

Áreas de contato de populações pré-históricas, observado através do resgate de DNA de amostras arqueológicas de milho - *Zea Mays*, L.

Fábio de Oliveira Freitas¹

Resumo

Usando-se amostras arqueológicas de milho - *Zea mays*, com idades entre 620 ± 60 anos e 990 ± 60 A.P., do Vale do Peruaçu, Minas Gerais, Brasil, resgatou-se fragmentos de DNA desta espécie, os quais foram comparados com amostras modernas e dados da literatura. Três padrões genéticos foram observados, sendo que, geograficamente, um padrão ficou mais limitado à região Andina, enquanto os outros dois aparecem na região das Terras Baixas da América do Sul. Os padrões sugerem pelo menos duas levadas migratórias do milho a partir da América Central para a do Sul. Ainda sugere um isolamento entre os tipos das Terras Altas e o das Terras Baixas. Em termos de cultura alimentar, as populações humanas que habitavam o vale do Peruaçu tiveram uma influência cultural muito maior da região Norte da América do Sul, mais do que da região andina.

Palavras-chave: Influência Cultural, Migrações Humanas, DNA Arqueológico.

Abstract

DNA fragments of a maize species - *Zea mays* -, collected from archaeological sites in the Peruaçu valley, Minas Gerais,

¹ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Parque Estação Biológica - PqEB - Av. W5 Norte (final) - Caixa Postal 02372 - Brasília, DF, Brasil - CEP: 70770-900 fabiof@cenargen.embrapa.br

Brasil, dating from 620±60 to 990±60 years B.P., were compared to modern samples and data known from the literature. Three distinct genetic patterns were observed with discrete geographic distributions: one limited to the Andean region, and two other occurring in the lowland region of South America. The data indicates at least two waves of maize dispersion from Central to South America. Besides, it suggests isolation between Highland and Lowland types. In terms of dietary patterns, it can be said that human populations who inhabited the Peruaçu valley were more influenced by Northern South America than by the Andean region.

Keywords: Cultural Influence, Human Migrations, Ancient DNA.

Introdução

Historicamente, até o final da década de 1960 e início da década de 1970, época onde as ferramentas científicas de genética molecular surgiram, o estudo de evolução e filogenia das espécies/raças era baseado quase que exclusivamente em medidas morfológicas das amostras.

Através da morfologia comparada entre espécies/raças atuais e de fósseis, construiu-se toda uma teoria de evolução dos diferentes gêneros, famílias, reinos, formando toda a árvore genealógica das espécies conhecidas. Em condições muito propícias, a partir dos dados de amostras atuais e arqueológicas, poderia se inferir o local de origem da espécie; quando este fato ocorreu; as transformações pela qual passou; por onde e quando se difundiu; entre outras coisas.

Novas técnicas surgidas ao longo do século XX fizeram com que a arquitetura daquela árvore se reajustasse por diversas vezes e lançaram dúvidas em outros pontos da mesma. Este fato se deve em parte pela falta de fósseis re-

presentativos de alguns grupos de espécies, que fazem com que haja lacunas ainda não totalmente esclarecidas e também porque esta classificação era, a princípio, somente baseada na morfologia, ou seja, no fenótipo, o que pode acarretar em erros de classificação, já que as condições do meio ambiente no qual o indivíduo se desenvolveu influem muito em sua morfologia final e, deste modo, indivíduos geneticamente distintos, podem apresentar uma morfologia muito parecida, e vice-versa.

Ainda, o processo de fossilização de uma amostra pode modificar completamente sua morfologia original, aumentando muito seu volume pela incrustação de minerais, por exemplo, ou mesmo diminuindo seu tamanho devido ao peso de camadas de solo depositadas sobre ela, compactando-a (Schultz, 2003), fazendo com que o pesquisador muitas vezes acabe por interpretar uma peça de forma errônea.

Este fato é ainda mais complicado quando se trata de materiais vegetais, pois as plantas são altamente plásticas. A morfologia e tamanho das espécies vegetais podem naturalmente variar de acordo com as condições do ambiente. Aliado a este fato, os tecidos das plantas são muito menos propícios para se conservarem por longos períodos, se comparada com a de outros materiais como ossos, cerâmica, instrumentos de pedra, entre outros, o que fez com que o estudo de amostras arqueológicas vegetais ficasse muito limitado dentro dos estudos gerais em arqueologia, já que o volume de amostras vegetais é normalmente menos abundante. Ainda, parte do que é resgatado normalmente não pode ser aproveitado pelos estudos clássicos, pois muitas vezes a amostra não corresponde a uma parte da planta que seja tradicionalmente usada para a classificação botânica, como por exemplo uma flor, cujo tecido é extremamente difícil de se preservar em termos arqueológicos.

A nova fase de estudos evolutivos, onde não levavam em conta apenas as características morfológicas das espécies, iniciou-se na primeira metade do século XX. Estes estudos contribuíam para elucidar diversas dúvidas sobre o grau de parentesco e o caminho evolutivo das espécies (Skovsted, 1937; McClintock, 1959; McClintock et al., 1981). Entretanto, nenhum avanço foi tão grande quanto ao obtido pelas técnicas moleculares desenvolvidas na segunda metade do século XX, as quais permitiram que tivéssemos acesso a detalhes mais aprofundados sobre o material genético das espécies e, por conseguinte, acesso ao "livro" onde estão guardadas todas as informações acumuladas ao longo de bilhões de anos de história evolutiva dos seres vivos.

Técnicas comumente conhecidas como eletroforese de isoenzimas, RAPD, RFLP, seqüenciamento de bases nitrogenadas, entre muitas outras, permite estimar o quanto que uma espécie está, geneticamente, distante da outra. Pode-se saber, por exemplo, quais nucleotídeos (A;C;G;T), que são os "tijolos" básicos da seqüência do DNA de cada espécie, são diferentes entre as amostras, mostrando, entre outras coisas, quais foram as divergências genéticas que ocorreram entre aqueles indivíduos estudados, desde um ancestral comum, mostrando qual é o grau de proximidade genético-evolutivo entre diferentes indivíduos, populações ou espécies.

Entretanto, a princípio, aquelas novas técnicas não permitiram que se solucionasse muitas das dúvidas já existentes, principalmente pelo fato de que as técnicas existentes até meados de 1980, permitiam o estudo e a comparação apenas entre espécies vivas. Para estes estudos era necessário que a espécie/raça ainda existisse hoje em dia, pois algumas das técnicas comparam produtos oriundos da atividade do material genético do indivíduo naquele

momento, como é o caso da técnica de isoenzimas. Outras técnicas exigem uma quantidade de material genético (DNA) muito grande, inviabilizando o uso da maior parte das amostras arqueológicas, as quais, de modo geral são em quantidade diminutas. Uma dificuldade maior é o fato de que a molécula de DNA ser altamente degradável após a morte do organismo, fazendo com que reste apenas fragmentos do material genético original nas amostras arqueológicas de material orgânico (Herrmann & Hummel, 1994). Deste modo, em um primeiro momento, as técnicas citológicas, imunológicas, moleculares, entre outras, aumentaram o abismo de dados gerados entre amostras atuais e arqueológicas.

O cenário modificou-se quando estudos e técnicas moleculares mais recentes permitiram com que se conseguisse resgatar pequenos fragmentos de DNA ainda sobreviventes nas amostras, inclusive de espécies já extintas, permitindo assim o estudo evolutivo a nível molecular entre amostras de espécies vivas e não vivas e, por conseguinte, o aprofundamento das pesquisas e o esclarecimento de diversas dúvidas (Herrmann & Hummel, 1994).

O primeiro trabalho a utilizar diretamente material genético de uma amostra arqueológica foi realizado por Higuchi e Wilson (1984). Extraíndo material genético de células da pele de um "quagga", animal que habitava a África e que foi extinto no século passado pela ação do homem, eles conseguiram elucidar uma dúvida que era objeto de uma longa discussão.

Existia a dúvida se, filogeneticamente, o "quagga" era mais correlacionado com o cavalo ou com as zebras. Os autores retiraram DNAm (mitocôndria - organela constituinte da célula) de amostras de peles que se encontravam em museus e compararam com amostras de DNAm de cavalo, zebras e asnos. Com este trabalho, o "quagga" foi considera-

do como tendo um grau de parentesco maior com as zebras (Higuchi & Wilson, 1987).

A partir de então uma série de trabalhos se seguiu, com as mais variadas espécies e com idades cada vez mais remotas. Até o momento, temos conhecimento de que os trabalhos que relatam o resgate de material genético de amostras com idades mais antigas são de 1992 e 1993, com uma abelha e uma formiga de 25 milhões de anos e de um gorgulho de 120 milhões de anos, todos eles naturalmente preservados em âmbar (DeSalle et al. 1992; Cano et al. 1993).

Em termos de Brasil, até onde sabemos, o trabalho pioneiro nesta área foi o estudo de 18 esqueletos humanos, de diferentes sítios arqueológicos do Brasil, principalmente no estado do Pará, e que se encontravam no Museu Paraense Emílio Goeldi (Ribeiro dos Santos, 1996).

Os resultados mostraram que 39% dos padrões genéticos (haplótipos) ainda não haviam sido descritos pela literatura científica, indicando que havia uma grande diversidade no passado entre aquelas populações que ali habitavam. Segundo os autores, a causa da perda desta variabilidade se deve, provavelmente, às conseqüências da colonização européia.

O estudo de plantas cultivadas pelas populações antigas também tem sido alvo de diversos trabalhos, visando identificar, por exemplo, quando e onde uma planta foi domesticada; a que raça pertence determinada amostra encontrada; por onde ela foi espalhada, disseminada, e quais as transformações por ela sofridas em sua evolução, podendo-se inferir, por exemplo, sobre as possíveis rotas migratórias das populações ao longo do tempo.

Ainda, o estudo de sementes arqueológicas pode trazer muitas informações a respeito de como era a cultura de um

determinado povo em uma dada época, sua relação com outras populações e como ela evoluiu.

Dentro deste enfoque, este trabalho apresentará os resultados das análises com amostras arqueológicas de milho - *Zea mays*, L., encontradas em cavernas do Vale do Peruaçu, município de Januária - Minas Gerais, Brasil.

Essa planta era uma das mais importantes na dieta das populações humanas nativas do continente americano quando da chegada dos Europeus, há quinhentos anos (Brieger et al. 1958; Patterniani & Goodman, 1977). O milho é fora de dúvida originário das Américas e foi Colombo que, em 1492, levou sementes dessa planta para a Europa (Doebly, 1990).

Acredita-se que o milho tenha sido domesticado há mais ou menos sete mil anos atrás, na região centro-sul do México (Goloubinoff et al. 1993). As populações indígenas ao longo deste período selecionaram esta planta, produzindo as diferentes variedades e raças locais (etnovarietades) hoje existentes de milho e disseminaram essa planta desde o México até os mais remotos pontos das três Américas (Brieger et al. 1958; Patterniani & Goodman 1977; Doebly, 1990). A disseminação desta planta foi feita ora por migrações, ora por trocas de mercadorias ou até mesmo por lutas e conquistas territoriais.

Objetivo

O trabalho teve como objetivo resgatar fragmentos de material genético de amostras arqueológicas de milho, da região do Vale do Peruaçu, em Minas Gerais, e compará-las com as demais amostras arqueológicas e contemporâneas desta espécie, a fim de determinar possíveis rotas migratórias ou de contato das populações daquele local com as demais regiões das Américas.

Material e Método

As variedades tradicionais de milho foram obtidas de diferentes tribos indígenas e agricultores tradicionais do Brasil e Paraguai, através de coletas pessoais e a partir de amostras conservadas no banco de germoplasma da Embrapa de Sete Lagoas (Tabela 1).

O material arqueológico foi obtido de silos encontrados nas cavernas Lapa do Boquete; Lapa do Caboclo e Lapa da Hora, no Vale do Peruaçu, distrito de Januária, MG. Os materiais arqueológicos foram, de modo geral, encontrados acondicionados em cestas trançadas com folhas de palmeira, palhas de milho e capim, que estavam enterradas, recebendo a denominação de silos. O material de milho era composto por uma grande quantidade de espigas de milho (inteiras e fragmentadas), de diferentes formas, tamanhos e coloração de grãos.

As amostras A2, A8 e A23 são grãos de milho; as A3, A6 e A34 são espigas e a A5 é palha de milho. Os pares amostrais A2 e A8, A5 e A6 foram obtidos de um mesmo silo, respectivamente.

A idade das amostras arqueológicas (Tabela 1), foram obtidas usando-se a técnica de datação radiocarbônica (Pessenda & Camargo, 1991).

De cada uma das amostras (arqueológicas e modernas), foi extraído fragmentos do material genético (DNA). Posteriormente, este DNA foi amplificado pelo método do PCR, que, simplificada-mente, consiste em fazer muitas cópias de um dado segmento de DNA, a partir de uma ínfima quantidade do material original, o que permite que se tenha material genético em abundância suficiente para análise (Fig. 01).

Após a amplificação, cada fragmento de DNA amplificado foi seqüenciado, obtendo-se assim toda a seqüência das "letras" (bases nitrogenadas - A,C,G,T) do material genético das amostras estudadas, as quais foram comparadas en-

tre cada uma das amostras, utilizando-se a técnica do network (Allaby & Brown, 2001), apresentadas em Freitas (2001) e Freitas et al. (2003).

Resultados e Discussão

Trinta e cinco seqüências, representando dezesseis diferentes alelos (seqüências variantes singulares), foram obtidas das raças tradicionais primitivas. As condições encontradas nas cavernas do Vale do Peruaçu parecem ter contribuído para a preservação do material genético, pois vinte e sete seqüências, representando dez diferentes alelos, foram recuperadas das amostras arqueológicas. Junto com dados de seqüências já publicados na literatura (Dennis et al. 1985; Goloubinoff et al. 1993), todos os alelos foram alinhados e comparados (Freitas, 2001; Freitas et al. 2003) e é o objeto da análise a seguir.

Analisando as seqüências das diferentes amostras, notou-se que todas elas podiam ser separadas e agrupadas em três grupos principais (três tipos de alelos padrões), ou seja, entre as mais de trinta amostras estudadas, geneticamente, estas variavam em torno de apenas três tipos principais, sugerindo que todas estas raças de milho, abordadas neste estudo, foram derivadas a partir de três tipos genéticos básicos.

Os resultados ficaram ainda mais interessantes quando se analisou geograficamente onde ocorria cada um desses três tipos. Notou-se primeiramente que os três tipos ocorrem na região do México, confirmando que aquela região possui uma alta diversidade, que é um dos pressupostos principais de um centro de origem de uma dada espécie.

Entretanto, em relação à América do Sul, notou-se que havia uma nítida separação geográfica de ocorrência dos diferentes tipos (Fig.02). O tipo mais simples (mais primitivo) ocorre basicamente na região ao longo da Cordilheira dos

Andes, desde o norte do Peru até o Chile, tanto nas amostras modernas como nas arqueológicas, como, por exemplo, na amostra de 4.500 anos do Peru (Golubinoff et al. 1993).

Já os outros dois tipos, chamados de complexos, devido a suas particularidades genéticas, aparecem presentes basicamente na região das terras baixas da América do Sul, novamente tanto para as amostras arqueológicas como para as modernas (Fig.02).

Esse fato sugere que diferentes variedades de milho devem ter sido introduzidas na América do Sul em dois momentos distintos, ou seja, a partir de duas levas migratórias independentes, trazendo amostras de diferentes tipos de milho e percorrendo caminhos divergentes, fato este também sugerido nos trabalhos de McClintock et al. (1981) e Piperno (1983), onde o primeiro trabalhou com amostras modernas de milho de todas as três Américas, e o segundo trabalhou com amostras arqueológicas do Panamá.

Os dados sugerem que por volta de cinco mil anos atrás, raças de milho adaptado a regiões de altitude elevada, atravessaram o Panamá. Estas raças de milho possuíam o tipo simples de alelo e, ao chegarem na América do Sul, penetraram através da região da cordilheira dos Andes e ali se estabeleceram, não avançando para a região das terras baixas.

Posteriormente, por volta de dois mil anos atrás, um novo tipo de milho chegou ao Panamá, mas desta vez aparece nas regiões das planícies e ao longo dos vales de rios daquele País, ou seja, diferentemente daquela primeira leva, essa nova aparentemente possuía uma cultura mais adaptada a regiões de terras baixas, inclusive relacionadas a populações humanas com conhecimento e utilização de canoagem (Piperno, 1983).

Esta nova leva, ao chegar à América do Sul, aparentemente, seguiu um ca-

minho diferente daquela primeira, sendo disseminada pela região das terras baixas. As novas raças de milho, geneticamente, possuíam os outros dois tipos de alelos, complexos, os quais foram difundidos por toda região das terras baixas sul-americanas.

A "escolha" de qual caminho seguir, seja através das terras altas ou das terras baixas, aparentemente deve estar ligado com a própria cultura das populações humanas que estavam difundindo esta planta.

Interessantemente, essas duas levas distintas de difusão ficaram isoladas uma da outra, pelo menos em termos de influência alimentar, ou seja, ainda hoje persiste esse padrão terra alta/ terra baixa de tipos de milho. Aparentemente ocorreram poucas trocas entre os diferentes tipos introduzidos, mostrando que o contato e a troca entre os diferentes grupos culturais humanos, das duas regiões, foram muito escassos, limitados, pelo menos em relação ao milho.

Uma exceção notada neste trabalho para esse fato foi a região sul da América do Sul, onde raças de milho das terras baixas foram encontradas em uma amostra arqueológica do Chile, de 1.500 anos, e o tipo das terras altas em apenas uma amostra moderna do Paraguai, mostrando que as populações humanas daquela região mais ao sul do continente mantinham contato, trocas, permitindo com que uma cultura influenciasse a outra. Já para o restante da América do Sul, este trabalho não registrou outras áreas onde possam ter havido contato de forma muito influente entre tipos das terras baixas e altas.

Isto demonstra que o isolamento entre populações e regiões pode ter sido resultado de uma diferença cultural intensa, maior do que a diferença ambiental (de clima, relevo, altitude, entre outros fatores), já que na região sul da América do Sul esse contato ocorreu, enquanto na região central o mesmo não se deu.

É interessante notar que esse padrão terras altas/ terras baixas ainda se mantém nas amostras de milho atuais. Uma explicação para esse fato pode ser devido a outro fator histórico mais recente, o da colonização européia no Novo Mundo, mais especificamente na América do Sul, onde, de modo geral, os Espanhóis colonizaram as terras altas e os Portugueses as terras baixas. Assim, aqueles colonizadores criaram, ou como acreditamos agora, mantiveram o isolamento ou barreiras culturais que já existiam, enfatizando novamente que estamos baseando estas afirmações em termos do milho.

Com esses resultados, podemos afirmar que as populações indígenas que habitaram em tempos mais remotos a região do Vale do Peruaçu, no norte do estado de Minas Gerais, em termos alimentares e, mais especificamente do milho, receberam uma influência mais intensa a partir da América Central e, aparentemente, não sofreram nenhuma, ou muito pouca, influência da região dos Andes.

Devido à grande abundância de vestígios arqueológicos de milho, se comparada com vestígios de outras plantas cultivadas e coletadas, encontradas no Vale do Peruaçu, podemos afirmar que essa planta era uma das mais, se não a mais importante, da dieta alimentar dessa população nos últimos dois mil anos. Desse modo, o fato de uma planta de suma importância no cotidiano dessas populações ter sido introduzida a partir da América Central e não dos Andes, nos leva a crer que a cultura das populações daquela região do Vale do Peruaçu foi influenciada de forma intensa pela cultura da América Central, mais do que a própria região andina, principalmente em termos alimentares.

É interessante notar que nos sítios do Vale do Peruaçu os silos contendo material vegetal começam a aparecer cronologicamente por volta de 1.500 anos atrás e crescem em abundância por volta de mil anos. Cabe ressaltar que a

função desses silos ainda não é totalmente esclarecida, podendo terem sido usados para estocar alimentos ou para fins religiosos (Veloso & Rezende, 1992).

Sendo de cunho religioso ou de estocagem de alimentos, o fato é que esses silos só aparecem após uma determinada época, onde coincidentemente é pouco após a data provável da segunda leva de difusão do milho, quando atravessou a América Central ao redor 2.000 anos atrás, como citado anteriormente.

Isso poderá sugerir, portanto, que as populações de Januária tomaram contato com novas culturas humanas nesse período, as quais influenciaram e mudaram seus hábitos em um dado momento no passado, fazendo com que o cultivo do milho crescesse em importância. Deve-se aventar inclusive a hipótese de que um novo grupo humano tenha se instalado naquela região, podendo ter introduzido novos hábitos culturais, incluindo alimentares.

Outro fato que merece atenção é em relação ao complexo microssatélite GA₁AA₁GA_n, cujo registro mais antigo de sua presença até o momento se dá em duas amostras arqueológicas do Vale do Peruaçu, ambas com idades de 570±60 anos atrás. Ao olharmos a distribuição geográfica deste alelo, vemos que ele é ainda mais restrito do que o outro complexo GA_nTA, aparecendo apenas na parte leste do Brasil e em populações modernas do sul dos EUA.

O fato deste complexo ter sido encontrado, até o momento, somente em amostras datadas de 570 anos atrás, do Vale do Peruaçu e em apenas um dos três sítios arqueológicos da região, enquanto o outro complexo aparece naquela região desde a amostra mais remota e nos três sítios arqueológicos estudados, sugere duas possibilidades: Uma que ele poderia ser um alelo mais raro e por isto sua detecção é mais difícil. Entretanto, como sua presença nas amostras modernas também se faz mais rara, ficando restrita a determina-

das variedades (Tabela 1), pode-se sugerir que este alelo seja mais novo e por isto sua distribuição geográfica é mais restrita ou mesmo porque ele estava ligado a um grupo humano mais restrito, ou ambos.

É interessante notar que a época e a região abrangida por este complexo mais raro coincide com a provável expansão indígena Tupi, a qual acredita-se ter ocorrido a partir da região central do Brasil para o litoral atlântico, colonizando e dominando culturalmente toda a costa leste Sul-Americana. Caso este alelo tenha surgido entre variedades de milho sob manejo daquelas culturas indígenas, isto pode explicar o porquê deste aparecer somente em registros mais recentes de Januária e estar geograficamente mais limitado.

Por último, este trabalho também mostra que fragmentos de DNA oriundos de amostras arqueológicas de plantas cultivadas encontradas em regiões tropicais podem ser preservados e utilizados em estudos históricos e genético-evolutivos.

Considerações Finais

No trabalho procurou-se mostrar como o estudo de alimentos pode ser útil para que se conheça parte da história das populações indígenas, em seu passado remoto. Os dados levantados a partir das amostras de milho fornecem grandes evidências sobre a história evolutiva e de difusão desta planta, através das diversas regiões da América Central e do Sul, indicando os possíveis cami-

nhos percorridos pelas suas diferentes variedades.

Como esta planta é altamente ligada ao homem, a sua difusão se fez através das culturas humanas que a cultivavam, permitindo assim que, em paralelo, parte da história humana também possa ser melhor conhecida.

Por fim, mostrou-se que o uso de técnicas de resgate e uso de material genético preservado em amostras arqueológicas pode ajudar a elucidar algumas perguntas, já que como esta técnica necessita apenas de pequenos fragmentos de cada material, pode-se utilizar uma série de amostras arqueológicas, as quais anteriormente não eram possíveis de se fazer análise mais conclusivas.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer ao Dr. André Prous e colegas da UFMG, que desenterraram e nos emprestaram esse fantástico material arqueológico. Agradeço ainda ao Departamento de Genética da ESALQ e ao Dr. Robin Allabi e Dr. Terrence Brown pelo ensinamento e pela receptividade durante o trabalho prático na UMIST, em Manchester - Inglaterra.

Gostaria ainda de dedicar esse trabalho a memória do Dr. Paulo Sodero Martins, que me ensinou toda a base científica que possuo nesta área e também àquelas populações indígenas do passado que aqui habitavam e que plantaram, colheram e guardaram, através do tempo e da arte, os alimentos que hoje estudamos.

Referências Bibliográficas

- ALLABY, R.G. & BROUN, T. A. 2001. Network analysis provides insights into the evolution of 5S rDNA arrays in *Triticum* and *Aegilops*. *Genetics*, 157:1331-1336.
- BRIEGER, F.G.; GURGEL, J.T.A.; PATERNIANI, E.; BLUMENSCHHEIN, A.; ALLEONI, M.R., 1958. *Races of maize in Brazil and other Eastern South American countries*. National Academy of Science; National Research Council Publication, n.593.

- CANO, R.J et al. 1993. Amplification and sequencing of DNA from a 120-135- million-year-old weevil. *Nature*, 363:536-538.
- DENNIS, E.S. et al. 1985. Molecular analysis of the alcohol dehydrogenase 2 (Adh2) gene of maize. *Nucleic Acids Res.*, 13:727-743.
- DESALLE, R. et al. 1992. DNA sequences from a fossil termite in oligo-miocene amber and their phylogenetic implications. *Science*, 257:1933-1936.
- DOEBLEY, J. 1990. Molecular evidence and the evolution of maize. *Economic Botany*, 44(3 supplement):6-27.
- FREITAS, F.O. 2001. *Estudo genético evolutivo de amostras modernas e arqueológicas de milho (Zea mays mays, L.) e feijão (Phaseolus vulgaris, L.)*. Tese de Doutorado. São Paulo, Universidade de São Paulo.
- FREITAS, F.O. et al. 2003. Genetics from pre-columbian maize from South America. *Journal of Archaeological Science*, 30:901-908.
- GOLOUBINOFF, P. 1993. Evolution of maize inferred from sequence diversity of an Adh2 gene segment from archaeological specimens. *Proceedings of Natural Academy of Science (USA)*, 90:1997-2001.
- HERRMANN, B. & HUMMEL, S. 1994. *Ancient DNA: recovery and analysis of genetic materials from paleontological, archeological, museum, medical, and forensic specimens*. New York, Springer Verlag.
- HIGUCHI, R.G. & WILSON, A. 1984. Recovery of DNA from extinct species. *Fed. Proceeds*, 43:1557.
- MCCLINTOCK, B. 1959. Genetic and cytological studies of maize. *Washington Yearbook*, 58:452-456.
- MCCLINTOCK, B. et al. 1981. *Chromosome constitution of races of maize*. Chapingo, Colégio de Postgraduados.
- PATTERNIANI, E. & GOODMAN, M.M. 1977. *Races of maize in Brazil and adjacent areas*. 1ª ed. Mexico, CIMMYT .
- PESSENDA, L. C. R. & CAMARGO, P. B. 1991. Radiação radiocarbônica de amostra de interesse arqueológico e geológico por espectrometria de cintilação líquida de baixo nível de radiação de fundo. *Química Nova*, 14:98-103.
- PIPERNO, D. R. 1983. *The application of phytolith analysis to the reconstruction of plant subsistence and environments in prehistoric Panama*. Tese de Doutorado. Philadelphia, Temple University.
- RIBEIRO DOS SANTOS, A. et al. 1996. Heterogeneity of mitochondrial DNA haplotypes in Pre-Columbian natives of the Amazon region. *American Journal of Physical Anthropology*, 101:29-37.
- SCHULTZ, C. L. 2003. Os fósseis ajudam ou atrapalham? *Anais. 49º Congresso Brasileiro de Genética*, Águas de Lindóia.
- SKOVSTED, A. 1937. Cytological studies in cotton. IV. Chromosome conjugation in interspecific hybrids. *Journal of Genetics*, 34:97-134.
- VELOSO, T. P. G. & RESENDE, E. M. T .P. 1992. Vestígios alimentares nos sítios arqueológicos sob abrigos de Minas Gerais. *Anais do III Congresso da ABEGUA*, Belo Horizonte.

Tabela 1 - Amostras de milho utilizadas nas análises (origem e localização; idade e tipo de alelos da região da seqüência do microsatélite encontrado).

Sigla	Variedade	Fonte*	Localização	Idade	Referência	Alelo
E1	Wuara	indígena	Brasil-MT	Moderno	Este estudo	GA _n TA
E5	Moroti	BG 7Lagoas	Brasil-PR	Moderno	Este estudo	GA ₁ AA ₁ GA _n
E6	Cateto	BG 7Lagoas	Brasil-MA	Moderno	Este estudo	GA _n TA
E9	Cristal	BG 7Lagoas	Brasil-BA	Moderno	Este estudo	GA _n TA; GA ₁ AA ₁ GA _n
E11	Moroti-Guapi	BG 7Lagoas	Paraguai	Moderno	Este estudo	GA _n
E12	Guarani	BG 7Lagoas	Brasil-SP	Moderno	Este estudo	GA _n TA
E13	Cristal	BG 7Lagoas	Brasil-MG	Moderno	Este estudo	GA ₁ AA ₁ GA _n
E14	Caingang	BG 7Lagoas	Brasil-SP	Moderno	Este estudo	GA _n TA; GA ₁ AA ₁ GA _n
E15	Cateto	BG 7Lagoas	Brasil-BA	Moderno	Este estudo	GA _n TA; GA ₁ AA ₁ GA _n
E21	Cateto	BG 7Lagoas	Brasil-SP	Moderno	Este estudo	GA _n TA
E23	Xavante	indígena	Brasil-MT	Moderno	Este estudo	GA _n TA
A2	-	Boquete	Januaria-MG	570±60	Este estudo	GA ₁ AA ₁ GA _n
A3	-	Boquete	Januaria-MG	890±50	Este estudo	GA _n TA
A5	-	Lapa Hora	Januaria-MG	630±60	Este estudo	GA _n TA
A6	-	Lapa Hora	Januaria-MG	630±60	Este estudo	GA _n TA
A8	-	Boquete	Januaria-MG	570±60	Este estudo	GA ₁ AA ₁ GA _n
A23	-	Boquete	Januaria-MG	940±60	Este estudo	GA _n TA
A34	-	Caboclo	Januaria-MG	-	Este estudo	GA _n TA
G1	Northern Flint	USDA213760	USA	Moderno	1	GA _n ; GA _n TA
GBF	Barkeley Fast	Freeling	USA	Moderno	1	GA ₁ AA ₁ GA _n
G3	Conflite Morocho	Bonavia	Peru	Moderno	1	GA _n TA
G4	Tabloncillo	USDA2835	México	Moderno	1	GA _n TA
G5	Kculli-47	Bonavia	Peru	Moderno	1	GA _n
G6	-	Hastorf	Peru	440±40	1	GA _n
G7	-	Tenney	Chile	1500±50	1	GA _n ; GA _n TA
G8	-	Bonavia	Peru	4500±500	1	GA _n
G9	<i>Z.mays mexicana</i>	NS/SZ121	Mexico	Moderno	1	GA _n ; GA _n TA
G10	<i>Z.mays parviglumis</i>	Dobley GB	Mexico	Moderno	1	GA _n ; GA _n TA
G11	<i>Z.diploperenis</i>	NS/SZ120	Mexico	Moderno	1	GA _n
G12	<i>Z.luxurians</i>	Doebley HIG5	Guatemala	Moderno	1	GA _n
GTP	<i>Tripsacum pilosum</i>	Doebley JD467	-	Moderno	1	GA _n AA ₁ CA ₁
DBF	<i>Barkeley Flint</i>	-		Moderno	2	GA ₁ AA ₁ GA _n

* Banco de Germoplasma de Milho da Embrapa Milho e Sorgo (Sete Lagoas, MG); 1 - Goloumbinoff et al. (1993: 2) e Dennis *et al.* (1985).

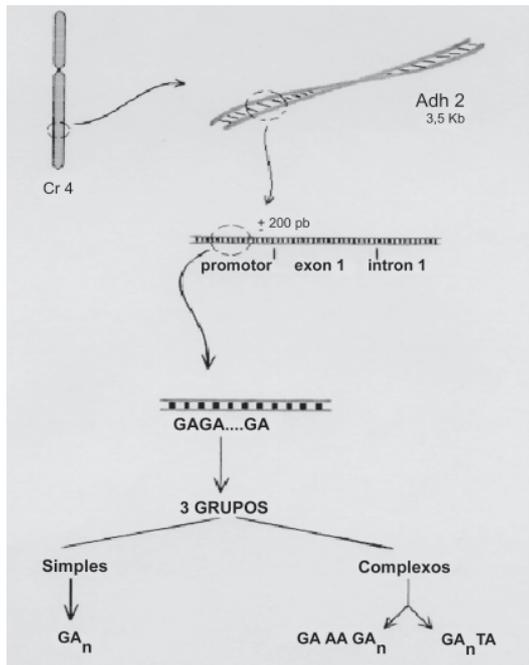


Fig. 01. Esquema mostra a localização do gene *Adh2*, utilizado como alvo no estudo e porção deste usada na análise. Na porção amplificada do gene há a presença de um microssatélite, o qual, além de apresentar uma diversidade de tamanho (número de repetições do dímero), apresentou três diferentes tipos ou grupos de alelos, o tipo simples GA_n , e dois tipos complexos, GA_nTA e $GA_1AA_1GA_n$.

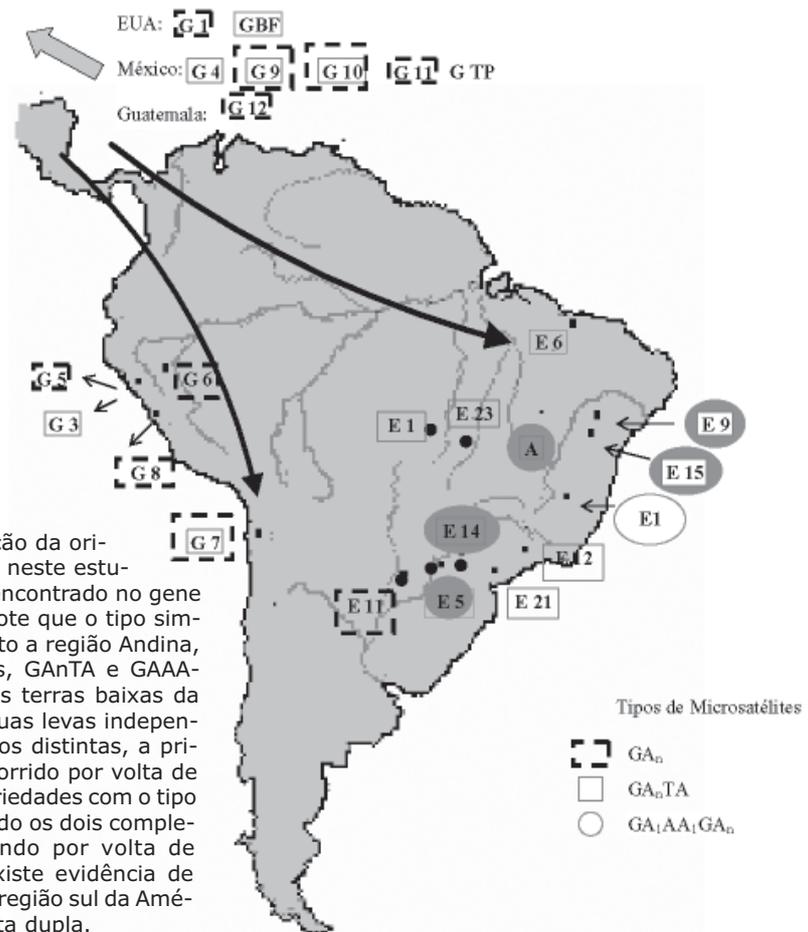


Fig.02. Mapa com a localização da origem das amostras utilizadas neste estudo e o tipo de microssatélites encontrado no gene *Adh2*, de cada uma delas. Note que o tipo simples GA_n aparece mais restrito a região Andina, enquanto os dois complexos, GA_nTA e $GA_1AA_1GA_n$ aparecem na região das terras baixas da América do Sul, sugerindo duas levas independentes, introdutórias de alelos distintas, a primeira com indícios de ter ocorrido por volta de 5.000 ano atrás, trazendo variedades com o tipo simples e, a segunda, trazendo os dois complexos, provavelmente ocorrendo por volta de 2.000 anos atrás. Ainda, existe evidência de contato destas duas levas na região sul da América do Sul, indicada pela seta dupla.