

Análisis de ADN mitocondrial en momias del norte de Chile avala hipótesis de origen amazónico de poblaciones andinas

mtDNA analysis of mummies from northern Chile endorse the hypothesis of an Amazonian origin of Andean populations

MAURICIO MORAGA¹, EUGENIO ASPILLAGA², CALOGERO SANTORO³,
VIVIEN STANDEN³, PILAR CARVALLO⁴ & FRANCISCO ROTHHAMMER^{1,3}

¹Programa de Genética Humana, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Casilla 70061, Santiago, Chile, e-mail: frothham@machi.med.uchile.cl

²Facultad de Ciencias Sociales, Universidad de Chile, Santiago, Chile

³Departamento de Arqueología y Museología, Universidad de Tarapacá, Arica, Chile

⁴Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile

RESUMEN

La hipótesis del origen amazónico de las poblaciones andinas basada en el análisis de marcadores genéticos nucleares es contrastada haciendo uso de ADN mitocondrial antiguo aislado de restos esqueléticos de poblaciones prehistóricas del Valle de Azapa, Arica, Chile. Se analizaron 42 muestras de las cuales 32 rindieron amplificadas para los cuatro marcadores amerindios permitiendo su tipificación. La distribución de haplogrupos (A: 31,2 %, B: 21,9 %, C: 31,2 %, D: 3,1 % y otros 12,5 %) relaciona genéticamente a las poblaciones estudiadas con grupos amazónicos y andinos actuales. El número de muestras analizadas no permite aún una subdivisión por fases cronológicas con el objeto de poner a prueba las hipótesis planteadas por arqueólogos y bioantropólogos para explicar la microevolución biocultural de las poblaciones estudiadas.

Palabras clave: origen amazónico de poblaciones andinas, restos esqueléticos, ADNmt antiguo, microevolución biocultural, Valle de Azapa.

ABSTRACT

The Amazonian origin of Andean populations, hypothesized on the basis of nuclear genetic markers, is tested using ancient mtDNA extracted from skeletal remains from prehistoric populations of the Azapa valley, northern Chile. Forty two samples were analyzed of which 32 could be typed for Amerindian haplogroups whose distribution (A: 31.2 %, B: 21.9 %, C: 31.2 %, D: 3.1 % and others 12.5 %) relates genetically the prehistoric groups to Amazonian and living Andean populations. The number of samples is still too small to allow a subdivision by chronological phases in order to test hypothesis about the biocultural microevolution of the populations studied.

Key words: Amazonian origin, Andean populations, skeletal remains, ancient mtDNA, biocultural microevolution, Azapa valley.

INTRODUCCIÓN

Son muchos los antecedentes aportados por la arqueología, la antropología biológica y la genética de poblaciones, que sugieren que el poblamiento de América se produjo como consecuencia de un evento migracional originado en el noreste de Asia (Turner 1984, Greenberg et al. 1986, Gibbons 1993). El poblamiento se habría llevado a cabo cruzando Beringia, al darse condiciones favorables de tránsito hace aproximadamente unos 35.000 años atrás, siendo el número y la duración de las corrientes migratorias aún tema

de debate (Torrioni et al. 1993, Ward et al. 1993, Merriwether et al. 1995, Bonatto & Salzano 1997). Una vez que los paleoindios cruzaron América del Norte dejando huellas de su presencia en varios sitios arqueológicos se desplazaron por América Central hacia América del Sur (Dillehay & Meltzer 1991).

Si bien es cierto que numerosas publicaciones han tenido por objetivo la descripción de registros arqueológicos paleoindios en América del Sur, solamente en algunas pocas se han postulado modelos de poblamiento basados en la evidencia descubierta. Uno de estos modelos fue propuesto hace casi cuarenta años por Bennett & Bird (1964).

De acuerdo a estos autores, cazadores nómades, pescadores y recolectores cruzaron el Istmo de Panamá y ocuparon la región andina después de transitar por los valles de los ríos Cauca y Magdalena hace aproximadamente 12.000 años. Un grupo supuestamente migró hacia el este de Venezuela y Guyana, sin embargo el grueso de los migrantes se desplazó hacia el sur hasta llegar al noreste argentino. Posteriormente los nómades poblaron las altiplanicies del este de Brasil y se expandieron hacia las Pampas y Patagonia para llegar a Tierra del Fuego hace 9.000 años. Este modelo fue aceptado por décadas debido a que no existía evidencia sobre la existencia de paleoindios en la foresta tropical. No obstante, a comienzos de los años 70, Lathrap (1970) sostuvo que la Amazonia no había sido un lugar despoblado y que allí había florecido la Cultura de la Foresta Tropical cuyos protagonistas migraron, utilizando las vías fluviales, en dirección al este y al oeste, llegando los segundos a la zona de ceja de selva, es decir la vertiente oriental de los Andes.

Posteriormente Rothhammer & Silva (1989, 1992) sobre la base de clines registrados en mapas de geografía craneométrica y génica postularon que las poblaciones andinas se podrían haber originado a partir de migraciones provenientes de la foresta tropical. Recientemente el registro arqueológico indicó la presencia de paleoindios en depósitos excavados en Caverna da Piedra Pintada cerca de Monte Alegre en la Amazonia, en la confluencia de los ríos Tapajós y Amazonas (Roosevelt et al. 1996). Es muy probable que esos paleoindios hayan sido los ancestros de los grupos que posteriormente dieron origen a la Cultura de Foresta Tropical descrita por Lathrap (1970).

A partir del análisis con enzimas de restricción se determinó que las variantes de ADNmt obtenidas de poblaciones amerindias contemporáneas caen dentro de cuatro grupos, constituidos por linajes relacionados. Cada uno de estos grupos o haplogrupos puede ser caracterizado por un marcador de ADNmt específico: la ganancia de un sitio de restricción para la enzima Hae III en la posición 663 para el haplogrupo A, la delección de 9 pb. en la región intergénica COII/tRNA^{Lys} para el haplogrupo B, la pérdida de un sitio para la enzima Hinc II en la posición 13259 para el haplogrupo C y la pérdida de un sitio para la enzima Alu I en la posición 5176 para el haplogrupo D (Wallace et al. 1985, Schurr et al. 1990, Torroni et al. 1992, Wallace & Torroni 1992). Los datos de secuencia obtenidos muestran una correspondencia entre cada uno de los haplogrupos arriba mencionados con mutaciones específicas presentes en la región hipervariable I (HVI) del ADNmt (Horai et al. 1993, Baillet et al.

1994). Aún cuando más del 95 % de los amerindios analizados caen dentro de alguno de estos cuatro grandes grupos, nuevos posibles linajes fundadores han sido postulados en poblaciones aborígenes actuales (Torroni et al. 1993, Baillet et al. 1994, Easton et al. 1996), así como en individuos prehistóricos (Stone & Stoneking 1993, 1998, Ribeiro-dos-Santos et al. 1996). La mayoría de estos, con excepción de los esqueletos analizados por Ribeiro-dos-Santos corresponden a aborígenes de América del Norte. Recientemente Smith et al. (1999) han descrito para estas poblaciones un quinto haplogrupo fundador denominado X, que se presenta con frecuencias cercanas al 3 % y está definido por la pérdida de sitios para la enzima Dde I en las posiciones 1715 y 10394.

Los avances en las técnicas de la biología molecular en las últimas décadas han permitido recuperar ADN desde tejidos blandos y huesos antiguos, tanto para humanos como animales ya extintos (Higuchi et al. 1984, Pääbo 1985, Pääbo et al. 1988, Hagelberg et al. 1989, 1991, Horai et al. 1989, 1991, Rogan & Salvo 1990, Hagelberg & Clegg 1991, Handt et al. 1996, Krings et al. 1997, Poinar et al. 1998). Derivado de estos avances surgió una nueva disciplina, la antropología molecular, que abre la posibilidad de prospectar en forma directa los linajes mitocondriales presentes en poblaciones humanas antiguas de modo de evaluar patrones de residencia, migración y relaciones genéticas, tanto entre sí como con los grupos aborígenes contemporáneos.

Los primeros trabajos realizados en poblaciones amerindias precolombinas se remitieron a analizar uno o dos de los haplogrupos fundadores e incluyeron solo unos pocos individuos. Rogan & Salvo (1990) no encontraron la delección de 9 pb en siete momias chilenas, mientras que Horai et al. (1991) encontraron la delección en solo una de once momias amerindias estudiadas. Merriwether et al. (1994) tampoco encontraron la delección en 15 momias de las fases arqueológicas de Alto Ramírez y Chinchorro del Valle de Azapa, Arica. Stone & Stoneking (1993) fueron los primeros en analizar los cuatro marcadores mitocondriales en una población precolombina de 700 años de antigüedad, encontrando individuos de los cuatro haplogrupos así como un individuo no atribuible a ninguno de ellos. Parr et al. (1996) encontraron también dos individuos negativos para los marcadores amerindios en una muestra de 47 individuos de Great Salt Lake datados en 1.600 a 1.000 años AP. En Sudamérica los trabajos son más escasos. Monsalve et al. (1996) estudiaron 6 momias colombianas encontrando los haplotipos A, B y C. Ribeiro-dos-Santos et al. (1996) secuenciaron la región HVI en 18 momias de la región amazónica

encontrando un 39 % de linajes que no corresponden a los haplogrupos descritos por Horai et al. (1993) en amerindios. Lamentablemente Ribeiro-Santos no analiza los marcadores característicos dificultando la comparación de resultados.

Hemos analizado la variación de ADNmt mediante enzimas de restricción en restos momificados de 32 individuos amerindios precolombinos que representan una columna temporal de más de 2.500 años de ocupación en el norte árido de Chile, con el fin de poner a prueba el modelo de origen amazónico de las poblaciones andinas propuesto en varios trabajos de nuestro grupo (Rothhammer & Silva 1989, 1992, Rothhammer et al. 2001). Con este fin hemos determinado en los restos esqueléticos los marcadores que definen los cuatro haplogrupos de ADNmt presentes en poblaciones amerindias contemporáneas. Este trabajo representa el más extenso análisis de muestras antiguas realizado en Sudamérica, y da luces respecto de la real variabilidad presente en los pueblos originarios antes del contacto europeo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras utilizadas corresponden a momias excavadas en los valles de Azapa, Tarapacá y Camarones en la región de Tarapacá en el extremo norte de Chile. Los sitios analizados incluyen: AZ-71 (15 muestras), Caserones sur (cinco muestras), AZ-75 (10 muestras), Cam-9 (10 muestras), AZ-6 (una muestra) y AZ-14 (una muestra) con dataciones de entre 2.900 y 600 años AP. Los 42 individuos incluyen momias de las fases Azapa, Alto Ramírez, Maitas-Chiribaya, Tiwanaku, Cabuza e Inca. Las muestras de hueso fueron obtenidas principalmente a partir de fragmentos de costillas, falanges o diáfisis de huesos largos. En estos casos se utilizó un fragmento no superior a 1 cm².

Los fragmentos de hueso utilizados fueron pulidos de manera de eliminar la cortical externa presumiblemente contaminada con ADN reciente debido a manipulaciones previas. Posteriormente las muestras fueron fragmentadas con una herramienta de corte e irradiadas con luz ultravioleta durante 15 min por cada lado. Durante todos los procedimientos se utilizó mascarilla, delantal y guantes de látex estériles desechables. Todos los materiales desechables fueron cambiados muestra a muestra y tanto las superficies como las herramientas utilizadas fueron limpiadas con hipoclorito al 10 % y enjuagadas con agua bidestilada estéril. Los fragmentos de hueso fueron pulverizados por medio de un molino enfria-

do por nitrógeno líquido (Spex CertiPrep) Los viales de molienda de policarbonato usados en este fueron lavados entre muestra y muestra, enjuagados con agua, tratados por 5 min con DNAzap (Ambion) para destruir cualquier traza de ADN y enjuagados repetidas veces con agua bidestilada estéril. La extracción de ADN a partir de las muestras de hueso se realizó utilizando una modificación de la metodología descrita por Höss & Pääbo (1993). Aproximadamente 0.5 a 1 g de la muestra previamente pulverizada se incubaron por 24 h en 8 ml de EDTA 0.5 M pH: 8.0 a temperatura ambiente con agitación esporádica. La muestra parcialmente descalcificada se colectó por centrifugación descartándose el sobrenadante. Se agregaron 5 ml de tampón de digestión (tiocianato de guanidinio 5 M, Tris-HCl pH: 7.2, 100 mM) y se incubó a 55 °C por 8 a 16 h con agitación. Las muestras se centrifugaron descartándose el precipitado. Los sobrenadantes se trasladaron a tubos nuevos y se agregó 50 µl de suspensión de sílica incubándose por 10 min a temperatura ambiente para unir el ADN a la sílica. La sílica se lavó repetidas veces con tampón de extracción, etanol 70 % y acetona, para finalmente eluir el ADN con tampón TE (10 mM Tris-HCl pH: 8.5, 0.1 mM EDTA). Todos los procedimientos considerados en la extracción se realizaron en un laboratorio dedicado exclusivamente al procesamiento de muestras antiguas. Los equipos utilizados fueron limpiados regularmente con DNAzap (Ambion) de modo de eliminar cualquier riesgo de contaminación entre muestras. Se utilizó sólo material plástico estéril desechable y tanto los reactivos como las muestras se manipularon siempre bajo campana de flujo laminar. En todas las extracciones se incluyó uno o dos controles blanco conteniendo sólo los reactivos.

Debido a que las muestras antiguas por lo general rinden ADNs altamente degradados con tamaños medios no superiores a los 150 o 200 pb (Pääbo et al. 1988, Pääbo 1989) se usó un grupo de partidores diseñados de modo de amplificar fragmentos en el rango de 75 a 121 pb (Handt et al. 1996).

La amplificación por PCR ("polymerase chain reaction") de los ADN extraídos desde las muestras antiguas se realizó utilizando 2,5 unidades de Ampli-taq Gold ADN polimerasa (Applied Biosystems) el tampón suministrado con la enzima, dNTPs 200µM c/u, 25 pmoles de cada partidador y 100 µg de BSA, con el fin de contrarrestar el efecto inhibitor sobre la taq-polimerasa de algunos contaminantes que copurifican con el ADN. El programa de PCR utilizado considera: denaturación inicial, 95 °C por 9 min, 45 ciclos de: denaturación, 93 °C por 45 seg; apareamiento,

55 °C por 45 seg; elongación, 72 °C por 45 seg; y elongación final a 72 °C por 3 min. Los productos de PCR se resolvieron por electroforesis en gel de NuSieve-Agarosa al 3 %.

Los haplogrupos A, C y D fueron analizados mediante el uso de enzimas de restricción. Se utilizó Hae III para el haplogrupo A, Hinc II para el haplogrupo C y Alu I para el haplogrupo D. Los fragmentos de restricción resultantes así como el producto de PCR que incluye la región intergénica COII/tRNA^{Lys} del ADNmt, que define el haplogrupo B, fueron analizadas por electroforesis en gel de Nusieve-Agarosa (3:1) al 3 % (FMC BioProducts). Los fragmentos de ADN se visualizaron en el gel por tinción con bromuro de etidio.

El análisis de la información genética comprendió el cálculo de un conjunto de distancias genéticas (Nei 1972, 1978, Rogers 1972, Wright 1978). Se generaron además dendrogramas utilizando los métodos "unweighted pair group method with arithmetic averaging" (UPGMA) (Sneath & Sokal 1973) y "neighbor-joining" (Saitou & Nei 1987). La robustez de los dendrogramas se determinó obteniendo valores de "bootstrap" (Swofford & Olson 1990). Los cálculos se realizaron utilizando los programas BIOSYS (Swofford & Selander 1981), PHYLIP (Felsenstein 1989), PAUP (Swofford 1993) y TFGA (Miller 1997).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del total de 42 muestras analizadas, 32 rindieron amplificados para los cuatro marcadores permitiendo su haplotipificación, lo que representa un rendimiento del 76,2 % para la extracción y amplificación, valor más que satisfactorio considerando la antigüedad de las muestras y los resultados obtenidos por otros autores. Parr et al. (1996) analizaron 47 muestras obteniendo amplificados para los cuatro marcadores para 21 de ellas lo que

representa un 44,7 % de rendimiento, mientras que Stone & Stoneking (1998) obtuvieron una eficiencia del 71 % en una población de 152 individuos provenientes de un cementerio indígena de 700 años de antigüedad. De las 32 muestras haplotipificadas 28 corresponden a uno de los cuatro haplogrupos descritos en aborígenes americanos, mientras que las restantes cuatro resultaron negativas para los marcadores estudiados (Tabla 1). Estos últimos cuatro linajes, debido a la antigüedad de las muestras, no pueden ser atribuidos a mestizaje, representando posiblemente nuevos linajes mitocondriales no descritos en poblaciones recientes, presumiblemente perdidos como resultado de los profundos cambios demográficos que sufrieron las poblaciones originarias de América tras la llegada de los invasores europeos. Otra alternativa sería que se encuentren en tan baja frecuencia en las poblaciones aborígenes actuales que no se han detectado en los muestreos realizados o bien han sido confundidos con linajes no amerindios introducidos por flujo génico. Aún cuando la frecuencia del grupo "otros" es relativamente elevada (12,5 %) pudiéndose pensar que debería ser difícil su desaparición por deriva simultáneamente en todas las poblaciones contemporáneas, no debemos perder de vista que estos cuatro individuos pueden pertenecer a linajes mitocondriales diferentes con frecuencias que no superarían el 3 %, debido a que lo único que los relaciona directamente es el ser diferentes a los cuatro haplogrupos amerindios principales.

Las frecuencias obtenidas para estos haplogrupos oscilan entre el 3,1 % para el haplogrupo D y el 31,2 % para los haplogrupos A y C, alcanzando el haplogrupo B una frecuencia de 21,9 %. Estas frecuencias difieren de las observadas en las poblaciones Aymará y Atacameña actuales, en las cuales el haplogrupo B representa cerca del 70 % (Rocco et al. 2001). En las muestras de momias estudiadas este haplogrupo apenas supera el 20 %. Lo inverso ocurre con la

TABLA 1

Distribución de haplogrupos de ADNmt definidos por la presencia o ausencia de sitios de restricción y de la delección de 9 pb en muestras esqueléticas del norte árido de Chile

Distribution of mtDNA haplogroups defined by the presence or absence of restriction sites and the 9 bp deletion in skeletal samples from arid northern Chile

Haplotipo	Hae III 663	Delección 9 bp	Hinc II 13259	Alu I 5176	Momias (32)
A	+	-	+	+	10
B	-	+	+	+	7
C	-	-	-	+	10
D	-	-	+	-	1
Otros	-	-	+	+	4

TABLA 2

Frecuencia de los haplogrupos Amerindios de ADNmt en las momias del norte de Chile y en poblaciones contemporáneas chilenas y amazónicas. El tamaño de muestra para cada población se indica entre paréntesis

Amerindian mtDNA haplogroup frequencies in mummies from northern Chile and in extant Population from Chile and Amazonia. Sample size of each population is given in parenthesis

Población (n)	Haplogrupo A	Haplogrupo B	Haplogrupo C	Haplogrupo D	Otros	Autor
Amazonas (139)	0,295	0,281	0,273	0,137	0,014	Santos et al. (1996)
Momias (32)	0,313	0,219	0,313	0,031	0,125	Este estudio
Aymará (120)	0,075	0,567	0,183	0,158	0,017	Rocco et al. (2001)
Atacameño (24)	0,083	0,625	0,250	0,042	0,000	Rocco et al. (2001)
Mapuche (111)	0,000	0,072	0,441	0,486	0,000	Moraga et al. (2000)
Pehuenche (105)	0,029	0,105	0,410	0,457	0,000	Moraga et al. (2000)

frecuencia observada para el haplogrupo A (31,2 %) en las muestras de momias, la que casi cuadruplica la observada en Aymará contemporáneos (6 %). Aún cuando estas diferencias en las frecuencias resultan importantes, los cambios observados en ellas son explicables teniendo en cuenta el tiempo transcurrido, los posibles movimientos poblacionales desde el altiplano y la marcada disminución del tamaño de las poblaciones andinas después de la llegada de los invasores europeos.

Las frecuencias de los haplogrupos mitocondriales de las muestras arqueológicas fueron comparadas con las frecuencias determinadas para las poblaciones Aymará y Atacameña (Rocco et al. 2001) ya mencionadas, así como con datos de la literatura disponibles para aborígenes sudamericanos (Santos et al. 1996, Moraga et al. 2000) (Tabla 2). La inspección de la Tabla 2 revela que las frecuencias de los cuatro haplogrupos diferencian a Mapuches y Pehuenches del resto de las poblaciones, observándose además que los haplogrupos A, B y C presentan frecuencias semejantes, por una parte en los aborígenes del

Amazonas y en las momias, y por otra parte, en los Aymará y Atacameños.

La matriz de distancias de Nei (Nei 1978) construida a partir de las frecuencias relativas de haplogrupos se muestra en la Tabla 3. Resulta interesante constatar que la distancia existente entre las momias y las poblaciones aborígenes de Amazonia es pequeña, mientras que distancias mayores se aprecian entre las poblaciones actuales del norte y sur de Chile avalando el análisis realizado por inspección.

Se calcularon además otras medidas de distancia (ver Materiales y Métodos) para verificar si se obtenían resultados similares. Se comprobó que las matrices de distancia eran congruentes replicando el mismo patrón de relaciones interpopulacionales. Las distancias de Nei (1978) resultaron significativas para todas las comparaciones con la excepción de los pares Amazonia – Momias, Aymará – Atacameño y Mapuche – Pehuenche computando probabilidades exactas (Rousset & Raymond 1995).

El dendrograma UPGMA construido a partir de la matriz de distancias de Nei (1978) (Fig. 1) pone

TABLA 3

Distancias de Nei (Nei 1978) calculadas a partir de las frecuencias de los haplogrupos de ADNmt para poblaciones indígenas chilenas y amazónicas

Nei's (1978) distances computed from mtDNA haplogroup frequencies for Chilean and Amazonian indigenous populations

Población	Amazonas	Momias	Aymará	Atacameño	Mapuche
Momias	0,006				
Aymará	0,051	0,081			
Atacameño	0,058	0,080	0,002		
Mapuche	0,106	0,135	0,161	0,204	
Pehuenche	0,085	0,113	0,135	0,176	0,000

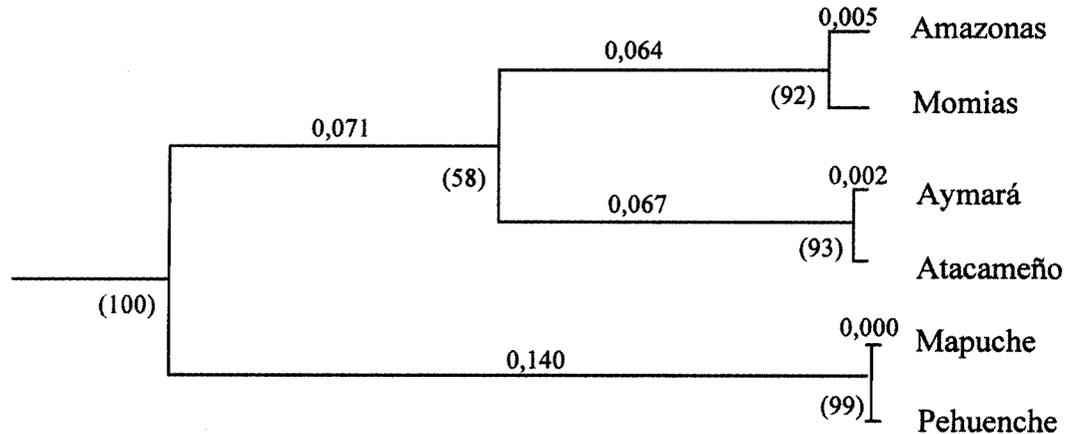


Fig. 1: Dendrograma UPGMA construido a partir de distancias de Nei (1978). Se indica la distancia de los nodos. Entre paréntesis aparece el porcentaje de replicas de "bootstrap" (10.000 permutaciones).

UPGMA dendrogram based on Nei's (1978) distances. Node distances and in parenthesis the proportion of similar replicates from bootstrapping (10,000 permutations) are indicated.

de manifiesto esta situación y muestra a las poblaciones del norte de Chile agrupadas en un mismo "cluster" junto a aborígenes amazónicos y momias del norte de Chile sugiriendo fuertemente una vinculación ancestral entre los grupos Amazónicos y las poblaciones tanto recientes como precolombinas del norte de Chile. Los valores de "bootstrap" calculados indican una buena robustez del dendrograma validando la existencia de tres grupos y apoyando nuestra hipótesis. Los dendrogramas construidos utilizando el método "neighbor - joining" no difieren en cuanto a su topología del dendrograma UPGMA.

Desafortunadamente el número de momias analizadas no permite una subdivisión por fases cronológicas. Sin embargo, como una primera aproximación podemos señalar que el haplogrupo A no exhibe variaciones pronunciadas, mientras que el haplogrupo C experimenta un leve aumento de su frecuencia en las muestras más recientes. El haplogrupo B, a su vez, tiende a disminuir. Aunque estas tendencias no son definitivas debido al pequeño tamaño de muestra, podrían en principio ser explicados por cuellos de botella poblacionales o por flujo génico desde poblaciones vecinas.

El hallazgo más interesante es sin duda la proximidad genética de las momias y los grupos Aymará y Atacameños a los aborígenes de la Amazonía, confirmando hallazgos previos obtenidos por nuestro grupo en base a marcadores nucleares (Rothhammer & Silva 1989, 1992, Rothhammer et al. 2001).

La evidencia craneométrica disponible (Rothhammer & Santoro 2001) sugiere que los individuos inhumados en el Valle de Azapa están biológicamente relacionadas con los individuos inhumados en el cementerio Morro 1 (arcaico medio costero) avalando la hipótesis de que la población valluna se originó a partir de grupos costeros que incursionaron en el valle alrededor de 1.000 AC. Posteriormente, a partir del formativo, aumenta la distancia biológica entre los grupos estableciéndose una tradición costera independiente de los valles. Por otra parte, a juzgar por las distancias craneométricas, durante el período medio se incrementa la relación biológica de los habitantes de los valles con los grupos poblacionales del área circuntitica, llegando esta durante la fase Gentilar a su máxima expresión.

No cabe duda que las hipótesis basadas en el análisis de información arqueológica y bioantropológica podrán en un futuro cercano ser contrastadas utilizando ADNmt antiguo. Las poblaciones prehistóricas del Valle de Azapa constituyen un modelo extraordinario para llevar a cabo este propósito.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Angel Spotorno, Cristian Araneda y a dos revisores anónimos por su generosa colaboración en el análisis de la información genética. Asimismo agradecen los comentarios del Editor y el financiamiento recibido a través de

los proyectos FONDECYT 1010131, 2970028 y DID ETN 003/2.

LITERATURA CITADA

- BAILLIET G, F ROTHHAMMER, F CARNESE, C BRAVI & NO BIANCHI (1994) Founder mitochondrial haplogroups in Amerindian populations. *American Journal of Human Genetics* 55: 27-33.
- BENNETT WC & JB BIRD (1964) Andean culture history. The Natural History Press, Garden City, New York. 257 pp.
- BONATTO SL & FM SALZANO (1997) A single and early migration for the peopling of the Americas supported by mitochondrial DNA sequence data. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 94: 1866-1871.
- DILLEHAY TD & DJ MELTZER (1991) The first Americans. CRC Press, Boca Raton, Florida. 253 pp.
- EASTON R, DA MERRIWETHER, D CREWS & R FERRELL (1996) mtDNA variation in the Yanomami: evidence for additional New World founding lineages. *American Journal of Human Genetics* 59: 213-225.
- FELSENSTEIN J (1989) PHYLIP: Phylogeny Inference Package. *Cladistics* 5: 164-166.
- GREENBERG J, CG TURNER II & SL ZEGURA (1986) The settlement of the Americas: a comparison of the linguistic, dental and genetic evidence. *Current Anthropology* 4: 477-497.
- GIBBONS A (1993) Genetics trace the DNA trail of the first Americans. *Science* 259: 312-313.
- HAGELBERG E, B SYKES & R HEDGES (1989) Ancient bone DNA amplified. *Nature* 342: 485.
- HAGELBERG E & JB CLEGG (1991) Isolation and characterization of DNA from archeological bone. *Proceedings of the Royal Society of London B* 244: 45-50.
- HAGELBERG E, L BELL, T ALLEN, A BOYDE, J JONES & JB CLEGG (1991) Analysis of ancient bone DNA: techniques and applications. *Proceedings of the Royal Society of London B* 244: 399-407.
- HANDT O, M RICHARDS, M TROMMSDORFF, C KILGER, J SIMANAINEN, O GEORGIEV, K BAUER, W SCAFFNER, M KRINGS, R WARD, S STONE, B SYKES & S PÄÄBO (1994) Molecular genetic analysis of the tyrolean ice man. *Science* 264: 1775-1778.
- HANDT O, M KRINGS, R WARD & S PÄÄBO (1996) The retrieval of ancient human DNA sequences. *American Journal of Human Genetics* 59: 368-376.
- HIGUCHI R, B BOWMAN, M FREIBERGER, OA RYDER & AC WILSON (1984) DNA sequences from the quagga, an extinct member of the horse family. *Nature* 312: 282-4.
- HORAI S, K HAYASAKA, K MURAYAMA, N WATE, H KOIKE & N NAKAI (1989) DNA amplification from ancient human skeletal remains and their sequence analysis. *Proceedings of the Japanese Academy of Science* 65: 229-233.
- HORAI S, R KONDO, K MURAYAMA, S HAYASHI, H KOIKE & N NAKAI (1991) Phylogenetic affiliation of ancient and contemporary humans inferred from mitochondrial DNA. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B* 333: 409-416.
- HORAI S, R KONDO, Y NAKAGAWA-HATTORI, S HAYASHI, S SONODA & K TAJIMA (1993) Peopling of the Americas, founded by four major lineages of mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution* 10: 23-47.
- HÖSS M & SPÄÄBO (1993) DNA extraction from Pleistocene bones by a silica-based purification method. *Nucleic Acids Research* 16: 3913-3914.
- KRINGS M, A STONE, RW SCHMITZ, H KRAINITZKI, M STONEK-ING & S PÄÄBO (1997) Neanderthal DNA sequences and the origin of modern humans. *Cell* 90: 19-30.
- LATHRAP DW (1970) The Upper Amazon. Thames & Hudson, Southampton, United Kingdom. 256 pp.
- MERRIWETHER DA, F ROTHHAMMER & RE FERRELL (1994) Genetic variation in the New World: ancient teeth, bone and tissue as sources of DNA. *Experientia* 50: 592-601.
- MERRIWETHER D, F ROTHHAMMER & R FERRELL (1995) Distribution of the four founding lineage haplotypes in native Americans suggests a single wave of migration for the new world. *American Journal of Physical Anthropology* 98: 411-430.
- MILLER M (1997) TFPGA (Tools for Population Genetics Analysis). Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, Flagstaff, Arizona.
- MONSALVE MV, F CARDENAS, F GUHL, AD DELANEY & DV DEVINE (1996) Phylogenetic analysis of mtDNA lineages in South American mummies. *Annals of Human Genetics* 60: 293-303.
- MORAGA M, P ROCCO, JF MIQUEL, F NERVI, E LLOP, R CHAKRABORTY, F ROTHHAMMER & P CARVALLO (2000) Mitochondrial DNA polymorphisms in Chilean aboriginal populations: implications for the peopling of the southern cone of the continent. *American Journal of Physical Anthropology* 113: 19-29.
- NEI M (1972) Genetic distance between populations. *American Naturalist* 106: 283-292.
- NEI M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- PÄÄBO S (1985) Molecular cloning of ancient Egyptian mummy DNA. *Nature* 314: 644-5.
- PÄÄBO S, J GIFFORD & AC WILSON (1988) Mitochondrial DNA sequences from a 7,000-year old brain. *Nucleic Acid Research* 16: 9775-9787.
- PÄÄBO S (1989) Ancient DNA: extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 86: 1939-1943.
- PARR R, S CARLYLE & D O'ROURKE (1996) Ancient DNA analysis of Fremont Amerindians of the salt lake wetlands. *American Journal of Physical Anthropology* 99: 507-518.
- POINAR HN, M HOFREITER, WG SPAULDING, PS MARTIN, BA STANKIEWICZ, H BLAND, RP EVERSHED, G POSSNERT & S PÄÄBO (1998) Molecular coproscopy: dung and diet of the extinct ground sloth *Nothrotheriops shastensis*. *Science* 281: 402-6.
- RIBEIRO-DOS-SANTOS AKC, SEB SANTOS, AL MACHADO, V GUAPINDAIA & MA ZAGO (1996) Heterogeneity of mitochondrial DNA haplotypes in pre-Columbian natives of the Amazon region. *American Journal of Physical Anthropology* 101: 29-37.

- ROCCO P, G MORALES, M MORAGA, JF MIQUEL, F NERVI, E LLOP, P CARVALLO & F ROTHHAMMER (2001) Composición genética de la población chilena: distribución de polimorfismos de DNA mitocondrial en grupos aborígenes y en la población mixta de Santiago. *Revista Médica de Chile* (en prensa).
- ROGAN PK & JJ SALVO (1990) Molecular genetics of pre-Columbian South American mummies. *UCLA Symposium in Molecular Evolution* 122: 223-234.
- ROGERS JS (1972) Measures of genetic similarity and genetic distance. *Studies in Genetics*, University of Texas Publications 7213: 145-153.
- ROOSEVELT AC, DA LIMA, M COSTA, C LOPES MACHADO, M MICHAB, N MERCIER, H VALLADAS, J FEATHERS, W BARNETT, M IMAZIO-DASILVIERA, A HENDERSON, J SLIVA, B CHERNOFF, DS REESE, JA HOLMAN, N TOTH & K SCHIK (1996) Paleindian cave dwellers in the Amazon: the peopling of the Americas. *Science* 272: 373-384.
- ROUSSET C & M RAYMOND (1995) Testing heterozygote excess and deficiency. *Genetics* 140: 1413-1419.
- ROTHHAMMER F & C SILVA (1989) Peopling Andean South America. *American Journal of Physical Anthropology* 78: 403-410.
- ROTHHAMMER F & C SILVA (1992) Gene geography of South America: testing models of populations displacement based on archaeological evidence. *American Journal of Physical Anthropology* 89: 441-446.
- ROTHHAMMER F & C SANTORO (2001) El desarrollo cultural en el Valle de Azapa, extremo norte de Chile, y su vinculación con los desplazamientos poblacionales altioplánicos. *Latin American Antiquity* 12: 59-66.
- ROTHHAMMER F, E LLOP, P CARVALLO & M MORAGA (2001) Origin and evolutionary relationships of native Andean populations. *High Altitude Medicine and Biology* (en prensa).
- SAITOU N & M NEI (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-25.
- SANTOS SE, AK RIBEIRO-DOS-SANTOS, D MEYER & MA ZAGO (1996) Multiple founder haplotypes of mitochondrial DNA in Amerindians revealed by RFLP and sequencing. *Annals of Human Genetics* 60: 305-319.
- SCHURR TG, SW BALLINGER, YY GAN, JA HODGE, DA MERRIWETHER, DN LAWRENCE, WC KNOWLER (1990) Amerindian mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies suggesting they derived from four primary maternal lineages. *American Journal of Human Genetics* 46: 613-623.
- SMITH DG, RS MALHI, J ESHLEMAN, JG LORENZ & FA KAESTLE (1999) Distribution of mtDNA haplogroup X among native North Americans. *American Journal of Physical Anthropology* 110: 271-84.
- SNEATH PHA & RR SOKAL (1973) *Numerical taxonomy: the principles and practices of numerical classification*. W.H. Freeman Company, San Francisco. 623 pp.
- STONE A & M STONEKING (1993) Ancient DNA a pre-Columbian Amerindian population. *American Journal of Physical Anthropology* 92: 463-471.
- STONE AC & M STONEKING (1998) mtDNA analysis of a prehistoric Oneota population: implications for the peopling of the New World. *American Journal of Human Genetics* 62: 1153-1170.
- SWOFFORD DL & RB SELANDER (1981) BIOSYS: a Fortran program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. *Journal of Heredity* 72: 281-287.
- SWOFFORD DL & GY OLSON (1990) Phylogeny reconstruction. En: Hillis DM & C Moritz (eds) *Molecular systematics*: 411-501. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.
- SWOFFORD DL (1993) PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony, version 3.1. Smithsonian Institution, Washington, District of Columbia.
- TORRONI A, TG SCHURR, MF CABELL, MD BROWN, JV NEEL, M LARSEN, DG SMITH, CM VULLO & DC WALLACE (1993) Asian affinities and continental radiation of the four founding native American mtDNAs. *American Journal of Human Genetics* 53: 563-590.
- TORRONI A, TG SCHURR, CC YANG, EJ SZATHMARY, RC WILLIAMS, MS SCHANFIELD, GA TROUP, WC KNOWLER, DN LAWRENCE, KM WEISS & DC WALLACE (1992) Native American mitochondrial DNA analysis indicated that the Amerind and the Nadene populations were founded by two independent migrations. *Genetics* 130: 153-162.
- TURNER CG (1984) Advances in the dental search for Native American origins. *Acta Anthropogenetica* 8: 23-78.
- WALLACE DC, K GARRISON, WC KNOWLER (1985) Dramatic founder effects in Amerindian mitochondrial DNAs. *American Journal of Physical Anthropology* 68: 149-155.
- WALLACE DC & A TORRONI (1992) American Indian prehistory as written in the mitochondrial DNA: a review. *Human Biology* 64: 403-416.
- WARD RH, A REDD, D VALENCIA, B FRAZIER & S PÄÄBO (1993) Genetic and linguistic differentiation in the Americas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 90: 10663-10667.
- WRIGHT S (1978) *Evolution and the Genetics of Populations*. Volume 4: variability within and among natural populations. University of Chicago Press, Chicago, Illinois. 628 pp.