

**PRIMEIROS POVOS  
DO BIOMA CERRADO  
NO BRASIL CENTRAL  
E BIOLOGIA  
MOLECULAR\***

JUDAS TADEU N. NÓBREGA\*\*, ROSICLÉR T. DA SILVA\*\*\*, VIVIANE MARTINS DE M. NÓBREGA\*\*\*\*, KÁTIA KARINA V. DE OLIVEIRA\*\*\*\*\*

Resumo: *este artigo visa apresentar informações preliminares sobre a extração de DNA dos primeiros povos do bioma cerrado, partindo de pesquisas desenvolvidas junto ao Mestrado em Genética (PUC-Goiás), de ossos humanos exumados de Sítios Arqueológicos. Essa pesquisa objetiva estabelecer um protocolo para extração de DNA humano e quantificação para posteriores desdobramentos em outras análises genéticas.*

Palavras-chave: *Identidade. Genética. Arqueologia. DNA. Extração.*

**E**studios genéticos realizados até o momento indicam que o Continente Americano (Américas do Norte, Central e do Sul) foi a última porção territorial do planeta a ser ocupado pelas migrações e dispersões humanas.

\* Recebido em: 12.01.2011.

Aprovado em: 13.02.2011.

\*\* Mestrando em Genética MGENE/PUC-Goiás. Médico pela UFG. E-mail: jtadeunn@hotmail.com.

\*\*\* Doutora em Geociências e Meio Ambiente pela UNESP. Mestre em História, área de concentração: Pré-História Brasileira. Arqueóloga e Professora da PUC Goiás/IGPA. E-mail: silva.rosicler@gmail.com

\*\*\*\* Bacharel em Arqueologia pela PUC-Goiás/IGPA. Mestranda em História. PUC-Goiás. E-mail: recantovita@hotmail.com

\*\*\*\*\* Doutora em Biologia Molecular e Genética. Coordenadora do Mestrado em Genética PUC-Goiás. Coordenadora de Pesquisas Biomedicina-CBB. Coordenadora da especialização em Reprodução Humana – lato senso. Prof<sup>a</sup> e Orientadora do mestrado em Genética MGENE-PUC Goiás. E-mail: katiakarinariv@yahoo.com.br

Várias teorias de ocupação das Américas são discutidas, sendo considerada, no momento, a entrada principal mais viável o Estreito de Bering. Grupos humanos dispersos pelo Continente Asiático teriam avançado em direção ao Leste Siberiano penetrado no Continente Americano, no final do Pleistoceno, em um período em que o nível das águas oceânicas estava cerca de 150m abaixo do nível atual, por retenção nas grandes geleiras. Com isso a região de Bering tornou-se uma extensa planície com aproximadamente 1.500 Km de largura, unindo o atual Continente Asiático ao Continente Americano, tendo o oceano Ártico ao norte da planície e o Pacífico ao sul. Esta região que se convencionou denominar de Beríngea compreendeu não somente a plataforma emersa como também o nordeste da Sibéria, porção do Alaska e Yukon do lado noroeste americano, configuração geográfica esta do final do pleistoceno (LIMA, 2006).

Entre 8.000 e 5.000 anos AP, o ambiente volta a assemelhar-se ao que hoje se conhece, estabelecendo novas formas de povoamento, subsistência e tecnologia. Para Meggers (1979), quando o mar volta ao nível atual, as florestas substituem os campos e desaparece a ligação da Beríngea.

A Arqueologia, segundo Neves (2006), sendo uma ciência humana de caráter multidisciplinar atua em conjunto com outras ciências necessitando o Arqueólogo, além de boa formação acadêmica, conhecimentos em Antropologia, Geologia, História, dentre outras.

Paralelamente aos estudos arqueológicos, outra ciência também recente, denominada Genética, teve excepcional evolução desde seu início, no final do século XIX, até os dias modernos. Potencialmente grande colaboradora da Arqueologia, a Genética, num futuro próximo, será de inestimável valia para as pesquisas arqueológicas, diretamente com material humano ou através de pesquisas em Paleopatologia. Já consolidada a Paleopatologia utiliza técnicas de Biologia Molecular para recuperação e reconstituição de fragmentos de genoma, abrindo caminho para uma nova ciência: a Paleoparasitologia. A técnica mais utilizada é a da reação em cadeia da polimerase (PCR) de alta especificidade, tanto para o diagnóstico de infecções parasitárias existentes na pré-história quanto para o estudo sobre genética de populações (ARAÚJO, 2006).

Os primeiros estudos genéticos surgiram em meados do século XIX, com os trabalhos de Mendel. Em sequência a essas pesquisas, Roux postulou, no final do mesmo século, que os cromossomos eram os portadores dos fatores hereditários (GARDNER, 1986).

Na segunda metade do século XX, ocorreram, na genética, inúmeras descobertas, destacando-se as mitocôndrias, o Ácido Desoxirribonucleico (DNA) encontrado principalmente no núcleo das células (DNA nuclear) e nas mitocôndrias (DNA mitocondrial), posteriormente sequenciado e decifrado (GRIFITHS et al., 2001; LEWIN, 2001). O DNA é composto quimicamente por um açúcar denominado de desoxirribose, um fosfato e quatro bases nitrogenadas.

As mitocôndrias são corpúsculos em forma de bastonetes ou de esferas, imersas no citoplasma e são encontradas em todas as células. Sua quantidade varia de acordo com as necessidades energéticas de cada célula, podendo chegar a 5.000 cópias. Este

processo ocorre graças à existência de DNA mitocondrial (mtDNA) em seu interior, com regiões codificantes e uma região variável denominada de controladora ou alça D, utilizada para identificação humana (JOBIM, JOBIM, BRENNER, 1999; REMUALDO, 2005).

Para os estudos de identidade genética de populações pré-históricas, apenas mtDNA é utilizado, pelo fato de possuir um código genético próprio, organização econômica e somente 10% de sua totalidade é não codificante. Seu genoma é haplóide em razão de sua herança ser estritamente materna, por isso não está submetido a processos de recombinação (GILES et al., 1980). O genoma mitocondrial humano possui 16.596 pares de base (pb), tendo sido sua sequência nucleotídica totalmente determinada (BROWN, 1998).

Somente os gêmeos monozigóticos (MZ), na espécie humana, compartilham o mesmo genótipo tendo cada indivíduo, isoladamente, um perfil genético único (GARDNER, 1986).

As variações ou polimorfismos ocorridas no mtDNA formam haplogrupos representados por letras do alfabeto, sendo o primeiro denominado de “L,” considerado na genética a “Eva Mitocondrial”, representada por L(0), seguido por L1 com origem na África Subsaariana e Central. Os haplogrupos mais recentes são denominados A, B, C e D. As pesquisas arqueogenéticas nas Américas, utilizando principalmente dados da Genética de Ancestralidade, levaram à identificação dos quatro principais haplogrupos denominados de fundadores: A, B, C e D, presentes nos paleoíndios, povos Na-Dene, esquimós, entre outros do extremo norte do Continente Americano, bem como nas Américas Central e do Sul (NEVES, 2006; LIMA, 2006).

## METODOLOGIA

A metodologia aplicada para o desenvolvimento dessa pesquisa teve um vasto levantamento bibliográfico de sítios arqueológicos, onde haviam sido exumados ossos humanos de indivíduos do período pré-histórico no Bioma Cerrado, com ênfase no Brasil Central, e de Genética de Ancestralidade. Paralelamente, foi elaborado um protocolo padrão para coleta das amostras, a fim de evitar contaminações das mesmas, por parte do coletor.

A partir do conhecimento de informações de sítios arqueológicos, com material esquelético, procedeu-se à elaboração de uma documentação, solicitando anuência para acesso ao material exumado, assim como um questionário com informações sobre o estado de conservação do mesmo e informações sobre os sítios. Essa documentação foi enviada a diversas instituições guardiãs desse acervo, assim como empresas que executam pesquisas arqueológicas de contrato ou preventiva.

Obteve-se a anuência do Instituto Goiano de Pré-história e Antropologia (IGPA), Museu Histórico de Jataí e Griphus Consultoria em Arqueologia, as quais liberaram amostras necessárias ao projeto, conforme Quadro 1.

Quadro 1: Identificação Anatômica e Catalogação da Amostra

| INSTITUIÇÃO                        | SÍTIO                 | DESCRIÇÃO ANATÔMICA  |
|------------------------------------|-----------------------|--|
| Griphus Consultoria em Arqueologia | BA-Gerais 7           | Tíbia D: Condilo lateral,<br>Costela: fragmento<br>Dente: 2º molar (2 Un)  |
|                                    | BA-Olhos D'água       | Dente: pré-molar<br>Dente: 1º molar<br>Ulna: porção proximal<br>Crânio: fragmento com sutura lambdoide                                     |
|                                    | BA-Senhorinha da Cruz | Mento: mandíbula E<br>Dente: 1º molar<br>Dente: 2º molar<br>Tíbia D: porção medial<br>Fíbula: fragmento                                    |
|                                    | GO-Cangas 1           | Osso longo: fragmento<br>Metacarpo: fragmento  |
| Museu Histórico de Jataí           | GO-Ja 01              | Dente: 2º molar<br>Fíbula D: frag. Medial  |
| IGPA – PUC-Goiás                   | GO-Ja-01              | Costela: fragmento<br>Falange: proximal D<br>Clavícula D: tubérculo coróide  |
|                                    | GO-Ja 03              | Vértebra: proc.espinhoso<br>Costela: tórax posterior   |
|                                    | GO-Cp 04              | Tíbia D: porção proximal   |
|                                    | GO-Rs 01              | Fíbula D: maléolo<br>Crânio: temp.- mastóideo<br>Tíbia D: maléolo<br>Vértebra: frag corpo<br>Vértebra: frag processo espinhoso<br>Úmero D. |
|                                    | GO-Vale dos Sonhos.   | Tíbia D frag. Medial   |

Fonte: Nobrega (2010).

A retirada das amostras foi realizada com o acompanhamento de um representante da instituição cedente e orientação de um arqueólogo independente, utilizando-se o protocolo estipulado para esta atividade e apresentado a seguir:

- Coletor(es) – uso de jaleco, máscara, luvas cirúrgicas e silêncio dos participantes para se evitar qualquer contaminação por contato ou aspersão;
- Campo da coleta - mesa assepsiada com álcool 70%, colocação de campo sobre a mesma com troca a cada coleta realizada;
- Retirada de amostras com uso de lâmina estéril de bisturi, trocando-se todo o material a cada coleta realizada;
- Identificação anatômica e catalogação das amostras;
- Isolamento das amostras em sacos plásticos herméticos;
- Envio das amostras ao laboratório do Mestrado em Genética da PUC-Goiás, para processamento.

No laboratório do MGene foram realizados os seguintes procedimentos:

- Descontaminação isolada das amostras:
  - Imersão por 10 minutos em hipoclorito de sódio;
  - Lavagem com água deionizada por 3 vezes;
  - Secagem em estufa a 60° C;
  - Retirada da camada mais externa da amostra, aproximadamente 2mm, por raspagem com lâmina de bisturi;
  - Lavagem com água deionizada;
  - Secagem em estufa a 60° C;
- Radiação UV por 15 minutos.
- Acondicionamento das amostras a temperatura ambiente em frascos estéreis previamente identificados.
- Moagem por maceração com cadinho estéril, sendo o pó submetido a radiação por luz UV por 15min e armazenamento em novo frasco estéril previamente identificado.

Após esse procedimento, a extração de DNA foi obtida a partir de um protocolo pré-existente recebido no bulário de um kit de extração, importado e modificado em virtude do estado de conservação das amostras e do seu contato com o solo em que foi enterrado.

Para se evitar contaminação cruzada entre os sítios arqueológicos em estudo, por outros materiais do laboratório ou ainda pelo próprio pesquisador, os cuidados abaixo relacionados foram tomados em todas as etapas de laboratório:

- Uso de jalecos;
- Luvas cirúrgicas descartáveis a cada procedimento;
- Máscaras descartáveis para se evitar contaminação das amostras por aspersão;
- Radiação UV por 15 minutos para o material a ser utilizado: pipetas, ponteiras, vidraria;
- Realização dos procedimentos em “capela”;

- Quantificação do material extraído.

## RESULTADOS

O material (DNA) extraído das amostras ósseas foi enviado ao laboratório de Oncogenética e Radiobiologia da Associação de Combate ao Câncer de Goiás (ACCG) para quantificação e, atualmente, encontra-se armazenado no laboratório do MGene/PUC-Goiás sob as condições ideais de conservação.

O Quadro 2 indica uma grande variação na concentração de ácido nucleico (ng/ $\mu$ l) porém, quase na totalidade, quantidades suficientes para utilização em outras pesquisas, envolvendo Arqueologia e Genética.

Quadro 2 : Resultado de Extrações de DNA

| OSSOS                 |                      |                        |                    |             |             |
|-----------------------|----------------------|------------------------|--------------------|-------------|-------------|
| Site                  | Sample               | Date and Time          | Nucleic Acid Conc. | Unit        | Sample Type |
| BA-Gerais 7           | Tíbia /proximal D    | 10/08/2011<br>15:56:32 | 1,9                | ng/ $\mu$ l | DNA         |
| BA-Gerais 7           | Costela              | 03/08/2011<br>10:35:12 | 8,1                | ng/ $\mu$ l | DNA         |
| BA-Olhos D'água       | Ulna /proximal       | 10/08/2011<br>15:46:04 | 4,8                | ng/ $\mu$ l | DNA         |
| BA-Olhos D'água       | Crânio - parietal E  | 03/08/2011<br>10:41:07 | 12,6               | ng/ $\mu$ l | DNA         |
| BA-Olhos D'água       | Crânio - parietal E  | 10/08/2011<br>15:47:53 | 4,1                | ng/ $\mu$ l | DNA         |
| BA-Senhorinha da Cruz | Mento                | 03/08/2011<br>10:37:29 | 3,6                | ng/ $\mu$ l | DNA         |
| BA-Senhorinha da Cruz | Mento                | 10/08/2011<br>15:39:37 | 6,8                | ng/ $\mu$ l | DNA         |
| BA-Senhorinha da Cruz | Tíbia / medial D     | 03/08/2011<br>10:38:31 | 6,3                | ng/ $\mu$ l | DNA         |
| BA-Senhorinha da Cruz | Tíbia / medial D     | 03/08/2011<br>10:39:02 | 16,3               | ng/ $\mu$ l | DNA         |
| BA-Senhorinha da Cruz | Tíbia / medial D     | 10/08/2011<br>15:44:54 | 4,9                | ng/ $\mu$ l | DNA         |
| BA-Senhorinha da Cruz | Fíbula               | 03/08/2011<br>10:40:35 | 26,1               | ng/ $\mu$ l | DNA         |
| BA-Senhorinha da Cruz | Fíbula               | 10/08/2011<br>15:46:56 | 4,7                | ng/ $\mu$ l | DNA         |
| GO-Cangas 1           | Osso longo           | 03/08/2011<br>10:35:42 | 4                  | ng/ $\mu$ l | DNA         |
| GO-Cangas 1           | Metacarpo / proximal | 03/08/2011<br>10:36:17 | 5,1                | ng/ $\mu$ l | DNA         |

continua...

| OSSOS                 |                              |                        |                    |       |             |
|-----------------------|------------------------------|------------------------|--------------------|-------|-------------|
| Site                  | Sample                       | Date and Time          | Nucleic Acid Conc. | Unit  | Sample Type |
| GO-Cp 04              | Tíbea D                      | 03/08/2011<br>10:40:03 | 17,5               | ng/μl | DNA         |
| GO-Ja 01              | Costela                      | 10/08/2011<br>15:30:14 | 9,1                | ng/μl | DNA         |
| GO-Ja 01              | Falange /proximal D          | 10/08/2011<br>15:32:12 | 3,2                | ng/μl | DNA         |
| GO-Ja 01              | Clavícula /distal D          | 10/08/2011<br>15:35:14 | 7,5                | ng/μl | DNA         |
| GO-Ja 01              | Fíbula D                     | 03/08/2011<br>10:42:18 | 3,2                | ng/μl | DNA         |
| GO-Ja 03              | Processo espinhoso           | 03/08/2011<br>10:36:56 | 6,7                | ng/μl | DNA         |
| GO-Ja 03              | Costela torax posterior      | 10/08/2011<br>15:38:39 | 6,9                | ng/μl | DNA         |
| GO-Rs 01              | Fíbula D – Maléolo           | 10/08/2011<br>15:57:54 | 3,8                | ng/μl | DNA         |
| GO-Rs 01              | Mastóideo D                  | 03/08/2011<br>10:34:13 | 5,4                | ng/μl | DNA         |
| GO-Rs 01              | Mastóideo D                  | 10/08/2011<br>15:34:26 | 5,5                | ng/μl | DNA         |
| GO-Rs 01              | Tíbia D – Maléolo            | 10/08/2011<br>15:59:07 | 11,7               | ng/μl | DNA         |
| GO-Rs 01              | Processo espinhoso vertebral | 10/08/2011<br>16:00:25 | 25,7               | ng/μl | DNA         |
| GO-Rs 01              | Úmero / proximal D           | 03/08/2011<br>10:39:34 | 12,3               | ng/μl | DNA         |
| GO-Vale dos Sonhos    | Tíbia / medial D             | 03/08/2011<br>10:41:48 | 12,9               | ng/μl | DNA         |
| DENTES                |                              |                        |                    |       |             |
| Site                  | Sample                       | Date and Time          | Nucleic Acid Conc. | Unit  | Sample Type |
| BA-Gerais 7           | 2º molar                     | 10/08/2011<br>15:48:58 | 2,6                | ng/μl | DNA         |
| BA-Olhos D'água       | Pré-molar                    | 10/08/2011<br>15:51:05 | 32,9               | ng/μl | DNA         |
| BA-Olhos D'água       | 1º molar                     | 10/08/2011<br>15:52:31 | 32,1               | ng/μl | DNA         |
| BA-Senhorinha da Cruz | 1º molar                     | 10/08/2011<br>15:53:30 | 7,8                | ng/μl | DNA         |
| GO-Ja 01              | 2º molar                     | 10/08/2011<br>15:50:08 | 3,1                | ng/μl | DNA         |

Fonte: Laboratório de Oncogenética e Radiobiologia da ACCG.

Os resultados evidenciaram que é possível a extração de DNA de ossos antigos, e a continuidade destes procedimentos e a prática diária com melhores ajustes protoco-

lares sedimentarão esta primeira fase tão necessária aos estudos de Genética de Ancestralidade, buscando contribuir com as discussões e inferências da Arqueologia sobre as migrações e expansões dos primeiros povos do Bioma Cerrado do Brasil Central.

#### FIRST NATION POPULATIONS FROM THE CERRADO REGION IN BRAZIL CENTRAL AND MOLECULAR BIOLOGY

**Abstract:** *this article aims to present preliminary information on DNA extraction from first nation population of the cerrado biome based on research developed by the Master Degree Program in Genetics (PUC-Goiás). The DNA is from human bones exhumed in archaeological sites. This research aims to establish a protocol for human DNA extraction and quantification for subsequent development in other genetic analysis.*

**Keywords:** *Identity. Genetic. Archeology. DNA. Extraction.*

#### Referências

ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; WATSON, J. D. *Biologia Molecular da Célula*. Porto Alegre: Artmed, 1997.

ARAÚJO, A.; GONÇALVES, M.; FERREIRA, L. F. Migrações pré-históricas e paleoparasitologia in: SILVA, H. P.; CARVALHO, C. R. *Nossa Origem*, Rio de Janeiro: Ed. Vieira & Lent, 2006.

BROWN, T. A. *Genética, um enfoque molecular*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1998.

GARDNER, E. J. *Genética*. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan; 1986.

GILES, E. E.; BLANC, H.; CANN, H. M.; WALLACE, D. C. *Maternal Inheritance of human mitochondrial DNA*. Acad. Sci. Genetics. USA, 1980.

GRIFFITHS, A. J. F. *Introdução à Genética*. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2006.

GRIFFITHS, A. J. F.; GELBART, W. M.; MILLER, J. H.; LEWONTIN, R. C. *Genética Moderna*. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2001.

JOBIM, L. F.; JOBIM, M. R.; BRENNER, C. *Identificação Humana pelo DNA*. Ed. Impa, v 1, 1999.

KALMAR, T.; BACHRATI, C. Z.; MARCSIK, A.; RASKÓ, I. A simple and efficient method for PCR amplifiable DNA extraction from ancient bones. *Nucleic Acids Research*, 2000, Vol 28, nº 12 – Oxford University Press.

LEWIN, B. *Genes VII*, Porto Alegre: Artmed, 2001.

LIMA, T. A. O povoamento inicial do continente americano: migrações, contextos, datações. In: SILVA, H. P.; CARVALHO, C. R. *Nossa Origem*, Rio de Janeiro: Ed. Vieira & Lent, 2006.

MACHADO, L. A. Identidade cultural Origem do homem e memória – objetos de construção de patrimônio histórico IGPA/UCG, Goiânia, 1998. In: *Identificação Humana*, Porto Alegre: Editora Sagra Luzzatto, 1999.

MATSUMURA, S.; FORSTER, P.; RENFREW, C. *Simulations, genetics and human prehistory*.

- Cambridge, UK, McDonald Institute for Archeological Research, 2008.
- McCLINTOCK, J. T. *Forensic DNA analysis*. Boca Raton –FL/USA: CRC Press, 2008.
- MEGGERS, BJ; *American Antiquity*, vol 44 nº 2 pgs 252 a 256, SAA, USA, 1979.
- NEVES, W.A. Origens do homem nas Américas: fósseis versus moléculas? In:
- SILVA, H.P.; CARVALHO, C. R. *Nossa Origem*, Rio de Janeiro: Ed. Vieira & Lent, 2006.
- REMUALDO, VR; OLIVEIRA, RN. *The forensic analysis potencial DNA from different biologicals sammles*, Rev. Assoc Paulista de Cirurgiões Dentistas, São Paulo-SP, 2005.
- SCHIMITZ, P. I.; ROSA, A. O.; BITTENCOURT, A. L. V. *Arqueologia nos cerrados do Brasil Central-Serranópolis III* São Leopoldo: Ed. Unisinos, 2004
- SCHMITZ, P. I.; BARBOSA, A. S. *Horticultores pré-históricos do estado de Goiás* São Leopoldo: Ed. Unisinos, 1986.
- SCHMITZ, P.I.; BARBOSA, A.S.; JACOBUS, A.L.; RIBEIRO, M.B. *Arqueologia nos Cerrados do Brasil Central-Serranópolis*. Porto Alegre: Ed. Unisinos, 1989.
- SCHMITZ, P.I.; BARBOSA, A.S.; MIIRANDA, A. F.; RIBEIRO, M.B.; BARBOSA, M. O. *Arqueologia nos Cerrados do Brasil Central Sudoeste da Bahia e Leste de Goiás* São Leopoldo: Ed. Unisinos, 1996.
- SCHMITZ, P.I.; RIBEIRO, M.B.; BARBOSA, A.S; BARBOSA, M. O.; MIIRANDA, A. F.; *Arqueologia nos Cerrados do Brasil Central Caiaponia*. São Leopoldo: Ed. Unisinos, 1986.
- SCHMITZ, P.I.; WUST, I.; COPÉ, S. M.; THIES, U. M. E. *Arqueologia do Centro-Sul de Goiás*. São Leopoldo: Ed. Unisinos, 1982.
- SOUZA, A.M. *História da Arqueologia Brasileira*. São Leopoldo: Ed. Unisinos, 1991.