso de contaminación actual de origen europeo, un caso de mestizaje con un individuo europeo en su línea materna, una mutación reversa en una de las dianas de los enzimas de restricción, o un quinto linaje mitocondrial americano, que tendría actualmente un carácter residual. La primera explicación resulta poco convincente desde un punto de vista técnico, ya que la contaminación habría afectado a una única muestra, cuando todas se procesaron y analizaron conjuntamente. Por otra parte, la segunda opción resulta sumamente improbable desde un punto de vista histórico.

Para intentar discernir entre estas diferentes hipótesis, hubiera sido deseable secuenciar una zona del D-loop del individuo F15 o bien

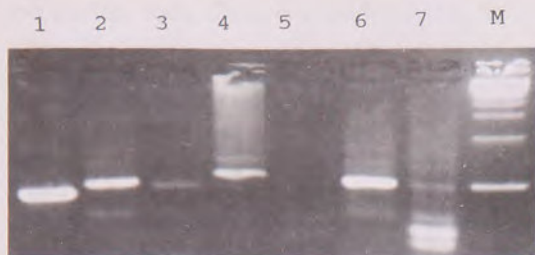


Figura 1.- Gel de agarosa donde se muestra la caracterización de los distintos haplogrupos por medio de enzimas de restricción. 1: A- (banda de 109 bp); 2: B- (121 bp); 3: B+ (112 bp); 4: C- (123 bp); 5: C+ (75 bp + 57 bp); 6: D+ (121 bp); 7: D- (75 bp + 46 bp); M: Marcador molecular (múltiplos de 123 bp).

los fragmentos delimitados por los cebadores de los haplogrupos C y D. Desafortunadamente, esta muestra se reveló como problemática para amplificaciones mayores de 100-130 bp, y, pese a los diversos intentos, no ha podido, hasta el momento, ser amplificada con calidad suficiente como para permitir su secuenciación.

Por otra parte, ninguna de las muestras analizadas presenta haplogrupos compuestos como los descritos por BAILLIET *et. al.* (1994). Los tamaños muestrales combinados para la observación de estos haplogrupos son de $n=40$ para los haplogrupos A/B, $n=40$ para A/C y $n=41$ para B/D.

En lo que respecta a las variaciones intrapoblacionales (Tabla II), los yámana son el grupo que presenta la frecuencia más elevada del linaje C (90.9 %), mientras que los kawéskar muestran la más baja (15.8 %). Los selknam presentan la misma frecuencia para cada haplogrupo (50 %), mientras los aónikenk muestran mayores frecuencias del haplogrupo D (73 %). Ninguna de estas diferencias es significativa desde un punto de vista estadístico, en parte debido al pequeño tamaño muestral disponible al considerar cada grupo étnico por separado, que osciló de 11 a 19 individuos. Tampoco se observan diferencias entre los resultados obtenidos para las muestras más modernas, pertenecientes al siglo XIX respecto a las más antiguas, si bien estas últimas parecían presentar mayores problemas técnicos en su análisis.

En el momento de la publicación del presente trabajo sólo se dispone de la secuencia de un segmento del D-loop de dos muestras: F14, Punta Dungeness 26839 (Aónikenk) y F18, Canasaca Oeste 6788 procedente de Isla Hoste

(Yámana) (Tabla III). Los polimorfismos observados concuerdan con los haplogrupos descritos en estas dos muestras por enzimas de restricción, lo cual refuerza la validez de nuestros resultados. Así, F14, que pertenece al haplogrupo C, presenta los dos polimorfismos del D-loop (C en np 16298 y T en np 16327) que definen este haplogrupo. Además, muestra una T en np 16223, mutación compartida por los haplogrupos A, C y D, así como una C en np 16325, mutación compartida con el haplogrupo D. Por su parte, F18, que pertenece al haplogrupo D, presenta los dos polimorfismos que según HORAI *et. al.* (1993) definen este cluster mitocondrial (una C en np 16325 y una C en np 16362). Además, presenta una T en np 16223, compartida por todos los haplogrupos con la excepción del B, una T en np 16286, una T en np 16294 y otra T en np 16327, esta última compartida con los individuos del haplogrupo C.

El no haber podido disponer más que de dos secuencias impidió intentar cualquier tipo de aproximación estadística al poblamiento del cono sur en el presente trabajo. Las limitaciones técnicas de la secuenciación probablemente podrán ser superadas en un futuro con el diseño de diversos pares de cebadores que amplificarán fragmentos cortos, de poco más de 100 bp, que pudieran irse superponiendo.

Para comprobar la fiabilidad de los resultados, se repitió el análisis de 25 muestras, lo que representa un 41.6 % de las muestras estudiadas con éxito. Todos los resultados que se han repetido son idénticos a los obtenidos previamente y concordantes con los haplogrupos descritos para cada individuo, lo que demuestra la alta reproducibilidad de nuestros resultados.

DISCUSIÓN

A través de datos antropológicos, lingüísticos y genéticos obtenidos con polimorfismos sanguíneos, se había sugerido la existencia de tres oleadas migratorias sucesivas en la colonización del continente americano (TURNER 1988; GREENBERG *et. al.* 1986), que se identificaron con las tres principales familias lingüísticas del continente: los lenguajes Na-Dene, los amerindios y los Eskimo-Aleutianos. Los antepasados de los actuales amerindios, que estarían distribuidos ampliamente por Norteamérica y

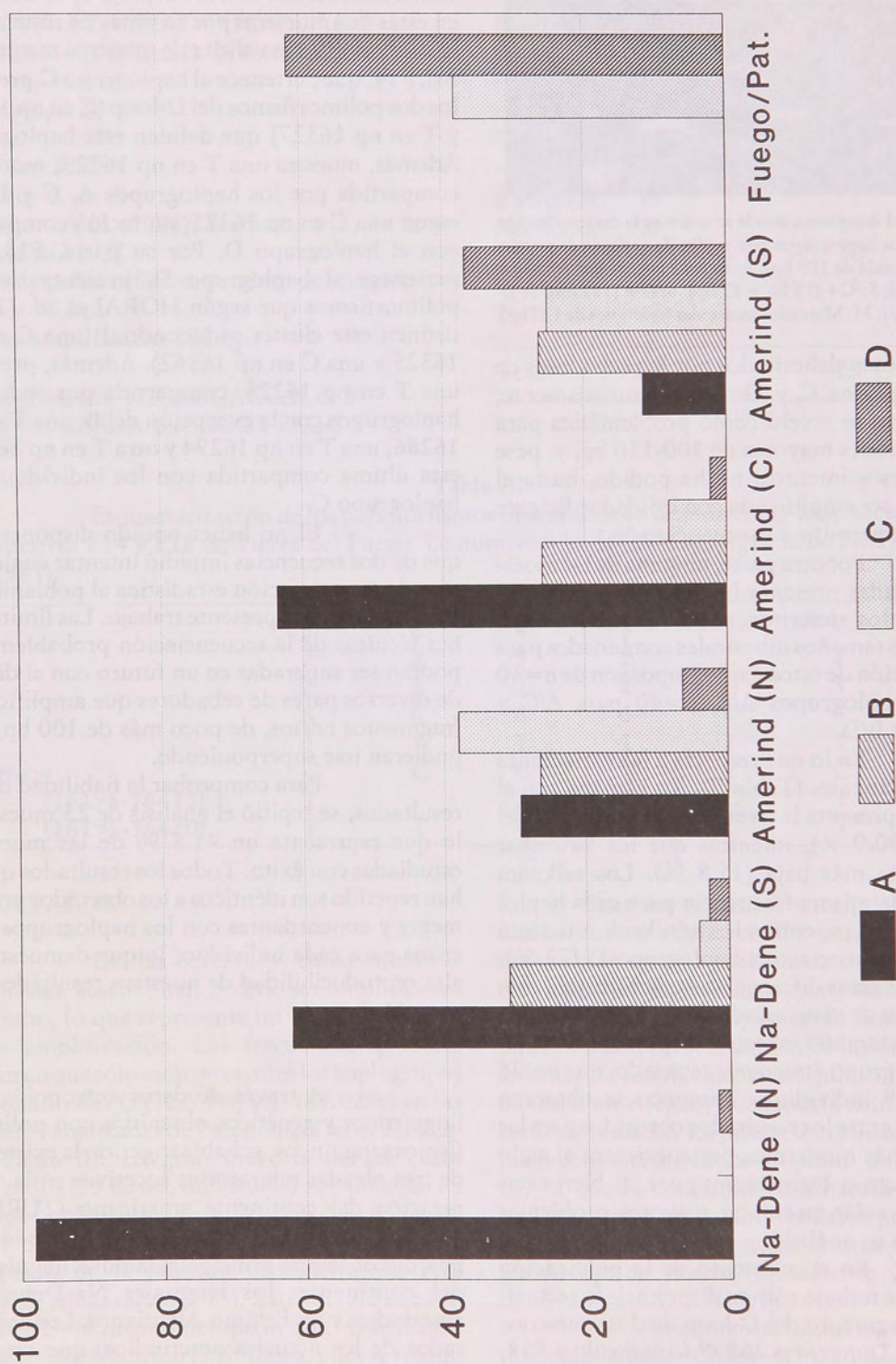


Figura 2.- Frecuencias de los haplogrupos mitocondriales (ABC y D) en grupos poblacionales del continente americano, definidos con criterios geográficos. NaDe N: Na-Dene del Norte, Na-D S: Na-Dene del sur (Apache y Navajo), Amer N: Amerindios de Norteamérica, Amer C: Amerindios de Centroamérica, Amer S: Amerindios de Sudamérica (excepto Fuego-Patagonia), Fue-Pat: aborígenes de Fuego-Patagonia.

ocuparían toda Centro y Sudamérica, habrían sido los primeros pobladores del continente, los denominados paleo-indios. Existe un debate considerable centrado en la máxima antigüedad posible del poblamiento del continente, que depende en gran parte de los períodos glaciales, los cuales alternativamente dejaban libre o cerraban el paso por Beringia y por el llamado corredor de Alberta (MELTZER 1993). Parece que el período más favorable para la colonización podría haberse dado entre 40.000 y 30.000 A.P. En todo caso, el corredor interior estuvo abierto entre los 55.000 y los 18.000 años A.P., resultando bloqueado después durante unos 6.000 años aproximadamente (WRIGHT 1991). De acuerdo con la hipótesis de las tres migraciones, la antigüedad de los grupos pobladores está correlacionada con la dispersión geográfica de éstos y una mayor lejanía respecto al punto de entrada (el Estrecho de Bering), lo cual proporciona un modelo de poblamiento relativamente sencillo o, en todo caso, más sencillo que para otras zonas del planeta. Consecuentemente, América es uno de los continentes menos diversificados desde un punto de vista genético (CAVALLI-SFORZA *et al.* 1994).

La existencia de sólo cuatro linajes mitocondriales mayoritarios, sugiere una reducción en la diversidad del mtDNA en la colonización de América, respecto de la diversidad presente en poblaciones asiáticas e indica la presencia de un probable cuello de botella inicial, quizás en el paso del Estrecho de Bering (SCHURR *et al.* 1990, TORRONI *et al.* 1993a). En concordancia con la hipótesis de Greenberg de las tres oleadas migratorias, los amerindios muestran una mayor heterogeneidad genética, presentando los cuatro linajes definidos por el grupo de Wallace, mientras que los Na-Dene pertenecen de forma predominante a un solo linaje, el A (TORRONI *et al.* 1993a). En consecuencia, la diversidad genética de los Na-Dene es menor que la de los amerindios.

El haplotipo definido por la ausencia de los haplogrupos ACBD, denominado N por STONE y STONEKING (1993), y E por BAILLIET *et al.* (1994)), que hemos detectado en un individuo de Tierra del Fuego, 1.7 % del total de 60 amplificados, puede tratarse de un linaje originario de América, según BAILLIET *et al.* (1994). Aunque este haplotipo es muy frecuente en europeos (93 %, CANN *et al.* 1987),

se encuentra también en frecuencias muy elevadas en Asia (75 %, CANN *et al.* 1987) y está presente asimismo en poblaciones siberianas (27 %, TORRONI *et al.* 1993b). La presencia del haplotipo E en los Ojibwa (25.6 %) fue previamente atribuida a mestizaje con europeos (TORRONI *et al.* 1993a). Esta interpretación era plausible en esa población y en las otras dos de Centro y Norteamérica en las que ha sido descrito el haplotipo (Maya y Nuu-Chah-Nulth) (TORRONI *et al.* 1993a, SCHURR *et al.* 1990), pero en opinión de CANN (1994) parece menos probable en el caso de los Mapuches estudiados por BAILLIET *et al.* (1994), que proceden de una zona de Sudamérica relativamente aislada.

BAILLIET *et al.* (1994) detectaron otros posibles haplotipos residuales o "haplotipos compuestos" estos es, la presencia en un mismo individuo de dos de los haplotipos ABCD, que ordinariamente son excluyentes. Se trataría de A B, descrito en Mayas y Borucas (1.1 y 6.6 %, respectivamente, TORRONI *et al.* 1993a, SCHURR *et al.* 1990); A/C en los Pima (1.1 %, TORRONI *et al.* 1993a, SCHURR *et al.* 1990) y B/D en los Mapuche (3.4 %, BAILLIET *et al.* 1994). Según los autores, estos haplotipos compuestos estarían presentes básicamente en grupos de Sudamérica. Sin embargo, no se ha hallado ningún caso en Tierra del Fuego/Patagonia. De los cuatro haplogrupos mayoritarios descritos, los aborígenes de Tierra del Fuego/Patagonia sólo presentan dos de ellos, C y D. Si se comparan las frecuencias de estos cuatro linajes por grupos poblacionales, distribuidos según su posición geográfica (Figura 2), aparece un claro gradiente norte-sur, que los resultados de nuestro estudio en Tierra del Fuego/Patagonia completan en uno de sus extremos.

Cuando se observa una clina geográfica en un marcador génico, tal distribución sólo puede recibir tres interpretaciones: efecto selectivo, efecto de la deriva y reflejo de la historia de las poblaciones. En nuestro caso, el efecto de la selección puede desecharse ya que todos los marcadores son mutaciones neutras. En cambio, difícilmente puede distinguirse entre las dos alternativas restantes pues no son mutuamente excluyentes.

Si se observa la distribución general del haplogrupo B en América, se descubre que no se halla presente ni en el extremo sur de Suda-

mérica, por debajo de los 41° latitud sur, aproximadamente, ni en el extremo norte de Norteamérica y Asia, por encima de los 54° latitud norte, distribuyéndose en las poblaciones comprendidas entre ambos límites en unas frecuencias similares, con ligeras oscilaciones. A diferencia de lo observado en los otros tres haplogrupos, el B no parece presentar un patrón clinal norte-sur. En líneas generales, las frecuencias de los haplogrupos C y D aumentan progresivamente en sentido norte-sur, mientras que las del haplogrupo A disminuyen en el mismo sentido (Figura 2). Esta tendencia se corresponde perfectamente con lo observado en el presente estudio en los grupos más australes. A pesar del efecto enmascarador de la deriva, importante en particular en las fluctuaciones de las frecuencias entre tribus pequeñas y aisladas, la distribución observada parece indicar que los haplogrupos C y D son los más antiguos en la colonización de América. El hecho de que los aborígenes de Tierra del Fuego y Patagonia, probables descendientes de los primeros migrantes, sólo presenten estos haplogrupos reforzaría esta hipótesis. El haplogrupo A se halla presente en todo el continente, si bien en los grupos Na-Dene del norte llega a unas proporciones altísimas. Es probable que se hallara presente también en el "stock" ancestral que entró en el continente, y que se fuera perdiendo por el efecto de la deriva a medida que tenía lugar la migración hacia el sur.

La particular distribución del haplogrupo B a lo largo del continente, refleja probablemente la presencia de, al menos, dos oleadas migratorias diferentes dentro del grupo conocido como los amerindios: la primera, que llegó más al sur, no presentaba este marcador, mientras que la segunda, cuyos descendientes ocuparían actualmente el sur de EEUU, Centroamérica y gran parte de Sudamérica), sí lo presentaban. Si aceptamos la hipótesis de que los Na-Dene y los Eskimo-Aleutianos representan otras migraciones diferentes, podría ser que al menos cuatro oleadas migratorias diferentes y sucesivas hubieran intervenido en la colonización de América.

Una hipótesis alternativa a considerar es que sólo hubiera habido un grupo migratorio en los actuales Amerindios, y que el haplogrupo B, definido por una delección de 9 bp, hubiera surgido en América por una mutación recurrente, sin parentesco directo con las lejanas poblaciones asiáticas. El hecho de que recientemente se haya encontrado la misma delección en algunas poblaciones africanas sin ningún contacto con el sudeste asiático, indicaría que esta región del DNA mitocondrial es un "punto caliente", y por tanto, podría reforzar la segunda hipótesis.

Finalmente, los datos de los linajes mitocondriales pueden ayudar a clarificar las relaciones entre los grupos de aborígenes estudiados. El hecho de que los cuatro grupos étnicos aquí estudiados presenten los mismos linajes (y D) indicaría la existencia de un parentesco genético ancestral, ya que, de otra manera, sería inverosímil que los haplogrupos restantes, especialmente el A, se hubieran perdido por deriva de forma independiente en cada grupo por separado. Esta afinidad común de los cuatro grupos no habría impedido una posterior diferenciación genética y morfológica, que debería investigarse en detalle por medio de marcadores más específicos.

AGRADECIMIENTOS

Queremos manifestar nuestro agradecimiento a los profesores Mateo Martinic (Instituto de la Patagonia, Universidad de Magallanes, Chile), Silvia Quevedo (Museo Nacional de Historia Natural de Chile), Ernesto Piana (Centro Austral de Investigaciones Científicas de Ushuaia, Argentina) y Rodolfo Casamiquela (CENPAT, Puerto Madryn, Argentina) por habernos proporcionado las muestras utilizadas en este estudio. Asimismo, damos las gracias al Profesor Francisco M. Salzano (UFRGS, Porto Alegre, Brasil) por la revisión final del artículo. El presente trabajo ha sido financiado por el proyecto D.G.I.C.Y.T PB-93-0021 del Ministerio de Educación y Ciencia de España.

APENDICE

Relación de las muestras de Fuego-Patagonia estudiadas

Yacimiento	Muestra	grupo étnico	Datación
F1-Cerro Johnny 6785 Patagonia.	M ₃ d (?)	AONIKENK	400 AP
F2-Discordia 6789, Isla Grande Tierra del Fuego	M ³ i	SELK NAM	
F3-Lengua de Vaca 6780, Bahía Porvenir (Isla Grande).	M ³ d	KAWESKAR	s.XIX-XX
F4-Isla Navarino 849, Navarino.	M ³ i	YAMANA	s.XIX-XX
F5-Isla Navarino 848, Navarino.	M ₁ d	YAMANA	s.XIX-XX
F6-Bahía Laredo 5.	M ₁ d	PRE-AONIKENK	1500 AP
F7-Cueva del Estrecho Trinidad 33833 (Canales Patagónicos).	M ² i	KAWESKAR	s.XIX-XX
F8-Cueva del Estrecho Trinidad 33834 (Canales Patagónicos).	M ³ i	KAWESKAR	s.XIX-XX
F9-Puerto Williams 12489, Navarino.	M ₂ i	YAMANA	
F10-Caverna 3N, Puerto Natales (Canal Fallos).	M ³ d	KAWESKAR	s.XIX-XX
F11-Caverna 3N, Puerto Natales (Canal Fallos).	M ³ d	KAWESKAR	s.XIX-XX
F12-Cueva Lago Sofía 1 43367, Cuad.8D.	M ₃ d	PRE-AONIKENK	4030AP
F13-Cueva Lago Sofía 1 43367, Cuad. 2B.	M ₃ i	PRE-AONIKENK	4030AP
F14-Punta Dungeness 26839.	m ₁ i	AONIKENK	s.XIX-XX
F15-Tres Arroyos I P4, Isla Grande.	M ₁ d	SELK NAM	s.XIX-XX
F16-Casco Estancia. Morro Chico.	M ³ d	AONIKENK	s.XIX-XX
F17-Posesión Olimpia 29751.	M ₁ i	AONIKENK	s.XIX-XX
F18-Canasaca Oeste 6788. Isla Hoste.	M ² i	YAMANA	
F19-Marazzi M21 5902.	C ¹ i	PRE SELKNAM	5000 AP
F20-Bahía Lomas 27721. Isla Grande.	M ₃ d	SELK NAM	
F21-Puerto Zenteno 6787. Patagonia.	Pm ₄ i	AONIKENK	
F22-Seno Lauta 288. Navarino.	M ₁ d	YAMANA	
F23-Caleta Josefina, Isla Grande 30477	M ² i	SELK NAM ?	
F24-San Gregorio 11 27345.	M ³ i	AONIKENK	
F25-Puerto Luisa 6790, Navarino.	Pm ₄ ?	YAMANA	s.XIX-XX
F26-Bahía Baeriswyl. Cerca de Puerto Hambre.	M ₁ i	KAWESKAR	s.XIX-XX
F27-Punta León (Chubut, Argentina) PL (Ch)I-Cen.	I ₂ i	AONIKENK	s.XIX-XX
F28-EI Golfito (Chubut, Argentina) EG (Ch)I-Cen.	Pm ₄ i	AONIKENK	s.XIX-XX
F29-EI Golfito (Chubut, Argentina) EG (Ch)2-Cen.	M ³ i	AONIKENK	s.XIX-XX
F30 Laguna del Juncal (Río Negro, Argentina), LJ(RN)I-Cas.	C ¹ i	AONIKENK	?s.XIX-XX
F31-Laguna del Juncal (Río Negro, Argentina), LJ(RN)2-Cas.	C ¹ i	AONIKENK	?s.XIX-XX
F32-Gastre (Chubut, Argentina) Gtr (Ch)I-Cas.	M ³ i	AONIKENK	?s.XIX-XX
F33-EI Bolsón (Río Negro, Argentina) EB(RN)I-Cas.	C ₁ i	AONIKENK	?s.XIX-XX
F34-Sur de Isla Gable MT-IG 794.	C ?	YAMANA	.XIX-XX
F35-Almanza, A-795/1.	C ?	YAMANA	s.XIX-XX
F36-Canal Beagle (Ushuaia) 002.	Costilla	YAMANA	
F37-Canal Beagle (Ushuaia) 009.	Costilla	YAMANA	
F38-Canal Beagle (Ushuaia) 794.	Costilla	YAMANA	
F39-Canal Beagle (Ushuaia) 009.	Costilla	YAMANA	
F40-Piana, Túnel VII-NB, Cuadrícula 11-44837.	Tibia	?	anterior a 1800
F41-416, (MNHN)	raíz diente	SELK NAM	
F42 -448, (MNHN)	raíz diente	SELK NAM	
F43-449, (MNHN)	raíz diente	SELK NAM	
F44-459, (MNHN)	raíz diente	SELK NAM	
F45-414, (MNHN)	raíz diente	SELK NAM	
F46-420, (MNHN)	raíz diente	YAMANA	
F47-447, (MNHN)	raíz diente	YAMANA	
F48-417, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F49-418, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F50-421, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	

Yacimiento	Muestra	grupo étnico	Datación
F51-424, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F52-427, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F53-428, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F54-430, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F55-431, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F56-434, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F57-415, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F58-419, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F59-423, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F60-426, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F61-429, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F62-432, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F63-436a, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F64-436b, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F65-437, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F66-438, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F67-440, 8607, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F68-442, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F69-443, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F70-458, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F71-422, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F72-441, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F73-425, 8601, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F74-439, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F75-444, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F76-445, 8615, (MNHN)	raíz diente	KAWESKAR	
F77-Paso de las Conchas (MNHN)	Cráneo	?	
F78-411 (8597), (MNHN)	raíz diente	?	
F79-426a (8614), (MNHN)	raíz diente	?	
F80-435, (MNHN)	raíz diente	?	
F81-(A) R.79.3.1, Museo Porvenir	raíz diente	SELK NAM	
F82-(A) R.79.3.4, Museo Porvenir	raíz diente	SELK NAM	
F83-(A) R.79.3.6, Museo Porvenir	raíz diente	SELK NAM	
F84-(A) R.79.3.7, Museo Porvenir	raíz diente	SELK NAM	
F85-(A) R.79.3.9, Museo Porvenir	raíz diente	SELK NAM	
F86-(A) R.79.3.10, Museo Porvenir	raíz diente	SELK NAM	
F87-Bahía Felipe I	raíz diente	SELK NAM	
F88-Bahía Felipe 2	raíz diente	SELK NAM	
F89-Bahía Santiago I	raíz diente	AONIKENK	
F90-Bahía Santiago 2	raíz diente	AONIKENK	
F91-San Gregorio I	raíz diente	AONIKENK	
F92-San Gregorio 2	raíz diente	AONIKENK	

LITERATURA CITADA

- ANDERSON, S., BANKIER, A.T., BARRELL, B.G., BRUIJN, M.H.de, COULSON, A.R., DROUIN, J., EPERON, I.C., NIERLICH, D.P., ROE, B.A., SANGER, F., SCHREIER, P.H., SMITH, A.J.H., STANDEN, R., and YOUNG, I.G. (1981): Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290: 457-465.
- BAILLIET, G., ROTHAMMER, F., CARNESE, F.R., BRAVI, C.M., and BIANCHI, N.O. (1994): Founder mitochondrial haplotypes in amerindian populations. *Am. J. Hum. Genet.* 55: 27-33.
- CANN, R.L. (1994): mtDNA and native Americans: a southern perspective. *Am. J. Hum. Genet.* 55: 7-11.
- CANN, R.L., STONEKING, M. and WILSON, A.C. (1987): Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature* 325: 31-36.
- CAVALLI-SFORZA, L.L., MENOZZI, P., and PIAZZA, A. (1994): *The History and Geography of Human Genes*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- GINTHER, C.L., ISSEL-TARVER, L., and KING, M.C. (1992): Identifying individuals by sequencing mitochondrial DNA from teeth. *Nature Genet.* 2: 135-138.
- GREENBERG, J., TURNER II, C.G., and ZEGURA, S.L. (1986): The settlement of the Americas: a comparison of the linguistic, dental and genetic evidence. *Curr. Anthropol.* 27: 477-497.
- HAGELBERG, E. (1992): DNA in ancient bone. In: B. Herrmann, and S. Hummel. (Eds.): *Ancient DNA*. Springer-Verlag, New York.
- HAGELBERG, E., SYKES, B. and HEDGES, R. (1989): Ancient bone DNA amplified. *Nature* 342: 485.
- HAGELBERG, E. and CLEGG, J.B. (1991): Isolation and characterization of DNA from archaeological bone. *Proc. R. Soc. Lond.* 244: 45-50.
- HAGELBERG, E. and CLEGG, J.B. (1993): Genetic polymorphisms in prehistoric Pacific islanders determined by analysis of ancient bone DNA. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 252: 163-170.
- HANDT, O., RICHARDS, M., TROMMSDORFF, M., KILGER, C., SIMANAINEN, J., GEORGIEV, O., BAUER, K., STONE, A., HEDGES, R., SCHAFFNER, W., UTERMANN, G., SYKES, B., and PÄÄBO, S. (1994a): Molecular genetic analysis of the Tyrolean Ice Man. *Science* 264: 1775-1778.
- HANDT, O., HOSS, M., KRINGS, M., and PAABO, S. (1994b): Ancient DNA: methodological challenges. *Experientia* (Basel) 50(6): 524-529.
- HIGUCHI, R.G., BOWMAN, B., FREIBERGER, M., RYDER, O.A. and WILSON, A.C. (1984): DNA sequence from the quagga, an extinct member of the horse family. *Nature*, 312: 282-284.
- HORAI, S., HAYASAKA, K., MURAYAMA, K., WATE, H., KOIKE, H., and NAKA, N. (1989): DNA amplification from ancient human skeletal remains and their sequence-analysis. *Proceedings of the Japan Academy, series B - Physical and Biological Sciences*. 65: 229-233.
- HORAI, S., KONDO, R., NAKAGAWA-HATTORI, Y., HAYASHI, S., SONODA, S., and TAJIMA, K. (1993): Peopling of the Americas, founded by four major lineages of mitochondrial DNA. *Mol. Biol. Evol.* 10 (1): 23-47.
- LALUEZA, C., PEREZ-PEREZ, A., PRATS, E., MORENO, P., PONS, J., y TURBON, D. (1993-94): Ausencia de la delección de 9 bp COII/tRNAL9s en aborígenes de Fuego-Patagonia mediante análisis de DNA antiguo. *Ans. Inst. Pat.* 22: 181-191.
- MELTZER, D.J. (1993): Pleistocene peopling of the Americas. *Evol. Anthropol.*

- 1:157-168.
- PÄÄBO, S. (1985a): Molecular cloning of ancient Egyptian mummy DNA. *Nature* 314:644-645.
- PÄÄBO, S. (1985b): Preservation of DNA in ancient Egyptian mummies. *J. Archaeol. Sci.* 12: 411-417.
- PÄÄBO, S. (1989): Ancient DNA: Extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 86: 1939-1943.
- PÄÄBO, S. (1990): Amplifying ancient DNA. In: M. Innis, G. Ferfand, J. Sninsky, and T. White, (Eds.) *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications.* Academic Press, USA.
- PÄÄBO, S. and WILSON, A.C. (1988): Polymerase chain reaction reveals cloning artefacts. *Nature* 334: 387-388.
- PÄÄBO, S., GIFFORD, J.A. and WILSON, A.C. (1988): Mitochondrial DNA sequences from a 7000-year old brain. *Nucl. Acid. Res.* 16, (20): 9775-9787.
- SANGER, F., NICKLEN, S., and COULSON, A.R. (1977): DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 74: 5463-5467.
- SCHURR, T.G., BALLINGER, S.W., GAN, Y.Y., HODGE, J.A., MERRIWETHER, D.A., LAWRENCE, D.N., KNOWLER, W.C., WEISS, K.M. and WALLACE, D.C. (1990): Amerindian mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies suggesting they derived from four primary maternal lineages. *Am. J. Hum. Genet.* 46: 613-623.
- STONE, A.C., and STONEKING, M. (1993): Ancient DNA from a Pre-Columbian Amerindian population. *Am. J. Phys. Anthropol.* 92: 463-471.
- TORRONI, A., SCHUM, T.G., YANG, C.-C., SZATHMARY, E.J.E., WILLIAMS, R.C., SCHANFIELD, M.S., TROUP, G.A., KNOWLER, W.C., LAWRENCE, D.N., WEISS, K.M., WALLACE, D.C. (1992): Native American mitochondrial DNA analysis indicates that the Amerind and NaDene populations were founded by two independent migrations. *Genetics* 130: 153-162.
- TORRONI, A., SCHUM, T.G., CABELL, M.F., BROWN, M.D., NEEL, J.V., LARSEN, M., SMITH, D.G., VULLO, C.M., and WALLACE, D.C. (1993a): Asian affinities and continental radiation of the four founding native American mtDNAs. *Am. J. Hum. Genet.* 53: 563-590.
- TORRONI, A., SUKERNIK, R.I., SCHUM, T.G., STARIKOVSKAYA, Y.B., CABELL, M.F., CRAWFORD, M.H., COMUZZIE, A.G., and WALLACE, D.C. (1993b): mtDNA variation of aboriginal Siberians reveals distinct genetic affinities with native Americans. *Am. J. Hum. Genet.* 53: 591-608.
- TURNER, C.G. (1988): Teeth and prehistory in Asia. *Sci. Am.* 260: 88-96.
- WALLACE, D.C., and TORRONI, A. (1992): American Indian prehistory as written in the mitochondrial DNA: A review. *Hum. Biol.* 64 (3): 403-416.
- WRIGHT, H.E. (1991): Environmental conditions for Paleoindian immigration. In: T.D. Dillehay, and D.J. Meltzer, (Eds.), *The first Americans: search and research.* CRC Press, Boca Raton, 113-130.
- WRISCHNIK, L.A., HIGUCHI, R.G., STONEKING, M., ERLICH, H.A., ARNHEIM, N. and WILSON, A.C. (1987): Length mutations in human mitochondrial DNA: direct sequencing of enzymatically amplified DNA. *Nucl. Acid. Res.* 15: 529-542.