

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA MOLECULAR

**COMPOSIÇÃO GENÉTICA DE QUATRO POPULAÇÕES  
REMANESCENTES DE QUILOMBOS DO BRASIL COM  
BASE EM MICROSSATÉLITES E MARCADORES DE  
ANCESTRALIDADE**

Maria Angélica Floriano Pedrosa

Brasília

2006

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA MOLECULAR

**COMPOSIÇÃO GENÉTICA DE QUATRO POPULAÇÕES  
REMANESCENTES DE QUILOMBOS DO BRASIL COM  
BASE EM MICROSSATÉLITES E MARCADORES DE  
ANCESTRALIDADE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Aluna: Maria Angélica Floriano Pedrosa (04/55857)

Orientador: Prof. Dr. Dário Grattapaglia

Brasília

2006

Trabalho desenvolvido no Laboratório de Genética da Universidade de Brasília (UnB), no Laboratório de Ciências Genômicas e Biotecnologia da Universidade Católica de Brasília e no Laboratório Heréditas – Tecnologia em DNA, com suporte financeiro da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e FINATEC (Fundação de Empreendimentos Científicos e Tecnológicos).

**Maria Angélica Floriano Pedrosa**

**COMPOSIÇÃO GENÉTICA DE QUATRO POPULAÇÕES  
REMANESCENTES DE QUILOMBOS DO BRASIL COM  
BASE EM MICROSSATÉLITES E MARCADORES DE  
ANCESTRALIDADE**

---

**Prof. Dr. Dário Grattapaglia**

(Orientador)

---

**Prof. Dr. Rinaldo Wellerson Pereira**

(Examinador Externo)

---

**Prof. Dr. Márcio Elias Ferreira**

(Examinador Interno)

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria de Nazaré Klautau Guimarães Grisólia**

(Examinador Suplente)

Ao meu pai, pelo amor, carinho e motivação constantes.

À minha mãe (*in memoriam*), por tudo o que ela representa em minha vida.

À “Tita”, minha irmã, por todo o carinho e compreensão.

Ao Dudu, minha vida, por estar sempre ao meu lado, em todos os bons e maus momentos.

Aos membros das comunidades remanescentes de quilombos, por tornarem esse trabalho possível.

Dedico.

*"O único homem que está isento de erros  
é aquele que não arrisca acertar."*

*"Toda a nossa ciência, comparada com a  
realidade, é primitiva e infantil - e, no  
entanto, é a coisa mais preciosa que  
temos."*

Albert Einstein

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dário Grattapaglia, pela orientação e confiança.

À Prof<sup>a</sup>. Silviene Fabiana de Oliveira, grande amiga e co-orientadora, pela confiança depositada em mim durante todos os anos de trabalho no Laboratório de Genética da Universidade de Brasília.

Ao Prof. Rinaldo Wellerson Pereira, da Universidade Católica de Brasília, pela confiança, orientação e apoio durante o trabalho no Laboratório de Biotecnologia e Ciências Genômicas da Universidade Católica de Brasília.

Aos professores Márcio Elias Ferreira e Maria de Nazaré Klautau Guimarães Grisólia, pelas valiosas e oportunas considerações na análise deste trabalho.

Aos amigos e companheiros do Laboratório de Genética da Universidade de Brasília, pelo incentivo e grande amizade: Guilherme, Carol, Mila, Diogo, Ana Paula, Neide, Rejane, Gustavo, Ricardo, Sílvia, Gabriel.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Biotecnologia e Ciências Genômicas da Universidade Católica de Brasília, pela amizade e auxílio na realização deste trabalho: Tadeu, Túlio, Breno, Érika, Danielle, Luciana, Ricardo Moreno, Paulo Gentil.

Ao meu pai, por todo o amor e carinho e por ser um exemplo de vida, me levando a seguir em frente sempre.

A minha mãe, que apesar de não mais se encontrar nesse plano físico, sempre esteve ao meu lado e em meus pensamentos, me dando toda a força, coragem, determinação e amor que eu sempre precisei.

Aos meus irmãos, principalmente a Tita, pelo afeto, incentivo e compreensão em todos os momentos.

Ao Eduardo (Dudu), pelo amor, carinho, respeito e dedicação em todos os momentos durante todos os anos de intensa convivência, e por se fazer tão presente em minha vida.

Aos meus queridos amigos, por todas as horas de descontração e pela compreensão nos momentos de ausência: Maira, Ricardo, Raphael (Tio Rapha), Ramon, Naila, Ana Beatriz, Tainá, Júnior, Lanuse, Cássio, Luciana (Lalu), Reinaldo, Flávio, Paola, Lívia Carvalho, Luciana (Nany), Thiago, Antonieta, Daniel Martinelli, Carol Mayumi, Sérgio, Taíssa, William, Felipe, Tiago (Sam), Rafael Aguiar, e todos os outros aqui não citados, mas não esquecidos.

Aos amigos do Laboratório de Virologia da Universidade de Brasília, pelos ótimos momentos de descontração: Prof.<sup>a</sup> Cláudia Renata, Claudiner, Patrícia, Verônica, Nazle, Daniela Marreco, Daniella, Regina, Margareti, Karla.

Aos funcionários e técnicos do Laboratório de Biotecnologia e Ciências Genômicas da Universidade Católica de Brasília, por toda a presteza e atenção dispensadas.

Aos funcionários do Laboratório Heréditas, pelo auxílio técnico.

À Ana, funcionária da Secretaria do Departamento de Biologia Celular, por ser sempre tão prestativa, paciente e eficiente no trato com os alunos.

À CAPES, CNPq e FINATEC, pelo apoio financeiro.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular e à Universidade de Brasília, representados por todos os professores e funcionários, pelos ensinamentos recebidos e pela atenção despendida.



# SUMÁRIO

<b>RESUMO</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>2</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>3</b>
1.1. ASPECTOS HISTÓRICOS DA FORMAÇÃO DO POVO BRASILEIRO	3
1.1.1. OS AFRICANOS NO BRASIL	6
1.1.2. REMANESCENTES DE QUILOMBOS	9
REMANESCENTES DE QUILOMBO DA REGIÃO CENTRO-OESTE	10
<i>Kalunga</i>	11
REMANESCENTES DE QUILOMBO DA REGIÃO NORDESTE	12
<i>Rio das Rãs</i>	13
<i>Riacho de Sacutiaba</i>	14
<i>Mocambo</i>	15
1.2. UTILIZAÇÃO DE MARCADORES GENÉTICOS EM RECONSTRUÇÃO HISTÓRICA DE POPULAÇÕES HUMANAS	16
1.2.1. MARCADORES EM DNA	17
MICROSSATÉLITES	17
POLIMORFISMOS DE NUCLEOTÍDEO ÚNICO (SNPs)	19
INSERÇÕES-DELEÇÕES (INDELS)	20
1.2.2. MARCADORES INFORMATIVOS DE ANCESTRALIDADE (AIMS)	21
1.3. A FORMAÇÃO DO POVO BRASILEIRO E A GENÉTICA DE POPULAÇÕES	23
<b>2. JUSTIFICATIVA</b>	<b>28</b>
<b>3. OBJETIVOS</b>	<b>30</b>
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>32</b>
4.1. COLETA DE AMOSTRAS	32
4.2. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS	33
4.3. EXTRAÇÃO DE DNA	34
4.4. ANÁLISE LABORATORIAL DOS MARCADORES GENÉTICOS	35
<i>Microssatélites</i>	35
<i>AIMs</i>	39
4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	43
<i>Variabilidade genética</i>	43
<i>Análise de diferenciação genética molecular</i>	44
<i>Mistura genética</i>	44
<i>Índice de Ancestralidade Africana</i>	45
<b>5. RESULTADOS</b>	<b>51</b>
5.1. VARIABILIDADE GENÉTICA	51
5.1.1 Microssatélites	51

5.1.2. AIMs	59
<b>5.2. ANÁLISE DE DIFERENCIAÇÃO GENÉTICA MOLECULAR</b>	<b>64</b>
5.2.1. Microssatélites	64
5.2.2. AIMs	66
5.2.3. Microssatélites e AIMs	67
<b>5.3. MISTURA GENÉTICA</b>	<b>64</b>
<b>5.4. ÍNDICE DE ANCESTRALIDADE AFRICANA</b>	<b>79</b>
<b>6. DISCUSSÃO</b>	<b>81</b>
<hr/>	
<b>6.1. VARIABILIDADE GENÉTICA</b>	<b>82</b>
6.1.1. Microssatélites	82
6.1.2. AIMs	87
<b>6.2. ANÁLISE DE DIFERENCIAÇÃO GENÉTICA MOLECULAR</b>	<b>89</b>
<b>6.3. MISTURA GENÉTICA</b>	<b>92</b>
<b>6.4. ÍNDICE DE ANCESTRALIDADE AFRICANA</b>	<b>99</b>
<b>7. CONCLUSÕES</b>	<b>101</b>
<hr/>	
<b>8. PERSPECTIVAS FUTURAS</b>	<b>103</b>
<b>9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>105</b>
<hr/>	
<b>ANEXO 1</b>	<b>122</b>
<hr/>	

## SUMÁRIO DE FIGURAS

**Figura 1.** Principais origens e destinos do tráfico de escravos para o Brasil (Fonte: Sousa, 2001). 4

**Figura 2.** Localização cromossômica dos *loci* microssatélites (em azul) e AIMs (em vermelho) analisados no presente trabalho. 37

**Figura 3.** Distribuição das freqüências alélicas dos *loci* microssatélites nas quatro comunidades remanescentes de quilombos e nos três grupos parentais. A - *locus* vWA; B - *locus* THO1; C - *locus* TPOX; D - *locus* CSF1PO. 57

**Figura 4.** Distribuição das freqüências alélicas dos *loci* microssatélites nas quatro comunidades remanescentes de quilombos e nos três grupos parentais. A - *locus* D5S818; B - *locus* D13S317; C - *locus* D7S820; D - *locus* D16S539. 58

**Figura 5.** Fotografia de gel de agarose 2% corado com brometo de etídeo para o sistema AT3. Os indivíduos 2, 5 e 6 são homocigotos para a inserção; o indivíduo 1 é homocigoto para a deleção; os indivíduos 3, 4 e 7 são heterocigotos. O marcador de pares de base (DNA ladder 1kb plus – Invitrogen) encontra-se na primeira coluna. 60

**Figura 6.** Eletroferograma obtido com o miniseqüenciamento dos marcadores SNPs. Cada pico representa um alelo, e cada cor representa uma base, onde a cor azul corresponde ao G, verde ao A, preto ao C e vermelho ao T. A figura (a) mostra, nessa ordem, os alelos G e A dos sistemas CYP3A4, OCA2, CRH e LPL. A figura (b) mostra os alelos C e T dos sistemas rs1426654, Fynull, rs1480642 e rs1129048, nessa ordem. A figura (c) é um eletroferograma completo com os oito marcadores. 60

**Figura 7.** Estimativas de  $F_{st}$

para os pares de populações de remanescentes de quilombos. A diagonal inferior apresenta as estimativas de  $F_{st}$  e a diagonal superior os valores de P correspondentes. 65

**Figura 8.** Estimativas de  $F_{st}$  para os pares de populações de remanescentes de quilombos para os AIMs. A diagonal inferior apresenta as estimativas de  $F_{st}$  e a diagonal superior os valores de P correspondentes. 67

**Figura 9.** Valores de  $F_{st}$  para os pares de populações, obtidos com o conjunto de marcadores microssatélites e AIMs. A diagonal inferior apresenta os valores de  $F_{st}$ , e a diagonal superior os valores de P correspondentes. 68

**Figura 10.** Estimativas de mistura genética no remanescente de quilombo Riacho de Sacutiaba, obtidas utilizando microssatélites e AIMs em conjunto e separadamente. 71

**Figura 11.** Estimativas de mistura genética no remanescente de quilombo Mocambo, obtidas utilizando microssatélites e AIMs em conjunto e separadamente. 72

**Figura 12.** Estimativas de mistura genética no remanescente de quilombo Rio das Rãs, obtidas utilizando microssatélites e AIMs em conjunto e separadamente. 72

**Figura 13.** Estimativas de mistura genética no remanescente de quilombo Kalunga, obtidas utilizando microssatélites e AIMs em conjunto e separadamente. 73

**Figura 14.** Comparação das estimativas de contribuição ameríndia com base nos marcadores microssatélites dos quatro remanescentes de quilombos e das cinco regiões brasileiras pelo teste z. Os valores de z encontram-se no triângulo inferior, e os valores de P encontram-se no triângulo superior. Os valores de P marcados em negrito correspondem àqueles que indicaram a existência de diferença estatisticamente significativa entre as estimativas relativas ao par de populações em questão. 76

**Figura 15.** Comparação das estimativas de contribuição africana com base nos marcadores microssatélites dos quatro remanescentes de quilombos e das cinco regiões brasileiras. Os valores de z encontram-se no triângulo inferior, e os valores de P encontram-se no triângulo superior. Os valores de P marcados em negrito correspondem àqueles que indicaram a existência de diferença estatisticamente significativa entre as estimativas relativas ao par de populações em questão. 77

**Figura 16.** Teste de comparação das estimativas de contribuição européia com base nos marcadores microssatélites dos quatro remanescentes de quilombos e das cinco regiões brasileiras. Os valores de z encontram-se no triângulo inferior, e os valores de P encontram-se no triângulo superior. Os valores de P marcados em negrito correspondem àqueles que indicaram a existência de diferença estatisticamente significativa entre as estimativas relativas ao par de populações em questão. 78

**Figura 17.** Gráfico *box plot* mostrando a distribuição dos índices de ancestralidade africana (IAA) obtidos para os indivíduos pertencentes às quatro comunidades remanescentes de quilombos. Para cada população há duas representações: a primeira (cor sólida) é relativa ao cálculo do IAA utilizando os nove marcadores AIMs; a segunda (listras) refere-se ao cálculo do IAA excluindo-se os marcadores que apresentam freqüências alélicas semelhantes em populações africanas e ameríndias. Cada *box* representa os valores mais centrais da distribuição, sendo que o traço interno se refere à mediana e os limites inferior e superior do *box* representam o primeiro e o terceiro quartis, respectivamente. Os riscos fora do *box* referem-se aos valores extremos encontrados na observação. 80

## SUMÁRIO DE TABELAS

- Tabela 1.** Caracterização fenotípica (%) da população brasileira de acordo com o Censo Demográfico realizado pelo IBGE em 2000 (nomenclatura utilizada pelo IBGE). Nesse Censo Nacional as pessoas se autodeclararam com relação a sua cor da pele. 5
- Tabela 2:** Contribuições africana, europeia e ameríndia em remanescentes de quilombos do Brasil, estimadas a partir de dados de marcadores clássicos (valores em %). 25
- Tabela 3.** Perfis populacionais das comunidades remanescentes de quilombos estudadas. 33
- Tabela 4.** *Loci* microssatélites analisados, localização cromossômica, seqüência da repetição, seqüência dos iniciadores, variação de tamanho do fragmento gerado e delta ( $\delta$ ) composto calculado para cada *locus*. 38
- Tabela 5.** Localização cromossômica, seqüência dos iniciadores da PCR, tamanho dos fragmentos gerados na PCR e delta ( $\delta$ ) entre africanos e europeus e entre ameríndios e europeus para os marcadores AIMS. 40
- Tabela 6.** Seqüência dos iniciadores utilizados no miniseqüenciamento de marcadores SNPs, bem como os alelos e o tamanho do fragmento gerado para cada *locus*. 41
- Tabela 7.** Número de alelos observados e número médio de alelos por *locus* (Na médio por *locus*) e por população (Na médio) para os *loci* microssatélites nas populações parentais. 43
- Tabela 8.** Freqüências alélicas dos *loci* microssatélites nas populações parentais dos remanescentes de quilombos. 47
- Tabela 9.** Freqüências alélicas para os marcadores AIMS nas populações parentais 49
- Tabela 10.** Estimativa de mistura étnica geradas pelo programa Admix (Chakraborty, 1985), utilizando dados dos marcadores microssatélites nas cinco regiões brasileiras estudadas por Callegari-Jacques *et al.* (2003). 50
- Tabela 11.** Número de alelos observados e número médio de alelos por *locus* (Na médio por *locus*) e por população (Na médio). 52
- Tabela 12.** Distribuição das freqüências alélicas, heterozigose observada ( $H_o$ ) e esperada ( $H_e$ ) dos *loci* microssatélites para as quatro comunidades remanescentes de quilombos e medida da discrepância entre as proporções genotípicas observadas e esperadas segundo o Equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $\chi^2$  -valores de qui-quadrado, P - probabilidade e G.L. - graus de liberdade). 54
- Tabela 13.** Distribuição das freqüências alélicas, heterozigose observada ( $H_o$ ) e esperada ( $H_e$ ) dos *loci* AIMS para as quatro comunidades remanescentes de quilombos e medida da discrepância entre as proporções genotípicas observadas e esperadas

segundo o Equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $\chi^2$  - valores de qui-quadrado, P - probabilidade e G.L. - graus de liberdade). 62

**Tabela 14.** Resultado da análise de AMOVA *locus a locus* para os quatro remanescentes de quilombos. 64

**Tabela 15.** Resultado da análise de AMOVA *locus a locus* para o conjunto de populações urbanas e os quatro remanescentes de quilombos. 65

**Tabela 16.** AMOVA *locus a locus*, utilizando *loci* AIMs, entre os remanescentes de quilombos. 67

**Tabela 17.** Estimativa de mistura étnica geradas pelo programa Admix (Chakraborty, 1985), utilizando dados dos marcadores microssatélites e AIMs, separadamente e em conjunto, nos quatro remanescentes de quilombos. 70

**Tabela 18.** Comparações das estimativas de contribuição dos grupos parentais realizadas com os marcadores microssatélites e AIMs, para cada comunidade remanescente de quilombo. 73

## RESUMO

A população brasileira é bastante peculiar em relação a outras populações do mundo por ter sido formada a partir da miscigenação de vários povos que passaram a co-habitar o Brasil desde 1500, especialmente ameríndios, africanos e europeus. No Brasil, existem na atualidade comunidades rurais semi-isoladas identificadas como *remanescentes de quilombos*, formadas principalmente por escravos fugidos durante o período colonial brasileiro. Espera-se que essas comunidades preservem uma composição genética predominantemente africana, apesar dos eventos estocásticos a que estas populações estiveram, e ainda estão, submetidas. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo geral estimar a composição genética atual de quatro comunidades Remanescentes de Quilombos - Kalunga, Mocambo, Rio das Rãs e Riacho de Sacutiaba - e comparar essas estimativas com as obtidas para populações urbanas brasileiras. Para isso, foram utilizados 8 marcadores microssatélites e 9 marcadores informativos de ancestralidade (AIMs) autossômicos. Além disso, foram realizadas análises de diferenciação genética molecular entre as comunidades e estimado um índice de ancestralidade africana individual (IAA). Após a correção de Bonferroni, foi observado apenas um desvio das frequências genotípicas em relação ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (*locus* rs1129048, em Kalunga). Os marcadores AIMs indicaram uma maior diferenciação genética entre as comunidades do que os microssatélites. A análise de mistura genética mostrou que todas as comunidades, em especial Rio das Rãs e Kalunga, apresentaram uma forte contribuição africana em sua composição. A europeia também foi alta, principalmente em Riacho de Sacutiaba e Mocambo. Já a ameríndia foi bastante importante na formação do remanescente Mocambo. Foram observadas algumas diferenças estatisticamente significativas entre as estimativas de mistura realizadas com as duas classes de marcadores. Quanto ao IAA, Mocambo foi a comunidade que apresentou a menor mediana, sugerindo uma menor africanidade em relação às demais comunidades. Ao contrário, Rio das Rãs e Kalunga apresentaram as maiores medianas para esse índice, o que está em acordo com as estimativas de contribuição africana obtidas para essas comunidades. Os resultados da análise de mistura genética e do IAA corroboram os relatos históricos, de que os remanescentes de quilombos não foram fundados exclusivamente por afrodescendentes bem como da ocorrência de fluxo gênico ao longo da história dos mesmos.

## ABSTRACT

The Brazilian population is very peculiar in relation to other world populations since its formation involved the admixture of many peoples that came to Brazil since 1500, specially Amerindians, Africans and Europeans. At the present, there are in Brazil many rural semi-isolated communities identified as remnants of *quilombos*, which were constituted mainly by runaway slaves during the Colonial Period. It is expected that these populations preserve mainly an African genetic composition, despite the stochastic events to which they have been submitted to. Thus, this study had as a global objective the estimation of the genetic composition of four remnants of *quilombos* (*Kalunga*, *Mocambo*, *Rio das Rãs* and *Riacho de Sacutiaba*) and the comparison of these estimatives to the ones obtained in urban Brazilian populations. For this purpose, eight autosomal microsatellites and nine autosomal AIMs (ancestry informative markers) were genotyped. Moreover, differentiation analyses among the populations were done and an individual African Ancestry Index (IAA) was calculated. After applying the Bonferroni's correction for multiple comparisons, it was observed only one deviation from Hardy-Weinberg Equilibrium (*locus* rs1129048, in *Kalunga*). AIMs indicated more differentiation among the communities than microsatellites. The genetic admixture analysis showed that all communities, especially *Rio das Rãs* and *Kalunga*, had a strong African contribution in their genetic composition. The estimated European contribution was also high, especially in *Riacho de Sacutiaba* and *Mocambo*. The Amerindian contribution was very important in the formation of *Mocambo*. Some statistical significant difference among the admixture estimatives realized with the two different markers was found. As the IAA, *Mocambo* presented the lowest median value, suggesting a smaller African ancestry in comparison to the other communities. *Rio das Rãs* and *Kalunga*, on the other hand, showed the greatest medians for IAA, what is in accordance to the genetic admixture estimates for these communities. The results of admixture analyses and IAAs corroborate the historical data, which points out that the *quilombos* were founded not only by Afro-descendants and that gene flow occurred during the histories of these populations.



# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. ASPECTOS HISTÓRICOS DA FORMAÇÃO DO POVO BRASILEIRO

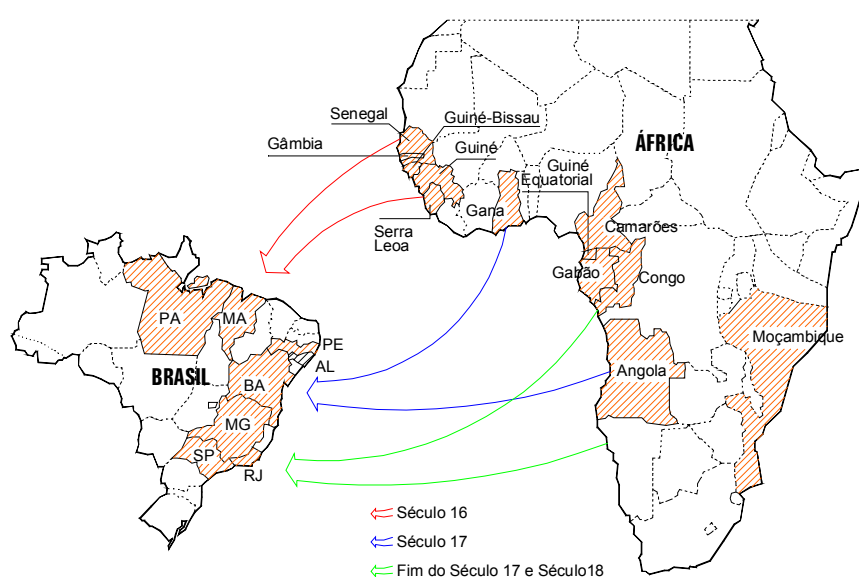
A população brasileira é bastante peculiar em relação a outras populações do mundo, já que o Brasil foi o alvo de vários fluxos migratórios ao longo de sua história. Quando da chegada dos primeiros europeus em 1500, o atual território brasileiro já se encontrava povoado por ameríndios. Há controvérsias quanto a datação da chegada desses, porém há um consenso da presença humana há pelo menos 12 mil anos atrás. Não se sabe ao certo quantos indígenas habitavam o Brasil à época da chegada dos portugueses, havendo estimativas que variam de 1 a 10 milhões de indivíduos (Fundação Nacional do Índio – FUNAI - <http://www.funai.gov.br/funai.htm>). Qualquer que seja o número, é sabido que a chegada dos europeus representou uma verdadeira catástrofe para a população ameríndia, a qual chegou a ser representada, em 1991, por apenas 294 mil indivíduos, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE - <http://www.ibge.gov.br/home/estatística/população>).

Com relação à migração européia, cerca de 100 mil portugueses chegaram ao Brasil nos primeiros dois séculos de colonização (média anual de 500 migrantes). No século seguinte registrou-se a chegada de 600 mil imigrantes (média anual de 10 mil migrantes). Entretanto, o ápice do fluxo migratório ocorreu na primeira metade do século XX, entre 1901 e 1930, quando a média anual ultrapassou a quantidade de 25 mil imigrantes (IBGE).

Além de portugueses, indivíduos oriundos de outras populações européias também imigraram para o Brasil em diferentes períodos históricos. Estima-se que entre 1500 e 1960 chegaram ao Brasil cerca de cinco milhões de europeus, incluindo os portugueses (Pena, 2002). A imigração de europeus não-portugueses intensificou-se no final do século XIX, com o término do tráfico de escravos, e manteve-se relativamente alta até meados do século XX, com o início da imigração asiática.

Os Africanos constituíram uma fração importante na história das migrações para o Brasil. Esse grupo veio para o país sob o regime da escravidão, que teve início em 1538 e perdurou até 1888, com a promulgação da Lei Áurea. O tráfico de escravos, contudo, terminou oficialmente em 1850. A escravidão foi um evento que não ocorreu exclusivamente no Brasil, sendo estimado que cerca de 15 milhões de homens e mulheres saíram do continente africano em direção às Américas. Entretanto, o Brasil foi o principal destino dos escravos africanos, sendo estimado que cerca de 40% do total tenha vindo para cá (Reis & Gomes, 1996).

A origem dos africanos foi bastante variada, tendo envolvido pessoas vindas do ocidente, oriente e sudoeste da África, bem como da região do atual Moçambique, sendo que a maioria originou-se das regiões dos atuais Congo e Angola (Klein, 2002). Vieram para o Brasil, principalmente, dois grandes grupos étnicos: os bantos – Sudoeste e Sudeste africanos – e os sudaneses – Noroeste da África (Schwarcz & Reis, 1996). As regiões brasileiras que receberam a maior quantidade de africanos foram Sudeste e Nordeste, especialmente as áreas correspondentes aos Estados de Minas Gerais, Bahia, Rio de Janeiro, Maranhão, Pernambuco, São Paulo e Pará (Andrade, 1988; Queirós Mattoso, 1982; Curtin, 1969), conforme pode ser observado na Figura 1.



**Figura 1.** Principais origens e destinos do tráfico de escravos para o Brasil (Fonte: Sousa, 2001).

Uma outra peculiaridade da população brasileira, intimamente associada ao intenso fluxo migratório, é a grande miscigenação entre as várias etnias que aqui chegaram. Vários outros países também receberam um grande número de migrantes, mas o Brasil é provavelmente um dos únicos em que o processo de miscigenação foi tão intenso. Como resultado dessa miscigenação, pode-se afirmar que a população brasileira é baseada em três componentes étnicos principais: o ameríndio, o europeu e o africano. A distribuição desses componentes ao longo do território brasileiro, entretanto, não é homogênea, como pode ser observado nos dados obtidos nos recenseamentos realizados pelo governo brasileiro (Tabela 1 – IBGE). Apesar de a colonização ter se concretizado em todo o território, o primeiro alvo foi o litoral sendo que o processo de expansão iniciou-se a partir do século XVII. Atualmente, a densidade demográfica é desigual, com amplas áreas ainda pouco habitadas, especialmente na região amazônica (IBGE).

**Tabela 1.** Caracterização fenotípica (%) da população brasileira de acordo com o Censo Demográfico realizado pelo IBGE em 2000 (nomenclatura utilizada pelo IBGE). Nesse Censo Nacional as pessoas se autodeclararam com relação a sua cor da pele.

<i>Região</i>	<i>Cor da pele</i>					
	<i>Branco</i>	<i>Preto</i>	<i>Indígena</i>	<i>Pardo</i>	<i>Amarelo</i>	<i>Sem declaração</i>
<i>Brasil</i>	53,75	6,21	0,43	38,45	0,45	0,71
<i>Norte</i>	28,00	5,00	1,65	63,97	0,22	1,16
<i>Nordeste</i>	32,90	7,70	0,36	58,10	0,14	0,80
<i>Centro-Oeste</i>	49,72	4,62	0,90	43,68	0,40	0,68
<i>Sudeste</i>	62,40	6,60	0,20	29,50	0,70	0,60
<i>Sul</i>	83,60	3,75	0,34	11,49	0,41	0,41

### **1.1.1. OS AFRICANOS NO BRASIL**

Desde o início da colonização, os portugueses que chegaram ao novo território empregavam a mão-de-obra escrava. Inicialmente, os indígenas foram utilizados para tal fim, mas em pouco tempo foram substituídos pelos escravos negros trazidos da África. A substituição da mão-de-obra indígena pela africana foi disparada pelo fenômeno da extinção dos povos nativos, devido às epidemias trazidas pelos europeus. A colônia necessitava de mão-de-obra farta para as plantações, mas os poucos índios que sobravam e não fugiam não eram suficientes para o trabalho. Além disso, a venda de africanos interessava à Coroa e aos comerciantes europeus, uma vez que nas Américas eles eram trocados por grandes quantidades de produtos coloniais que eram levados para a Europa (Meegen-Silva, 1999).

Como mencionado anteriormente, os escravos eram trazidos de vários lugares da África. Lá, eles eram aprisionados por outras tribos que os trocavam por especiarias como o fumo, armas, pólvora e tecidos que os portugueses levavam (Queirós Mattoso, 1982). Devido às péssimas condições em que eram mantidos nas caravelas, muitos morriam antes de chegarem ao destino de sua viagem. Os sobreviventes chegavam ao novo continente apáticos, sem saberem onde estavam e escutando uma língua totalmente diferente da sua (Meegen-Silva, 1999). Nas Américas, os escravos eram vendidos aos metros e toneladas, e tratados por “peças” (Chiavenato, 1987).

Ainda hoje, é difícil precisar a quantidade e a origem de todos os escravos que chegaram ao Brasil. As estimativas não são precisas porque em 1890, dois anos após a promulgação da Lei Áurea, todos os registros federais sobre a escravidão foram destruídos (Twine, 1998). Além disso, a heterogeneidade étnica e linguística dos africanos trazidos também dificultava a documentação (Neme & Andrade, 1987), somada à preferência dos traficantes de levarem escravos de diferentes etnias no mesmo navio evitando possíveis motins (Queirós Mattoso, 1982).

O escravo africano foi a força de trabalho fundamental do Brasil até a segunda metade do século XIX, quando se iniciou a transição do Escravismo para o Capitalismo. Eles foram utilizados na agromanufatura do açúcar, no plantio do algodão, do café, no extrativismo mineral, no artesanato, nas manufaturas, na prestação de serviços e, em menor escala, na pecuária (Albuquerque, 1986). O tempo de vida útil do escravo africano diretamente usado na produção era muito baixo, entre sete e dez anos. Esse fato contribuía para a o aumento do tráfico de escravos. Algumas atividades eram particularmente insalubres, como o extrativismo do ouro e do diamante, o trabalho nas salinas e nas fases de produção intensiva de açúcar. Além disso, o excesso de trabalho – 15 a 17 horas por dia – contribuía para a alta mortalidade (Queirós Mattoso, 1982), além da má alimentação, enfermidades, castigos, pouca roupa para abrigarem-se do frio e a falta de medicamentos e cuidados médicos (Albuquerque, 1986; Chiavenato, 1987; Queirós Mattoso, 1982). Os escravos eram tratados como seres inferiores, objetos de produção, aos quais não se deveriam empreender muitos gastos para não afetar os lucros obtidos (Neme & Andrade, 1987).

Nas fazendas, os escravos tinham pouco tempo para tentar transformar a situação que lhes foi imposta. Além disso, a diversidade de línguas constituía uma barreira para a sua união. Dessa forma, o escravo acabava aceitando a subordinação, ou seja, adaptava-se à nova situação ao invés de rebelar-se contra o domínio do colonizador (Meegen-Silva, 1999). Uma forma de adaptação foi aprender a língua portuguesa, pois assim eles poderiam entender melhor o que o colonizador esperava deles. A Igreja Católica contribuiu, através da catequese e do ensino do português, para a adaptação do escravo ao seu novo meio, estimulando-os a ter paciência e humildade e a se resignar à sua nova identidade de escravo submisso (Queirós Mattoso, 1982).

Entretanto, muitos escravos não aceitaram a submissão, e vários tipos de revoltas ocorreram no cativeiro. Uma das formas de se rebelarem foi diminuir deliberadamente a capacidade e a qualidade do seu trabalho, inclusive destruindo os instrumentos de trabalho (Neme & Andrade, 1987). O aborto também era bastante praticado, uma maneira de livrarem os seus filhos do mesmo destino que tiveram, além de ser uma forma de causar prejuízos aos seus proprietários (Vila

Real, 1996). O suicídio foi uma forma de libertação (Neme & Andrade, 1987; Vila Real, 1996). Com menos freqüência, os escravos também praticavam tentativas de homicídio contra seus “donos” e furtos (Vila Real, 1996; Neme & Andrade, 1987). No último caso, os escravos furtavam parte da colheita para vendê-la a seu favor e assim conseguir o dinheiro necessário para a compra de sua alforria (Queirós Mattoso, 1982). A fuga, porém, foi a maneira mais comum que os escravos conseguiram de, coletivamente, livrarem-se de sua condição de cativos (Neme & Andrade, 1987).

Os escravos enxergavam na fuga a forma de sobreviverem. As fugas individuais eram as mais comuns. Houve também motins, onde um grupo de escravos fugia ao mesmo tempo, às vezes matando o seu escravizador (Meegen-Silva, 1999). As fugas, obviamente, não eram toleradas pelos senhores de escravos, e várias foram as formas que eles encontraram de recapturá-los e reprimir novas tentativas de fugas. Os fugitivos eram punidos com açoites, marcações com ferro em brasa e podiam até ser trancafiados indefinidamente. Aqueles que tentavam fugir mais de uma vez e eram recapturados poderiam até mesmo perder a vida (Palacín, 1994).

Os escravos que fugiam para as matas acabavam por refugiar-se em lugares de difícil acesso. Quando o número de indivíduos escondidos era grande o suficiente, formava-se uma comunidade, à qual atribuiu-se o nome de *quilombo* (Meegen-Silva, 1999). A origem da palavra *quilombo* encontra-se na cultura banto (*kilombo*, aportuguesado *quilombo*), e tem dois significados: (1) lugar cercado e fortificado, arraial ou acampamento; (2) campo de iniciação (Munanga, 1995). Entretanto, o conceito mais simples e mais usado de *quilombo* no Brasil é “refúgio de escravos”. Em 1791, a Coroa Portuguesa definiu como *quilombo* toda concentração de pelo menos cinco escravos fugidos (Neme & Andrade, 1987), um modo de reprimir qualquer forma de organização e prevenir alguma rebelião.

Além de escravos desertores, viviam também nos quilombos indivíduos, como escravos alforriados, que preferiam estes às cidades (Queirós Mattoso, 1982). Há ainda relatos orais e históricos que indicam que a formação étnica, cultural e genética destas comunidades contou também com a contribuição de

ameríndios, cujas populações eram numerosas tanto em Goiás como no Nordeste brasileiro, apesar da passagem de constantes bandeiras (Palacín & Moraes, 1994).

Os quilombos constituíram a base da resistência do escravo, pois neles os descendentes de africanos podiam expressar a sua identidade cultural (Moura, 1993), criando suas próprias regras adaptadas do seu passado na África. O quilombo foi a maneira encontrada pelos escravos de se libertarem de sua inadaptação ao novo sistema que lhes vinha sendo imposto. Várias dessas comunidades nunca foram descobertas pelos seus perseguidores e, depois da abolição da escravatura, muitos dos habitantes dos quilombos continuaram a morar no mesmo local, formando-se assim os atuais remanescentes de quilombos (Meegen-Silva, 1999).

### 1.1.2. REMANESCENTES DE QUILOMBOS

Existem várias definições de remanescentes de quilombo, entre elas as de que sejam *“sítios historicamente ocupados por negros e que tenham resíduos arqueológicos de sua presença, inclusive as áreas ocupadas ainda hoje por seus descendentes com conteúdos etnográficos e culturais”* (Meegen-Silva, 1999). Atualmente, o conceito mais utilizado para definir o que são os remanescentes dos antigos quilombos é da Associação Brasileira de Antropologia (ABA - <http://www.abant.org.br/>): *“Toda comunidade negra rural que agrupe descendentes de escravos vivendo da cultura de subsistência e onde as manifestações culturais têm forte vínculo com o passado”*.

Alguns aspectos são recorrentes na história de muitas dessas comunidades. O primeiro é que até certo momento de suas histórias, essas populações não tinham a preocupação de legalizar as terras que ocupavam. O segundo tem a ver com o fato de que o uso da terra não obedece a padrões de parcelamento, e a atividade agrícola, pecuária, pesqueira e extrativista são articuladas e exploradas sazonalmente. Terceiro, essas comunidades não são grupos que se isolaram da sociedade envolvente. O quarto aspecto comum é que

os laços de parentesco, consangüíneos ou por afinidade, são a base da organização social. Finalmente, as histórias desses grupos são reconstruídas a partir de narrativas orais (Silva, 1997).

Atualmente, há discordância em relação ao número de comunidades identificadas como remanescentes de quilombos. Os dados da Fundação Cultural Palmares (<http://www.palmares.gov.br/>) indicam a existência de 743 comunidades afrodescendentes em todo o Brasil, com número de habitantes próximo aos dois milhões de pessoas. Já o *Segundo Cadastro Municipal dos Territórios Quilombolas*, produzido em 2005 pelo Centro de Cartografia Aplicada e Informação Geográfica da Universidade de Brasília (CIGA), mostra a existência de 2.228 comunidades remanescentes de quilombos no país, das quais apenas 70 estão com a situação fundiária regularizada. De acordo com esses levantamentos, a maior parte dessas comunidades está localizada nas regiões Nordeste e Sudeste e a menor na Centro-Oeste e na Sul.

### ***Remanescentes de quilombo da região Centro-Oeste***

A região Centro-Oeste foi uma das últimas áreas do Brasil a ser povoada, sendo que o povoamento foi intensificado no século XVIII com a descoberta de ouro na região de Goiás. O primeiro levantamento populacional, realizado em 1804, apontou que 41% da população eram constituídos por escravos (Palacín, 1994).

De acordo com a Fundação Cultural Palmares, o Centro-Oeste é a região que possui o segundo menor número de comunidades remanescentes de quilombos, 15 no total, estando à frente apenas da região Sul, onde foram identificadas 14 comunidades. O remanescente de quilombo Kalunga é a maior comunidade dentre as 15 identificadas pela Fundação Cultural Palmares na região.



## **Kalunga**

*Kalunga* é o remanescente de quilombo mais importante numericamente (cerca de 5300 habitantes) e historicamente da região Centro-Oeste e um dos maiores do Brasil. A comunidade ocupa uma área de aproximadamente 258 mil hectares na zona rural do Nordeste do estado de Goiás, próxima às cidades de Monte Alegre e Cavalcante, a 320 quilômetros de Brasília. Está estruturado em várias subcomunidades, como, por exemplo, Vão de Almas, Vão de Moleque e Engenho. Estas estão dispersas pelo território Kalunga, sem que haja, entretanto, um isolamento geográfico entre elas. Apesar disso, há uma identidade dos próprios habitantes em relação a qual subcomunidade eles pertencem.

Sua população é formada por descendentes de escravos que foram levados para a região da atual cidade de Monte Alegre para trabalharem nas “Minas do Tocantins”. De acordo com Soares (1995), escravos teriam fugido das minas no final do século XVIII e formado o quilombo. Entretanto, alguns moradores contam que seus ancestrais foram abandonados pelos bandeirantes quando o ouro das minas acabou. Com receio de que voltassem para buscá-los, se embrenharam ainda mais nos matagais e lá viveram escondidos por várias décadas (Meegen-Silva, 1999). Ao longo do tempo, vilas e cidades cresceram nas proximidades da área Kalunga e, com o tempo, os quilombolas começaram a ter relações comerciais com os habitantes dos centros urbanos (Meegen-Silva, 1999).

Até 1984 a população encontrava-se em uma vida de subsistência, e, sem a posse de suas terras, era constantemente ameaçada por grileiros. Nesse ano, baseada no artigo 68 da ADCT (Ato das Disposições Constitucionais Transitórias), que afirma que *“Aos remanescentes das comunidades dos quilombos que estejam ocupando suas terras é reconhecida a propriedade definitiva, devendo o Estado emitir-lhes os títulos respectivos”*, a antropóloga Mari de Nazaré Baiocchi em conjunto com a comunidade requisitou ao IDAGO (Instituto de Desenvolvimento Agrário de Goiás) o direito dos Kalungas à posse das terras (Soares, 1995). Em 2000, a comunidade foi oficialmente reconhecida como remanescente de quilombo pelo governo federal.

A legitimação da comunidade enquanto remanescente de quilombo veio em uma hora propícia, pois o governo federal estava fornecendo subsídios para populações indígenas e remanescentes de quilombos. Entretanto, os benefícios fizeram com que a vida e, conseqüentemente, a identidade étnica dos Kalungas, mudasse muito nos últimos anos, já que a população passou a almejar o “progresso” vivido pelos habitantes da cidade, não cultivando mais suas tradições (Meegen-Silva, 1999).

### ***Remanescentes de quilombo da região Nordeste***

De acordo com a Fundação Cultural Palmares, o Nordeste é a região brasileira onde se encontra o maior número de remanescentes de quilombos - 524 das 743 comunidades afroderivadas identificadas pela Fundação. O vale do rio São Francisco é uma região especialmente rica em remanescentes. Entre eles encontram-se as comunidades de *Rio das Rãs* e *Riacho de Sacutiaba*, no oeste do estado da Bahia, e *Mocambo*, no Nordeste do estado de Sergipe, objetos de estudo desse trabalho.

O processo de colonização do país teve início pela região Nordeste. No começo do período colonial, o sistema econômico adotado pelos portugueses foi o da monocultura da cana de açúcar. Os engenhos de açúcar expandiram-se pela região, associados às grandes plantações e ao trabalho escravo, nos séculos XVI e XVII (Del Priore & Venâncio, 2004).

O trecho médio do rio São Francisco foi desbravado por bandeiras a partir do final do século XVII para cumprir ordens régias de combater "índios e negros rebelados" nas capitanias de Pernambuco e do Ceará. Nas primeiras décadas do século XVIII, prosperaram as fazendas de gado implantadas ao longo da via de trânsito de víveres e de escravos. Esta prosperidade, contudo, teve vida curta, já que o governo colonial bloqueou todas as vias de acesso aos centros auríferos - à exceção da que conduzia ao porto da nova capital, o Rio de Janeiro. O São Francisco, já então uma importante rota de contrabando e território tido como

"sem-lei", situado entre as capitanias das Minas Gerais, Bahia e Pernambuco, foi também bloqueado.

Nos cem anos entre meados dos séculos XVIII e XIX, após o "fechamento" da rota para as Minas, ocorreu um longo período de decadência econômica e de isolamento do médio São Francisco. Neste contexto, a população escrava deixada para trás se assenhoreou das pequenas povoações e dos terrenos abandonados por seus antigos senhores, deles passando a tirar seu sustento como camponeses. Não demorou muito para que este isolamento tornasse a região atrativa como refúgio para negros aquilombados, oriundos tanto da região das Minas como do litoral nordestino. No início do século XIX, todo o trecho do médio São Francisco já havia se tornado um vasto "território negro", organizado em dezenas de pequenas comunidades (Dória & Carvalho, 1995).

Há registros de fugas de escravos no Nordeste desde o final do século XVI. A Coroa Portuguesa sabia que os fugitivos escondiam-se na área que se estendia entre o Nordeste do curso inferior do Rio São Francisco, em Sergipe e Alagoas, e os arredores do Cabo São Agostinho, em Pernambuco. Essa área era geograficamente acidentada e coberta de mata tropical. Em meados de 1600, surgiram as primeiras expedições punitivas, comandadas por bandeirantes, que tentaram pôr fim a essas comunidades. Mas essas foram em vão, e o crescimento dos quilombos foi acelerado, principalmente na Bahia, na Paraíba e em Pernambuco, mesmo com a ocupação holandesa nesta região (Del Priore e Venâncio, 2004).

### ***Rio das Rãs***

“Quilombo do Rio das Rãs”, “Comunidade Remanescente do Rio das Rãs”, “Fazenda Rio das Rãs” ou, simplesmente, “Rio das Rãs” são denominações utilizadas para se referir à mesma área, com cerca de 38000 ha., situada à margem direita do Médio São Francisco, no município de Bom Jesus da Lapa, a 970 km de Salvador (Silva, 1997). Sua população é estimada em 4000 pessoas, e

a comunidade foi oficialmente reconhecida como remanescente de quilombo pelo Governo Federal no ano 2000 (Fundação Cultural Palmares, 2000).

Não há um consenso quanto à origem da comunidade de Rio das Rãs. De acordo com distintas versões, duas ou cinco famílias teriam sido as fundadoras do quilombo, apesar de inicialmente não habitarem os locais onde hoje se encontram e os quais foram oficialmente reconhecidos. A localidade onde nasceu Rio das Rãs se chamava Mucambo do Pau Preto ou, simplesmente Mucambo, conforme relatam os moradores mais antigos (Silva, 1997). Supõe-se que os indivíduos que se aquilombaram no Mucambo do Pau Preto teriam vindo, em fuga do cativeiro, de Salvador ou Porto Seguro. Na primeira metade do século XIX, um grupo de escravos teria sido deslocado das mencionadas cidades para o Sul cafeeiro, através do Rio São Francisco e, possivelmente nesse período, é que teria ocorrido a ocupação do Mucambo. Essa era, comprovadamente, uma das rotas do tráfico interno após as restrições inglesas ao tráfico de africanos para o Brasil, a partir de 1831. Por exemplo, estima-se que somente entre 1850 e 1864 42.000 escravos foram levados do Nordeste para o Sul do país, e parte desse tráfico passou pelo São Francisco (Silva, 1997).

Na década de 70, a população de Rio das Rãs passou a sofrer constantes ameaças de expulsão de sua terra, que havia sido parcelada e vendida para um grupo agropecuarista e industrial (Neves, 1999). Após vários anos de luta, Rio das Rãs foi oficialmente reconhecido como remanescente de quilombo e os seus moradores receberam a posse definitiva da terra (Véran, 2002).

### ***Riacho de Sacutiaba***

Riacho de Sacutiaba situa-se na Bahia, a 97 km da cidade de Wanderley (11°29'S e 43°47'W), no oeste do estado, às margens do rio Grande, um afluente do rio São Francisco. Sua população é estimada em cerca de 200 habitantes, que apresentam laços de consangüinidade e afinidade centrados na figura de uma matriarca. Nas últimas duas décadas, pressionada pelo avanço das fazendas e pela ação da grilagem, a comunidade iniciou, com o auxílio de entidades e

políticos locais, um processo judicial a fim de assegurar a sua manutenção nas referidas áreas (Brasileiro & Sampaio, 2002). Foi reconhecida como remanescente de quilombo pelo Governo Federal em 2000.

### **Mocambo**

A chegada dos primeiros escravos em Sergipe aconteceu no século XVII, ficando concentrados principalmente na zona açucareira, embora também estivessem envolvidos com a atividade pecuarista. Várias revoltas negras ocorreram em Sergipe a partir do século XVIII. A fuga foi a forma mais constante, mas nem todas as fugas culminaram na formação de quilombos (Barreto, 1995).

Poucas comunidades surgidas naquele período resistiram até a atualidade. Uma delas é a comunidade remanescente do Mocambo. Esta comunidade situa-se no município de Porto da Folha, no estado de Sergipe, a 190 quilômetros de Aracaju e à margem direita do Rio São Francisco (9°45'S e 37°25'W). Cerca de 80 famílias (500 indivíduos) ocupam uma área de aproximadamente 93,5 ha. e estão distribuídas em duas fileiras de casas paralelas ao rio (Arruti, 2001).

A falta de material historiográfico em Sergipe dificultou o processo de reconhecimento dos habitantes de Mocambo como quilombolas; porém as poucas provas encontradas, a partir de pesquisas históricas, antropológicas e agrônômicas na região, tiveram resultados favoráveis (Arruti, 1997). Até que em maio de 1997, tal comunidade foi reconhecida pela Fundação Cultural Palmares como Remanescente de Quilombo e em 2000 recebeu o título de suas terras (Fundação Cultural Palmares, 2000).

Mocambo localiza-se ao lado da área indígena Xocó. A história desse remanescente está intimamente ligada à essa tribo. Os dois grupos sempre estiveram ligados por um fluxo constante e contínuo de trocas matrimoniais, econômicas e de alianças conjunturais. Um levantamento apontou que dentre as famílias do Mocambo, nove têm um dos cônjuges de origem indígena, sendo sete deles Xocó (Arruti, 2001).

## 1.2. UTILIZAÇÃO DE MARCADORES GENÉTICOS EM RECONSTRUÇÃO HISTÓRICA DE POPULAÇÕES HUMANAS

O estudo da genética de populações é baseado na descrição da variabilidade genética existente e na investigação dos mecanismos evolutivos que a mantêm ou modificam. A variação genética é um processo natural, gerada a partir de mutações e recombinação da variação pré-existente (Futuyma, 1998). No caso da espécie humana, a evolução, isto é, mudança nas freqüências alélicas ao longo do tempo, é decorrente dos fatores evolutivos, como fluxo gênico, deriva genética e seleção natural (em menor escala), e dependente tanto de processos biológicos como também demográficos e históricos (Chakravarti, 1999; Futuyma, 1998).

Regiões do genoma que apresentam variação e cujo alelo mais comum apresenta uma freqüência populacional de no máximo 99% são denominadas marcadores genéticos polimórficos (Saitou, 1995). Os marcadores são uma importante ferramenta no entendimento das relações populacionais e da história evolutiva humana, principalmente no que tange a reconstrução de rotas e a determinação das origens de povoamento. Exemplo disso são os trabalhos realizados visando um melhor entendimento do povoamento humano das Américas, tanto o povoamento primário como o pós-colombiano (Bortolini *et al.*, 2003; Silva Jr. *et al.*, 1999; Bortolini *et al.*, 1997a; Bortolini *et al.*, 1997b; Zago *et al.*, 1996; Zago *et al.*, 1992; Salzano & Callegari-Jacques, 1988).

A avaliação da constituição genética de uma população permite fazer inferências sobre acontecimentos do passado, como efeitos de gargalos populacionais, efeito de fundador, migrações e expansões demográficas (Cavalli-Sforza *et al.*, 1994). Até o início do desenvolvimento de técnicas de biologia molecular, na década de 1980, os estudos sobre populações baseavam-se nas características demográficas e nos dados de polimorfismos de marcadores clássicos – protéicos e sorológicos. Desde então, a análise direta do material genético tornou-se uma realidade. O desenvolvimento da biologia molecular trouxe importantes avanços na possibilidade de detecção de polimorfismos, tais como a descrição das enzimas de restrição e o surgimento de novas técnicas, como a

reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês *Polymerase Chain Reaction*) e o seqüenciamento automático de fragmentos de DNA. Além disso, novos marcadores moleculares foram descritos, como os elementos *Alu*, os microssatélites, os minissatélites, os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs, do inglês *Single Nucleotide Polymorphism*), entre outros, aumentando o volume de informações possíveis de serem acessadas.

As novas técnicas e os novos marcadores permitem uma melhor análise da variabilidade genética das populações do que os marcadores clássicos (Hutz *et al.*, 1999). Essas metodologias têm sido cada vez mais utilizadas para avaliar a diversidade genética intra e interpopulacional e para se ter uma melhor compreensão da evolução humana. Para isso, tem-se utilizado tanto marcadores nucleares, autossômicos e dos cromossomos sexuais, como do DNA mitocondrial (DNAMt).

### 1.2.1. MARCADORES EM DNA

#### ***Microssatélites***

Microssatélites ou *STRs* (do inglês *Short Tandem Repeat Sequences*) são seqüências formadas pela repetição ininterrupta de um motivo simples, com no máximo seis bases nucleotídicas. Esses marcadores são encontrados nos genomas de inúmeros organismos e apresentam altos níveis de polimorfismo, o que os torna interessantes marcadores genéticos (Hancock, 2000). Cada microssatélite constitui um *locus* genético multialélico, uma vez que seus alelos podem ser detectados e discriminados na população e possuem expressão codominante (Ferreira & Grattapaglia, 1995; Schröer *et al.*, 2000).

As taxas de mutação dos microssatélites ( $10^{-2}$  eventos por *locus* por replicação) são altas quando comparadas às mutações de ponto ( $10^{-9}$  à  $10^{-10}$ ). Existem dois modelos que explicam essas altas taxas. O primeiro envolve o “escorregamento” da fita de DNA durante a replicação, e o segundo envolve a recombinação entre moléculas de DNA. O escorregamento ocorre quando a fita de

DNA nascente se dissocia da fita molde. Quando seqüências repetitivas estão sendo replicadas, a fita nascente pode parear fora de fase com a fita molde. Quando a replicação prossegue após esse pareamento errado, a fita nascente será maior ou menor do que a fita molde, dependendo se o anelamento gera alças na fita molde – e nesse caso o produto será menor - ou na fita nascente – quando o produto será maior (Hancock, 2000).

A recombinação, por sua vez, pode alterar o tamanho dos microssatélites de duas formas: pelo *crossing-over* desigual ou por conversão gênica. O primeiro caso envolve o *crossing-over* entre moléculas de DNA desalinhas, gerando uma deleção numa molécula e uma inserção na outra. Esse processo é mais comum para as seqüências repetitivas longas. A conversão gênica envolve a transferência unidirecional de informação pela recombinação, numa resposta a danos ao DNA. Essa transferência também pode ocorrer fora de fase, gerando diversidade (Hancock, 2000).

Esses mecanismos de mutação são os responsáveis pela geração de polimorfismos nos *loci* microssatélites, que correspondem à variação da quantidade de unidades de repetições adjacentes (Drobic & Budowle, 2000). Existem dois modelos clássicos que tratam da alteração no número de unidades de repetição. O primeiro é o *stepwise mutation model* (SMM), o qual prevê, por mutação, o ganho ou perda de uma unidade repetitiva. O outro modelo é o *infinite alleles model* (IAM), pelo qual uma mutação pode gerar um novo alelo aleatoriamente, com qualquer número de repetições. O método estatístico empregado para se calcular diferenciação genética considerando-se o SMM é o  $R_{st}$ , e o usado considerando-se o IAM é o  $F_{st}$  (Goldstein & Schlötterer).

Esses marcadores são bastante úteis em estudos microevolutivos, devido a sua abundância no genoma e a sua alta taxa de mutação, comparada com outros tipos de polimorfismos. Assim, em um curto período evolutivo um número suficiente de eventos mutacionais acumulados pode ser observado em populações divergentes. Essa característica faz com que os microssatélites sejam bastante úteis em estudos de genética de populações humanas, com o objetivo de



inferir alguns aspectos histórico-demográficos, como eventos de migração e mistura genética (Callegari-Jacques *et al.*, 2003; Cerda-Flores *et al.*, 2002).

### ***Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs)***

Os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs, do inglês *Single Nucleotide Polymorphisms*) equivalem a uma mutação de ponto do tipo substituição. Em sua maioria, são marcadores bi-alélicos, mas em princípio os SNPs podem ser também tri- ou tetra-alélicos (Brookes, 1999). São os marcadores mais amplamente distribuídos no genoma humano, estimando-se que eles sejam responsáveis por cerca de 90% das variações de seqüências (Collins *et al.*, 1998). Refletem mutações ocorridas no passado e que, em sua maioria, foram eventos únicos. Dessa forma, dois indivíduos que compartilham um determinado alelo apresentam uma herança evolutiva comum (Stoneking, 2001). Esses fatos associados a ampla ocorrência de SNPs no genoma humano, quando comparada à de outros marcadores, os tornam ideais para análises genômicas.

Os SNPs humanos normalmente não são compartilhados com outros primatas, mas a maioria (~85%) é comum a todas as populações humanas, com apenas 15% ou menos sendo exclusivos de algumas populações (Barbujani *et al.*, 1997). Assim, a maior parte da variação do genoma humano é devida, principalmente, a variações dentro das populações, e não a variações entre populações (Brookes, 1999), e, conseqüentemente, apenas uma pequena fração da diversidade genética é exclusiva a alguns grupos. Populações africanas, entretanto, apresentam uma diversidade maior do que outros grupos, o que reflete a sua antiguidade em relação a populações nativas da Europa, Ásia e Américas (Chakravarti, 1999).

Os SNPs são marcadores interessantes por vários motivos. Primeiramente, um SNP, particularmente quando encontrado numa região gênica funcional, pode por si só ser responsável por diferenças na estrutura e função de proteínas, o que pode levar a doenças. Em segundo lugar, os SNPs podem marcar ou rastrear a

presença de outras diferenças genéticas que geram fenótipos de interesse. Em terceiro, eles são úteis no estudo de taxas de mutação e história evolutiva.

A ubiqüidade desses marcadores também é uma característica importante; há SNPs em alta freqüência em todas as populações humanas, e eles são abundantes em todo o genoma. Estimativas sugerem que a taxa de SNPs é de 1 a cada 200-300 pares de base do genoma. Portanto, considerando todo o genoma humano, devem existir ao menos cerca de 15 milhões de SNPs, isso sem considerar SNPs específicos de populações (Stephens *et al.*, 2001; Kruglyak & Nickerson, 2001).

Nos últimos anos, esforços tem sido feitos no sentido de rastrear e mapear o maior número possível de SNPs no genoma humano. Esse esforço é justificado, dentre outros, pelo uso do mapa de SNPs humanos para melhor compreender a contribuição de genes individuais para doenças que tenham uma base complexa e multigênica. Geralmente, essas variações nas seqüências genômicas estão associadas a diferenças na susceptibilidade ou proteção a várias doenças (Chakravarti, 2001). Assim, existe grande esperança de que os SNPs possam ser usados para melhorar radicalmente o entendimento biológico e contribuir para avanços da medicina (Isaksson *et al.*, 2000).

### ***Inserções-Deleções (Indels)***

As Indels são marcadores genéticos bialélicos de evolução lenta, sendo estimado que estas representem cerca de 20% de todos os polimorfismos de DNA humanos (Weber *et al.*, 2002). No caso das inserções, um dos alelos representa a inserção de um fragmento, e o outro a ausência de inserção do mesmo, chamado na literatura de deleção. No caso das deleções, um dos alelos representa uma deleção e o outro a ausência da mesma. As inserções e deleções podem apresentar grande variação de tamanho, embora a grande maioria seja de poucos nucleotídeos (Weber *et al.*, 2002).

As Indels podem ser agrupadas em duas classes: as cuja inserção é originária de um retrotransposon e as que envolvem mecanismos mutacionais outros. Dentre as que se originam via retransposição, a classe numericamente mais importante é a das inserções *Alu*, que representa mais de 10% do conteúdo do genoma humano, sendo que apenas cerca de 25% apresentam polimorfismo (Batzer & Deininger, 2002).

No caso das inserções *Alu*, algumas características peculiares as tornam especialmente úteis no estudo de genética de populações humanas. Indivíduos que compartilham um dado elemento *Alu* apresentam ancestralidade comum, uma vez que é pouco provável que o evento de inserção ocorra duas vezes em um mesmo *locus*. Além disso, não há um mecanismo para a remoção precisa de uma inserção, e quando isto ocorre, o material genético fica com um sinal indicativo da ocorrência da inserção. Dessa forma, os alelos dessas inserções são considerados idênticos por descendência (Batzer & Deininger, 2002). É provável que as demais Indels compartilhem essas particularidades e sejam de grande utilidade na genética de populações.

### **1.2.2. MARCADORES INFORMATIVOS DE ANCESTRALIDADE (AIMs)**

A maior parte da variabilidade genética entre os humanos é inter-individual (80-90%) e apenas 10%-20% da variação total é devida a diferenças entre populações (Nei, 1987; Cavalli-Sforza *et al.*, 1994). Além disso, também já foi amplamente observado que a maioria das populações possui alelos em comum para qualquer *locus*, e que alguns alelos que são mais frequentes em uma população também podem ser encontrados em altas frequências em outras populações. Esse alto grau de similaridade genética reflete a recente divergência da espécie humana em grupos continentais (Shriver *et al.*, 1997).

Existem, contudo, alguns poucos marcadores clássicos (grupos sanguíneos, proteínas e sorológicos) ou de DNA que são específicos de alguma população ou que apresentam altos diferenciais de frequências entre populações definidas geográfica e/ou etnicamente (Roychoudhury & Nei, 1988; Cavalli-Sforza

*et al.*, 1994). Apesar dessa aparente falta de marcadores genéticos exclusivos de populações, existem diferenças físicas e fisiológicas entre grupos étnicos humanos, as quais, presume-se, refletem adaptação a condições ecológicas únicas, deriva genética e seleção sexual (Shriver *et al.*, 1997).

A idéia de que existem marcadores genéticos em uma população e não em outras não é nova. Neel (1973), que foi o primeiro a relatar esse tipo de marcadores, se referiu a eles como “privados” e os usou em estimativas de taxas de mutação. Reed (1973) usou o termo “ideal” para descrever *loci* de marcadores genéticos hipotéticos nos quais diferentes alelos são fixados em diferentes populações. Chakraborty *et al.* (1991) denominou esses variantes encontrados em apenas uma população de “alelos únicos”. Exemplos disso são, os alelos Hb\*S da hemoglobina, CA2\*2, da proteína anidrase carbônica, e Hp\*2M, da proteína haptoglobina, considerados marcadores de ancestralidade africana. Já o alelo T do marcador do tipo SNP DYS199, do cromossomo Y, indica ancestralidade ameríndia.

Porém, os marcadores mais úteis para análise forense, miscigenação ou estudos de mapeamento são aqueles que apresentam grandes diferenciais de frequências alélicas entre populações (Reed, 1973; Chakraborty *et al.*, 1992). Estes passaram a ser denominados PSAs (do inglês *Population-Specific Alleles*), isto é, alelos população-específicos (Shriver *et al.*, 1997) ou AIMS (do inglês *Ancestry Informative Markers*), marcadores informativos de ancestralidade (Pffaf *et al.*, 2001; Shriver *et al.*, 2003; 2005). Apesar de os alelos dos marcadores AIMS geralmente não serem restritos a uma população, o nome ressalta a singularidade e utilidade destes. Qualquer marcador molecular pode ser um AIM, como alguns marcadores do tipo Indels e alguns SNPs.

Considera-se como um grande diferencial de frequência ( $\delta$ ) para que um marcador seja considerado um AIM um valor mínimo de 50% entre ao menos duas grandes populações definidas geográfica e/ou etnicamente (Shriver *et al.*, 1997). Para um marcador bialélico, o  $\delta$  é igual a  $px-py$ , o qual é igual a  $qy-qx$ , onde  $px$  e  $py$  são as frequências de um alelo na população X e Y e  $qx$  e  $qy$  são as frequências do outro alelo nas mesmas populações. Níveis médios de  $\delta$  para *loci*

bialélicos entre os maiores grupos étnicos são de 15%-20%, e a grande maioria (>95%) dos marcadores genéticos bialélicos identificados tem  $\delta < 50\%$  (Dean *et al.*, 1994).

### 1.3. A FORMAÇÃO DO POVO BRASILEIRO E A GENÉTICA DE POPULAÇÕES

O Brasil, assim como outros países da América Latina, tem como ponto marcante em sua história as muitas imigrações de outros povos, principalmente portugueses e africanos. Outro fato importante é que esses povos não mantiveram um isolamento ao entrarem em contato; além de terem interagido e miscigenado entre si, eles também entraram em contato e miscigenaram com os nativos que já habitavam a região há milhares de anos: os ameríndios. Essa miscigenação, particularmente no Brasil, não se deu de forma homogênea em todo o território. Por possuir uma história de formação tão peculiar, o povo brasileiro tem sido alvo de vários estudos de genética de populações, que têm como objetivo não apenas o conhecimento sobre o conjunto gênico que compõe a população atual como também a compreensão do processo de colonização.

Diversos marcadores moleculares já foram usados para se estimar o grau de miscigenação da população brasileira, principalmente grupos sanguíneos e marcadores protéicos. Um dos primeiros trabalhos nessa direção foi realizado com migrantes do Nordeste do país, onde estimou-se 59% de contribuição européia, 30% de africana e 11% ameríndia (Krieger *et al.*, 1965). A contribuição africana em populações urbanas varia, em diferentes regiões geográficas, desde 4% na população de Parintins, no Amazonas (Schüller *et al.*, 1982) até 34% na população de Aracaju (Conceição *et al.*, 1987), enquanto a contribuição ameríndia varia de 0% em Porto Alegre (Franco *et al.*, 1982) até 27% em Manaus (Santos *et al.*, 1983). Já para a população da região Norte houve uma inversão em relação às contribuições africana (12%) e ameríndia (41%), enquanto a contribuição européia (47%) se manteve próxima à observada para a região Nordeste (Santos & Guerreiro, 1995). No estado do Rio Grande do Sul, Dornelles *et al.* (1999)

observaram uma grande contribuição europeia (82%), seguida pela ameríndia (11%) e africana (7%).

Não há muitos trabalhos utilizando marcadores em DNA nucleares autossômicos para estimativa de miscigenação étnica em populações urbanas do Brasil. Recentemente, Callegari-Jaques *et al.* (2003) analisaram mais de mil indivíduos, envolvidos em casos de paternidade, pertencentes às cinco regiões geográficas brasileiras em relação a doze microssatélites. Estimou-se que a porcentagem de contribuição europeia é maior na região Sul (81%) e menor na região Nordeste (68%). A contribuição africana, por sua vez é menor na região Sul (11%), enquanto os maiores valores foram estimados para as regiões Centro-Oeste e Sudeste (18%). Finalmente, as estimativas de contribuição ameríndia foram menores no Sul e Sudeste do país (7%), enquanto a maior foi estimada para a região Nordeste (17%). Foi observado, portanto, um gradiente crescente norte-sul de contribuição Europeia, em concordância com a história da população brasileira.

Os marcadores AIMs foram utilizados para estimar miscigenação em homens auto-declarados brancos de quatro regiões do país (norte, nordeste, Sudeste e sul). Com essa metodologia, foi estimado que a contribuição africana é maior na região Sudeste (32%), seguida pelas regiões Nordeste (29%), Norte (23%) e Sul (13%). Além disso, foi calculado o índice de ancestralidade africana (IAA) para cada indivíduo da amostra e estes índices mostraram valores intermediários aos observados para Africanos e Europeus (Parra *et al.*, 2003).

A população brasileira também foi estudada para marcadores uniparentais, ou seja, polimorfismos do cromossomo Y e do DNA mitocondrial (DNAMt). Carvalho-Silva *et al.* (2001) observaram que a grande maioria dos cromossomos Y de homens brasileiros brancos, independentemente de sua origem geográfica, possui origem europeia (80%), com muito poucos cromossomos com origem na África sub-saariana e uma completa ausência de contribuições ameríndias. Já a análise do DNAMt (Alves-Silva *et al.*, 2000) de brasileiros brancos mostrou altas contribuições ameríndia (33%) e africana (28%). Esses resultados indicam a

existência de casamentos direcionais no Brasil, entre homens de origem europeia e mulheres de origem ameríndia e africana (Parra *et al.*, 2003).

As comunidades remanescentes de *quilombos* têm sido alvo de estudos na área de genética de populações, com o intuito de se compreender melhor a história do povoamento africano no Brasil, inclusive as rotas migratórias utilizadas por esse povo ao longo do território brasileiro. Além disso, busca-se conhecer quais grupos étnicos contribuíram para a formação de tais comunidades, influenciando essas populações não apenas geneticamente, como também culturalmente. Dessa forma, alguns estudos descrevendo a constituição genética dessas comunidades já foram realizados.

As contribuições genéticas dos três grupos parentais principais – africano, europeu e ameríndio – foram avaliadas em uma série de remanescentes de *quilombos* utilizando marcadores protéicos e sorológicos (Tabela 2). Estimativas também foram realizadas utilizando marcadores genéticos moleculares nucleares autossômicos, especialmente microssatélites (Barbosa *et al.*, 2006; Vallinoto *et al.*, 2003; Sousa, 2001; Arpini-Sampaio *et al.*, 1999; Silva-Jr *et al.*, 1999) e inserções *Alu* (Cotrim *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2003). Em todos os casos, os resultados indicam uma contribuição africana superior às demais nessas comunidades.

**Tabela 2:** Contribuições africana, europeia e ameríndia em remanescentes de *quilombos* do Brasil, estimadas a partir de dados de marcadores clássicos.

Remanescente de quilombo	Região geográfica	Contribuição (%)			Referência
		Africana	Europa	Ameríndia	
Cametá	Norte	48,0	17,9	34,1	Bortolini <i>et al.</i> , 1992
Cajueiro	Nordeste	67,4	32,6	0	Bortolini <i>et al.</i> , 1998
Curiaú	Norte	73,6	26,4	0	Guerreiro <i>et al.</i> , 1999
Itamoari	Norte	48	17	35	Oliveira, S.F., com. pessoal
Mimbó	Nordeste	61	17	22	Arpini-Sampaio <i>et al.</i> , 1999
Pacoval	Norte	44,3	27,4	28,3	Guerreiro <i>et al.</i> , 1999
Paredão	Sul	79,1	2,8	18,1	Bortolini <i>et al.</i> , 1992
São Gonçalo	Nordeste	54,0	31,6	14,4	Sousa, 2001
Sítio Velho	Nordeste	72	12	16	Arpini-Sampaio <i>et al.</i> , 1999
Trombetas	Norte	62,0	27,0	11,0	Schneider <i>et al.</i> , 1987
Valongo	Sul	97,3	2,7	0	Souza & Culpí, 2005

Os estudos envolvendo marcadores nucleares dos cromossomos sexuais, em especial o cromossomo Y, e o DNAMt buscam avaliar diferenças na contribuição masculina e feminina no povoamento destas comunidades. Abe-Sandes *et al.* (2004) observaram que a maior parte dos cromossomos Y de duas populações remanescentes de quilombos da Bahia e de grupos de Afrodescendentes de dois centros urbanos é de origem sub-saariana, e que a proporção de cromossomos Y de origem europeia é maior do que os de origem ameríndia. Macedo-Souza (2003) estudou polimorfismos do cromossomo Y em quatro comunidades remanescentes de quilombos de São Paulo e observou que somente em uma delas a contribuição africana foi superior à europeia. Bortolini *et al.* (1999) observaram uma preponderância de DNAMt de origem africana (58 a 80%) e ameríndia (13 a 27%) em quatro comunidades remanescentes de quilombos (três da região Norte e uma da região Sul). Porém, com relação ao cromossomo Y, foi observada uma maior contribuição africana em três das quatro comunidades, enquanto na quarta comunidade (Cametá, na região norte) a contribuição europeia foi maior do que as demais. Ribeiro-dos-Santos *et al.* (2002) identificaram, em um remanescente da região norte, 53% de DNAMt com origem africana e 47% com origem ameríndia, enquanto que 57% dos cromossomos Y eram de origem africana, 37% europeia e 6% ameríndia.

Esses dados, portanto, vão ao encontro do que é relatado historicamente no Brasil de que houve uma grande tendência à reprodução direcional. Essa tendência foi de cruzamentos entre homens europeus e mulheres ameríndias e africanas, especialmente durante os primeiros anos da colonização do território, quando a presença de mulheres europeias era bastante escassa.

As comunidades remanescentes de quilombos que foram aqui estudadas também já foram analisadas para vários marcadores genéticos. O estudo de marcadores clássicos e polimorfismos de inserção *Alu* indicaram que a maior contribuição na formação das populações de Kalunga, Rio das Rãs e Riacho de Sacutiaba foi africana (68,5%, 52,75% e 50,48%, respectivamente), enquanto em Mocambo a contribuição europeia foi maior do que as demais (59,94%) (Pedrosa & Oliveira, 2004). Já os estudos com cromossomo Y indicam uma forte contribuição masculina de origem europeia em todas as comunidades (Ribeiro,



2005), enquanto a análise do DNAm<sub>t</sub> demonstra a ausência de contribuição dessa parental (Oliveira *et al.*, 2005). Esses últimos dados reforçam a idéia de reprodução direcional, já observada em várias populações brasileiras.

## 2. JUSTIFICATIVA

As populações remanescentes de *Quilombos* tiveram uma história mais provável de isolamento genético parcial desde a época de sua constituição (idade média de 150 anos de povoamento das áreas). Em decorrência disso, é esperado que estas preservem uma composição genética predominantemente derivada de populações africanas, apesar dos eventos estocásticos, como fluxo gênico, miscigenação e deriva, a que estas populações estiveram, e ainda estão, submetidas. Além disso, entende-se ainda que estas populações devam apresentar diferenças genéticas significativas com relação a populações urbanas brasileiras. Isso decorre do fato destas últimas serem oriundas de um processo mais intenso e contínuo de miscigenação entre populações com diferentes ancestrais, incluindo prioritariamente europeus, ameríndios e os próprios africanos.

No entanto, estudos genéticos têm revelado que estas populações Remanescentes de Quilombos apresentam composição genética miscigenada. Além disso, observa-se também a ocorrência de cruzamentos assimétricos, evidenciado pela elevada participação percentual, por exemplo, de cromossomos Y derivados de populações européias e a simultânea ausência ou baixa frequência de linhagens maternas (DNAmt) dessa etnia e a presença significativa de haplótipos mitocondriais ameríndios.

Embora a análise destas moléculas de herança uniparental seja interessante para revelar o sentido preferencial de cruzamentos, por amostrar apenas uma pequena fração do genoma individual, ela não permite estimar com precisão a real composição genômica. Somente uma análise mais abrangente do conjunto cromossômico recombinante pode, de fato, fornecer uma imagem mais próxima da realidade da composição genômica de um indivíduo e de uma população.

Nos últimos anos, diversos estudos têm utilizado marcadores autossômicos para uma investigação mais global da composição genômica de seres humanos com diferentes finalidades, incluindo a reconstrução histórica. Dentre esses estão

os marcadores microsatélites, bastante utilizados apesar das suas limitações, e, nos últimos anos, os marcadores informativos de ancestralidade.

Este estudo visa, portanto, complementar os estudos já existentes para quatro destas populações, buscando uma análise mais global do genoma com base em duas classes diferentes de marcadores autossômicos: microsatélites e marcadores AIM. A caracterização genética mais global destes remanescentes de *Quilombos* poderá, portanto, corroborar informações existentes sobre o grau de miscigenação destas populações bem como auxiliar na construção de hipóteses mais próximas da realidade quanto ao histórico de constituição, dinâmica e perspectiva da constituição genética destas populações desde a sua fundação.

Nesta mesma linha de raciocínio, é interessante realizar comparações entre os perfis genéticos destas populações remanescentes de quilombos e o de populações urbanas brasileiras de diferentes regiões do país. Essas comparações visam verificar se de fato hoje, passados quase 200 anos ao longo dos quais inúmeras tem sido as oportunidades de miscigenação, a composição genética destas populações supostamente semi-isoladas ainda difere significativamente das populações urbanas brasileiras.

### 3. OBJETIVOS

O presente projeto teve como objetivo geral estimar a composição genética atual de quatro populações humanas identificadas antropologicamente como comunidades remanescentes de quilombos (Kalunga – GO, Mocambo – SE, Rio das Rãs e Riacho de Sacutiaba – BA). e comparar com populações urbanas brasileiras. Esta composição foi avaliada com base em marcadores moleculares autossômicos dos tipos microssatélites e AIMs (SNPs e Indels).

Os objetivos específicos do estudo foram:

1. Estimar a variabilidade genética de quatro comunidades remanescentes de quilombos quanto a oito marcadores microssatélites (vWA, TH01, TPOX, CSF1PO, D5S818, D13S317, D7S820 e D16S539) e nove AIMs (CYP3A4, FYNUL, CRH, LPL, OCA2, rs1426654, rs1129048, rs1480642 e AT3);
2. Testar a existência de diferenciação entre as quatro populações remanescentes de quilombos com base em uma bateria de microssatélites autossômicos;
3. Testar a existência de diferenciação no conjunto das quatro populações remanescentes de quilombos com base em marcadores AIMs;
4. Comparar as populações remanescentes de quilombos com populações urbanas brasileiras de diferentes regiões com base na bateria de microssatélites estimando o grau de diferenciação genética;
5. Descrever a composição genética das populações remanescentes de quilombos com base em estimativas da contribuição relativa dos três principais grupos parentais - europeus, ameríndios e africanos (mistura genética);
6. Comparar as estimativas de composição genética das populações remanescentes de quilombos obtidas com os microssatélites com as obtidas com os marcadores AIMs;
7. Comparar as estimativas de composição genética das populações remanescentes de quilombos obtidas com os microssatélites com as obtidas nas cinco regiões brasileiras;

8. Estimar o índice de ancestralidade africana individual (IAA) dos membros das populações remanescentes de quilombos com base no conjunto de marcadores AIMs.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. COLETA DE AMOSTRAS

O grupo de pesquisa em genética de populações do Laboratório de Genética da Universidade de Brasília visitou as três comunidades remanescentes de quilombos do Nordeste em 1998, e a comunidade Kalunga em 2001 e 2002. Durante as visitas, o grupo de pesquisa esclareceu para a comunidade os objetivos deste estudo e enfatizou o caráter voluntário da doação. No caso das três comunidades do Nordeste, as lideranças locais autorizaram o trabalho e foi feita uma exposição oral para todos os membros das comunidades. Aqueles que aceitavam participar foram submetidos a um questionário demográfico e a um novo esclarecimento individualizado. Na comunidade *Kalunga*, além dos procedimentos listados, foi também utilizado um termo de consentimento livre e esclarecido (aprovado pelo CEP/CONEP), para utilização de seu material genético-biológico e dos demais dados fornecidos para este estudo, que foi assinado pelo indivíduo cujo sangue e dados foram coletados ou, no caso de analfabetos, por um indivíduo indicado por ele.

Dessa forma, foram amostrados, ao todo, 281 indivíduos com um grau de parentesco de no máximo 1/16, isto é, não apresentam parentesco até a terceira geração (avós) anterior à atual (Kalunga: N=72; Mocambo: N=77; Rio das Rãs: N=102; Riacho de Sacutiaba: N=30). De cada indivíduo foram coletados cerca de 5 ml de sangue periférico, utilizando-se de um sistema de punção venosa com tubo a vácuo (*Vacutainer*), com EDTA como anticoagulante. Os tubos foram devidamente identificados e refrigerados o mais rapidamente possível. Na Tabela 3 encontra-se um sumário das principais características de cada comunidade.

**Tabela 3.** Perfis populacionais das comunidades remanescentes de quilombos estudadas.

População	Coordenadas Geográficas		Tamanho populacional estimado <sup>1</sup>			Indivíduos amostrados	
	Latitude	Longitude	Total (N)	Nativos (%)	Imigrantes (%)	Total (N)	Imigrantes (%)
Kalunga	13°41'S a 13°51'S	47°15'W a 47°42'W	4000	89,2	10,8	72	0
Riacho de Sacutiaba	11°29'S	43°47'W	209	72,2	27,3	30	22,2
Rio das Rãs	13°41'S a 13°52'S	43°20'W a 43°35'W	4000	70,4	20,6	102	3,3
Mocambo	9°45'S	37°25'W	500	83,9	16,1	77	24,0

<sup>1</sup> Novion, (2003)

#### 4.2. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS

As amostras biológicas foram processadas imediatamente após a sua chegada ao Laboratório de Genética da Universidade de Brasília. O processamento do sangue coletado consistiu na separação das suas frações constituintes – plasma, creme leucocitário e hemácias – através de sucessivas centrifugações e lavagens com solução salina.

Cada amostra foi inicialmente centrifugada a 3000 rpm por cinco minutos para garantir a separação do sangue em seus componentes. Primeiramente, o plasma foi retirado e estocado em um microtubo para posterior análise de proteínas séricas e como possível fonte de DNA. Em seguida, o creme leucocitário também foi separado e estocado em um microtubo para ser utilizado em extrações de DNA. O restante da amostra, ou seja, a fração contendo hemácias, foi lavado três vezes com solução salina 0,9%, e após a última centrifugação foi estocado em tampão glicerol 40% em citrato tripotássio 0,1M, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,0345M, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,0344M e estocado para análise de proteínas eritrocitárias e fonte de DNA. Todas as frações foram devidamente identificadas e estocadas a -20° C.

### 4.3. EXTRAÇÃO DE DNA

Todas as amostras tiveram seu DNA extraído a partir da fração de hemácias, segundo um procedimento do tipo *salting-out* modificado a partir de Miller *et al.* (1988). Esse procedimento dura em média de quatro a cinco horas e foi realizado no Laboratório de Ciências Genômicas e Biotecnologia da Universidade Católica de Brasília.

Inicialmente 200  $\mu$ l da fração de hemácias foram ressuspensos em 200  $\mu$ l do tampão A (sacarose 0,32 M; Tris HCl 10 mM pH 7,6; MgCl<sub>2</sub> 5 mM; Triton X 100 1%) e centrifugados a 4000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi então descartado, e esse procedimento foi repetido mais uma vez. Após a segunda centrifugação, o pellet foi ressuspensado em 200  $\mu$ l de tampão B (EDTA 25 mM pH 8,0; NaCl 75 mM) e em seguida adicionou-se 20  $\mu$ l de SDS 10% e 2,2  $\mu$ l de proteinase K (10mg/ml). A amostra foi então incubada a 55° C por duas horas. Após a incubação, a amostra foi adicionada de 70  $\mu$ l de NaCl saturado (aproximadamente 6M), levada ao vórtex por 15 segundos e centrifugada a 5000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi então transferido para outro microtubo de 1,5 ml, ao qual foram acrescentados 467  $\mu$ l de isopropanol. A amostra foi homogeneizada por inversão, e em seguida procedeu-se a nova centrifugação, a 8000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi cuidadosamente descartado, e o pellet foi lavado com 150  $\mu$ l de etanol 70% e centrifugado a 9000 rpm por 3 minutos. O etanol foi descartado e a amostra foi mantida a temperatura ambiente até que todo o álcool evaporasse. Em seguida, a amostra foi ressuspensada em 50  $\mu$ l de Tampão Tris EDTA 1X (Tris-Cl 100 mM; EDTA 10 mM pH 8,0) e incubada a 37° C por uma hora.

Após a extração de DNA, todas as amostras foram quantificadas em gel de agarose 1% com brometo de etídeo. A quantificação foi feita comparando-se visualmente as amostras a padrões pré-estabelecidos (10  $\eta$ g/ $\mu$ l, 20  $\eta$ g/ $\mu$ l e 100  $\eta$ g/ $\mu$ l).



#### 4.4. ANÁLISE LABORATORIAL DOS MARCADORES GENÉTICOS

Foram selecionados para análise oito marcadores do tipo microssatélites - VWA, TH01, TPOX, CSF1PO, D5S818, D13S317, D7S820 e D16S539 – e nove AIMS, sendo oito marcadores do tipo SNP - CYP3A4, FYNULL, CRH, LPL, OCA2, rs1426654, rs1129048 e rs1480642 - e um marcador do tipo indel - AT3. A Figura 2 mostra a distribuição genômica destes marcadores. É importante ressaltar que, apesar da aparente proximidade, os *loci* não estão em desequilíbrio de ligação. No caso dos AIMS, todos encontram-se a uma distância superior a 25cM, conforme foi descrito por Smith *et al.* (2004).

##### ***Microssatélites***

Os oito marcadores do tipo microssatélites foram analisados após amplificação utilizando sistema multiplex. A Tabela 4 contém algumas informações sobre os *loci* estudados, de acordo com o banco de dados STRBASE (*Short Tandem Repeat Database* - [www.cstl.nist.gov/div831/strbase](http://www.cstl.nist.gov/div831/strbase)). Todos os procedimentos laboratoriais foram realizados no Laboratório Heréditas, em Brasília.

A amplificação de aproximadamente 10ng de DNA genômico (aproximadamente 3 µl) foi realizada em uma reação de 13µl contendo: Tampão da Taq 1X (contendo em sua composição 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>); 250µM de cada dNTP; 2U de Taq DNA polimerase Phoeutria; 0,5µM de iniciadores específicos; 0,5 mg/ml de BSA. A reação foi realizada em termociclador Perkin Elmer (Norwalk, CT) *GeneAmp PCR system 9700* utilizando o seguinte programa: 95°C por 11 minutos, seguidos de 28 ciclos a 94°C por 1 minuto, 59 °C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto. A extensão final foi realizada a 60°C por 45 minutos. As seqüências dos iniciadores utilizados na PCR encontram-se na Tabela 4.

Aos produtos de PCR adicionou-se uma solução de tampão de amostra contendo formamida com ROX 12X (na proporção de 4:1) na proporção de 1:1. Os iniciadores *forward* foram marcados em sua extremidade 5' com os corantes

NED (D16S539, D7S820, D13S317, D5S818) e HEX (CSF1PO, TPOX, THO1, VWA) para detecção por filtro D em seqüenciador automático ABI (Foster City, CA) Prism1 377-96. A análise dos fragmentos foi realizada com o programa GeneScan Analysis 2.1 (*Applied Biosystems*) e a genotipagem com o programa Genotyper 2.1 (*Applied Biosystems*).

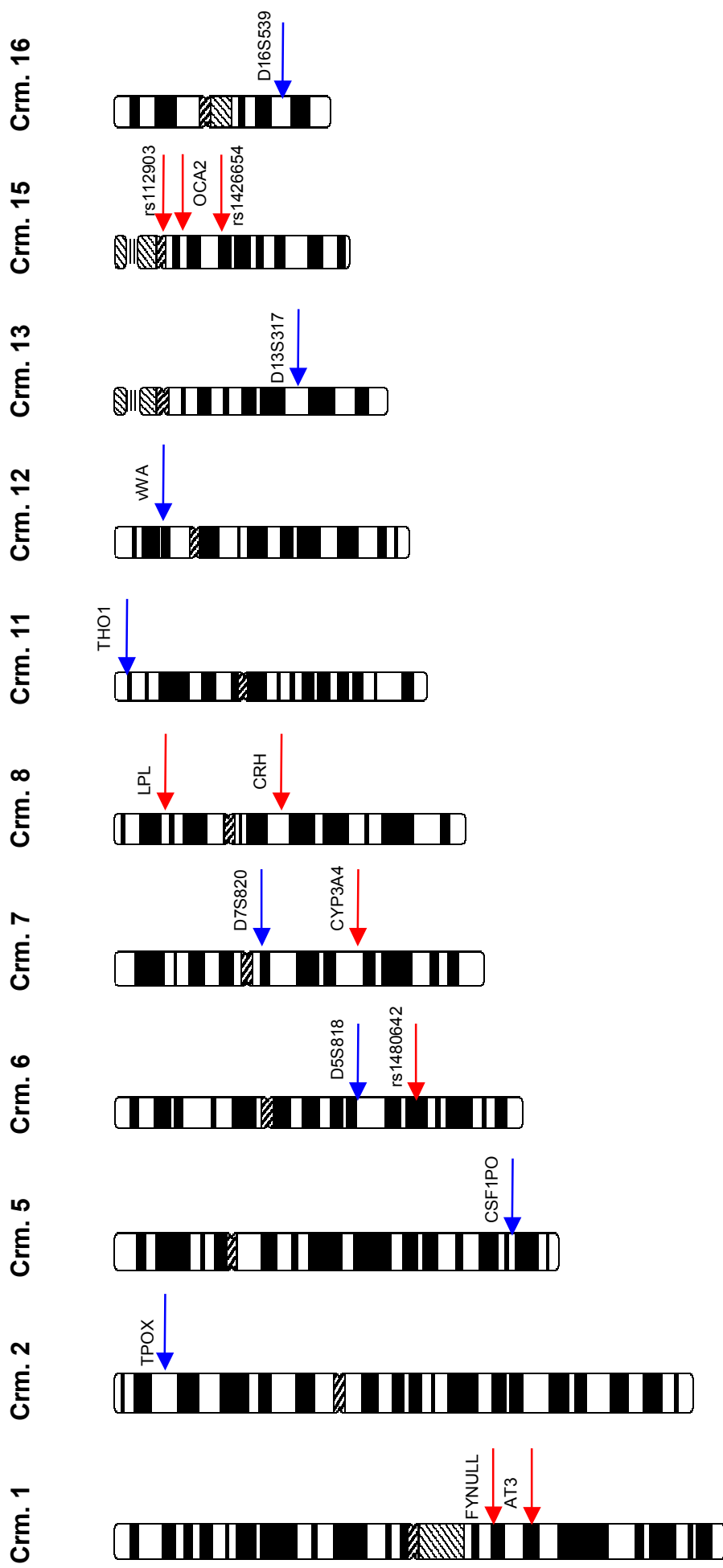


Figura 2. Localização cromossômica dos *loci* microsatélites (em azul) e AIMS (em vermelho) analisados no presente trabalho.

**Tabela 4.** Loci microsatélites analisados, localização cromossômica, localização cromossômica, sequência da repetição, sequência dos iniciadores, variação de tamanho do fragmento gerado e delta ( $\delta$ ) composto calculado para cada locus.

Locus	Localização cromossômica	Repetição	Sequência dos iniciadores	Tamanho do fragmento (pb)	$\delta$ composto
<b>CSF1PO</b>	5q33.3-34	AGAT	5' AACCTGAGTCTGCCAAGGACTAGC 3' 5' TTCACACACACCACACTGGCCATCTTC 3'	281-321	0,183
<b>TPOX</b>	2p23	AATG	5' ACTGGCACAGAACAGGCACCTTAGG 3' 5' GGAGGAACTGGGAACCCACACAGGTTA 3'	220-256	0,258
<b>THO1</b>	11p15-15.5	AATG	5' ATTCAAAAGGGTATCTGGGCTCTGG 3' 5' GTGGGCTGAAAAGCTCCCGATTAT 3'	171-215	0,376
<b>VWA</b>	12p12	AGAT	5' GCCCTAGTGGATGATAAGAATAATCAGTATGTG 3' 5' GGACAGATGATAAATACATAGGATGGATGG 3'	123-181	0,116
<b>D16S539</b>	16q22-24	GATA	5' GGGGGTCTAAGAGCTTGTAAAAAG 3' 5' GTTTGTGTGCATCTGTAAGCAT 3'	264-304	0,163
<b>D7S820</b>	7q	GATA	5' GGGGGTCTAAGAGCTTGTAAAAAG 3' 5' GTTTGTGTGCATCTGTAAGCATGTATC 3'	211-251	0,130
<b>D13S317</b>	13q22-q31	GATA	5' ATGTTGGTCAGGCTGACTATG 3' 5' GATCCACATTTATCCTCATTGAC 3'	157-201	0,210
<b>D5S818</b>	5q21-q31	AGAT	5' GGTGATTTTCCCTCTTTGGTATCC 3' 5' AGCCACAGTTTACAAACATTTGTATCT 3'	119-155	0,161

## AIMs

Para o presente trabalho, nove marcadores AIMs foram escolhidos de um total de 36 marcadores disponíveis no Laboratório de Ciências Genômicas e Biotecnologia da Universidade Católica de Brasília. Sete dos marcadores foram selecionados do trabalho de Smith *et al.* (2004), que caracterizaram um total de 100 SNPs úteis para estimativas de ancestralidade, e os outros dois – CYP3A4 e AT3 – do trabalho de Shriver *et al.* (2003), que avaliaram o potencial de 34 AIMs em estimativas de ancestralidade individual. Todos os marcadores escolhidos apresentam grande diferencial de frequências alélicas entre africanos e europeus, e dois deles (rs1129038 e rs14265654) apresentam também alto diferencial entre ameríndios e europeus, conforme pode ser observado na Tabela 5.

A análise laboratorial dos SNPs envolveu uma técnica de miniseqüenciamento utilizando o kit comercial SNaPshot™ (*Applied Biosystems*). Na reação de miniseqüenciamento ocorre a extensão de um iniciador, que se anela na região de DNA imediatamente adjacente ao SNP em estudo, com a adição de apenas um nucleotídeo. O kit Snapshot é baseado no miniseqüenciamento com posterior eletroforese e detecção por fluorescência, utilizando ddNTPs fluorescentes. Cada ddNTP é marcado com um corante fluorescente diferente. Um iniciador não marcado é posicionado na extremidade 3', na base imediatamente *upstream* ao sítio do SNP, e é estendido com um único ddNTP marcado. Essa técnica permite a análise em *multiplex* dos produtos do miniseqüenciamento, desde que eles estejam espacialmente separados. Isso pode ser feito adicionando-se “caudas” com diferentes tamanhos à extremidade 5' dos iniciadores usados no miniseqüenciamento. Os produtos são então separados eletroforeticamente em um seqüenciador automático de DNA (Sobrino *et al.*, 2005).

Antes de se realizar o miniseqüenciamento, entretanto, foi necessário gerar fragmentos onde os iniciadores do miniseqüenciamento se anelaram pela reação em cadeia da polimerase (PCR). Dessa forma, os três iniciadores necessários para cada um dos oito SNPs estudados foram desenhados utilizando o programa

Primer3 (Rozen & Skaletsky, 2000). Para assegurar que os iniciadores dos diferentes sistemas não estavam interagindo entre si utilizou-se o programa *Autodimer* (Vallone & Butler, 2004). As seqüências de todos os iniciadores (PCR e miniseqüenciamento) encontram-se nas Tabelas 5 e 6, respectivamente.

**Tabela 5.** Localização cromossômica, seqüência dos iniciadores da PCR, tamanho dos fragmentos gerados na PCR e delta ( $\delta$ ) entre africanos e europeus e entre ameríndios e europeus para os marcadores AIMs.

<i>Locus</i>	Localização cromossômica	Seqüência do iniciador	Tamanho do fragmento (pb)	$\delta$ Africanos/ Europeus	$\delta$ Ameríndios/ Europeus
<b>CYP3A4</b>	7q22.1	5' CTGGGTTTGGGAAGGATGTGT 3' 5' TGTTACTGGGGAGTCCAAGG 3'	223	0,760	0,001
<b>AT3</b>	1q25.1	5' GCCTGAAGGTAGCAGCTTGT 3' 5' CCCACACTCCCTCACTCTTC 3'	177 (deleção) 245 (inserção)	0,576	0,222
<b>FYNUL</b>	1q23.2	5' TCACCCTGTGCAGACAGTTC 3' 5' GTGGGGTAAGGCTTCCTGAT 3'	164	0,997	0,001
<b>CRH</b>	8q13.1	5' TTTGTGCCCTTCACTATGG 3' 5' CCATCTTTCTGCCTGGAAAA 3'	208	0,609	0,056
<b>LPL</b>	8p21.3	5' CAGTGGGTTCAAGGCTCTGT 3' 5' AACAAACAACAAAACCCACACA 3'	154	0,479	0,05
<b>OCA2</b>	15q13.1	5' CAGGCTTTCGTGTGTGCTAA 3' 5' TGAGCTGACATCCCACTGAG 3'	192	0,631	0,258
<b>rs1426654</b>	15q21.1	5' TTCAGCCCTTGGATTGTCTC 3' 5' AATTGCAGATCCAAGGATGG 3'	238	0,960	0,920
<b>rs1129038</b>	15q13	5' CAGCAGCGACGATTCAGATA 3' 5' ATCACGGCCAGTCAGTCTCT 3'	231	0,771	0,759
<b>rs1480642</b>	6q23	5' TTCTTGACCTGAGTGGTGGTT 3' 5' CAAACCAGTGGGCAAGAGAT 3'	245	0,888	0,373

**Tabela 6.** Seqüência dos iniciadores utilizados no miniseqüenciamento de marcadores SNPs, bem como os alelos e o tamanho do fragmento gerado para cada *locus*.

<i>Locus</i>	Seqüência do iniciador	Possibilidade de bases	Tamanho (bp)
<b>CYP3A4 – S</b>	5' CAGCCATAGAGACAAGGGCA 3'	A/G	20
<b>FYNUL - S</b>	5' gactgactgacCTCATTAGTCCTTGGCTCTTA 3'	T/C	32
<b>CRH – S</b>	5' gactgactgactTGCAGAAGCAAGGCCAATAA 3'	G/A	32
<b>LPL – S</b>	5' gactgactgactgactgACAACAAAACCCCACAGCT 3'	G/A	36
<b>OCA2 – S</b>	5' gactgactgGTGCACAGAACTCTGGC 3'	G/A	26
<b>rs1426654 - S</b>	5' gatcgaCCGCTGCCATGAAAGTTG 3'	C/T	26
<b>rs1129048 - S</b>	5' gatcgatcgatcgatcgatcACAGTCTACACAGCAGCGAG 3'	C/T	40
<b>rs1480642 - S</b>	5' gactgactgactgacTTTATATGTGAGGGAAAGCTC 3'	C/T	36

O protocolo de amplificação para todos os sistemas foi o mesmo, inclusive para o sistema AT3. A amplificação de aproximadamente 10ng de DNA genômico foi realizada em uma reação de 10µl contendo: 1X de tampão para PCR (MgCl<sub>2</sub> 3,5mM e KCl 7,5mM); 1X de tampão de PCR (Tris-Cl 2,0 mM pH8,0 e EDTA 2,5mM); 250µM de cada dNTP; MgCl<sub>2</sub> extra a 1,5mM; 1U de Taq DNA polimerase; 0,5µM de cada iniciador (*forward* e *reverse*); 0,16 mg/ml de BSA. A reação foi realizada em termociclador Perkin Elmer (Norwalk, CT) GeneAmp PCR system 9700. Utilizou-se da metodologia de amplificação em *stepdown*, que consiste na progressiva diminuição da temperatura de anelamento dos iniciadores ao longo dos ciclos. Após um passo de desnaturação a 95° C por 5 minutos, seguiram-se 14 ciclos *stepdown* (95° C por 1 minuto, 63° C por 1 minuto, 72° C por 1 minuto, com a diminuição de 0,5° C por ciclo da temperatura de anelamento até que esta atingisse 56° C) e 25 ciclos regulares (95° C por 1 minuto, 56° C por 1 minuto e 72° C por 1 minuto), e finalmente uma extensão final a 72° C por 10 minutos. Os produtos da PCR foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 2% corado com brometo de etídeo para verificação da amplificação, e, no caso do marcador AT3, para a genotipagem dos indivíduos.

Após a amplificação, os produtos de PCR para uma mesma amostra foram agrupados para que a reação de miniseqüenciamento fosse realizada em multiplex. Dessa forma, para uma determinada amostra aliquotou-se 1µl de cada um dos oito produtos de PCR, totalizando, portanto, 8µl de produtos de PCR por

amostra em quantidades equimolares. Após essa etapa, os produtos de PCR foram purificados para a remoção dos iniciadores e dos dNTPs não incorporados utilizando-se as enzimas Exonuclease I (ExoI) e Fosfatase Alcalina de Camarão (SAP), respectivamente, da seguinte forma: 8µl de produto de PCR foram incubados com 2,67U de SAP (2,67 µl de SAP a 1U/µl) e 1U de ExoI (0,101 µl de ExoI a 10U/µl) a 37° C por 90 minutos, com posterior inativação das enzimas a 80° C por 20 minutos.

A reação de miniseqüenciamento foi realizada após a purificação enzimática no mesmo termociclador em que foram feitas as reações de PCR, seguindo-se o seguinte protocolo: 1,25µl de *SNaPshot ready reaction mix* (*Applied Biosystems*), 0,5µM de iniciadores de miniseqüenciamento (0,4 µl de mix de iniciadores a 6,25µM cada) e 1µl de produto de PCR purificado, completando-se o volume da reação para 5µl com água Milli-Q autoclavada. O programa utilizado também seguiu as recomendações do fabricante: 25 ciclos de desnaturação a 96° C por 10 segundos, anelamento a 50° C por 5 segundos e extensão a 60° C por 30 segundos.

Após o miniseqüenciamento, foi feito um novo tratamento enzimático para remoção dos grupos fosforil das extremidades 5' dos ddNTPs, evitando-se assim que os ddNTPs não incorporados co-migrassem com os iniciadores estendidos, e, conseqüentemente, produzissem ruídos durante a análise dos fragmentos. Para tanto, adicionou-se 0,5U de SAP (0,5µl de SAP 1U/µl) para cada 5µl de produto de miniseqüenciamento.

Finalmente, os produtos do miniseqüenciamento foram submetidos a eletroforese no ABI PRISM 3100® *Genetic Analyzer* (*Applied Biosystems*) para que pudessem ser genotipados. Para tanto, 1µl de produto foi misturado com 9µl de formamida e 0,5µl do marcador *Gene-Scan-120 LIZ* (*Applied Biosystems*) e foi submetido a desnaturação (95° C por 3 minutos, 4° C por 3 minutos). Os resultados foram analisados utilizando-se os programas GeneScan 3.7 e Genotyper 3.7 (*Applied Biosystems*).



#### 4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

##### *Variabilidade genética*

As frequências alélicas dos marcadores microsatélites e AIMs em cada comunidade remanescente de quilombo foram calculadas por contagem direta utilizando-se o programa GenAEx 6 (Peakall & Smouse, 2005). Esse mesmo programa também foi utilizado para o cálculo do número médio de alelos por *locus* por população, heterozigose observada, heterozigose estimada e teste das frequências genotípicas quanto ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg. A tabela 7 apresenta dados relativos ao número de alelos observados nas populações utilizadas como parentais com o intuito de comparação com os dados obtidos para os quatro remanescentes de quilombos do presente trabalho.

A correção de Bonferroni foi empregada para ajustar o nível de significância de 5% devido a alta quantidade de testes realizados. Esse ajuste é recomendável para minimizar a ocorrência de resultados significativos devido a flutuações estatísticas. Para essa correção foi utilizado o procedimento do sítio SISA (*Simple Interactive Statistical Analysis* - [home.clara.net/sisa/bonhlp.htm](http://home.clara.net/sisa/bonhlp.htm)).

**Tabela 7.** Número de alelos observados e número médio de alelos por *locus* (Na médio por *locus*) e por população (Na médio) para os *loci* microsatélites nas populações parentais.

População	Loci microsatélites								Na médio
	vWA	THO1	TPOX	CSF1PO	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	
Portugueses	12	6	8	9	8	9	9	7	8,5
Africanos	10	9	8	10	9	7	8	10	8,9
Xavantes	4	3	4	4	4	6	6	5	4,5
Na médio por <i>locus</i>	8,7	6,0	6,7	7,7	7	7,3	7,7	7,3	

### **Análise de diferenciação genética molecular**

O programa Arlequin 3.01 (Excoffier *et al.* 2005) foi utilizado para a análise de variância molecular (AMOVA) e para estimativas de  $R_{st}$ ,  $F_{st}$  e diferenciação par a par entre as populações. Além disso, utilizou-se esse mesmo programa para realizar comparações entre os dados de freqüências alélicas de microssatélites entre os quatro remanescentes de quilombos e populações urbanas brasileiras. Para isso, foram realizadas estimativas de  $F_{st}$  para cada *locus*. As freqüências alélicas das populações utilizadas para a comparação encontram-se no Anexo 1.

### **Mistura genética**

As estimativas de mistura genética foram calculadas pelo método de identidade genética, utilizando-se o programa ADMIX (Chakraborty, 1985). Foram realizadas três estimativas para cada comunidade: uma utilizando apenas os dados obtidos com os microssatélites, outra utilizando os dados dos AIMs e a terceira utilizando o dados dos dois tipos de marcadores em conjunto.

Para a realização dessas estimativas, foram utilizados dados de freqüências alélicas da literatura. Para os marcadores microssatélites, foi feita uma média ponderada das freqüências alélicas observadas em populações africanas (Angola, Camarões, Guiné Equatorial, Guiné Bissau e Moçambique) e européias (Portugal e Espanha) para a geração de freqüências mais abrangentes. Tais freqüências foram obtidas no banco de dados na internet gerado por Huckenbeck e Scheil, da Universidade de Duesseldorf. Como população ameríndia utilizou-se a população Xavante (Hutz *et al.*, 2002), uma vez que ela é a população ameríndia estudada para esses marcadores geograficamente mais próxima dos quatro remanescentes em questão.

Para os AIMs, foram utilizadas as freqüências alélicas observadas em populações européias, africanas e ameríndias analisadas por Shriver *et al.* (2003). As freqüências alélicas dos *loci* do tipo microssatélites e AIMs nas populações parentais encontram-se nas Tabelas 8 e 9, respectivamente.

As estimativas de mistura genética obtidas com os microssatélites e os AIMS separadamente para uma mesma população foram comparadas utilizando-se o teste z, que é um teste de comparação de proporções, com o objetivo de testar se elas são estatisticamente diferentes ou não. Além disso, as estimativas obtidas utilizando-se os microssatélites também foram comparadas com as obtidas por Callegari-Jacques *et al.* (2003) para as cinco regiões geográficas brasileiras utilizando os mesmos STRs. Para essa segunda comparação, as estimativas de mistura genética das cinco regiões brasileiras foram recalculadas utilizando os mesmos *loci* microssatélites e as mesmas populações parentais usadas no presente trabalho, conforme pode ser observado na Tabela 10.

Foi aplicada a correção de Bonferroni para ajustar o nível de significância de 5% dos testes z devido a alta quantidade de testes realizados. Nesse caso, também foi utilizado o procedimento do sítio SISA (*Simple Interactive Statistical Analysis* - [home.clara.net/sisa/bonhlp.htm](http://home.clara.net/sisa/bonhlp.htm)).

### ***Índice de Ancestralidade Africana***

Utilizando-se os dados obtidos a partir dos marcadores AIMS, foi calculado para cada indivíduo dos quatro remanescentes de quilombos estudados um índice de ancestralidade africana (IAA), que é dado por:

$$IAA = \log_{10} \frac{P_A}{P_E}$$

onde  $P_A$  é a probabilidade de um dado genótipo multi-*locus* ocorrer na população Africana e  $P_E$  é a probabilidade desse mesmo genótipo ocorrer na população europeia, como descrito por Parra *et al.* (2003). Dessa forma, quanto maior o índice gerado, maior a contribuição africana na constituição genética do indivíduo.

Para o cálculo das probabilidades, foram utilizadas as mesmas freqüências alélicas usadas nas estimativas de mistura genética, de forma de cada probabilidade de ocorrência de um genótipo multi-*locus* corresponde à multiplicação das probabilidades de ocorrência de cada genótipo separadamente.

Foram calculados dois índices para cada indivíduo: o primeiro foi baseado nos nove marcadores AIMS, e para o cálculo do segundo excluíram-se dois marcadores: rs1129038 e rs1426654. A exclusão desses dois marcadores foi realizada pois estes apresentam frequências alélicas próximas nas populações parentais africanas e ameríndias (Tabela 9) e, conseqüentemente, poderiam contribuir para uma superestimativa da parental africana nas populações.

Os dois índices gerados para cada comunidade remanescente de quilombo foram comparados entre si utilizando-se o teste U de Mann-Whitney, que permite a comparação de medidas de tendências centrais de duas amostras independentes com tamanhos diferentes. No caso dos índices de ancestralidade africana, o teste comparou as medianas das duas séries de dados de cada população. Como as amostras são grandes, procedeu-se à realização de um teste z para se verificar a significância do teste.

**Tabela 8.** Frequências alélicas dos *loci* microssatélites nas populações parentais dos remanescentes de quilombos.

<b>Locus</b>	<b>Alelos</b>	<b>Portugueses</b>	<b>Africanos</b>	<b>Xavantes</b>
<b>CSF1PO</b>		N=1014	N=925	N=34
	<b>6</b>	-	0,0005	-
	<b>7</b>	0,0005	0,0629	-
	<b>8</b>	0,0046	0,1113	-
	<b>9</b>	0,0228	0,0831	-
	<b>10</b>	0,2887	0,2821	0,0740
	<b>11</b>	0,3095	0,2064	0,3970
	<b>12</b>	0,3130	0,2913	0,5000
	<b>13</b>	0,0532	0,0524	0,0290
	<b>14</b>	0,0069	0,0113	-
	<b>15</b>	0,0009	0,0006	-
<b>TPOX</b>		N=3410	N=977	N=34
	<b>6</b>	0,0027	0,1002	-
	<b>7</b>	0,0029	0,0302	-
	<b>8</b>	0,5059	0,2939	0,2940
	<b>9</b>	0,0969	0,207	-
	<b>10</b>	0,0601	0,0832	0,0440
	<b>11</b>	0,2962	0,2691	0,5590
	<b>12</b>	0,0334	0,0160	0,1030
<b>13</b>	0,0015	0,0005	-	
<b>D5S818</b>		N=1776	N=777	N=33
	<b>7</b>	-	0,0019	0,1360
	<b>8</b>	0,0103	0,0866	-
	<b>9</b>	0,0295	0,0245	0,1210
	<b>10</b>	0,0597	0,0645	-
	<b>11</b>	0,3509	0,2028	0,6520
	<b>12</b>	0,3825	0,3761	0,0910
	<b>13</b>	0,1511	0,2281	-
	<b>14</b>	0,0145	0,0129	-
	<b>15</b>	0,0019	0,0027	-
<b>D13S317</b>		N=1437	N=396	N=33
	<b>7</b>	0,0003	-	-

<b>Locus</b>	<b>Alelos</b>	<b>Portugueses</b>	<b>Africanos</b>	<b>Xavantes</b>
	<b>8</b>	0,1268	0,0140	-
	<b>9</b>	0,0556	0,0151	0,3330
	<b>10</b>	0,0462	0,0290	0,2270
	<b>11</b>	0,3394	0,3005	0,0760
	<b>12</b>	0,2656	0,4215	0,1360
	<b>13</b>	0,1185	0,1592	0,1670
	<b>14</b>	0,0472	0,0607	0,0610
	<b>15</b>	0,0004	-	-
<b>D7S820</b>		N=1433	N=396	N=33
	<b>6/6.2/6.3</b>	0,0006	-	-
	<b>7/7.2</b>	0,0233	0,0038	-
	<b>8/8.1</b>	0,1548	0,1843	-
	<b>9/9.1</b>	0,1328	0,1250	0,1970
	<b>10/10.3</b>	0,2682	0,3688	0,0910
	<b>11</b>	0,2150	0,1958	0,3340
	<b>12</b>	0,1684	0,0896	0,2420
	<b>13</b>	0,0328	0,0315	0,0150
	<b>14</b>	0,0042	0,0013	0,1210
<b>D16S539</b>		N=457	N=582	N=34
	<b>5</b>	-	0,0027	-
	<b>6</b>	-	0,0008	-
	<b>7</b>	-	-	-
	<b>8</b>	0,0165	0,0219	-
	<b>9</b>	0,1472	0,2518	0,1620
	<b>10</b>	0,0687	0,1475	0,4700
	<b>11</b>	0,3136	0,2871	0,2650
	<b>12</b>	0,2451	0,1769	0,0880
	<b>13</b>	0,1701	0,1051	0,0150
	<b>14</b>	0,0392	0,0053	-
	<b>15</b>	-	0,0008	-
<b>VWA</b>		N=4720	N=372	N=33
	<b>11</b>	0,0003	0,0027	-
	<b>12</b>	0,0005	0,0013	-
	<b>13</b>	0,0023	0,0214	-
	<b>14</b>	0,1075	0,0781	-
	<b>15</b>	0,1216	0,1976	0,0910

<b>Locus</b>	<b>Alelos</b>	<b>Portugueses</b>	<b>Africanos</b>	<b>Xavantes</b>
	<b>16</b>	0,2300	0,2379	0,4240
	<b>17</b>	0,2649	0,2003	0,3640
	<b>18</b>	0,1859	0,1653	0,1210
	<b>19</b>	0,0727	0,0739	-
	<b>20</b>	0,0119	0,0188	-
	<b>21</b>	0,0019	-	-
	<b>&gt;21</b>	0,0003	-	-
<b>THO1</b>		N=4639	N=453	N=34
	<b>5</b>	-	0,0006	-
	<b>6</b>	0,1172	0,2044	0,4270
	<b>7</b>	0,4222	0,1696	0,3380
	<b>8</b>	0,2610	0,1386	-
	<b>9</b>	0,1530	0,1984	-
	<b>9.3</b>	0,0352	0,2748	0,2350
	<b>10</b>	0,0111	0,0128	-
	<b>11</b>	-	0,0005	-
	<b>&gt;11</b>	-	0,0004	-

**Tabela 9.** Freqüências alélicas para os marcadores AIMs nas populações parentais

<b>Locus</b>	<b>Alelos</b>	<b>Europeus</b>	<b>Africanos</b>	<b>Ameríndios</b>
<b>CYP3A4</b> (rs2740574)		N=109	N=327	N=184
	G	0,958	0,198	0,959
	A	0,042	0,802	0,041
<b>CRH</b> (rs3176921)		N=109	N=98	N=184
	G	0,073	0,682	0,017
	A	0,927	0,318	0,983
<b>LPL</b> (rs285)		N=109	N=481	N=184
	G	0,508	0,029	0,558
	A	0,492	0,971	0,442
<b>OCA2</b> (rs1800404)		N=109	N=481	N=184
	G	0,746	0,115	0,448
	A	0,254	0,885	0,552

<b>Locus</b>	<b>Alelos</b>	<b>Europeus</b>	<b>Africanos</b>	<b>Ameríndios</b>
<b>rs1129038</b>		N=156	N=198	N=58
	C	0,224	0,995	0,983
	T	0,776	0,005	0,017
<b>rs1426654</b>		N=156	N=198	N=58
	C	0,010	0,970	0,930
	T	0,990	0,030	0,070
<b>rs1480642</b>		N=156	N=198	N=58
	C	0,994	0,106	0,621
	T	0,006	0,894	0,379
<b>Fynull (rs2814778)</b>		N=109	N=481	N=184
	C	0,002	0,999	0
	T	0,998	0,001	1
<b>AT3 (rs3138521)</b>		N=109	N=481	N=184
	In	0,282	0,858	0,061
	Del	0,718	0,142	0,939

**Tabela 10.** Estimativa de mistura étnica geradas pelo programa Admix (Chakraborty, 1985), utilizando dados dos marcadores microssatélites nas cinco regiões brasileiras estudadas por Callegari-Jacques *et al.* (2003).

<b>População</b>	<b>% de contribuição (erros-padrão em parênteses)</b>		
	<b>Europeu</b>	<b>Africano</b>	<b>Ameríndio</b>
Norte	61,80 (1,19)	22,85 (1,13)	15,36 (0,90)
Nordeste	71,79 (0,81)	19,91 (0,75)	08,30 (0,56)
Centro Oeste	71,93 (0,55)	18,04 (0,52)	10,03 (0,38)
Sudeste	65,51 (0,42)	27,12 (0,47)	07,37 (0,39)
Sul	77,38 (0,32)	13,55 (0,32)	09,07 (0,20)



## 5. RESULTADOS

### 5.1. VARIABILIDADE GENÉTICA

#### 5.1.1 Microssatélites

Todos os oito *loci* estudados apresentaram-se polimórficos nos quatro remanescentes de quilombos. Entretanto, a quantidade de alelos observada para um mesmo *locus* variou entre as populações. A Tabela 11 apresenta os números de alelos observados e médios por *locus* e por população. A comunidade de Riacho de Sacutiaba foi a que apresentou o menor número de alelos para todos os *loci*, exceto para o *vWA*, onde o menor número de alelos foi observado em Mocambo (7 alelos). Rio das Rãs, ao contrário, foi a população que apresentou os maiores números de alelos, exceto para os sistemas TPOX, onde Mocambo apresentou o maior valor (8 alelos), e D7S820, onde tanto Mocambo como Kalunga apresentaram 8 alelos. Em média, Riacho de Sacutiaba apresentou 5,75 alelos, enquanto as outras três populações apresentaram média de alelos similar.

O sistema THO1 foi o que apresentou a menor média de alelos considerando-se todas as populações (5,5 alelos), enquanto o sistema *vWA* foi o que apresentou a maior média (8,25 alelos). Os demais sistemas apresentaram número médio de alelos variando de 6,25 (D16S539) a 7,25 (CSF1PO e D5S818). O *locus vWA* foi o que apresentou o maior número de alelos dentre todos os *loci* considerando todas as populações (10 alelos, em Rio das Rãs).

**Tabela 11.** Número de alelos observados e número médio de alelos por *locus* (Na médio por *locus*) e por população (Na médio).

População	Loci microssatélites								Na médio
	vWA	THO1	TPOX	CSF1PO	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	
Mocambo	7	5	8	8	8	7	8	6	7,125
Rio das Rãs	10	6	7	8	8	7	6	7	7,375
Riacho de Sacutiaba	8	5	6	5	5	6	6	5	5,75
Kalunga	8	6	7	8	8	7	8	7	7,375
Na médio por <i>locus</i>	8,25	5,5	7	7,25	7,25	6,75	7	6,25	-

Na Tabela 12 encontram-se as freqüências alélicas, heterozigose observada e estimada e as estimativas de qui-quadrado para a verificação da aderência das freqüências genotípicas ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg para os oito *loci* microssatélites analisados nos quatro remanescentes de quilombos. Todas as comunidades encontram-se em Equilíbrio de Hardy-Weinberg para a maioria dos *loci* analisados, exceto as comunidades de Riacho de Sacutiaba para o *locus* vWA (qui-quadrado = 48,020; G.L. = 28, P = 0,011) e Kalunga para o *locus* CSF1PO (qui-quadrado = 42,014; G.L. = 28, P = 0,043). Entretanto, utilizando a correção de Bonferroni, o alfa para o total de 32 testes passa a ser de 0,0016, e, portanto, nenhum dos desvios observados foi mantido.

Os valores de heterozigose observados e esperados foram similares para a maioria das populações e marcadores e situaram-se na faixa de 70%. Exceção foi Riacho de Sacutiaba onde foram observadas as maiores distorções. Nessa população, a heterozigose esperada, em geral, é menor que a observada, destacando-se os marcadores TPOX e THO1 com grande diferencial numérico entre as estimativas.

De modo geral, houve compartilhamento quanto aos alelos mais frequentes entre as populações, mas para nenhum *locus* isso ocorreu entre todas elas, isto é, as populações variaram dependendo do *locus* considerado. O sistema CSF1PO

foi o único em que o compartilhamento ocorreu entre pares de populações: o alelo mais freqüente foi o 11 em Rio das Rãs e Kalunga e o 12 em Mocambo e Riacho de Sacutiaba.

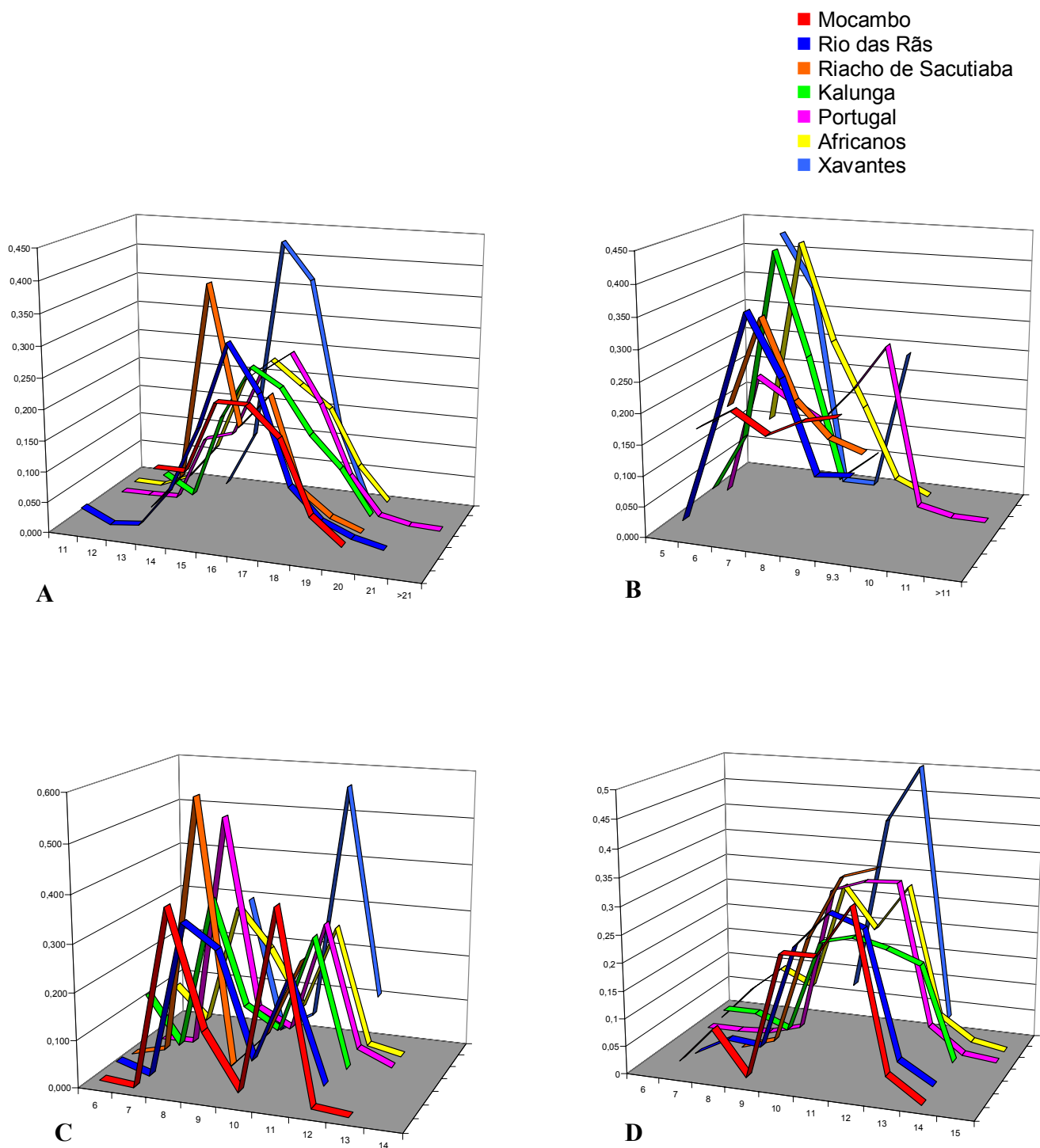
As figuras 3 e 4 apresentam a distribuição das freqüências alélicas nos quatro remanescentes de quilombos e nas populações parentais utilizadas no cálculo das estimativas de mistura genética. Com relação a amostra aqui investigada, o *locus* TPOX apresentou-se bimodal nas populações amostradas enquanto os demais *loci* não apresentaram um alelo modal definido. Em Mocambo, de modo geral, o alelo mais comum é o segundo mais comum em pelo menos duas das outras três populações, exceto no caso do sistema THO1.

**Tabela 12.** Distribuição das freqüências alélicas, heterozigose observada (Ho) e esperada (He) dos *loci* microssatélites para as quatro comunidades remanescentes de quilombos e medida da discrepância entre as proporções genótípicas observadas e esperadas segundo o Equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $\chi^2$  -valores de qui-quadrado, P - probabilidade e G.L. - graus de liberdade).

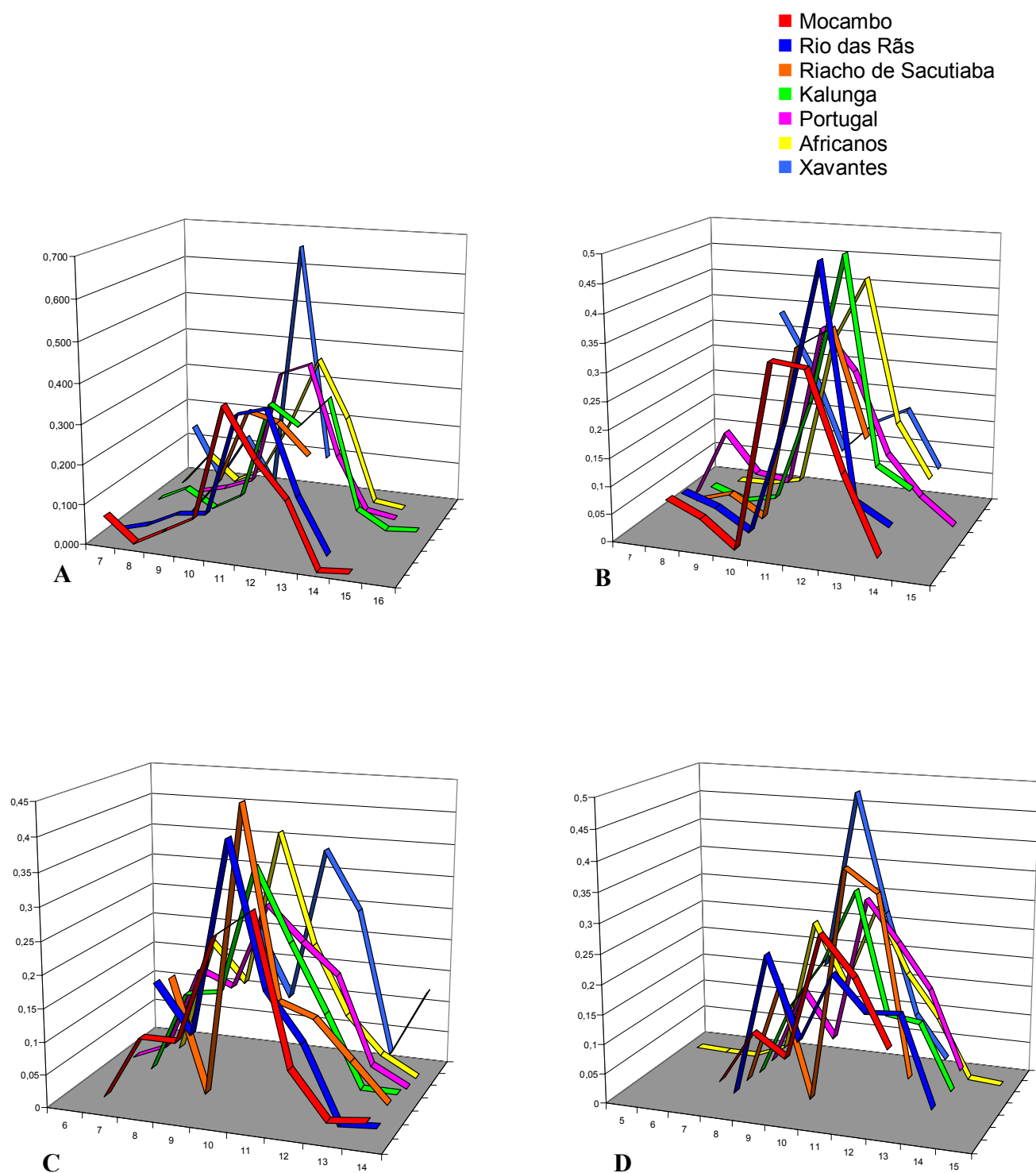
<i>Locus</i>	Alelos	Kalunga	Rio das Rãs	Riacho de Sacutiaba	Mocambo
<b>CSF1PO</b>					
	7	0,062	0,021	-	0,028
	8	0,062	0,053	0,019	0,092
	9	0,038	0,048	0,038	0,014
	10	0,208	0,234	0,231	0,239
	11	0,223	0,298	0,346	0,239
	12	0,208	0,277	0,365	0,331
	13	0,185	0,053	-	0,049
	14	0,015	0,016	-	0,007
<b>N</b>		65	94	26	71
<b>Ho</b>		0,815	0,777	0,615	0,746
<b>He</b>		0,821	0,771	0,692	0,764
<b><math>\chi^2</math></b>		42,014	31,648	5,910	18,358
<b>P</b>		0,043	0,289	0,823	0,917
<b>G.L.</b>		28	28	10	28
<b>TPOX</b>					
	6	0,125	0,027	0,019	0,014
	7	0,022	0,005	0,037	0,007
	8	0,346	0,335	0,574	0,385
	9	0,125	0,286	0,019	0,142
	10	0,081	0,066	0,093	0,027
	11	0,287	0,247	0,259	0,405
	12	0,015	0,033	-	0,014
	13	-	-	-	0,007
<b>N</b>		68	91	27	74
<b>Ho</b>		0,779	0,736	0,704	0,662
<b>He</b>		0,760	0,739	0,593	0,666
<b><math>\chi^2</math></b>		24,047	15,496	4,689	10,573
<b>P</b>		0,291	0,797	0,994	0,999
<b>G.L.</b>		21	21	15	28
<b>D5S818</b>					
	7	0,007	0,005	-	0,068
	8	0,043	0,026	-	0,007
	9	-	0,063	0,037	0,047
	10	0,043	0,073	0,130	0,088
	11	0,293	0,328	0,315	0,372

<i>Locus</i>	<i>Alelos</i>	<i>Kalunga</i>	<i>Rio das Rãs</i>	<i>Riacho de Sacutiaba</i>	<i>Mocambo</i>
	<b>12</b>	0,243	0,349	0,296	0,250
	<b>13</b>	0,321	0,146	0,222	0,162
	<b>14</b>	0,043	0,010	-	-
	<b>15</b>	-	-	-	0,007
	<b>16</b>	0,007	-	-	-
<b>N</b>		70	96	27	74
<b>Ho</b>		0,757	0,698	0,852	0,824
<b>He</b>		0,746	0,738	0,746	0,758
<b><math>\chi^2</math></b>		12,975	33,341	9,535	40,062
<b>P</b>		0,993	0,223	0,482	0,065
<b>G.L.</b>		28	28	10	28
<b>D13S317</b>					
	<b>8</b>	0,043	0,072	0,037	0,081
	<b>9</b>	0,022	0,052	0,056	0,054
	<b>10</b>	0,036	0,015	0,019	0,007
	<b>11</b>	0,217	0,216	0,333	0,338
	<b>12</b>	0,486	0,495	0,370	0,331
	<b>13</b>	0,116	0,093	0,185	0,162
	<b>14</b>	0,080	0,057	-	0,027
<b>N</b>		69	97	27	74
<b>Ho</b>		0,681	0,711	0,778	0,730
<b>He</b>		0,694	0,688	0,713	0,740
<b><math>\chi^2</math></b>		27,646	13,085	13,063	18,182
<b>P</b>		0,150	0,906	0,597	0,637
<b>G.L.</b>		21	21	15	21
<b>D7S820</b>					
	<b>7/7.2</b>	0,007	-	-	0,021
	<b>8/8.1</b>	0,132	0,182	0,173	0,116
	<b>9/9.1</b>	0,140	0,109	-	0,116
	<b>10/10.3</b>	0,338	0,401	0,442	0,274
	<b>11</b>	0,228	0,188	0,154	0,315
	<b>12</b>	0,125	0,115	0,135	0,096
	<b>13</b>	0,015	-	0,077	0,027
	<b>14</b>	0,015	0,005	0,019	0,034
<b>N</b>		68	96	26	73
<b>Ho</b>		0,794	0,813	0,731	0,767
<b>He</b>		0,780	0,746	0,726	0,787
<b><math>\chi^2</math></b>		29,457	9,565	13,219	35,029
<b>P</b>		0,390	0,846	0,585	0,169
<b>G.L.</b>		28	15	15	28
<b>D16S539</b>					
	<b>8</b>	0,014	0,016	0,019	0,056

<b>Locus</b>	<b>Alelos</b>	<b>Kalunga</b>	<b>Rio das Rãs</b>	<b>Riacho de Sacutiaba</b>	<b>Mocambo</b>
	<b>9</b>	0,138	0,253	0,185	0,141
	<b>10</b>	0,217	0,116	-	0,106
	<b>11</b>	0,341	0,232	0,389	0,310
	<b>12</b>	0,138	0,174	0,352	0,246
	<b>13</b>	0,130	0,179	0,056	0,141
	<b>14</b>	0,022	0,032	-	-
<b>N</b>		69	95	27	71
<b>Ho</b>		0,797	0,716	0,778	0,732
<b>He</b>		0,781	0,806	0,687	0,789
$\chi^2$		13,231	14,984	10,097	24,911
<b>P</b>		0,900	0,824	0,432	0,051
<b>G.L.</b>		21	21	10	15
<b>vWA</b>					
	<b>11</b>	-	0,022	-	-
	<b>13</b>	0,057	0,005	0,019	-
	<b>14</b>	0,029	0,065	0,074	0,120
	<b>15</b>	0,164	0,172	0,389	0,120
	<b>16</b>	0,250	0,312	0,167	0,233
	<b>17</b>	0,221	0,237	0,222	0,233
	<b>18</b>	0,150	0,097	0,074	0,187
	<b>19</b>	0,100	0,048	0,037	0,073
	<b>20</b>	0,029	0,027	0,019	0,033
	<b>21</b>	-	0,016	-	-
<b>N</b>		70	93	27	75
<b>Ho</b>		0,771	0,806	0,741	0,867
<b>He</b>		0,824	0,800	0,759	0,821
$\chi^2$		41,054	42,879	48,020	19,861
<b>P</b>		0,053	0,562	0,011	0,530
<b>G.L.</b>		28	45	28	21
<b>THO1</b>					
	<b>5</b>	0,022	0,005	-	-
	<b>6</b>	0,116	0,174	0,185	0,180
	<b>7</b>	0,428	0,353	0,333	0,213
	<b>8</b>	0,261	0,253	0,204	0,180
	<b>9</b>	0,065	0,105	0,148	0,207
	<b>9.3</b>	0,109	0,111	0,130	0,220
<b>N</b>		69	95	27	75
<b>Ho</b>		0,652	0,758	0,926	0,733
<b>He</b>		0,719	0,758	0,774	0,799
$\chi^2$		17,184	13,242	7,075	18,117
<b>P</b>		0,308	0,584	0,718	0,053
<b>G.L.</b>		15	15	10	10



**Figura 3.** Distribuição das frequências alélicas dos *loci* microssatélites nas quatro comunidades remanescentes de quilombos e nos três grupos parentais. A - *locus* vWA; B - *locus* THO1; C - *locus* TPOX; D - *locus* CSF1PO.



**Figura 4.** Distribuição das freqüências alélicas dos *loci* microsatélites nas quatro comunidades remanescentes de quilombos e nos três grupos parentais. A - *locus* D5S818; B - *locus* D13S317; C - *locus* D7S820; D - *locus* D16S539.



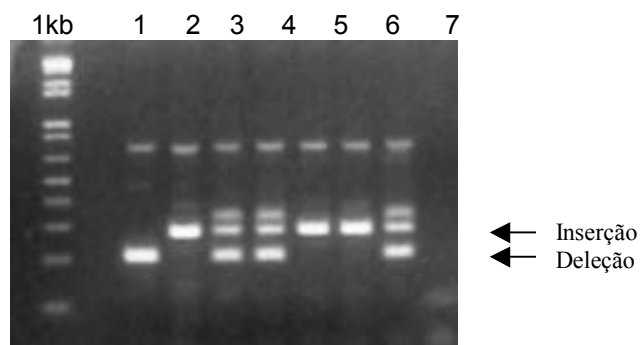
### 5.1.2. AIMS

Neste trabalho o marcador do tipo indel (AT3) foi genotipado em gel de agarose 2% e os outros oito, do tipo SNPs, foram analisados pela técnica de miniseqüenciamento.

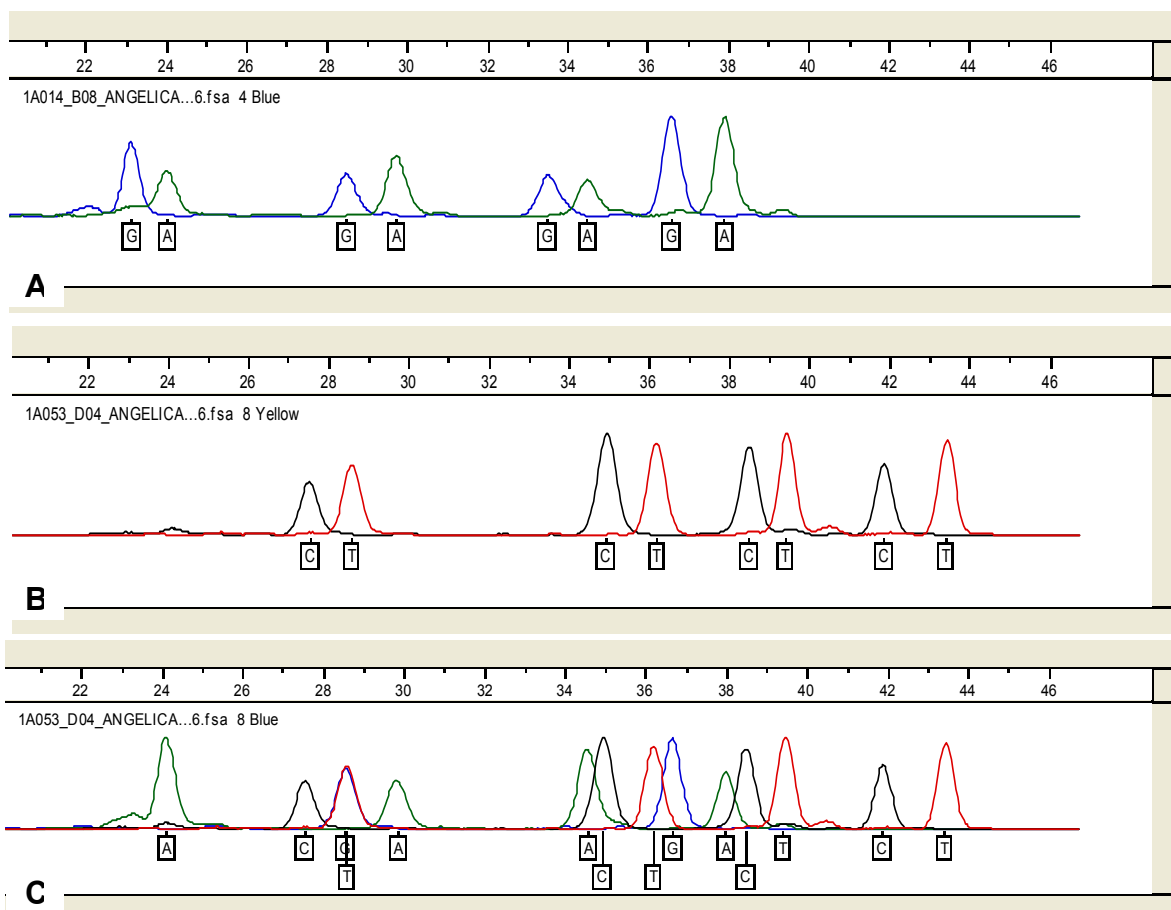
A figura 5 é uma fotografia de um gel de agarose 2%, corado com brometo de etídeo, onde foram observados os produtos de PCR obtidos para o sistema AT3. Os três fenótipos esperados foram observados. O tamanho esperado do fragmento correspondente a ausência de inserção, de acordo com o desenho dos iniciadores, é de 177 pb, enquanto o esperado para o fragmento contendo a inserção de 68 pb é de 245 pb.

As figuras 6a, 6b e 6c mostram eletroferogramas obtidos a partir do miniseqüenciamento dos SNPs. Cada base é representada por uma cor, permitindo assim a sobreposição de picos de cores distintas, pertencentes a marcadores diferentes. Na figura 6a observam-se os picos relativos às bases G (em azul) e A (em verde), representando os alelos G e A, dos sistemas CYP3A4, OCA2, CRH e LPL, nessa ordem. Na figura 6b são mostrados os picos relativos às bases C (em preto) e T (em vermelho), representando os alelos C e T, dos sistemas rs1426654, Fynull, rs1480642 e rs1129048, respectivamente.

A figura 6c é o eletroferograma completo de uma amostra, onde é possível observar o padrão de sobreposição dos oito marcadores do tipo SNPs estudados. Há sobreposição de tamanho entre os sistemas OCA2 e rs1426654, CRH e Fynull, Fynull e LPL, e LPL e rs1480642. A amostra utilizada como exemplo é homocigota para os sistemas CYP3A4 e CRH, em ambos os casos para o alelo A, sendo heterocigota para todos os demais *loci*.



**Figura 5.** Fotografia de gel de agarose 2% corado com brometo de etídeo para o sistema AT3. Os indivíduos 2, 5 e 6 são homocigotos para a inserção; o indivíduo 1 é homocigoto para a deleção; os indivíduos 3, 4 e 7 são heterocigotos. O marcador de pares de base (DNA ladder 1kb plus – Invitrogen) encontra-se na primeira coluna.



**Figura 6.** Eletroferograma obtido com o minisequenciamento dos marcadores SNPs. Cada pico representa um alelo, e cada cor representa uma base, onde a cor azul corresponde ao G, verde ao A, preto ao C e vermelho ao T. A figura (a) mostra, nessa ordem, os alelos G e A dos sistemas CYP3A4, OCA2, CRH e LPL. A figura (b) mostra os alelos C e T dos sistemas rs1426654, Fynull, rs1480642 e rs1129048, nessa ordem. A figura (c) é um eletroferograma completo com os oito marcadores.

Na tabela 13 encontram-se as freqüências alélicas observadas heterozigose observada e esperada para os *loci* AIMs para as quatro comunidades remanescentes de quilombos além da medida da discrepância entre as proporções genotípicas observadas e esperadas segundo o Equilíbrio de Hardy-Weinberg. De maneira geral houve compartilhamento quanto aos alelos mais freqüentes entre as populações. No caso dos *loci* LPL, OCA2 e rs1129048 todas as populações apresentaram os mesmos alelos como mais freqüentes. Para o *locus* CYP3A4, o alelo mais freqüente em Rio das Rãs e Kalunga (alelo G) foi diferente do mais comum em Mocambo e Riacho de Sacutiaba (alelo A). O alelo C do *locus* rs1129048 apresentou as maiores freqüências alélicas dentre os AIMs, com valores variando de 0,739 em Riacho de Sacutiaba a 0,906 em Kalunga e com freqüência alélica média de 0,833.

Riacho de Sacutiaba encontra-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg para todos os *loci* AIMs estudados. As demais comunidades apresentam valores significativos de P ( $P < 0,05$ ) para: *locus* rs1426654, em Mocambo (qui-quadrado = 4,003; G.L. = 1;  $P = 0,045$ ); CRH, em Rio das Rãs (qui-quadrado = 4,333; G.L. = 1;  $P = 0,037$ ); e rs1129048, em Kalunga (qui-quadrado = 11,348; G.L.= 1;  $P = 0,001$ ). Entretanto, utilizando a correção de Bonferroni, o alfa para o total de 36 testes passa a ser de 0,0014, e, portanto, apenas um dos desvios observados foi mantido.

**Tabela 13.** Distribuição das freqüências alélicas, heterozigose observada (Ho) e esperada (He) dos *loci* AIMS para as quatro comunidades remanescentes de quilombos e medida da discrepância entre as proporções genóticas observadas e esperadas segundo o Equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $\chi^2$  - valores de qui-quadrado, P - probabilidade e G.L. - graus de liberdade).

<b>Locus</b>	<b>Alelos</b>	<b>Kalunga</b>	<b>Rio das Rãs</b>	<b>Riacho de Sacutiaba</b>	<b>Mocambo</b>
<b>CYP3A4</b>	<b>G</b>	0,641	0,571	0,440	0,342
	<b>A</b>	0,359	0,429	0,560	0,658
<b>N</b>		71	99	25	73
<b>Ho</b>		0,549	0,515	0,640	0,466
<b>He</b>		0,460	0,490	0,493	0,450
<b>X<sup>2</sup></b>		2,652	0,261	2,231	0,085
<b>P</b>		0,103	0,610	0,135	0,770
<b>G.L.</b>		1	1	1	1
<b>CRH</b>	<b>G</b>	0,641	0,470	0,227	0,363
	<b>A</b>	0,359	0,530	0,773	0,637
<b>N</b>		71	99	22	73
<b>Ho</b>		0,408	0,394	0,455	0,507
<b>He</b>		0,460	0,498	0,351	0,462
<b>X<sup>2</sup></b>		0,902	4,333	1,903	0,672
<b>P</b>		0,342	0,037	0,168	0,412
<b>G.L.</b>		1	1	1	1
<b>LPL</b>	<b>G</b>	0,232	0,283	0,229	0,363
	<b>A</b>	0,768	0,717	0,771	0,637
<b>N</b>		71	99	24	73
<b>Ho</b>		0,296	0,424	0,375	0,452
<b>He</b>		0,357	0,406	0,353	0,462
<b>X<sup>2</sup></b>		2,076	0,207	0,091	0,037
<b>P</b>		0,150	0,649	0,763	0,847
<b>G.L.</b>		1	1	1	1
<b>OCA2</b>	<b>G</b>	0,725	0,737	0,652	0,662
	<b>A</b>	0,275	0,263	0,348	0,338
<b>N</b>		71	99	23	74
<b>Ho</b>		0,352	0,384	0,348	0,459
<b>He</b>		0,398	0,387	0,454	0,447
<b>X<sup>2</sup></b>		0,960	0,008	1,252	0,054
<b>P</b>		0,327	0,929	0,263	0,817
<b>G.L.</b>		1	1	1	1

<b>Locus</b>	<b>Alelos</b>	<b>Kalunga</b>	<b>Rio das Rãs</b>	<b>Riacho de Sacutiaba</b>	<b>Mocambo</b>
<b>rs1129048</b>	<b>C</b>	0,906	0,879	0,739	0,807
	<b>T</b>	0,094	0,121	0,261	0,193
	<b>N</b>	69	99	23	70
	<b>Ho</b>	0,101	0,202	0,261	0,329
	<b>He</b>	0,171	0,213	0,386	0,311
	<b>X<sup>2</sup></b>	11,348	0,265	2,407	0,215
	<b>P</b>	0,001	0,607	0,121	0,643
	<b>G.L.</b>	1	1	1	1
	<b>rs1426654</b>	<b>C</b>	0,757	0,714	0,500
<b>T</b>		0,243	0,286	0,500	0,343
<b>N</b>		68	98	23	70
<b>Ho</b>		0,397	0,429	0,565	0,343
<b>He</b>		0,368	0,408	0,500	0,451
<b>X<sup>2</sup></b>		0,439	0,245	0,391	4,003
<b>P</b>		0,508	0,621	0,532	0,045
<b>G.L.</b>		1	1	1	1
<b>rs1480642</b>		<b>C</b>	0,500	0,389	0,457
	<b>T</b>	0,500	0,611	0,543	0,418
	<b>N</b>	71	99	23	73
	<b>Ho</b>	0,606	0,455	0,565	0,479
	<b>He</b>	0,500	0,475	0,496	0,486
	<b>X<sup>2</sup></b>	3,169	0,189	0,445	0,015
	<b>P</b>	0,075	0,664	0,505	0,902
	<b>G.L.</b>	1	1	1	1
	<b>Fynull</b>	<b>C</b>	0,725	0,742	0,720
<b>T</b>		0,275	0,258	0,280	0,682
<b>N</b>		71	99	25	74
<b>Ho</b>		0,408	0,414	0,400	0,338
<b>He</b>		0,398	0,382	0,403	0,433
<b>X<sup>2</sup></b>		0,045	0,679	0,002	3,600
<b>P</b>		0,832	0,410	0,968	0,058
<b>G.L.</b>		1	1	1	1
<b>AT3</b>		<b>In</b>	0,671	0,658	0,438
	<b>Del</b>	0,329	0,342	0,563	0,441
	<b>N</b>	70	98	24	68
	<b>Ho</b>	0,457	0,398	0,542	0,500
	<b>He</b>	0,441	0,450	0,492	0,493
	<b>X<sup>2</sup></b>	0,091	1,309	0,243	0,013
	<b>P</b>	0,763	0,253	0,622	0,908
	<b>G.L.</b>	1	1	1	1

## 5.2. ANÁLISE DE DIFERENCIAÇÃO GENÉTICA MOLECULAR

### 5.2.1. Microssatélites

A tabela 14 mostra os valores de  $F_{st}$  relativos à análise de variância molecular (AMOVA) *locus a locus* para todos os *loci* analisados. O resultado dessa análise mostrou diferença estatisticamente significativa entre as populações estudadas, exceto para o *locus* CSF1PO ( $F_{st} = 0,009$ ;  $P = 0,09$ ). O resultado da AMOVA considerando o conjunto de dados para as quatro populações indicou diferenciação genética entre elas ( $F_{st} = 0,016$ ;  $P < 0,05$ ). A maior parte da diferenciação genética observada ocorreu ao nível intrapopulacional (98,44%). A análise utilizando o  $R_{st}$  também indicou a presença de diferenciação entre as quatro comunidades ( $R_{st} = 0,014$ ;  $P < 0,05$ ), sendo que a maior parte dessa diferenciação também se deu ao nível intrapopulacional (98,61%).

**Tabela 14.** Resultado da análise de AMOVA *locus a locus* para os quatro remanescentes de quilombos.

<i>Locus</i>	$F_{st}$	P
vWA	0,012	0,013
THO1	0,017	0,006
TPOX	0,030	0,000
CSF1PO	0,009	0,095
D5S818	0,013	0,018
D13S317	0,014	0,016
D7S820	0,010	0,042
D16S539	0,019	0,001

Os resultados da análise de diferenciação par a par encontram-se na figura 7. Essa análise indicou diferenças entre todos os pares de populações, com valores de P menores do que 5% entre todos os pares. O maior valor de  $F_{st}$  foi observado para o par Riacho de Sacutiaba / Kalunga (0,025;  $P < 0,05$ ).

	Mocambo	Rio das Rãs	Sacutiaba	Kalunga
Mocambo	*	0,00000	0,00000	0,00000
Rio das Rãs	0,01495	*	0,00000	0,00000
Sacutiaba	0,01699	0,02074	*	0,00000
Kalunga	0,01765	0,00938	0,02532	*

**Figura 7.** Estimativas de  $F_{st}$  para os pares de populações de remanescentes de quilombos. A diagonal inferior apresenta as estimativas de  $F_{st}$  e a diagonal superior os valores de P correspondentes.

Os dados obtidos para os quatro remanescentes de quilombos foram comparados, utilizando uma análise de variância molecular *locus a locus*, com os dados de frequências alélicas existentes na literatura para populações urbanas do Brasil (Anexo 1). O objetivo dessa análise foi avaliar se havia diferenças entre as populações brasileiras, sejam urbanas ou rurais, considerando os *loci* microsatélites. Os resultados, que se encontram na Tabela 15, indicaram diferença estatisticamente significativa entre as populações, com valores de  $F_{st}$  variando de 0,002 ( $P < 0,05$ ) para o *locus* vWA a 0,005 ( $P < 0,05$ ) para o *locus* D13S317, exceto para o *locus* D5S818.

**Tabela 15.** Resultado da AMOVA *locus a locus* para o conjunto de populações urbanas e os quatro remanescentes de quilombos.

<i>Locus</i>	$F_{st}$	P
vWA	0,002	0,000
THO1	0,003	0,000
TPOX	0,005	0,000
CSF1PO	0,002	0,000
D5S818	0,007	0,060
D13S317	0,005	0,000
D7S820	0,004	0,000
D16S539	0,003	0,000

Também foram realizadas análises de variância molecular utilizando os dados genotípicos observados para os remanescentes de quilombos e aqueles observados por Grattapaglia *et al.* (2001). Quatro análises envolvendo esses dados foram realizadas: duas considerando o  $F_{st}$ , sendo que uma foi feita considerando os quatro remanescentes de quilombos separadamente e outra considerando o conjunto das quatro populações; e duas considerando o  $R_{st}$ , da mesma forma como foi feito para o  $F_{st}$ . Todas as análises indicaram a presença de diferença estatisticamente significativa entre as populações, sendo que os valores de  $R_{st}$  obtidos foram maiores do que os de  $F_{st}$ . Considerando cada quilombo separadamente, foi estimado um valor de  $F_{st}$  de 0,0124 e de  $R_{st}$  de 0,0161. As análises considerando o conjunto de quilombos indicaram uma menor diferenciação em relação a outra análise, com valor estimado de  $F_{st}$  de 0,0069 e de  $R_{st}$  de 0,0121.

### 5.2.2. AIMS

Os valores de  $F_{st}$  relativos à AMOVA *locus a locus* encontram-se na tabela 16. O resultado dessa análise mostrou que os *loci* LPL e OCA2 não indicam a existência de diferença significativa entre as populações estudadas ( $F_{st} = 0,010$ ;  $P = 0,139$ , para o *locus* LPL, e  $F_{st} = 0,0001$ ;  $P = 0,6373$ , para o *locus* OCA2). O resultado da AMOVA para as quatro populações indicou uma diferenciação genética entre elas ( $F_{st} = 0,055$ ;  $P < 0,05$ ), sendo que a maior parte da diferenciação genética observada ocorreu ao nível intrapopulacional (94,55%).

A figura 8 mostra os resultados das comparações entre os pares de populações. Essa análise indicou que há diferenças significativas entre as populações, com valores de  $P$  menores do que 5% para todos os pares. O maior valor de  $F_{st}$  foi para o par Mocambo / Kalunga ( $F_{st} = 0,0904$ ;  $P < 0,05$ ).



**Tabela 16.** AMOVA *locus a locus*, utilizando *loci* AIMs, entre os remanescentes de quilombos.

<i>Locus</i>	$F_{st}$	P
CYP3A4	0,070	0,000
CRH	0,080	0,000
LPL	0,010	0,139
OCA2	0,000	0,637
rs1129048	0,021	0,028
rs1426654	0,024	0,022
rs1480642	0,027	0,006
Fynull	0,188	0,000
AT3	0,023	0,022

	Mocambo	Rio das Rãs	Sacutiaba	Kalunga
Mocambo	*	0,00000	0,00000	0,00000
Rio das Rãs	0,07151	*	0,00000	0.03604
Sacutiaba	0,04963	0,03678	*	0,00000
Kalunga	0,09037	0,00809	0,07375	*

**Figura 8.** Estimativas de  $F_{st}$  para os pares de populações de remanescentes de quilombos para os AIMs. A diagonal inferior apresenta as estimativas de  $F_{st}$  e a diagonal superior os valores de P correspondentes.

### 5.2.3. Microssatélites e AIMs

O resultado da AMOVA considerando-se o conjunto de marcadores microssatélites e AIMs indicou a ocorrência de diferenciação genética entre as populações ( $F_{st} = 0,03565$ ;  $P < 0,05$ ), e a maior parte da diferença genética observada ocorreu ao nível intrapopulacional (96,46%). Na figura 9 se encontram os resultados da análise de diferenciação par a par. Os resultados mostraram que

há diferenças significativas entre as comunidades, exceto para o par Rio das Rãs / Riacho de Sacutiaba ( $F_{st} = 0,00025$ ;  $P = 0,45045$ ). O maior valor de  $F_{st}$  foi para o par Mocambo / Kalunga ( $F_{st} = 0,06809$ ;  $P < 0,05$ ).

	Mocambo	Rio das Rãs	Sacutiaba	Kalunga
Mocambo	*	0,00000	0,00000	0,00000
Rio das Rãs	0,05373	*	0,45045	0,03604
Sacutiaba	0,02006	0,00025	*	0,00000
Kalunga	0,06809	0,00945	0,01979	*

**Figura 9.** Valores de  $F_{st}$  para os pares de populações, obtidos com o conjunto de marcadores microssatélites e AIMs. A diagonal inferior apresenta os valores de  $F_{st}$ , e a diagonal superior os valores de P correspondentes.

### 5.3. MISTURA GENÉTICA

A análise de mistura genética foi realizada para cada comunidade utilizando os dados dos marcadores microssatélites e dos AIMs separadamente e em conjunto. Os resultados encontram-se na Tabela 17. Em todas as estimativas, as quatro comunidades apresentaram contribuição dos três grupos étnicos principais.

As estimativas obtidas com os dados de marcadores microssatélites indicaram que as comunidades que apresentaram maior contribuição africana foram Rio das Rãs e Kalunga ( $78,47 \pm 0,64$  e  $88,73 \pm 3,68$ , respectivamente), enquanto que em Riacho de Sacutiaba e Mocambo as contribuições desse mesmo grupo étnico foram abaixo de 50% ( $26,06 \pm 1,24$  e  $34,19 \pm 1,68$ , respectivamente). Riacho de Sacutiaba e Mocambo apresentaram altas estimativas de contribuição europeia, as quais foram maiores do que a contribuição africana ( $73,94 \pm 1,24$  e  $54,83 \pm 2,08$ ). Não foi observada a presença ameríndia em Riacho de Sacutiaba, enquanto Mocambo foi a população com a maior contribuição desse grupo parental ( $10,98 \pm 0,80$ ).

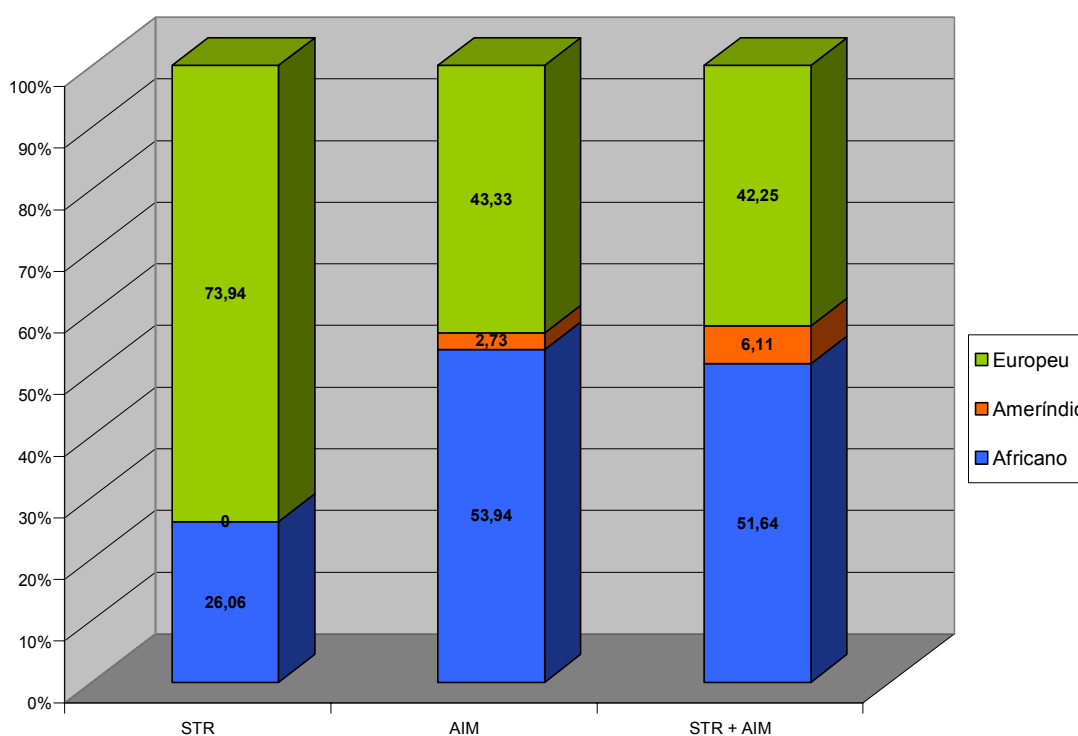
Quanto aos marcadores AIMs, todas as populações apresentaram uma contribuição africana maior do que as contribuições das outras duas parentais, variando de 43,42% em Mocambo a 61,05% em Kalunga. A contribuição da parental europeia variou de 29,76% em Kalunga a 43,33% em Riacho de Sacutiaba, e a da ameríndia variou de 2,73% em Riacho de Sacutiaba a 18,81% em Mocambo. Rio das Rãs e Kalunga apresentaram contribuições genéticas similares.

A análise de mistura utilizando o conjunto de marcadores microssatélites e AIMs mostrou, assim como foi observado na análise usando apenas os marcadores AIMs, que todas as populações apresentaram uma contribuição africana maior do que as contribuições das outras duas parentais. Rio das Rãs e Kalunga foram as populações com maiores estimativas de contribuição africana ( $61,54 \pm 1,17$  e  $61,41 \pm 1,84$ , respectivamente). Riacho de Sacutiaba e Mocambo, por sua vez, apresentaram os maiores valores de contribuição europeia ( $39,32 \pm 1,17$  e  $42,25 \pm 1,62$ , respectivamente). Mocambo novamente foi a comunidade que apresentou a maior estimativa de contribuição ameríndia ( $16,87 \pm 1,23$ ); essa estimativa, no entanto, foi inferior à obtida utilizando-se apenas os marcadores AIMs.

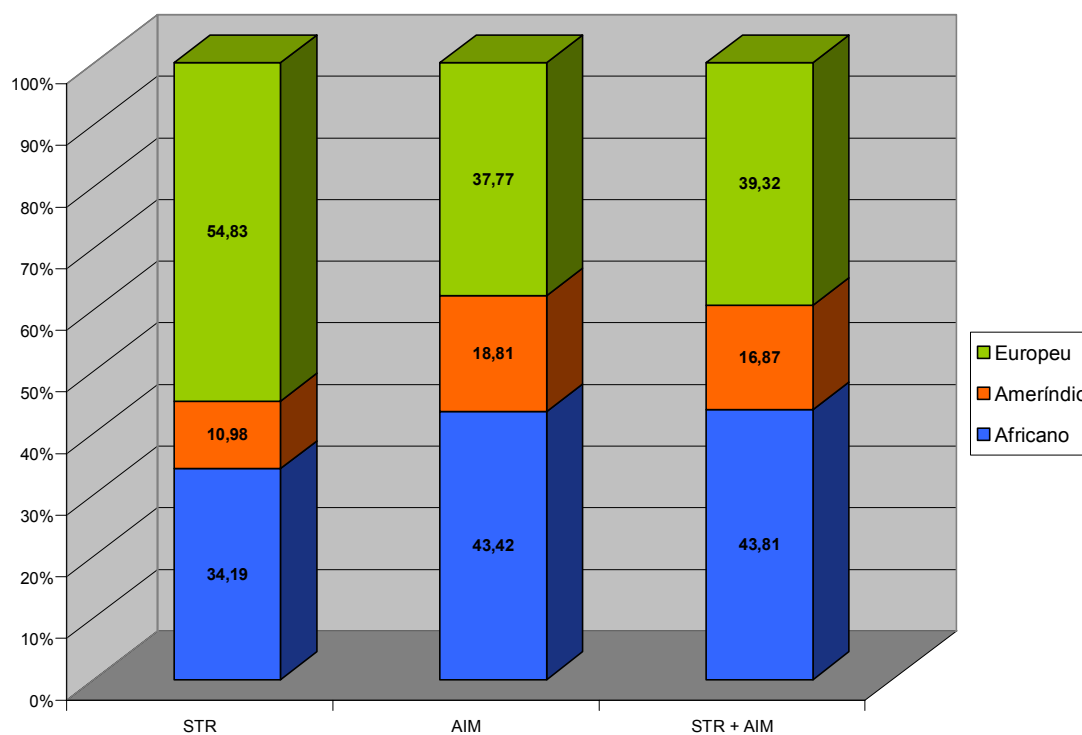
**Tabela 17.** Estimativa de mistura étnica geradas pelo programa Admix (Chakraborty, 1985), utilizando dados dos marcadores microssatélites e AIMS, separadamente e em conjunto, nos quatro remanescentes de quilombos.

População	% de contribuição (erros-padrão em parênteses)										
	STRs			AIMs			Análise conjunta				
	Europeus	Africanos	Ameríndios	Europeus	Africanos	Ameríndios	Europeus	Africanos	Ameríndios	Africanos	Ameríndios
<i>Riacho de Sacutiaba</i>	73,94 (1,24)	26,06 (1,24)	0	43,33 (0,76)	53,94 (0,70)	02,73 (0,85)	39,32 (1,17)	43,81 (1,42)	16,87 (1,23)		
<i>Mocambo</i>	54,83 (2,08)	34,19 (1,68)	10,98 (0,80)	37,77 (2,28)	43,42 (2,73)	18,81 (3,08)	42,25 (1,62)	51,64 (1,71)	06,11 (1,40)		
<i>Rio das Rãs</i>	19,00 (0,75)	78,47 (0,64)	2,52 (0,25)	30,78 (1,25)	60,56 (2,16)	08,66 (2,31)	31,96 (0,71)	61,54 (1,17)	06,50 (0,92)		
<i>Kalunga</i>	3,76 (3,62)	88,73 (3,68)	7,51 (1,33)	29,76 (0,68)	61,05 (1,47)	09,18 (1,60)	29,93 (0,92)	61,41 (1,84)	08,66 (1,49)		

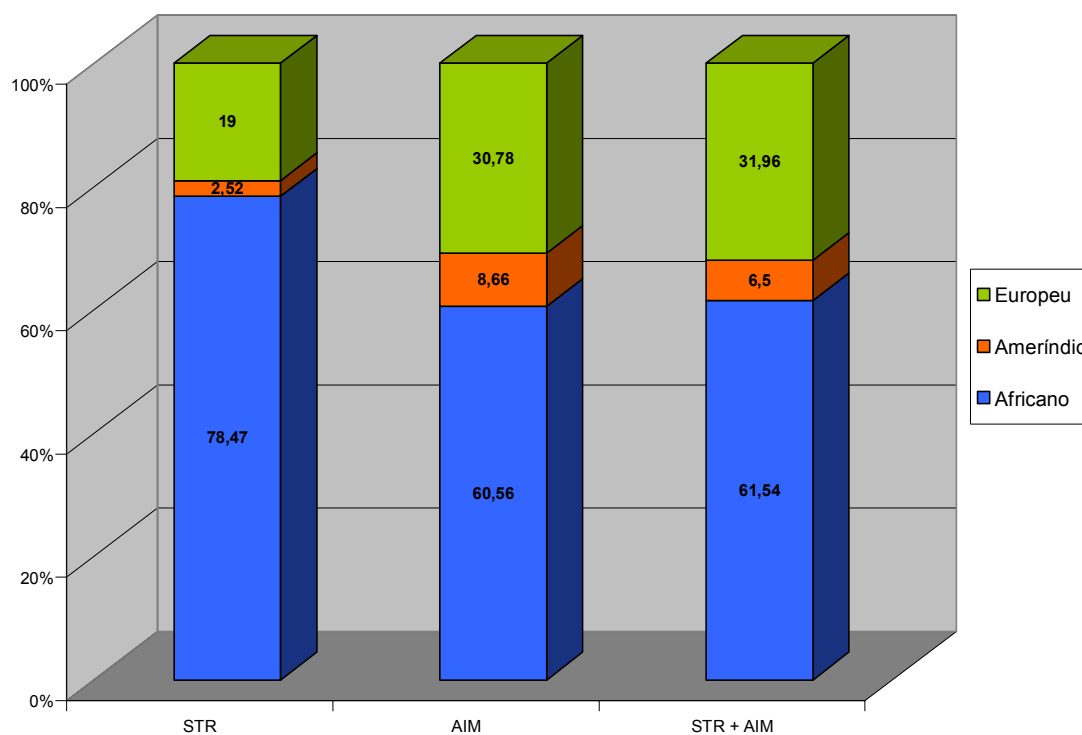
As figuras 10, 11, 12 e 13 são gráficos comparando as estimativas de contribuições africana, europeia e ameríndia obtidas com os três conjuntos de dados (microsatélites, AIMS e o conjunto total) nas quatro comunidades remanescentes de quilombos. É possível observar que em alguns casos as estimativas realizadas com os microsatélites e os AIMS apresentaram valores aparentemente bastante distintos. O teste de comparação de proporções (teste z; Tabela 18) confirmou essa observação, com alguns resultados indicando a existência de diferenças estatisticamente significativas entre as estimativas ( $P < 0,05$ ). É importante ressaltar que não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as estimativas de contribuição ameríndia realizadas com os diferentes tipos de marcadores.



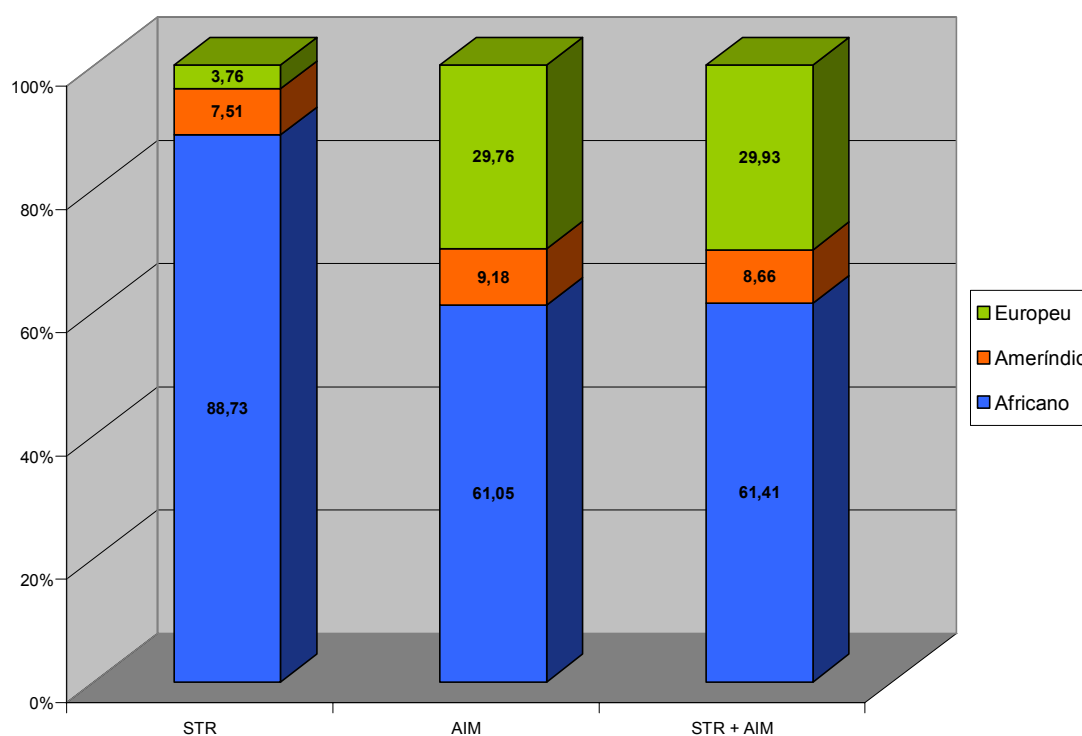
**Figura 10.** Estimativas de mistura genética no remanescente de quilombo Riacho de Sacutiaba, obtidas utilizando microsatélites e AIMS em conjunto e separadamente.



**Figura 11.** Estimativas de mistura genética no remanescente de quilombo Mocambo, obtidas utilizando microssatélites e AIMS em conjunto e separadamente.



**Figura 12.** Estimativas de mistura genética no remanescente de quilombo Rio das Rãs, obtidas utilizando microssatélites e AIMS em conjunto e separadamente.



**Figura 13.** Estimativas de mistura genética no remanescente de quilombo Kalunga, obtidas utilizando microssatélites e AIMS em conjunto e separadamente.

**Tabela 18.** Comparações das estimativas de contribuição dos grupos parentais realizadas com os marcadores microssatélites e AIMS, para cada comunidade remanescente de quilombo.

População	Contribuição Africana		Contribuição Européia		Contribuição Ameríndia	
	z	P	z	P	Z	P
Mocambo	1,156	0,250	2,088	0,036	1,343	0,180
Sacutiaba	2,055	0,040	2,244	0,026	0,864	0,390
Rio das Rãs	2,721	0,006	1,906	0,058	1,866	0,062
Kalunga	3,785	<0,001	4,124	<0,001	0,358	0,718

As Figuras 14, 15 e 16 correspondem a matrizes onde são apresentadas as comparações das estimativas de contribuição ameríndia, africana e européia, respectivamente, obtidas utilizando dados de marcadores microssatélites para os quatro remanescentes de quilombo investigados e para as cinco regiões

brasileiras, estudadas por Callegari-Jacques *et al.* (2003). Essas comparações foram realizadas utilizando-se um teste z. De forma geral, as estimativas de contribuição ameríndia foram as que apresentaram maior similaridade entre si (13 testes significativos), enquanto as estimativas de contribuição européia foram as que apresentaram o maior número de diferenças estatisticamente significativas - 23 testes de um total de 36 realizados. Entretanto, aplicando-se a correção de Bonferroni, o valor de alfa para 36 testes foi reduzido de 0,05 para 0,0014. Dessa forma, o número de testes significativos passou a ser de: seis, para a contribuição ameríndia; quinze, para a contribuição africana; e dezessete, para a contribuição européia.

É possível observar entre os remanescentes estudados que, quanto à contribuição ameríndia, são observadas diferenças apenas entre as estimativas de Mocambo/Rio das Rãs ( $z = 2,280$ ;  $P = 0,022$ ). Em relação à contribuição africana foram observadas diferenças significativas entre os pares Mocambo/Rio das Rãs ( $z = 5,859$ ;  $P < 0,001$ ), Riacho de Sacutiaba/Rio das Rãs ( $z = 5,125$ ;  $P < 0,001$ ), Mocambo/Kalunga ( $z = 6,714$ ;  $P < 0,001$ ) e Riacho de Sacutiaba/Kalunga ( $z = 6,114$ ;  $P < 0,001$ ). A estimativa de contribuição européia em Kalunga foi diferente das estimativas realizadas para os outros três remanescentes de quilombos (Mocambo/Kalunga:  $z = 6,695$ ;  $P < 0,001$ ; Riacho de Sacutiaba/Kalunga:  $z = 7,329$ ;  $P < 0,001$ ; Rio das Rãs/Kalunga:  $z = 2,927$ ;  $P = 0,004$ ), enquanto a de Rio das Rãs foi diferente das de Mocambo ( $z = 4,898$ ;  $P < 0,001$ ) e de Riacho de Sacutiaba ( $z = 5,461$ ;  $P < 0,001$ ).

Comparando as estimativas de contribuições dos remanescentes de quilombos com as calculadas para as cinco regiões brasileiras, foi observado que Kalunga apresentou diferenças estatisticamente significativas em relação a todas as regiões, para todas as três contribuições genéticas. Rio das Rãs não apresentou diferenças apenas para a contribuição ameríndia em relação às regiões Nordeste e Sudeste. Riacho de Sacutiaba, ao contrário, não apresentou diferenças estatisticamente significativas em relação a nenhuma região brasileira para nenhuma das três contribuições genéticas, exceto quando comparada à região Norte no caso da contribuição ameríndia. Mocambo não apresentou diferenças estatisticamente significativas relativamente a nenhuma região



brasileira quanto à contribuição ameríndia. Quanto à contribuição africana, não foi observada diferença significativa apenas em relação à região Sudeste, e quanto à contribuição européia, apenas em relação às regiões Norte e Sudeste.

Comparando os remanescentes apenas com a região brasileira onde eles estão incluídos, foi possível observar que as contribuições africana, européia e ameríndia obtidas para Kalunga diferiram significativamente das obtidas para a região Centro-Oeste. Em relação às comunidades localizadas na região Nordeste, Rio das Rãs e Mocambo diferiram significativamente dessa região quanto às contribuições africana e européia, e Riacho de Sacutiaba não diferiu quanto a nenhuma das três contribuições estimadas.

	Mocambo	Sacutiaba	Rio das Rãs	Kalunga	Norte	Nordeste	Centro-Oeste	Sudeste	Sul
<b>Mocambo</b>	****	0,072	<b>0,022</b>	0,472	0,342	0,510	0,810	0,400	0,632
<b>Sacutiaba</b>	1,796	****	0,406	0,144	<b>0,028</b>	0,122	0,084	0,148	0,104
<b>Rio das Rãs</b>	2,280	0,833	****	0,132	<b>&lt;0,001</b>	0,062	<b>0,020</b>	0,116	<b>0,036</b>
<b>Kalunga</b>	0,719	1,464	1,517	****	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Norte</b>	0,950	2,194	3,333	10,097	****	<b>0,034</b>	0,062	<b>0,038</b>	<b>0,038</b>
<b>Nordeste</b>	0,667	1,553	1,878	9,820	2,123	****	0,548	0,788	0,794
<b>Centro-Oeste</b>	0,242	1,727	2,339	11,362	1,863	0,605	****	0,418	0,712
<b>Sudeste</b>	0,846	1,454	1,580	8,033	2,069	0,278	0,811	****	0,604
<b>Sul</b>	0,488	1,632	2,101	11,849	2,086	0,266	0,366	0,521	****

**Figura 14.** Comparação das estimativas de contribuição ameríndia com base nos marcadores microsatélites dos quatro remanescentes de quilombos e das cinco regiões brasileiras pelo teste z. Os valores de z encontram-se no triângulo inferior, e os valores de P encontram-se no triângulo superior. Os valores de P marcados em negrito correspondem àqueles que indicaram a existência de diferença estatisticamente significativa entre as estimativas relativas ao par de populações em questão.

	Mocambo	Sacutiaba	Rio das Rãs	Kalunga	Norte	Nordeste	Centro-Oeste	Sudeste	Sul
<b>Mocambo</b>	****	0,442	<0,001	<0,001	<b>0,048</b>	<b>0,010</b>	<b>0,002</b>	0,304	<0,001
<b>Sacutiaba</b>	0,776	****	<0,001	<0,001	0,704	0,466	0,308	0,912	0,086
<b>Rio das Rãs</b>	5,859	5,125	****	0,086	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>Kalunga</b>	6,714	6,114	1,732	****	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>Norte</b>	1,980	0,376	9,582	10,097	****	0,478	0,168	0,384	<b>0,008</b>
<b>Nordeste</b>	2,577	0,730	9,273	9,820	0,712	****	0,624	0,168	0,092
<b>Centro-Oeste</b>	3,034	1,021	10,901	11,362	1,384	0,489	****	<b>0,046</b>	0,170
<b>Sudeste</b>	1,026	0,111	7,345	8,033	0,868	1,387	1,989	****	<b>0,002</b>
<b>Sul</b>	3,973	1,726	11,370	11,849	2,619	1,682	1,373	3,024	****

**Figura 15.** Comparação das estimativas de contribuição africana com base nos marcadores microsatélites dos quatro remanescentes de quilombos e das cinco regiões brasileiras. Os valores de z encontram-se no triângulo inferior, e os valores de P encontram-se no triângulo superior. Os valores de P marcados em negrito correspondem àqueles que indicaram a existência de diferença estatisticamente significativa entre as estimativas relativas ao par de populações em questão.

	Mocambo	Sacutiaba	Rio das Rãs	Kalunga	Norte	Nordeste	Centro-Oeste	Sudeste	Sul
Mocambo	****	0,082	<0,001	<0,001	0,280	<b>0,010</b>	<b>0,004</b>	0,144	<0,001
Sacutiaba	1,737	****	<0,001	<0,001	0,214	0,818	0,826	0,406	0,690
Rio das Rãs	4,898	5,461	****	<b>0,004</b>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Kalunga	6,695	7,329	2,927	****	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Norte	-1,083	1,242	7,168	8,596	****	<b>0,036</b>	<b>0,012</b>	0,502	<0,001
Nordeste	-2,577	0,231	8,250	9,534	2,100	****	0,976	<0,001	0,208
Centro-Oeste	-2,833	0,223	9,138	10,371	2,497	0,032	****	0,214	0,162
Sudeste	-1,458	0,834	6,706	8,175	0,668	3,716	1,242	****	<b>0,022</b>
Sul	-3,759	-0,402	9,811	10,985	3,685	1,259	1,401	2,300	****

**Figura 16.** Comparação das estimativas de contribuição europeia com base nos marcadores microsatélites dos quatro remanescentes de quilombos e das cinco regiões brasileiras. Os valores de z encontram-se no triângulo inferior, e os valores de P encontram-se no triângulo superior. Os valores de P marcados em negrito correspondem àqueles que indicaram a existência de diferença estatisticamente significativa entre as estimativas relativas ao par de populações em questão.

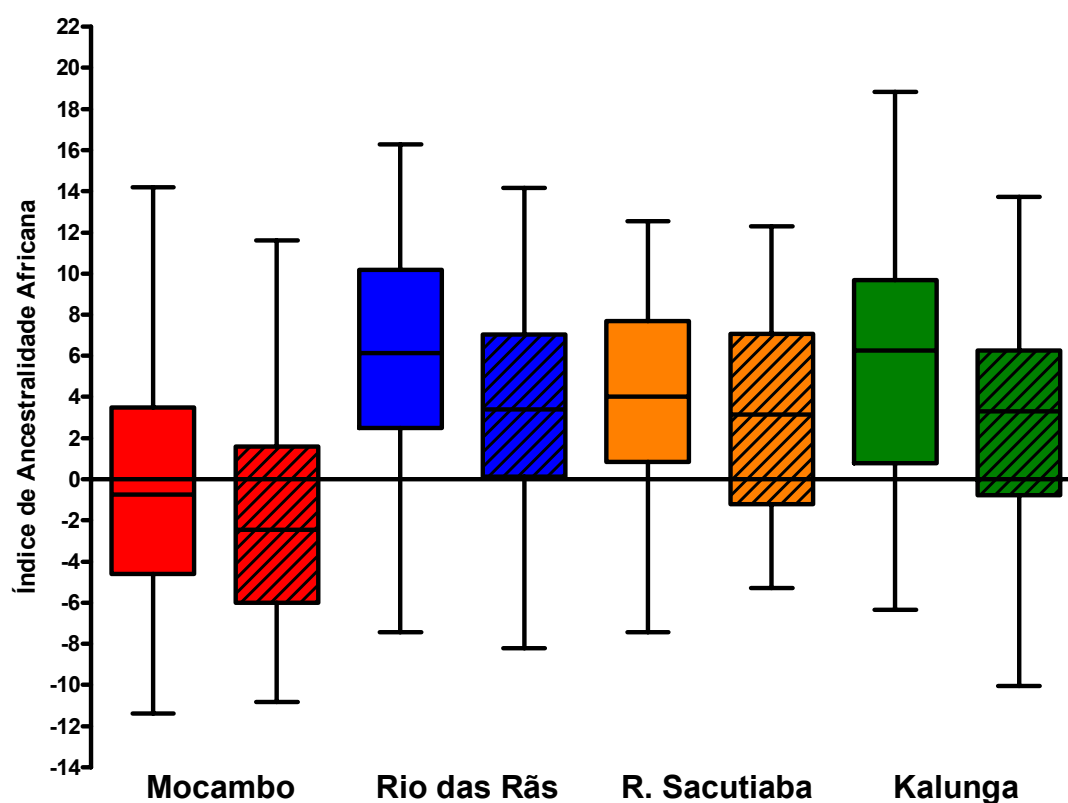
#### 5.4. ÍNDICE DE ANCESTRALIDADE AFRICANA

A figura 17 representa a distribuição dos índices de ancestralidade africana individuais nos quatro remanescentes de quilombos. De acordo com a fórmula utilizada, quanto maior o índice, maior a contribuição africana na constituição individual.

As quatro populações apresentaram menores medianas para o segundo índice calculado, isto é, com a exclusão dos marcadores rs1129038 e rs1426654, que apresentam freqüências alélicas similares nas populações parentais africanas e ameríndias. Para a primeira estimativa, o índice variou de -11,366 a 14,203 (mediana= -0,7262) em Mocambo, de -7,417 a 16,295 (mediana = 6,129) em Rio das Rãs, de -7,424 a 12,543 (mediana = 4,007) em Riacho de Sacutiaba, e de -6,333 a 18,836 (mediana = 6,265) em Kalunga. Na segunda estimativa, o índice variou de -10,820 a 11,620 (mediana = -2,443) em Mocambo, de -8,198 a 14,162 (mediana = 3,387) em Rio das Rãs, de -5,301 a 12,300 (mediana = 3,155) em Riacho de Sacutiaba, e de -10,060 a 13,735 (mediana = 3,301) em Kalunga.

Rio das Rãs, Riacho de Sacutiaba e Kalunga apresentaram as maiores medianas de africanidade enquanto que Mocambo apresentou as menores. Mocambo foi a única das comunidades que apresentou valores negativos de mediana nas duas análises, indicando uma menor africanidade dentre as quatro populações remanescentes de quilombos.

O teste de Mann-Whitney mostrou que há diferenças estatisticamente significativas entre as medianas dos dois índices para Rio das Rãs ( $z=-3,355$ ;  $P=0,0008$ ) e Kalunga ( $z=-3,050$ ;  $P=0,0023$ ). Porém, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as medianas obtidas para Riacho de Sacutiaba ( $z=-0,389$ ;  $P=0,7037$ ) e Mocambo ( $z=-1,806$ ;  $P=0,0709$ ), apesar de que para Mocambo o valor de P tenha sido bastante baixo, próximo ao nível de significância estatística de 5%.



**Figura 17.** Gráfico *box plot* mostrando a distribuição dos índices de ancestralidade africana (IAA) obtidos para os indivíduos pertencentes às quatro comunidades remanescentes de quilombos. Para cada população há duas representações: a primeira (cor sólida) é relativa ao cálculo do IAA utilizando os nove marcadores AIMs; a segunda (listras) refere-se ao cálculo do IAA excluindo-se os marcadores que apresentam freqüências alélicas semelhantes em populações africanas e ameríndias. Cada *box* representa os valores mais centrais da distribuição, sendo que o traço interno se refere à mediana e os limites inferior e superior do *box* representam o primeiro e o terceiro quartis, respectivamente. Os riscos fora do *box* referem-se aos valores extremos encontrados na observação.

## 6. DISCUSSÃO

É impossível tratar da história do Brasil sem mencionar a palavra “quilombo”. Pode-se dizer que a formação dos quilombos foi sistemática durante o período da escravidão, dada a quantidade de remanescentes dessas comunidades existentes na atualidade. Essas comunidades foram, e ainda são, colocadas à margem da sociedade e sua história negligenciada. Isso decorre da própria história dos africanos e afro-descendentes no Brasil e do isolamento, cultural e geográfico, uma das características fundamentais dos quilombos. Conhecer a história dessas populações é conhecer uma parte importante da história do país.

A genética de populações tem ajudado nessa tarefa. Apesar de representarem uma pequena fração dos trabalhos dessa área, os remanescentes de quilombos têm sido estudados por alguns pesquisadores no Brasil interessados em conhecer um pouco mais sobre a sua história de formação. Muitos dados históricos indicam que os quilombos não eram habitados apenas por escravos fugidos, mas também por indivíduos que desejavam se esconder, comerciantes e escravos alforriados, além de sua população manter contato com populações indígenas (Queirós Mattoso, 1982). Dessa forma, os estudos de genética de populações envolvendo os remanescentes desses quilombos, em geral, focalizam na provável miscigenação que houve durante a formação das comunidades, buscando estimar o grau de contribuição genética de possíveis populações parentais na sua constituição.

O presente trabalho focalizou na análise de mistura genética em quatro populações remanescentes de quilombos do Brasil: Kalunga, Rio das Rãs, Riacho de Sacutiaba e Mocambo. Para isso, foram utilizados marcadores moleculares autossômicos dos tipos microssatélites e AIMS, objetivando um melhor entendimento da história de formação dessas comunidades.

Vale ressaltar, entretanto, que este estudo visou única e exclusivamente avaliar a composição genômica atual destas populações para melhor entender a dinâmica de sua formação e potencialmente predizer o seu desfecho mais

provável. Não existiu qualquer pretensão, mesmo porque é um aspecto completamente distinto, de fazer conjecturas a respeito dos importantes valores culturais, sociais e antropológicos que estas populações preservam no âmbito do estudo da construção da identidade da nação brasileira. O reconhecimento como remanescente de quilombo deve partir unicamente de valores histórico-culturais que essas populações apresentam.

## **6.1. VARIABILIDADE GENÉTICA**

A análise de dados de freqüências alélicas, ou seja, o estudo da variabilidade genética, é a base da genética de populações. Esse tipo de estudo auxilia no conhecimento da história evolutiva de uma dada população, pois pode indicar a ação de certos mecanismos evolutivos sobre essa população, tais como endogamia, deriva genética, efeito do fundador e gargalos populacionais. Além disso, a comparação de freqüências alélicas pode mostrar se determinadas populações apresentam histórias similares ou não (Hartl & Clark, 1997).

Populações isoladas e semi-isoladas tendem a apresentar uma menor variabilidade genética do que populações não isoladas devido a ausência de fluxo gênico ou fluxo gênico reduzido. Além disso, como em geral tais populações apresentam tamanho populacional reduzido, as freqüências alélicas estão mais sujeitas à ação da deriva genética do que em populações maiores, podendo levar ao aumento ou a diminuição da freqüência de determinados alelos ao longo das gerações (Futuyma, 1998).

### **6.1.1. Microssatélites**

As populações analisadas no presente trabalho apresentaram polimorfismo para todos os marcadores microssatélites analisados, sendo que a comunidade de Riacho de Sacutiaba foi a que apresentou a menor quantidade de alelos para sete dos oito *loci* analisados. Essa observação possivelmente é um reflexo do



pequeno tamanho populacional dessa comunidade – cerca de 200 indivíduos -, e, conseqüentemente, do pequeno número amostral referente a essa população – cerca de 30 amostras. Apesar de o tamanho amostral ser representativo do tamanho populacional (aproximadamente 15% do total populacional), é possível que a variabilidade total não tenha sido acessada. Exemplo disso foi a ausência de alguns alelos, especialmente alelos de tamanhos extremos e/ou com número de repetições intermediário. Com relação aos alelos de tamanhos extremos, como a freqüência observada nas demais populações, assim como nas populações parentais, é baixa (da ordem de 0,01%) é esperado que em uma população pequena estes estejam ausentes em decorrência de efeitos de deriva genética. Porém, com relação aos alelos intermediários, é possível que a estratégia de amostragem não tenha sido capaz de amostrá-los. Esse seria o caso dos alelos 9 do sistema D7S820 e 10 do sistema D16S539, que não foram observados nessa população.

As quatro comunidades estudadas apresentaram número médio de alelos menor do que foi observado para a média ponderada das populações africanas e portuguesas, porém maior que a da população Xavante, população utilizada como parental ameríndia nesse trabalho. Xavante apresenta o menor número de alelos considerando-se tanto as demais populações parentais como os remanescentes de quilombos. Isso está de acordo com o menor número de alelos observado, geralmente, em ameríndios (Mendes-Junior, 2001; Hutz *et al.*, 2002) do que nas demais populações parentais.

O baixo número de alelos observado nos remanescentes de quilombos aqui averiguados deve ser decorrente da história das populações. Essas comunidades foram, geralmente, fundadas por um número restrito de indivíduos associado a um isolamento cultural e geográfico, ao menos parcial, por um período de tempo variável. O menor número de alelos foi observado em Riacho de Sacutiaba, a menor comunidade em termos populacionais dentre as quatro avaliadas.

Não foram observados alelos modais definidos para a maioria dos *loci*. Exceção foi o *locus* TPOX. O referido sistema apresentou-se bimodal nas

populações amostradas, com altas freqüências para os alelos 8 e 11. A distribuição dos alelos desse marcador se apresentou bimodal, para os mesmos alelos, nas três populações parentais. Rio das Rãs, no entanto, apresentou o alelo 9 como o segundo mais freqüente, sendo que em populações africanas esse mesmo alelo é o terceiro mais observado. Visto que os alelos 9 e 11 do sistema TPOX apresentaram freqüências alélicas próximas, é possível que tenha ocorrido uma inversão nas freqüências em decorrência do número de indivíduos amostrados, isto é, se alguns poucos indivíduos a mais tivessem sido genotipados, pode ser que essas freqüências alélicas se alterassem, visto a proximidade dos valores observados. Essa mesma possibilidade se aplica aos sistemas que não apresentaram um alelo modal definido.

De modo geral, todas as comunidades estudadas apresentaram como alelos mais freqüentes os alelos modais de pelo menos uma das parentais, exceto para os sistemas vWA, em Riacho de Sacutiaba, D16S539, em Rio das Rãs, CSF1PO, em Rio das Rãs e Kalunga, e D5S818, em Kalunga. Para o sistema vWA, enquanto os alelos modais observados para as populações portuguesa, africana e Xavante são, respectivamente, o 17 e o 16, para Riacho de Sacutiaba o mais freqüente foi o 15. No caso do sistema D16S539, Rio das Rãs apresentou o alelo 9 como o de maior freqüência, enquanto o alelo 11 é o modal em portugueses e africanos e o alelo 10 é o modal em Xavantes. O alelo 11 foi o mais freqüente do sistema CSF1PO em Kalunga e Rio das Rãs, sendo que o modal nas três parentais é o alelo 12. Kalunga apresentou o alelo 13 como o mais freqüente, ao passo que o 11 é o modal entre os Xavantes e o 12 entre portugueses e africanos.

As comunidades Kalunga, Rio das Rãs e Riacho de Sacutiaba apresentaram como alelos mais freqüentes, de forma geral, os que também o são em africanos e portugueses. As exceções foram aquelas populações que tiveram como alelo mais freqüente um alelo diferente dos modais em pelo menos uma das parentais, como mencionado anteriormente, e o *locus* D5S818, para o qual Riacho de Sacutiaba apresentou como mais freqüente o modal em Xavantes (alelo 11).

Mocambo apresentou como alelos mais comuns os que também o são em Xavantes. Exceções foram os *loci* D13S317, onde o alelo mais freqüente é o mesmo que é modal para populações portuguesas, e o vWA, para o qual foram observados dois alelos com maior freqüência (16 e 17), que são os modais em todas as três populações parentais. Essa observação pode ser um forte indicativo da grande influência dos ameríndios na constituição genética dessa comunidade, bem como uma contribuição européia também significativa.

Analisando-se cada comunidade *locus a locus*, pode-se fazer uma comparação entre as populações parentais e os remanescentes de quilombo estudados. Para o sistema vWA, os alelos 16 e 17 foram os mais comuns em três comunidades (Kalunga, Rio das Rãs e Mocambo). Apenas em Riacho de Sacutiaba, o alelo 15 foi o mais freqüente, tendo sido observado em 38,9% das amostras; entretanto, o alelo 17 foi o segundo mais freqüente nessa população (22,2%), e o alelo 16 o terceiro (16,7%). Dessa forma, o sistema vWA apresentou-se bimodal em Riacho de Sacutiaba. O alelo 16 é o modal nas populações africanas e na Xavante, ao passo que o alelo 17 é o modal nas portuguesas. É interessante observar na tabela de freqüências alélicas das populações parentais que o alelo 15, apesar de ser o terceiro mais comum nas populações africanas, possui freqüência alélica (19,8%) muito próxima ao segundo alelo mais comum, que é o 17 (20%). Assim, é possível que a alta freqüência do alelo 15 em Riacho de Sacutiaba seja um reflexo da ocorrência de efeito do fundador, dado que os habitantes dessa comunidade apresentam estreitos laços familiares, associado a deriva genética sobre esse *locus* nessa população, dado o seu pequeno tamanho populacional. O alelo 17 é o segundo mais comum também em três das quatro comunidades estudadas (Rio das Rãs, Riacho de Sacutiaba e Kalunga). Em Mocambo, os alelos 16 e 17 foram observados com a mesma freqüência (23,3%).

Para o sistema THO1, o alelo 9.3 foi o mais freqüente em Mocambo e o alelo 7 nos outros três remanescentes. O alelo 7 é o modal nas populações africanas, ao passo que o alelo 9.3 é o modal nas populações portuguesas. É interessante ressaltar que as três comunidades onde o alelo 7 foi o de maior freqüência tiveram o alelo 8 como o segundo mais freqüente, o qual é também o segundo mais freqüente em africanos.

Os alelos mais freqüentes do sistema CSF1PO foram o 11, em Kalunga e Rio das Rãs, como mencionado anteriormente, e o 12, em Riacho de Sacutiaba e Mocambo. É importante ressaltar que o alelo 12 é o modal em todas as três populações parentais. Entretanto, ao se observar os alelos com segunda maior freqüência, nota-se que Kalunga e Mocambo, bem como populações africanas, apresentam o alelo 10 em tal categoria.

Em relação ao marcador D5S818, o alelo 11, presente em alta freqüência em ameríndios, foi o mais freqüente em Riacho de Sacutiaba e Mocambo. Em Kalunga, o alelo 13 foi o mais freqüente, presente em freqüência bem superior (32,1%) à freqüência em que é observado nas populações africanas (22,81%), onde é o segundo mais comum. Em Rio das Rãs, o alelo mais freqüente foi o 12, o qual é o modal entre africanos. Os alelos 11 e 12 foram também observados em alta freqüência em Kalunga e Rio das Rãs, no caso do alelo 11, e Riacho de Sacutiaba e Mocambo, no caso do alelo 12.

Para o sistema D13S317, é interessante ressaltar que nenhum dos remanescentes apresentou como alelos mais freqüentes os dois alelos modais nos Xavantes (alelo 9 e alelo 13). O alelo 12 foi o mais freqüente em Kalunga, Rio das Rãs e Riacho de Sacutiaba, sendo que nas duas primeiras comunidades sua freqüência foi maior (48,6% e 49,5%, respectivamente) do que a observada em populações africanas (42,2%), onde é o modal. Nessas comunidades, o alelo 11 também foi observado em altas freqüências. Já em Mocambo, os alelos mais freqüentes foram o 11 (33,8%), cuja freqüência se encontra próxima a observada em portugueses, e o 12 (33,1%), que é também o segundo mais freqüente em Portugal.

Em Kalunga, Rio das Rãs e Riacho de Sacutiaba o alelo com maior freqüência para o marcador D7S820 foi o 10, que é o modal em portugueses e africanos. Essas comunidades apresentaram freqüências para o alelo 10 mais próximas à freqüência africana do que à portuguesa, sendo que em Rio das Rãs e Riacho de Sacutiaba, a freqüência desse alelo foi maior do que a observada entre os africanos. Em Mocambo o alelo 11 foi o mais freqüente, sendo que ele é o modal entre os ameríndios. O alelo com segunda maior freqüência em Kalunga e

Rio das Rãs foi o alelo 11, enquanto em Mocambo foi o alelo 10, nesse caso com frequência próxima à observada entre os portugueses. Em Riacho de Sacutiaba, o segundo alelo mais comum foi o 8, com frequência próxima a observada entre os africanos, apesar de que nessa parental esse alelo é o terceiro mais freqüente.

Para o sistema D16S539, o alelo 11, que é modal entre portugueses e africanos, foi o mais freqüente em Kalunga, Riacho de Sacutiaba e Mocambo. Em Rio das Rãs o alelo 9 foi o mais comum, com frequência intermediária à observada em africanos e ameríndios. Esse alelo é o segundo mais freqüente entre os africanos.

Ainda em relação às frequências alélicas, o alelo com maior frequência entre todos os *loci* foi o alelo 8 do sistema TPOX em Riacho de Sacutiaba, que foi observado em 58% das amostras. Essa frequência é bem superior a maior frequência encontrada nos parentais para o mesmo marcador, que é a dos portugueses, com 50%, podendo indicar tanto a ocorrência de efeito do fundador quanto de deriva genética, visto o pequeno tamanho populacional desse remanescente.

Foi observado que todas as comunidades encontraram-se em Equilíbrio de Hardy-Weinberg para a maioria dos *loci* analisados, exceto as comunidades de Riacho de Sacutiaba para o *locus* vWA e Kalunga para o *locus* CSF1PO. Entretanto, com a aplicação da correção de Bonferroni, não foram mais observados desvios em relação ao nível de significância. Além disso, para esses *loci* não foram observados excesso/deficiência de homocigotos ou de heterocigotos. Dessa forma, a partir dessas duas considerações, admite-se, portanto, que os desvios observados previamente não possuem significado evolutivo, constituindo flutuações dos testes estatísticos realizados.

### 6.1.2. AIMS

Todas as comunidades remanescentes de quilombos apresentaram-se polimórficas para os *loci* AIMS, e de modo geral houve compartilhamento quanto

aos alelos mais freqüentes entre as populações. Além disso, as freqüências alélicas para todos os *loci* analisados em todos os remanescentes foram intermediárias às observadas nas populações parentais. Visto que há relatos de miscigenação com outros grupos étnicos para as populações em estudo e pelo fato de os AIMS apresentarem freqüências alélicas extremas nas populações parentais, já era esperado que os remanescentes apresentassem valores de frequências alélicas intermediários em relação às populações parentais.

A observação de que Riacho de Sacutiaba foi a única das três populações em Equilíbrio de Hardy-Weinberg para todos os *loci* AIMS é de certa forma surpreendente devido ao seu menor tamanho populacional e, conseqüentemente, amostral, quando comparado às outras comunidades. A ação da deriva genética poderia ter contribuído para que a distribuição das freqüências genotípicas não seguissem o esperado pelo Equilíbrio de Hardy-Weinberg, mas aparentemente esse não foi o caso.

As outras comunidades apresentaram desvios significativos para um *locus* cada uma. Em Mocambo (*locus* rs1426654) e Rio das Rãs (*locus* CRH) foi observada uma grande deficiência de heterozigotos em relação ao que seria esperado pelo Equilíbrio de Hardy-Weinberg e em Kalunga (*locus* rs1129048) foi observado um grande excesso de homozigotos. Entretanto, com a aplicação da correção de Bonferroni, apenas o desvio observado em Kalunga foi mantido. É importante ressaltar que durante a realização de muitos testes estatísticos existe a probabilidade de se observar testes que apresentem desvios significativos devido a flutuações casuais durante a própria realização destes. No caso dos AIMS, como foram realizados 36 testes, a probabilidade de se encontrar valores significativos é alta – 84,22%, de acordo com o teste realizado pelo site SISA (*Simple Interactive Statistical Analysis* - [home.clara.net/sisa/bonhlp.htm](http://home.clara.net/sisa/bonhlp.htm)). Assim, em decorrência dos desvios não terem ocorrido para um mesmo *locus*, somado ao fato de que após a correção de Bonferroni houve a manutenção de apenas um valor desviando do esperado ao acaso, postula-se que esses valores não possuam significado evolutivo.

## 6.2. ANÁLISE DE DIFERENCIAÇÃO GENÉTICA MOLECULAR

Foram realizadas três análises de variância molecular (AMOVA): uma utilizando os dados dos microssatélites, outra os dados dos AIMS e a terceira utilizando o conjunto de microssatélites de AIMS. O resultado obtido com os microssatélites apresentou o menor valor de  $F_{st}$  entre as três análises ( $F_{st} = 0,016$ ;  $P < 0,05$ ), indicando uma menor diferenciação entre as comunidades em comparação ao resultado obtido com os AIMS ( $F_{st} = 0,055$ ;  $P < 0,05$ ). A análise com o conjunto de marcadores resultou em um valor de  $F_{st}$  intermediário entre as análises utilizando cada tipo de marcador isoladamente ( $F_{st} = 0,036$ ;  $P < 0,05$ ). Em todos os casos, a diferença genética observada foi devida principalmente a variações intrapopulacionais. Além disso, calculou-se o valor de  $R_{st}$  para os marcadores microssatélites. O valor encontrado ( $R_{st} = 0,014$ ;  $P < 0,05$ ) também foi baixo, menor do que o valor obtido para o  $F_{st}$ .

A diferença dos resultados obtidos com os diferentes tipos de marcadores está em acordo com a observação de que os marcadores microssatélites normalmente utilizados em estudos de identificação individual, como é o caso dos *loci* utilizados no presente trabalho, indicam baixa diferenciação genética entre diferentes populações e grupos étnicos (Barnholtz-Sloan *et al.*, 2005). Além disso, como os AIMS apresentam grandes diferenciais de frequências ( $\delta$ ) entre populações, eles tendem a mostrar uma maior diferenciação populacional do que os microssatélites, cujos  $\delta$  em geral são menores.

Dessa forma, os AIMS, aparentemente, não são os melhores marcadores para se estimar diferenciação genética. Isso porque, por apresentarem grande diferencial entre frequências alélicas de diferentes populações parentais, eles tendem a maximizar a diferenciação observada, com valores mais altos de  $F_{st}$ . Os STRs aqui utilizados, por outro lado, por pertencerem a um painel de uso forense em todo o mundo, minimizam a diferenciação genética, fornecendo baixos valores de  $F_{st}$ . Assim, eles também não seriam os mais indicados para esse tipo de análise.

Microsatélites e AIMs do tipo SNPs e indels apresentam diferentes características que podem ter influenciado o resultado da análise de diferenciação populacional, bem como o de mistura genética, como será discutido mais a frente. Os microsatélites são marcadores de evolução rápida, apresentando altas taxas de mutação ( $10^{-2}$  mutações por replicação), fato diretamente associado a geração de polimorfismos desse tipo de marcador e a ocorrência de mutações recorrentes (Hancock, 2000). Já os SNPs e as indels são marcadores de evolução lenta (Stoneking, 2001; Weber *et al.*, 2002). Ambos representam eventos mutacionais únicos ocorridos no passado, sendo que indivíduos que compartilham um determinado alelo apresentam uma ancestralidade comum.

A observação de que os quatro remanescentes de quilombos são geneticamente pouco diferenciados entre si pode ser devido às histórias de formação semelhantes que eles apresentam, apesar de que uma das comunidades (Kalunga, da região Centro-Oeste) se localize geograficamente distante das outras três (região Nordeste) e foi fundada em um período histórico um pouco posterior em relação às demais.

A análise comparativa *locus a locus* entre os remanescentes de quilombos e populações urbanas brasileiras mostrou que as comunidades do presente trabalho são significativamente diferentes de populações urbanas brasileiras quanto aos marcadores microsatélites. Essa mesma análise não pôde ser feita para os AIMs porque esses marcadores ainda foram pouco estudados em populações brasileiras. A diferenciação observada, no entanto, foi menor do que seria esperado ( $F_{st} = 0,002$  a  $0,005$ ), visto que os remanescentes se tratam de populações rurais e semi-isoladas e as populações urbanas em princípio estão sujeitas a um processo mais intenso e contínuo de fluxo gênico, o que poderia levar a uma diferenciação entre as populações.

A análise utilizando os dados de Grattapaglia *et al.* (2001) também indicou a presença de diferenças significativas entre os quilombos e as amostras daqueles autores. Assim como foi observado na análise *locus a locus* com as populações urbanas, a diferenciação encontrada também foi baixa, de acordo tanto com os valores de  $F_{st}$  quanto com os de  $R_{st}$ .



Duas possibilidades podem ser levantadas dessas observações. A primeira seria a de que os remanescentes de quilombos estudados apresentam alta taxa de miscigenação, a tal ponto que sua constituição genética se assemelhe a de qualquer outra população miscigenada do Brasil, como é o caso das populações urbanas. A segunda estaria intimamente relacionada a não adequação dos marcadores microssatélites utilizados em genética forense para a análise de diferenciação populacional.

Considerando a primeira possibilidade como a mais plausível, os remanescentes de quilombos estudados e as populações urbanas apresentariam estimativas de mistura genética semelhantes, o que não é o caso. Godinho (2005) realizou estimativas de mistura genética, utilizando *loci* microssatélites, para três das populações urbanas utilizadas para comparação: Distrito Federal, Goiás e Mato Grosso do Sul. Em todos os casos, a contribuição de origem européia (61,7%, 79,5% e 71,8% respectivamente) foi bem maior do que as contribuições dos africanos (29,1%, 16,1% e 16,4%) e ameríndios (9,2%, 4,4% e 11,8%). A análise de mistura étnica dos remanescentes de quilombos utilizando microssatélites forneceu resultados bastante diferentes, com Kalunga e Rio das Rãs apresentando baixa contribuição européia e Mocambo e Riacho de Sacutiaba com estimativas de contribuição para o mesmo grupo parental inferiores às observadas para as populações do DF, GO e MS. Essas informações, portanto, indicam que os remanescentes e as populações urbanas não apresentam constituição genética similar, apesar de ambos apresentarem miscigenação.

Portanto, a idéia de que os marcadores microssatélites utilizados nesse trabalho não são os melhores para análise de estrutura populacional é provavelmente a melhor justificativa para a não diferenciação genética observada entre os remanescentes de quilombos e populações urbanas brasileiras. Já foi relatado que os microssatélites mais utilizados em análise forense, como é o caso dos usados no presente trabalho, não são os mais precisos em análises de mistura étnica justamente por não permitirem boas estimativas de diferenciação populacional (Barnholtz-Sloan *et al.*, 2005).

É preciso ressaltar, porém, que há exemplos de marcadores do tipo microssatélites úteis para esse tipo de estudo. Rosenberg *et al.* (2003) observaram que determinados microssatélites são mais informativos do que SNPs para diferenciação entre pares de populações, especialmente os *loci* dinucleotídicos, que apresentam taxas de mutação menores do que os tetranucleotídeos (Ruiz Linares, 1999). Tang *et al.* (2005) e Pfaff *et al.* (2004) também observaram que em geral microssatélites são mais informativos para estimativas de ancestralidade do que SNPs. Assim, com os marcadores genéticos adequados é possível obter o máximo de informação sobre diferenças entre populações bem como melhor compreender a história de formação de uma população estimando a mistura genética que a constitui.

### 6.3. MISTURA GENÉTICA

As quatro comunidades analisadas no presente estudo já foram alvo de alguns trabalhos utilizando outros tipos de marcadores moleculares com o objetivo de se estimar o grau de mistura genética. Pedrosa e Oliveira (2004) estimaram o grau de mistura genética para essas populações utilizando marcadores clássicos e inserções *Alu* autossômicas. Somente em Mocambo estimou-se uma contribuição européia maior do que a contribuição africana (59,94%  $\pm$  2,14, para a européia e 33,96%  $\pm$  1,89, para a africana). Kalunga foi a comunidade com as maiores contribuições africana e ameríndia dentre todos os quatro remanescentes (68,5%  $\pm$  5,24, para a africana, e 10,4%  $\pm$  4,50, para a ameríndia), seguida pela comunidade de Rio das Rãs (52,75%  $\pm$  4,91 para a africana, e 6,11%  $\pm$  0,54 para a ameríndia).

O presente trabalho, no entanto, mostrou resultados diferentes. A análise de mistura genética utilizando o conjunto de marcadores microssatélites e AIMS indicou que todas as comunidades apresentaram como principal contribuinte a parental africana (Tabela 17). Além disso, a comunidade de Riacho de Sacutiaba apresentou a maior contribuição européia dentre todos os remanescentes. Outro destaque é que em Mocambo a contribuição africana não chegou à metade da

estimativa de mistura genética total, e a contribuição ameríndia foi bem superior a observada para os outros remanescentes, próxima aos 17%.

Os resultados encontrados para Mocambo estão em pleno acordo com a sua história. Como mencionado anteriormente, a população de Mocambo sempre esteve intimamente ligada à população indígena vizinha, a tribo Xocó. As duas comunidades mantêm uma relação econômica e social muito intensa, marcada inclusive por matrimônios e alianças sociais importantes. Arruti (2001) relata que de todas as famílias que vivem em Mocambo, nove têm um dos cônjuges de origem indígena, sendo sete deles Xocó. Entre seus ancestrais imediatos observam-se outros doze casais mistos, cinco deles correspondendo à geração imediatamente anterior à atual e sete à geração anterior a esta, levando a uma frequência mais ou menos contínua de casamentos mistos entre essas comunidades correspondendo a pelo menos 10% de cada uma das últimas três gerações de Mocambo. Dessa forma, uma contribuição ameríndia significativa na formação da população de Mocambo não é inesperada e corrobora a idéia de intenso fluxo gênico entre o remanescente de quilombo e a tribo indígena vizinha ao longo de toda a história da comunidade.

A contribuição ameríndia, no entanto, deve ser marcadamente de origem feminina em todos os quatro remanescentes. Estudando as mesmas comunidades para o cromossomo Y, Ribeiro (2005) não observou nenhum haplogrupo de origem ameríndia em Mocambo e em Riacho de Sacutiaba. A população de Rio das Rãs foi a que apresentou o maior percentual de cromossomos Y de origem ameríndia, enquanto em Kalunga essa contribuição foi baixa. Oliveira *et al.* (2005) estudaram a formação desses mesmos remanescentes considerando a análise de haplogrupos de DNA mitocondrial e observaram ausência de contribuição européia e, portanto, forte contribuição africana e ameríndia na constituição dessas populações.

Ribeiro (2005) notou ainda que o que é bastante marcante na constituição genética desses remanescentes é a forte contribuição masculina de origem européia na formação de todos eles. Riacho de Sacutiaba apresentou 80% de cromossomos Y europeus. Em Mocambo, a contribuição européia na sua

formação foi muito mais alta do que a contribuição africana. Também foi observada uma forte contribuição europeia masculina em Kalunga e Rio das Rãs, mas não maior do que a de origem africana. Os resultados de Ribeiro (2005) estão em pleno acordo com os obtidos para o conjunto de marcadores microssatélites e AIMS do presente estudo, onde observou-se que Riacho de Sacutiaba e Mocambo são as comunidades com maiores contribuições de origem europeia na sua formação. Em Mocambo, a contribuição de populações europeias quase se equipara a de populações africanas, ambas com valores estimados próximos aos 40%. Mocambo é, das quatro comunidades, a que apresenta mais relatos orais da miscigenação da população com indivíduos descendentes de europeus e de ameríndios.

Esse conjunto de informações indica que esses quilombos foram formados por indivíduos miscigenados, frutos dos cruzamentos entre homens europeus e mulheres africanas ainda nas senzalas. Além disso, a análise do cromossomo Y não apontou uma forte participação de homens de origem ameríndia na formação dessas comunidades, o que mais uma vez vai ao encontro dos relatos históricos indicando que a presença ameríndia nessas populações se deu principalmente pelas mulheres. Além disso, essas populações se localizam próximas a centros urbanos ou a antigos garimpos, e muitas vezes ao longo de sua história podem ter recebido fluxo gênico de indivíduos com forte ascendência europeia. Como são populações de tamanho relativamente pequeno – Mocambo, por exemplo, possui apenas cerca de 500 habitantes -, um evento desse tipo pode ter contribuído substancialmente para a alteração das freqüências alélicas. Somando-se ao fluxo gênico, não se podem ignorar os possíveis efeitos da deriva genética atuando nessas populações, contribuindo também para a alteração das freqüências dos alelos desde a formação dessas comunidades.

Foram realizadas três estimativas de mistura genética para cada comunidade: uma utilizando apenas os dados obtidos com os microssatélites, outra utilizando os dados dos AIMS e a terceira utilizando os dados dos dois tipos de marcadores em conjunto. Como foi observado nas figuras 10, 11, 12 e 13, as estimativas obtidas utilizando os marcadores microssatélites foram diferentes daquelas utilizando os AIMS, e essas diferenças de modo geral se mostraram

estatisticamente significativas, conforme foi observado pelo teste de comparação de proporções (teste z; Tabela 18). Além disso, as estimativas realizadas com as duas classes de marcadores em conjunto foram muito similares às obtidas utilizando-se apenas os AIMS, sugerindo que os dados dos microssatélites não exerceram grande influência sobre o resultado global.

Como discutido no tópico sobre diferenciação genética, esses dois tipos de marcadores apresentam características distintas que podem ter influenciado sobremaneira o resultado da análise de mistura genética. Além disso, determinados *loci* microssatélites não são os ideais para estimar ancestralidade individual. Essa constatação adveio da análise da informatividade do conjunto de treze *loci* microssatélites utilizados pelo FBI para estimativas de ancestralidade individual (Barnholtz-Sloan *et al.*, 2005). Esses mesmos *loci* são utilizados em genética forense por permitirem a identificação individual em todas as populações analisadas até o momento, porém fornecendo baixos níveis de diferenciação gênica entre elas. Oito desses *loci* são os mesmos que foram utilizados na análise de mistura genética dos remanescentes de quilombos. Outro aspecto importante é que não é possível afirmar que distribuições similares de frequências alélicas para um determinado *locus* microssatélite são reflexo direto de ancestralidade comum. A maior probabilidade de ocorrência de mutações recorrentes nesse tipo de marcador pode propiciar que populações diferentes apresentem distribuições alélicas similares sem, no entanto, compartilharem uma mesma história evolutiva. (Santos & Tyler-Smith, 1996).

Apesar de o tipo de análise realizada por Barnholtz-Sloan *et al.* (2005) ter tido um enfoque diferente do usado no presente trabalho, os seus resultados podem ser extrapolados para a utilização de microssatélites em estudos de mistura genética de populações. Dessa forma, a utilização de tais *loci* microssatélites na análise de mistura genética pode não ser a ferramenta mais indicada. Isso porque mutações recorrentes podem acontecer em curto período de tempo, alterando as frequências alélicas tanto nas populações miscigenadas como nas utilizadas como parentais, gerando desvios nas estimativas que podem não auxiliar no estudo da constituição genética de tais populações.

Um outro fator que poderia ter contribuído para as diferenças observadas entre as estimativas obtidas com os STRs e com os AIMS foi a seleção das populações parentais para a análise de composição genética. A escolha das populações parentais é uma etapa crucial nesse tipo de análise. Muitas populações de todo o mundo já foram analisadas para os marcadores microsatélites utilizados no presente trabalho. Dessa forma, aquelas populações escolhidas foram criteriosamente selecionadas de acordo com os relatos históricos acerca da formação da população brasileira. Já para os AIMS, poucos trabalhos que usavam os marcadores aqui utilizados foram publicados, especialmente enfocando populações africanas e ameríndias. Assim, como população parental ameríndia foram utilizados dados existentes para ameríndios do México e dos Estados Unidos; como parental africana, populações de Serra Leoa, Nigéria e República Centro-Africana; e como parental europeia, amostras da Espanha e da Alemanha. Essa escassez de dados na literatura restringiu as possibilidades de seleção de populações parentais adequadas para a análise de composição genética utilizando os AIMS, e, portanto, alguma variação nos resultados provavelmente seria observada caso essas parentais fossem diferentes. O ideal seria que as populações parentais utilizadas fossem as mesmas para os dois tipos de marcadores.

Também foram realizadas comparações das estimativas de contribuição dos três grupos parentais obtidas para os quatro remanescentes entre si. A observação de que, quanto à contribuição africana, as estimativas obtidas para Rio das Rãs e Kalunga não diferiram, assim como as obtidas para Riacho de Sacutiaba e Mocambo também não diferiram entre si, pode ser um indicativo dos diferentes graus de relativo isolamento dessas quatro comunidades, assim como um reflexo das diferentes características dessas populações. Rio das Rãs e Kalunga são as comunidades com maior tamanho populacional desse estudo, além de terem como principal característica o fato de se encontrarem divididas em várias subcomunidades. Essa subdivisão faz como que, provavelmente, essas populações se encontrem em maior isolamento geográfico, cultural e genético quando comparadas a Riacho de Sacutiaba e Mocambo.

Em relação à contribuição européia, apenas Mocambo e Riacho de Sacutiaba não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre suas estimativas. Essas comunidades foram as que apresentaram as maiores contribuições desse grupo parental. Esse resultado, somado à não diferenciação entre as duas estimativas pode ser reflexo do maior grau de miscigenação que essas duas comunidades apresentam.

As estimativas de contribuição genética obtidas para os remanescentes de quilombos utilizando os marcadores microssatélites foram comparadas com as obtidas por Callegari-Jacques *et al.* (2003) para as cinco regiões geográficas brasileiras, sendo que essas estimativas foram recalculadas utilizando os mesmos *loci* microssatélites e as mesmas populações parentais usadas no presente trabalho. De forma geral, os remanescentes de quilombo apresentaram estimativas de contribuição genética diferentes das obtidas para as regiões brasileiras. Das 60 comparações realizadas, 47 (78%) apresentaram valores significativos ao nível de significância de 5%. A maior quantidade de diferenças estatisticamente significativas foi observada em relação à contribuição européia. Riacho de Sacutiaba foi a única comunidade que não apresentou diferenças em relação às contribuições africana e européia quando comparada às regiões brasileiras. Essa comunidade apresentou diferença estatisticamente significativa apenas quanto à contribuição ameríndia quando comparada à região Norte.

Esse resultado indica que, apesar da existência de miscigenação nessas comunidades, elas podem ser consideradas relativamente distintas de outras populações brasileiras. A existência de fluxo gênico tende a igualar as frequências alélicas das populações envolvidas; entretanto, aparentemente esse ainda não foi o caso dos remanescentes estudados no presente trabalho, exceto para Riacho de Sacutiaba. Essa comunidade, porém, apresenta um outro fator muito importante que a diferencia das outras três: seu menor tamanho populacional, refletido no menor tamanho amostral. Essa característica torna essa população mais suscetível aos efeitos da deriva genética do que as demais. Além disso, historicamente há mais relatos de maior miscigenação dos habitantes dessa comunidade com pessoas com ascendência de outros grupos populacionais.

A comparação das estimativas de contribuições genéticas de cada remanescente apenas com a região brasileira onde eles estão incluídos mostrou que Kalunga diferiu significativamente da região Centro-Oeste para as três estimativas, enquanto Rio das Rãs e Mocambo diferiram significativamente da região Nordeste quanto às contribuições africana e europeia. A diferença de Mocambo em relação à região Nordeste pode ser reflexo de sua história de formação, aliada a algum efeito de deriva genética decorrente do seu parcial isolamento ao longo de várias décadas. Esse isolamento, no entanto, já não mais é tão significativo, e a diferenciação observada pode ser perdida em pouco tempo em virtude do aumento do contato dos habitantes dessa comunidade com pessoas vindas de outros locais.

As diferenças encontradas entre Kalunga e a região Centro-Oeste e entre Rio das Rãs e a região Nordeste, por outro lado, refletem o maior isolamento dessas comunidades quando comparadas às outras duas. Ambas as comunidades são compostas por várias sub-populações, sendo que algumas se encontram em maior isolamento do que outras. Ao se analisar as comunidades como um todo, o isolamento de algumas subcomunidades pode ter influenciado o resultado dessa análise. Essa explicação vai ao encontro dos resultados obtidos por Ribeiro (2005), Ramos (2005) e Pedrosa *et al.* (2002) para as comunidades Kalunga e Rio das Rãs, nos quais observou-se diferenciação genética entre as subpopulações. Ribeiro (2005) observou que duas subcomunidades de Kalunga – Vão de Almas e Vão de Moleque – são geneticamente distintas quanto à contribuição masculina em sua formação. Essa diferenciação genética entre as duas subcomunidades também foi observada por Ramos (2005), que analisou marcadores autossômicos, e Pedrosa *et al.* (2002), que analisaram os polimorfismos de grupos sanguíneos e da proteína sérica haptoglobina. Em relação ao remanescente Rio das Rãs, Ramos (2005) encontrou alguma diferenciação genética entre as várias subcomunidades – Brasileiras, Rio das Rãs, Enchu, Capão do Cedro e Bom Retiro.



#### 6.4. ÍNDICE DE ANCESTRALIDADE AFRICANA

O índice de ancestralidade africana é uma estimativa de ancestralidade individual que foi utilizado por Parra *et al.* (2003) como um parâmetro para se comparar a ancestralidade genética com a cor da pele dos indivíduos. Os autores observaram que não há correlação entre esses dois parâmetros no Brasil. Embora naquele trabalho tenha sido utilizado um outro conjunto de marcadores AIMs, algumas comparações podem ser feitas com os resultados obtidos no presente trabalho.

Parra *et al.* (2003) calcularam o índice de ancestralidade africana de indivíduos pertencentes aos grupos étnicos ameríndio, europeu e africano. Os autores observaram que, para os marcadores AIMs utilizados, houve uma clara separação entre africanos e europeus, enquanto os ameríndios apresentaram índices próximos aos obtidos para os europeus. Os índices calculados para os africanos apresentaram mediana de 9,71 e os para os europeus mediana de -11,73. Assim, quanto maior for o IAA, maior a ancestralidade africana daquele indivíduo.

A análise do presente trabalho mostrou que Rio das Rãs e Kalunga apresentaram as maiores medianas para o IAA (6,129 e 6,265, respectivamente). Mocambo, por sua vez, apresentou o menor valor de mediana (-0,7262), observação que indica uma menor africanicidade para essa população em relação às demais. Comparando-se esses valores com aqueles encontrados por Parra *et al.* (2003), observa-se que a maior parte dos índices calculados para as amostras de Rio das Rãs e Kalunga encontram-se próximos ao esperado para uma população com alta contribuição africana na sua formação, enquanto Mocambo apresenta índices mais próximos dos IAAs encontrados em europeus. De fato, as estimativas de mistura étnica calculadas com o programa ADMIX mostraram que Rio das Rãs e Kalunga foram as que apresentaram as maiores contribuições africanas dentre os quatro remanescentes estudados, ao passo que Mocambo foi a que apresentou a menor estimativa de contribuição africana utilizando os marcadores AIMs.

Ainda em relação a Mocambo, cabe ressaltar a possibilidade de os IAAs obtidos serem uma influência direta da forte contribuição ameríndia na constituição dessa comunidade. Parra *et al.* (2003) obtiveram IAAs para os ameríndios por eles analisados próximos aos IAAs obtidos para os europeus, justamente porque os marcadores AIMs por eles utilizados apresentam grande  $\delta$  entre africanos e europeus. Entre os AIMs escolhidos para o presente trabalho, há dois que apresentam um grande  $\delta$  tanto entre europeus e africanos como entre europeus e ameríndios (rs1129038 e rs1426654).

Devido a presença desses dois marcadores no conjunto de AIMs escolhidos, decidiu-se realizar um cálculo de IAA desconsiderando-os. Como ambos apresentam frequências alélicas similares entre africanos e ameríndios, e o IAA foi calculado a partir das probabilidades de um dado genótipo ser africano ou europeu, tais marcadores poderiam estar levando a uma superestimativa do IAA. De fato, observou-se que todas as comunidades apresentaram menores medianas para o segundo índice calculado. Mocambo apresentou como mediana o valor -2,443, Rio das Rãs o valor 3,387, Riacho de Sacutiaba o valor 3,155 e Kalunga o valor 3,301. Para verificar se as medianas dos dois IAAs calculados para cada população são estatisticamente diferentes, foi realizado um teste de Mann-Whitney para cada par de IAAs. Essa análise mostrou que há diferenças estatisticamente significativas entre as medianas de Rio das Rãs ( $z=-3,355$ ;  $P=0,0008$ ) e Kalunga ( $z=-3,050$ ;  $P=0,0023$ ), mas não para as de Riacho de Sacutiaba ( $z=-0,389$ ;  $P=0,7037$ ) e Mocambo ( $z=-1,806$ ;  $P=0,0709$ ).

## 7. CONCLUSÕES

No presente trabalho foram examinados oito *loci* microssatélites e nove marcadores informativos de ancestralidade (AIMs) autossômicos em quatro comunidades remanescentes de quilombos brasileiras (*Kalunga*, *Mocambo*, *Riacho de Sacutiaba* e *Rio das Rãs*) com o objetivo de se estimar a contribuição genética das principais populações parentais (africanos, ameríndios e europeus) na formação dessas comunidades, bem como compará-las com populações urbanas brasileiras. Os resultados obtidos permitiram concluir que:

- As quatro populações de remanescentes de quilombos apresentaram diferenciação genética entre si. Essa observação reflete a influência das diferentes histórias de formação de cada uma dessas comunidades. Essa diferenciação foi mais marcada na análise utilizando os AIMs, provavelmente devido às diferenças intrínsecas entre esses marcadores e os microssatélites;
- Quanto aos marcadores microssatélites, as populações remanescentes de quilombos diferiram significativamente de outras populações brasileiras, embora os valores de  $F_{st}$  para essa análise tenham sido menores do que os obtidos na comparação dos quatro remanescentes entre si;
- Em geral, as estimativas de mistura genética realizadas utilizando os AIMs e os microssatélites diferiram significativamente entre si. Essas diferenças podem ser decorrentes de vários fatores, como as características de cada tipo de marcador e a seleção das populações parentais;
- Observou-se expressiva contribuição africana para a formação dessas comunidades, principalmente *Kalunga* e *Rio das Rãs*;
- A contribuição européia na formação desses remanescentes também foi alta, especialmente em *Riacho de Sacutiaba*. Essa observação é concordante com relatos históricos e dados obtidos com outros marcadores moleculares, que indicam a ocorrência de miscigenação entre homens europeus e mulheres africanas nas senzalas;
- A contribuição ameríndia não pode ser negligenciada, especialmente em *Mocambo*, onde foi observada uma grande contribuição desse grupo étnico

parental. Esse resultado corrobora os relatos históricos, que mostram um forte relacionamento entre a comunidade Mocambo e a tribo indígena Xocó, adjacente às suas terras, ao longo de toda a história do remanescente de quilombo;

- De forma geral, os remanescentes de quilombo apresentaram estimativas de contribuição genética diferentes das obtidas para as regiões brasileiras;
- O índice de ancestralidade africana sugere que Mocambo, por apresentar a menor mediana para essa estimativa, é a comunidade com menor africanicidade, enquanto Rio das Rãs e Kalunga, por apresentarem as maiores medianas, são as que apresentam maior africanicidade, o que está em acordo com as estimativas de contribuição africana obtidas para essas comunidades;
- Assim, pode-se concluir que a proximidade dessas comunidades a garimpos ou cidades, além de eventos de miscigenação anteriores a formação dos quilombos, podem explicar os valores encontrados para a contribuição européia. Quanto a contribuição ameríndia, as comunidades foram formadas em locais isolados e de difícil acesso, muitas vezes próximos a comunidades indígenas, o que pode ter ocasionado um fluxo gênico entre ameríndios e quilombolas.

## 8. PERSPECTIVAS FUTURAS

Vários trabalhos já mostraram que os remanescentes de quilombos não foram formados exclusivamente por indivíduos com ancestralidade africana. As estimativas de mistura genética realizadas nessas comunidades apontam, principalmente, para a presença dos componentes europeu e ameríndio em diferentes intensidades, dependendo da história da população em análise bem como do tipo de marcador genético utilizado. Os resultados obtidos no presente trabalho não foram diferentes. As estimativas de mistura obtidas para os remanescentes de quilombos Kalunga, Mocambo, Rio das Rãs e Riacho de Sacutiaba mostraram uma forte presença européia e ameríndia.

Os estudos envolvendo análises de mistura genética em remanescentes de quilombos e outras populações com algum grau de miscigenação buscam auxiliar no entendimento do histórico de formação e dinâmica da constituição genética destas populações desde a sua fundação. Entretanto, mais recentemente uma nova abordagem no estudo de populações miscigenadas tem se destacado no meio científico: o mapeamento por miscigenação (*admixture mapping*).

O fluxo gênico entre diferentes populações contribui para a geração de cromossomos compostos por segmentos provenientes de populações diferentes. Assim, um indivíduo miscigenado apresentará diferentes proporções de seu genoma originadas de diferentes populações parentais (McKeigue, 2005). O método de mapeamento por miscigenação é baseado na definição da ancestralidade de segmentos cromossômicos em indivíduos miscigenados e posterior procura por regiões genômicas onde a população miscigenada tenha recebido uma contribuição maior do que a esperada de uma população parental (Collins-Schramm *et al.*, 2004). Essa metodologia tem recebido considerável atenção por seu potencial para mapear genes de susceptibilidade a doenças genéticas complexas, com um possível componente genético que seja baseado em diferenças étnicas, tais como hipertensão, diabetes tipo 2, câncer de próstata,

câncer de pele, entre outras (Collins-Schramm *et al.*, 2002; Halder & Shriver, 2003; McKeigue, 2005).

O mapeamento por miscigenação só pode ser utilizado quando a mistura genética vem ocorrendo há pelo menos duas gerações. Isso é devido a grande extensão de desequilíbrio de ligação – associação não aleatória de alelos de diferentes *loci* gênicos em uma população - observado em populações miscigenadas, o que implica uma menor necessidade de marcadores a serem estudados e um menor tamanho amostral para estudos de mapeamento por miscigenação do que estudos convencionais usando populações não-miscigenadas (Collins-Schramm *et al.*, 2004).

Como o nível de desequilíbrio de ligação é proporcional ao nível de miscigenação de uma população, o conhecimento prévio acerca da composição genética dessa população passa a ser importante para a realização de estudos de mapeamento por miscigenação (Halder & Shriver, 2003). Entre as populações “candidatas” para estudos desse tipo estão aquelas formadas a partir da miscigenação de grupos originários de diferentes continentes, como resultado da expansão marítima europeia nos últimos séculos, por exemplo, os afro-americanos dos Estados Unidos, várias populações da América Latina, os “anglo-indianos” da Índia, entre tantas outras (Halder & Shriver, 2003).

Nesse contexto, os remanescentes de *quilombos*, como os demais grupos formados por afro-brasileiros, constituem uma possível amostra para estudos de mapeamento por miscigenação. O atual conhecimento sobre a composição genética dessas populações pode auxiliar no direcionamento de futuros estudos objetivando o mapeamento de doenças.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE-SANDES, K.; SILVA-JR, W.A.S.; ZAGO, M.A. (2004). Heterogeneity of the Y Chromosome in Afro-Brazilian Populations. *Hum Biol* 76(1):77-86.
- ALBUQUERQUE, M.M. (1986). *Pequena história da formação social brasileira*. 4ªed. Edições Graal. 730p.
- ALVES-SILVA, J.; SANTOS, M.S.; GUIMARÃES, P.E.M.; FERREIRA, A.C.S.; BANDELT, H.J.; PENA, S.D.J.; PRADO, V.F. (2000). The Ancestry of Brazilian DNAMt lineages. *Am J Hum Genet* 67:444–461.
- ANDRADE, M.J.S. (1988). *A mão de obra escrava em Salvador: 1811-1860*. São Paulo. Corrupio. 233p.
- ARPINI-SAMPAIO, Z.; COSTA, M.C.; MELO, A.A.; CARVALHO, M.F.; DEUS, M.S.; SIMÕES, A.L. (1999). Genetic polymorphisms and admixture in African-derived black communities of northeastern Brazil. *Hum Biol* 71(1):69-85.
- ARRUTI, J.M.A. (1997). A emergência dos “remanescentes”: notas para o diálogo entre indígenas e quilombolas. *Mana* 3(2):7-38.
- ARRUTI, J.M.A. (2001). Agenciamentos Políticos da “Mistura”: Identificação Étnica e Segmentação Negro-Indígena entre os Pankararú e os Xocó. *Estudos Afro-Asiáticos* 2:215-254.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ANTROPOLOGIA (ABA) - <http://www.abant.org.br/> - Site acessado em outubro de 2005.
- BARBOSA, A.A.L.; SOUSA, S.M.B.; ABÉ-SANDES, K.; ALONSO, C.A.; SCHNEIDER, V.; COSTA, D.C.C.; CAVALLI, I.J.; AZEVEDO, E.E.S. (2006). Microsatellite studies on an isolated population of African descent in the Brazilian state of Bahia. *Gen Mol Biol* 29(1):23-30.

- BARBUJANI, G.; MAGAGNI, A.; MINCH, E.; CAVALLI-SFORZA, L.L. (1997). An apportionment of human DNA diversity. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:4516–4519.
- BARCELOS, R.S.S.; GODINHO, N.M.O.; COELHO, A.S.G.; MARINHO-NETO, F.; GIGONZAC, M.A.D.; VIEIRA, T.C.; DALTON, G.C.; OLIVEIRA, S.F.; MOMOTUK, E.G. Allelic frequencies of nine STR *loci* in the population of Goiás – Brazil. *Forensic Sci Int. in press*.
- BARNHOLTZ-SLOAN, J.S.; PFAFF, C.L.; CHAKRABORTY, R.; LONG, J.C. (2005). Informativeness of the CODIS STR *Loci* for Admixture Analysis. *J Forensic Sci* 50(6):1322-1326.
- BARRETO, H.M.P. (1995). *O negro em Sergipe*. Aracaju. Universidade Federal de Sergipe. Museu de Antropologia.
- BATZER, M.A. & DEININGER, P.L. (2002). Alu repeats and human genomic diversity. *Nat Rev Genet* 3:370-380.
- BORTOLINI, M.C.; SALZANO, F.M.; THOMAS, M.G. ; STUART, S. ; NASANEN, S.P.K. ; BAU, C.H.D. ; HUTZ, M.H.; LAYRISSE, Z.; PETZL-ERLER, M.L.; TSUNETO, L.T. ; HILL, K. ; HURTADO, A.M. ; CASTRO-DE-GUERRA, D.; TORRES, M.M.; GROOT, H.; MICHALSKI, R. ; NYMADAWA, P.; BEDOYA, G. ; BRADMAN, N.; LABUDA, D.; RUIZ-LINARES, A. (2003). Y-Chromosome Evidence for Differing Ancient Demographic Histories in the Americas. *Am J Hum Genet* 73:524–539.
- BORTOLINI, M.C.; SALZANO, F.M.; ZAGO, M.A.; SILVA-JR, W.A.; WEIMER, T.A. (1997a). Genetic variability in two Brazilian ethnic groups: a comparison of mitochondrial and protein data. *Am J Phys Anthropol.* 103:147-156.
- BORTOLINI, M.C.; SILVA-JR, W.A.; GUERRA, D.C.; REMONATTO, G.; MIRANDOLA, R.; HUTZ, M.H.; WEIMER, T.A.; SILVA, M.C.B.O.; ZAGO, M.A.; SALZANO, F.M. (1999). African-derived South American Populations: A History of Symmetrical and Asymmetrical Matings According to Sex



- Revealed by Bi- and Uni-parental Genetic Markers. *Am J Hum Biol* 11:551-563.
- BORTOLINI, M.C.; SILVA-JR, W.A.; WEIMER, T.A.; ZAGO, M.A.; GUERRA, D.C.; SCHNEIDER, M.P.; LAYRISSE, Z.; CASTELLANO, H.M.; SALZANO, F.M. (1998). Protein and hypervariable tandem repeat diversity in eight African-derived South American populations: inferred relationships do not coincide. *Hum Biol* 70(3):443-461
- BORTOLINI, M.C.; WEIMER, T.A.; FRANCO, M.H.L.P.; SALZANO, F.M.; LAYRISSE, Z.; SCHNEIDER, H.; SCHNEIDER, M.P.C.; HARADA, M.L. (1992). Genetic studies in three American black populations. *Gene Geogr* 6:1-16.
- BORTOLINI, M.C.; ZAGO, M.A.; SALZANO, F.M.; SILVA-JR, W.A.; BONATTO, S.L.; SILVA, M.C.B.O.; WEINER, T.A. (1997b). Evolutionary and anthropological implications of mitochondrial DNA variation in African-Brazilian populations. *Hum Biol* 69:141-159.
- BRASILEIRO, S. & SAMPAIO, J.A.L. (2002). Sacutiaba e Riacho de Sacutiaba: uma comunidade negra rural no oeste baiano. Em *Quilombos: Identidade Étnica e Territorialidade*. O'Dwyer, E.C. Rio de Janeiro FGV/ABA. 83-108.
- BROOKES, A.J. (1999). The essence of SNPs. *Gene*. 234:177-186.
- BYDLOWSKI, S.P.; MOURA-NETO, R.S.; SOARES, R.P.S.; SILVA, R.; DEBES-BRAVO, A.A.; MORGANTI, L. (2003). Genetic data on 12 STRs (F13A01, F13B, FESFPS, LPL, CSF1PO, TPOX, TH01, vWA, D16S539, D7S820, D13S317, D5S818) from four ethnic groups of São Paulo, Brazil. *Forensic Sci Int* 135:67-71.
- CALLEGARI-JACQUES, S.M.; GRATTAPAGLIA, D.; SALZANO, F.M.; SALAMONI, S.P.; CROSSETTI, S.G.; FERREIRA, M.E.; HUTZ, M.H. (2003). Historical Genetics: Spatiotemporal Analysis of the formation of the Brazilian Population. *Am J Hum Biol* 15:824–834.

- CARVALHO-SILVA, D.R.; SANTOS, F.R.; ROCHA, J.; PENA, S.D.J. (2001) The Phylogeography of Brazilian Y-Chromosome Lineages. *Am J Hum Genet* 68:281–286.
- CAVALLI-SFORZA, L.L.; MENOZZI, P.; PIAZZA, A. (1994). *History and Geography of Human Genes*. Princeton. Princeton University Press. 413p.
- CENTRO DE CARTOGRAFIA APLICADA E INFORMAÇÃO GEOGRÁFICA DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – CIGA. (2005). Segundo Cadastro Municipal dos Territórios Quilombolas.
- CERDA-FLORES, R.M.; BUDOWLE, B.; JIN, L.; BARTON, A.A.; DEKA, R.; CHAKRABORTY, R. (2002). Maximum likelihood estimates of admixture in Northeastern Mexico using 13 short repeat *loci*. *Am J Hum Biol* 14:429-439.
- CHAKRABORTY, R. (1985). Gene identity in racial hybrids and estimation of admixture rates. Em: NEEL, J.V. & AHUJA, Y. *Genetic microdifferentiation in man and other animals*. Indian Anthropological Association. Delhi University, Delhi, pp 171-180.
- CHAKRABORTY, R.; KAMBOH, M.I.; FERRELL, R.E. (1991). Unique alleles in admixed populations: a strategy for determining hereditary population differences of disease frequencies. *Ethn Dis* 1:245-256.
- CHAKRABORTY, R.; KAMBOH, M.I.; NWANKWO, M.; FERRELL, R.E. (1992). Caucasian genes in American blacks: a new data. *Am J Hum Genet* 50:145-155.
- CHAKRAVARTI, A. (1999). Population genetics - making sense out of sequence. *Nat Genet* 21(Supl):56-60.
- CHAKRAVARTI, A. (2001). Single nucleotide polymorphisms: ... to a future of genetic medicine. *Nature* 409:822-823.
- CHIAVENATO, J.J. (1987). *O Negro no Brasil. Da Senzala à Guerra do Paraguai*. 3ªed. São Paulo. Ed. Brasiliense. 260p.

- COLLINS, F.S.; BROOKS, L.D.; CHAKRAVARTI, A. (1998). A DNA Polymorphism Discovery Resource for Research on Human Genetic Variation. *Genome Res* 8:1229-1231.
- COLLINS-SCHRAMM, H.E.; CHIMA, B.; MORII, T.; WAH, K.; FIGUEROA, Y.; CRISWELL, L.A.; HANSON, R.L.; KNOWLER, W.C., SILVA, G.; BELMONT, J.W.; SELDIN, M.F. (2004). Mexican American ancestry-informative markers: examination of population structure and marker characteristics in European Americans, Mexican Americans, Amerindians and Asians. *Hum Genet* 114:263-271.
- COLLINS-SCHRAMM, H.E.; PHILLIPS, C.M.; OPERARIO, D.J.; LEE, J.S.; WEBER, J.L.; HANSON, R.L.; KNOWLER, W.C.; COOPER, R.; LI, H.; SELDIN, M.F. (2002). Ethnic-Difference Markers for Use in Mapping by Admixture Linkage Disequilibrium. *Am J Hum Genet* 70:737-750.
- CONCEIÇÃO, M.M.; SALZANO, F.M.; FRANCO, M.H.L.P.; WEIMER, T.A.; KRIEGER, H. (1987). Demography, genetics, and race admixture in Aracaju, Brazil. *Rev Brazil Genet* 10:313-331.
- COTRIM, N.H.; AURICCHIO, M.T.B.M; VICENTE, J.P.; OTTO, P.A.; MINGRONI-NETTO, R.C. (2004). Polymorphic *Alu* Insertions in Six Brazilian African-Derived Populations. *Am J Hum Biol* 16:264-277.
- CURTIN, P.D. (1969). *The Atlantic Slave Trade: A Census*. University of Wisconsin Press, Madison.
- DALTON, G.C.; MAIA, F.A.S.; MENDES, C.R.B.O.; PAK, H.I.; PAULA, K.A.A.; TRINDADE-FILHO, A.; INGLÊZ, A.P.D.; OLIVEIRA, S.F. Allelic frequencies for 18 STR *loci* in the population of the Federal District of Brazil. *Forensic Sci Int in press*.
- DEAN, M.; STEPHENS, J.C.; WINKLER, C.; LOMB, D.A.; RAMSBURG, M.; BOAZE, R.; STEWART, C.; CHARBONNEAU, L.; GOLDMAN, D.; ALBAUGH, B.J.; GOEDERT, J.J.; BEASLEY, R.P.; HWANG, L.;

- BUCHBINDER, S.; WEEDON, M.; JOHNSON, P.A.; EICHELBERGER, M.; O'BRIEN, S.J. (1994). Polymorphic admixture typing in human ethnic populations. *Am J Hum Genet* 55:788-808.
- DEL PRIORE, M. & VENANCIO, R.P. (2004). *O Livro de Ouro da História do Brasil*. Ediouro, Rio de Janeiro. 450p.
- DELLALIBERA, E.; HAVRO, M.L.B.; KAJIHARA, M.S.K.; MAURICIO-DA-SILVA, L.; SILVA, R.S. (2004). Genetic analysis of 13 STR *loci* in the population from the State of Pernambuco, northeast Brazil. *Forensic Sci Int* 146:57-59.
- DÓRIA, S.Z.; CARVALHO, J.J. (1995). *Símbolos e projeções míticas da história*. Em *O quilombo do Rio das Rãs*, CARVALHO, J.J., EDUFBA. Salvador. 155-180.
- DORNELLES, C.L.; CALLEGARI-JACQUES, S.M.; ROBINSON, W.M.; WEIMER, T.A.; FRANCO, M.H.L.P.; HICKMANN, A.C.; GEIGER, C.J.; SALZANO, F.M. (1999). Genetics, Surnames, Grandparents' Nationalities, and Ethnic Admixture In Southern Brazil - Do the Patterns of Variation Coincide? *Genet Mol Biol* 22(2):151-161.
- DROBNIC, K. & BUDOWLE, B. (2000). The Analysis of Three Short Tandem Repeat (STR) *Loci* in the Slovene Population by Multiplex PCR. *J Forensic Sci* 45(4):893-895.
- EXCOFFIER, L.G.L. & SCHNEIDER, S. (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50.
- FERREIRA, M.E. & GRATTAPAGLIA, D. (1995). Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética. Brasília. EMBRAPA/CENARGEN. 220p.
- FRANCO, M.H.L.P.; WEIMER, T.A.; SALZANO, F.M. (1982). Blood polymorphisms and racial admixture in two Brazilian populations. *Am. J Phys Anthropol* 58:127-132.

FUNDAÇÃO CULTURAL PALMARES - <http://www.palmares.gov.br/> - Site acessado em outubro de 2005.

FUNDAÇÃO CULTURAL PALMARES (2000). Quilombos no Brasil. *Revista Palmares*. n.5.

FUNDAÇÃO NACIONAL DO ÍNDIO (FUNAI). – <http://www.funai.gov.br/funai.htm> - site acessado em outubro de 2005.

FUTUYMA, D.J. (1998). *Evolutionary Biology*. 3.ed. Sinauer, Sunderland, MA. 751pp.

GODINHO, N.M.O. (2005). *Análise de mistura gênica em populações humanas do Centro-Oeste (Brasil)*. Projeto de Pesquisa apresentado para o processo de qualificação de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade de Brasília. 54pp.

GÓES, A.C.S.; SILVA, D.A.; GILA, E.H.F.; SILVA, M.T.D.; PEREIRA, R.W.; CARVALHO, E.F. (2004). Allele frequencies data and statistic parameters for 16 STR loci—D19S433, D2S1338, CSF1PO, D16S539, D7S820, D21S11, D18S51, D13S317, D5S818, FGA, Penta E, TH01, vWA, D8S1179, TPOX, D3S1358—in the Rio de Janeiro population, Brazil. *Forensic Sci Int* 140:131-132.

GRATTAPAGLIA, D.; SCHMIDT, A.B.; COSTA E SILVA, C.; STRINGHER, C.; FERNANDES, A.P.; FERREIRA, M.E. (2001). Brazilian population database for the 13 STR loci of the AmpF/STR Profiler Plus and Cofiler multiplex kits. *Forensic Sci Int* 118:91-94.

GUERREIRO, J.F.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, A.K.C.; SANTO, E.F.M.; VALLINOTO, A.C.R.; CAYRES-VALLINOTO, I.M.V.; AGUIAR, G.F.S.; SANTOS, S.E.B. (1999). Genetic-demographic data from two Amazonian populations composed of descendants of African slaves: Pacoval and Curiau. *Genet Mol Biol* 22:163-167.

- HALDER, I. & SHRIVER, M.D. (2003). Measuring and using admixture to study the genetics of complex diseases. *Hum Genomics* 1(1):52-62.
- HANCOCK, J.M. (1999). Microsatellites and other simple sequences: genomic context and mutational mechanisms. Em *Microsatellites – Evolution and applications*, Goldstein, D.B. & Schlötterer, C. Oxford University Press. 1-9.
- HARTL, D.L. & CLARK, A.G. (1997). *Principles of population genetics*. 3ed. Sinauer. Canadá. 542pp.
- HUCKENBECK, W. & SCHEIL, H.G. The distribution of the human DNA-PCR polymorphisms. Universidade de Düsseldorf. (<http://www.uni-duesseldorf.de/WWW/MedFak/Serology/database.html>) - site acessado em outubro de 2005.
- HUTZ, M.H.; CALLEGARI-JACQUES, S.M., BORTOLINI, M.C.; SALZANO, F.M. (1999). *Variability in nDNA, DNAm and proteins: a test case*. Em *Genomic Diversity: Applications in Human Population Genetics*. New York. Kluwer Academic/Plenum Publishers. 23-32.
- HUTZ, M.H.; CALLEGARI-JACQUES, S.M.; ALMEIDA, S.E.M.; ARMBORST, T.; SALZANO, F.M. (2002). Low Levels of STRP Variability Are Not Universal in American Indians. *Hum Biol* 74(6):791-806.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - Censo 1991 e 2000. – <http://www.ibge.gov.br/home/estatística/população> - Site acessado em outubro de 2005.
- ISAKSSON, A.; LANDEGREN, U.; SYVÄNEN, A.C.; BORK, P.; STEIN, C.; ORTIGA, F.; BROOKES, A.J. (2000). Discovery, scoring and utilization of human single nucleotide polymorphisms: a multidisciplinary problem. *European Journal of Human Genetics*. 8:154–156
- KLEIN, H.S. (2002). As origens africanas dos escravos brasileiros. Em *Homo brasilis*, PENA, S.D.J. São Paulo. ed. Funpec.

- KRIEGER, H.; MORTON, N.E.; MI, M.P.; AZEVEDO, E.; FREIRE-MAIA, A.; YASUDA, N. (1965). Racial admixture in northeastern Brazil. *Ann Hum Genet* 29:113-125.
- KRUGLYAK, L. & NICKERSON, D.A. (2001). Variation is the spice of life. *Nat. Genet.* 27:234-236.
- LEITE, F.P.N.; MENEGASSI, F.J.; SCHWENGBER, S.P.; RAIMANN, P.E.; ALBUQUERQUE, T.K. (2003). STR data for 09 autosomal STR markers from Rio Grande do Sul (southern Brazil). *Forensic Sci Int* 132:223-224.
- MACEDO-SOUZA, L.I. (2003). Variabilidade molecular do cromossomo Y em remanescentes de quilombos do Vale do Ribeira. Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências. São Paulo. 95pp.
- McKEIGUE, P.M. (2005). Prospects for Admixture Mapping of Complex Traits. *Am J Hum Genet* 76:1–7.
- MEEGEN-SILVA, A. (1999). *Kalunga: Identidade Étnica de uma Comunidade Remanescente de Quilombos*. Dissertação de Mestrado em Antropologia Cultural Vrije Universiteit. Amsterdã. Holanda.
- MENDES-JUNIOR, C.T. (2001). *Freqüências alélicas de polimorfismos de DNA do tipo STR em indígenas da Amazônia brasileira*. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo
- MILLER, S.A.; DYKES, D.D.; POLESKY, H.F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 16(3):1215.
- MOURA, C. (1993). *Quilombos. Resistência ao escravismo*. Ed. Ática, São Paulo.
- MUNANGA, K. (1995). Origem e histórico do *quilombo* na África. *Revista USP.* 28:56-63.

- NEEL, J.V. (1973). "Private" genetic variants and the frequency of mutation among South American Indians. *Proc Natl Acad Sci USA* 70:3311-3315 .
- NEI, M. (1987). *Molecular population genetics*. Columbia University Press, New York.
- NEME, S. & ANDRADE, C.O. (1987). Quilombo: forma de resistência. Proposta histórico-arqueológica. Em *Insurreição Negra e Justiça*, HUBER, G. & SOUZA, F.B. Rio de Janeiro. OAB.
- NEVES, E.V. (1999). Sucessão dominial e escravidão na pecuária do Rio das Rãs. *Sítientibus*. 21:117-142.
- NOVION, H.P.I. (2003). *Sobrenomes e Demografia em quatro Comunidades Remanescentes de Quilombos Brasileiros*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal. Universidade de Brasília.
- OLIVEIRA, S.F.; PEDROSA, M.A.F.; RIBEIRO, G.G.B.L.; FERREIRA, L.B.; INGLÊZ, A.P.; RAMOS, G.T.; SOUSA, S.M.B.; KLATAU-GUIMARÃES, M.N.; SIMÕES A.L. (2003). Uni- and Bi-parental Analyses of the Genetic Contribution in an Afro-Descendent Community in Central Brazil. Em *Biología de poblaciones humanas: Diversidad, tiempo, espacio*. EGOICHEAGA, J.E. ed. Universidad de Oviedo. 609-616.
- OLIVEIRA, S.F.; RIBEIRO, G.G.B.L.; FERREIRA, L.B.; KLATAU-GUIMARÃES, M.N.; SIMÕES, A.L. (2005). History reconstruction of afro-derived isolated Brazilian populations: the contrast among female and male genetic contribution. Espanha. *Diversidad Biológica y Salud Humana*. *In press*.
- PALACÍN, L. & MORAES, M.A.S. (1994). *História de Goiás*. Universidade Católica de Goiás. Goiânia. 122 pp.
- PALACÍN, L. (1994). *O século do ouro em Goiás*. Universidade Católica de Goiás. Goiânia. 150pp.



- PARRA, F.C.; AMADO, R.C.; LAMBERTUCCI, J.R.; ROCHA, J.; ANTUNES, C.M.; PENA, S.D.J. (2003). Color and genomic ancestry in Brazilians. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:177-82.
- PEAKALL, R. & SMOUSE, P.E. (2005). *GenAlEx 6: Genetic Analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research*. Australian National University, Canberra, Australia. (<http://www.anu.edu.au/BoZo/GenAlEx/>)
- PEDROSA, M.A.F. & OLIVEIRA, S.F. (2004). Mixtura étnica en poblaciones afro-descendientes semi-aisladas de Brasil. Caracas. *Anais do VIII Congresso de la Asociacion Latinoamericana de Antropología Biológica*.
- PEDROSA, M.A.F.; ARAÚJO, F.F.; INGLÊZ, A.P.D.; KLAUTAU, M.N.; OLIVEIRA, S.F. Análise do polimorfismo de grupos sanguíneos, hemoglobina e haptoglobina em *Kalunga* (Goiás). (2002). Em: 48º Congresso Nacional de Genética, cd rom, Sociedade Brasileira de Genética, Águas de Lindóia, São Paulo.
- PENA, S.D.P. (2002) Retrato molecular do Brasil. Em *Homo brasiliis*, PENA, S.D.J. São Paulo. ed. Funpec.
- PFAFF, C.L., PARRA, E.J., BONILLA, C.; HIESTER, K.; MCKEIGUE, P.M.; KAMBOH, M.I.; HUTCHINSON, R.G.; FERRELL, R.E.; BOERWINKLE, E.; SHRIVER, M.D. (2001). Population structure in admixed populations: Effects of admixture dynamics on the pattern of linkage disequilibrium. *Am J Hum Genet.* 68:198-207.
- PFAFF, C.L.; BARNHOLTZ-SLOAN, J.; WAGNER, J.K.; LONG, J.C. (2004) Information on Ancestry From Genetic Markers. *Genetic Epidemiology* 26:305-315.
- PRITCHARD, J.K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. (2000). Inference of population structure using multi/locus genotype data. *Genetics.* 155(2):945-959.

- QUEIRÓS MATTOSO, K. (1982). *Ser escravo no Brasil*. São Paulo. ed. Brasiliense.
- RAMOS, G.T. (2005). *Estimativa de contribuição genética europeia e ameríndia em Kalunga (Goiás) e Rio das Rãs (Bahia), duas comunidades afro-descendentes brasileiras, utilizando marcadores população-específicos*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal. Universidade de Brasília.
- REED, T.E. (1973). Number of gene *loci* required for accurate estimation of ancestral population proportions in individual human hybrids. *Nature* 244:575-576.
- REIS, J.J. & GOMES, F. (1996) *Liberdade por um fio. História dos quilombos no Brasil*. São Paulo, Companhia das Letras, ed. Schwarcz.
- RIBEIRO, G.G.B.L. (2005). *Contribuição genética masculina, baseada em marcadores Y-específicos na constituição de quatro comunidades afrodescendentes brasileiras*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal. Universidade de Brasília.
- RIBEIRO-DOS-SANTOS, A.K.; PEREIRA, J.M.; LOBATO, M.R.L.; CARVALHO, B.M.; GUERREIRO, J.F.; BATISTA-DOS-SANTOS, S.E. (2002). Dissimilarities in the process of formation of Curiaú, a semi-isolated Afro-Brazilian population of the amazon Region. *Am J Hum Biol* 14:440-447.
- ROSENBERG, N.A.; LI, L.M.; WARD, R.; PRITCHARD, J.K. (2003). Informativeness of Genetic Markers for Inference of Ancestry. *Am J Hum Genet* 73:1402-1422.
- ROYCHOUDHURY, A.K. & NEI, M. (1988). *Human Polymorphic Genes World Distribution*. Oxford, Oxford University Press, 393 pp.
- ROZEN, S. & SKALETSKY, H. (2000). Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. Em *Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology*, KRAWETZ, S. & MISENER, S. Humana

- Press, Totowa, NJ, 365-386. ([http://www.genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3\\_www.cgi](http://www.genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3_www.cgi)).
- RUIZ LINARES, A. (1999). Microsatellites and the reconstruction of the history of human populations. Em *Microsatellites – Evolution and applications*, GOLDSTEIN, D.B. & SCHLÖTTERER, C., Oxford University Press. 183-197.
- SAITOU, N. (1995). A genetic affinity analysis of human populations. *Hum Evol* 10(1):17-33.
- SALZANO, F.M. & CALLEGARI-JACQUES, S.M. (1988). South American Indians: a case study in evolution. Em *Research Monographs on Human Population Biology*. n.6 Clarendon Press. Oxford.
- SANTOS, F.R. & TYLER-SMITH, C. (1996) Reading the human Y chromosome: the emerging DNA markers and human genetic history. *Braz J Genet* 19:665–670.
- SANTOS, S.E.B. & GUERREIRO, J.F. (1995). The indigenous contribution to the formation of the population of the Brazilian Amazon region. *Rev. Bras. Genet.* 18: 311-315.
- SANTOS, S.E.B.; SALZANO, F.M.; FRANCO, M.H.L.P.; FREITAS, M.J.M. (1983). Mobility, genetic markers, susceptibility to malaria, and race mixture in Manaus. *Brazil J Hum Evol* 12:373-381.
- SCHNEIDER, H.; GUERREIRO, J.F.; SANTOS, S.E.B.; WEIMER, T.A.; SCHNEIDER, M.P.C.; SALZANO, F.M. (1987) Isolate breakdown in Amazonian – The blacks of the Trombeta river. *Rev Bras Genet* 10:565-574.
- SCHRÖER, K.P.; SCHMITT, C.; STAAK, M. (2000). Analysis of the co-amplified STR *loci* D1S1656, D12S391 and D18S51: population data and validation study for a highly discriminating triplex-PCR. *Forensic Sci Int* 113:17-20.

- SCHÜLLER, L.; SALZANO, F.M.; FRANCO, M.H.L.P.; FREITAS, M.J.M.; MESTRINER, M.A.; SIMÕES, A.L. (1982). Demographic and blood genetic characteristics in an Amazonian population. *J Hum Evol* 11:549-558.
- SCHWARCZ, L.M. & REIS, L.V.S. (1996). *Negras Imagens*. São Paulo. EDUSP. 236pp.
- SHORT TANDEM REPEAT INTERNET DATABASE – STRBASE - [www.cstl.nist.gov/div831/strbase/](http://www.cstl.nist.gov/div831/strbase/) - Site acessado em janeiro de 2006.
- SHRIVER, M.D.; MEI, R.; PARRA, E.J.; SONPAR, V.; HALDER, I.; TISHKOFF, S.A.; SCHURR, T.G.; ZHADANOV, S.I.; OSIPOVA, L.P.; BRUTSAERT, T.D.; FRIEDLAENDER, J.; JORDE, L.B.; WATKINS, W.S.; BAMSHAD, M.J.; GUTIERREZ, G.; LOI, H.; MATSUZAKI, H.; KITTLES, R.A.; ARGYROPOULOS, G.; FERNANDEZ, J.R.; AKEY, J.M.; JONES, K.W. (2005). Large-scale SNP analysis reveals clustered and continuous patterns of human genetic variation. *Hum Genomics* 2(2):81-89.
- SHRIVER, M.D.; PARRA, E.J.; DIOS, S.; BONILLA, C.; NORTON, H.; JOVEL, C.; PFAFF, C.; JONES, C.; MASSAC, A.; CAMERON, N.; BARON, A.; JACKSON, T.; ARGYROPOULOS, G.; JIN, L.; HOGGART, C.J.; MCKEIGUE, P.M.; KITTLES, R.A. (2003) Skin pigmentation, biogeographical ancestry and admixture mapping. *Hum Genet* 112:387-399.
- SHRIVER, M.D.; SMITH, M.W.; JIN, L.; MARCINI, A.; AKEY, J.M.; DEKA, R.; FERRELL, R.E. (1997). Ethnic-affiliation estimation by use of population-specific DNA markers. *Am J Hum Genet* 60:957-964.
- SILVA, D.A.; CROUSE, C.A.; CHAKRABORTY, R.; GOES, A.C.S.; CARVALHO, E.F. (2004). Statistical analyses of 14 short tandem repeat *loci* in Brazilian populations from Rio de Janeiro and Mato Grosso do Sul states for forensic and identity testing purposes. *Forensic Sci Int* 139:173-176.

- SILVA, E.B.; DELLALIBERA, E.; SOUZA, M.; SILVA, R.S.; MAURICIO-DA-SILVA, L. (2002b) Population genetics of eight STR *loci* – CSF1PO, TPOX, TH01, D16S539, D7S820, D13S317, F13B and LPL in a Brazilian population from the State of Piauí, Northeast Brazil. *Forensic Sci Int* 126:90-92.
- SILVA, L.A.F.; PIMENTEL, B.J.; AZEVEDO, D.A.; SILVA, E.N.P.; SANTOS, S.S. (2002a). Allele frequencies of nine STR *loci*—D16S539, D7S820, D13S317, CSF1PO, TPOX, TH01, F13A01, FESFPS and vWA—in the population from Alagoas, northeastern Brazil. *Forensic Sci Int* 130:187-188.
- SILVA, R. & MOURA-NETO, R.S. (2004). Genetic diversity and admixture data on 11 STRs (F13B, TPOX, CSF1PO, F13A01, D7S820, LPL, TH01, vWA, D13S317, FESFPS, and D16S539) in a sample of Rio De Janeiro European-descendants population, Brazil. *Forensic Sci Int* 142:51-53.
- SILVA, V.S. (1997). *Do mocambo de Pau Preto ao Rio das Rãs: liberdade e escravidão na construção de identidade negra de um quilombo contemporâneo*. Dissertação de Mestrado em Sociologia. Universidade Federal da Bahia.
- SILVA-JR, W.A.; BORTOLINI, M.C.; MEYER, D.; SALZANO, F.M.; ELION, J.; KRISHNAMOORTHY, R.; SCHNEIDER, M.P.; DE GUERRA, D.C.; LAYRISSE, Z.; CASTELLANO, H.M.; WEIMER, T.D.; ZAGO, M.A. (1999). Genetic diversity of two African and sixteen South American populations determined on the basis of six hypervariable *loci*. *Am J Phys Anthropol* 109(4):425-437.
- SIMPLE INTERACTIVE STATISTICAL ANALYSIS (SISA - [home.clara.net/sisa/bonhlp.htm](http://home.clara.net/sisa/bonhlp.htm) - sítio acessado em março de 2006).
- SMITH, M.W.; PATTERSON, N.; LAUTENBERGER, J.A.; TRUELOVE, A.L.; MCDONALD, G.J.; WALISZEWSKA, A.; KESSING, B.D.; MALASKY, M.J.; SCAFE, C.; LE, E.; DE JAGER, P.L.; MIGNAULT, A.A.; YI, Z.; THE´, G.; ESSEX, M.; SANKALE, J.L.; MOORE, J.H.; POKU, K.; PHAIR, J.P.; GOEDERT, J.J.; VLAHOV, D.; WILLIAMS, S.M.; TISHKOFF, S.A.;

- WINKLER, C.A.; DE LA VEGA, F.M.; WOODAGE, T.; SNINSKY, J.J.; HAFNER, D.A.; ALTSHULER, D.; GILBERT, D.A.; O'BRIEN, S.J.; REICH, D. (2004). A High-Density Admixture Map for Disease Gene Discovery in African Americans. *Am J Hum Genet* 74(5):1001-1013.
- SOARES, A.A. (1995). *Kalunga: O direito de Existir. (Questões Antropológicas e Jurídicas Sobre Remanescentes de Quilombo)*. Goiânia. MinC/Fundação Cultural Palmares. 253 p.
- SOBRINO, B.; BRIÓN, M.; CARRACEDO, A. (2005). SNPS in forensic genetics: a review on SNP typing methodologies. *Forensic Sci Int.* 154:181-94.
- SOUSA, S.M.B. (2001). *Estrutura Genética de uma Comunidade Afro-Brasileira, São Gonçalo (BA)*. Dissertação de Mestrado em Genética de Populações. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo.
- SOUZA, I.R. & CULPI, L. (2005). Valongo, genetic studies on an isolated Afro-Brazilian community. *Genet Mol Biol* 28(3):402-406.
- STEPHENS, J.C.; SCHNEIDER, J.A.; TANGUAY, D.A.; CHOI, J.; ACHARYA, T.; STANLEY, S.E. (2001). Haplotype variation and linkage disequilibrium in 313 human genes. *Science* 293:489-493.
- STONEKING, M. (2001). Single nucleotide polymorphisms: From the evolutionary past... *Nature* 409:821-822.
- TANG, H.; PENG, J.; WANG, P.; RISCH, N.J. (2005). Estimation of Individual Admixture: Analytical and Study Design Considerations. *Genetic Epidemiology* 28:289-301.
- TWINE, F.W. (1998). *Racism in a racial democracy: the maintenance of white supremacy in Brazil*. London, Rutgers University Press.
- VALLINOTO, I.M.V.C. & VALLINOTO, A.C.R. (2003). Allele frequency distribution of six hypervariable *loci* (D1S80, APOB, D4S43, vW1, F13A and DYS19) in

- two African-Brazilian communities from the Amazon region. *Genet Mol Biol* 26(3):235-240.
- VALLONE, P.M. & BUTLER, J.M. (2004). AutoDimer: a screening tool for primer-dimer and hairpin structures. *Biotechniques* 37(2):226-31.
- VERAN, J.F. (2002). Quilombos and land rights in contemporary Brazil. *Cultural Survival Quarterly* Winter, 20-25.
- VILA REAL, R.N.S. (1996) *Cultura e Currículo: Um estudo da escola Kalunga*. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Goiás.
- WEBER, J.L.; DAVID, D.; HEIL, J.; FAN, Y.; ZHAO, C.; MARTH, G. (2002). Human Diallelic Insertion/Deletion Polymorphisms. *Am J Hum Genet* 71:854–862.
- WHITTLE, M.R.; ROMANO, N.L.; NEGREIROS, V.A.C. (2004). Updated Brazilian genetic data, together with mutation rates, on 19 STR loci, including D10S1237. *Forensic Sci Int* 139:207-210.
- ZAGO, M.A.; FIGUEIREDO, M.S.; SATIE, H.O. (1992). Bantu  $\beta^s$  cluster haplotype predominates among brazilian blacks. *Am J Phys Anthropol* 88:295-298.
- ZAGO, M.A.; SILVA-JR, W.A.; TAVELLA, M.H.; SANTOS, S.E.B.; GUERREIRO, J.F.; FIGUEIREDO, M.S. (1996). Interpopulational and intrapopulational genetic diversity of Amerindians as revealed by six variable number of tandem repeats. *Hum Hered* 46:274-289.

**ANEXO 1:** Frequências alélicas para os *loci* microsatélites das populações urbanas utilizadas para a comparação com as populações remanescentes de quilombos.

**Marcador CSF1PO**

População	N	Alelos														Referência
		6	7	8	9	10	11	12	13	14	15					
IPDNA	569	0,0018	0,0132	0,0281	0,0290	0,2513	0,2900	0,3304	0,0501	0,0009	1					
GO	200	0,0000	0,0175	0,0150	0,0325	0,2650	0,3000	0,3000	0,0550	0,0150	2					
MS	208	0,0000	0,0290	0,0100	0,0240	0,2500	0,3270	0,2880	0,0720	0,0000	3					
SP euro derivado	576	0,0000	0,0120	0,0170	0,0300	0,2670	0,2970	0,2600	0,1060	0,0090	4					
SP mulato	402	0,0000	0,0270	0,0350	0,0550	0,2340	0,2640	0,2610	0,0990	0,0170	5					
SP afro derivado	628	0,0000	0,0060	0,0530	0,0560	0,1990	0,2450	0,2770	0,1150	0,0300	6					
SP asiático	106	0,0090	0,0090	0,0090	0,0290	0,1790	0,2830	0,2450	0,1890	0,0190	7					
PE	872	0,0000	0,0170	0,0180	0,0190	0,3060	0,2690	0,3130	0,0480	0,0090	8					
RJ	300	0,0010	0,0260	0,0160	0,0200	0,2720	0,2780	0,3200	0,0600	0,0060	9					
Brasil	771	0,0030	0,0100	0,0120	0,0180	0,2630	0,3070	0,3260	0,0540	0,0070	10					
AL	598	0,0010	0,0110	0,0120	0,0250	0,2820	0,2740	0,3320	0,0550	0,0080	11					
PI	200	0,0000	0,0150	0,0300	0,0590	0,3120	0,2400	0,2920	0,0400	0,0100	12					
RJ euro descendente	186	0,0000	0,0080	0,0110	0,0270	0,2750	0,3000	0,2900	0,0860	0,0030	13					
Brasil	21800	0,0001	0,0089	0,0140	0,0220	0,2700	0,2900	0,3190	0,0670	0,0080	14					

1 – Dalton et al., *in press*; 2 – Barcelos et al., *in press*; 3 – Silva et al., 2004; 4,5,6,7 – Bydlowski et al., 2003; 8 – Dellalibera et al., 2004; 9 – Góes et al., 2004; 10 – Grattapaglia et al., 2001; 11- Silva et al., 2002a; 12- Silva et al., 2002b; 13 – Silva & Moura-Neto, 2004; 14 – Whittle et al., 2004.



**Marcador TPOX**

População	N	Alelos														Referência
		5	6	7	8	9	10	11	12	13	14					
IPDNA	915	0,0000	0,0191	0,0077	0,4454	0,1246	0,0623	0,2902	0,0497	0,0011	0,0000	1				
GO	200	0,0000	0,0050	0,0050	0,5000	0,1150	0,0825	0,2475	0,0450	0,0000	0,0000	2				
MS	208	0,0000	0,0100	0,0000	0,4360	0,0930	0,0830	0,3580	0,0150	0,0050	0,0000	3				
SP euro derivado	604	0,0000	0,0130	0,0080	0,4500	0,1310	0,0790	0,2550	0,0570	0,0070	0,0000	4				
SP mulato	430	0,0000	0,0210	0,0330	0,3840	0,1720	0,0880	0,2420	0,0490	0,0110	0,0000	5				
SP afro derivado	658	0,0000	0,0420	0,0260	0,3210	0,1810	0,0960	0,2400	0,0830	0,0110	0,0000	6				
SP asiático	108	0,0000	0,0090	0,0370	0,4350	0,1020	0,0460	0,2500	0,1020	0,0190	0,0000	7				
PE	872	0,0000	0,0190	0,0060	0,4440	0,1320	0,0650	0,2880	0,0460	0,0000	0,0000	8				
RJ	300	0,0000	0,0250	0,0030	0,4650	0,1480	0,0560	0,2620	0,0400	0,0010	0,0000	9				
Brasil	767	0,0010	0,0110	0,0030	0,4450	0,1260	0,0740	0,2910	0,0480	0,0010	0,0000	10				
AL	598	0,0000	0,0160	0,0040	0,4730	0,1040	0,0530	0,2960	0,0500	0,0040	0,0000	11				
PI	200	0,0000	0,0100	0,0120	0,4360	0,1230	0,0620	0,2980	0,0590	0,0000	0,0000	12				
RJ euro descendente	227	0,0000	0,0110	0,0040	0,4670	0,1100	0,0700	0,2750	0,0590	0,0040	0,0000	13				
Brasil	21884	0,0009	0,0122	0,0040	0,4770	0,1167	0,0650	0,2762	0,0461	0,0017	0,0002	14				

1 – Dalton et al., *in press*; 2 – Barcelos et al., *in press*; 3 – Silva et al., 2004; 4,5,6,7 – Bydlowski et al., 2003; 8 – Dellalibera et al., 2004; 9 – Góes et al., 2004; 10 – Grattapaglia et al., 2001; 11- Silva et al., 2002a; 12- Silva et al., 2002b; 13 – Silva & Moura-Neto, 2004; 14 – Whittle et al., 2004.

**Marcador THO1**

População	N	Alelos										Referência
		5	6	7	8	9	9,3	10	11			
IPDNA	912	0,0000	0,1952	0,2697	0,1721	0,1409	0,2155	0,0055	0,0011			1
GO	200	0,0030	0,1830	0,2430	0,1210	0,1550	0,2900	0,0050	0,0000			2
MS	208	0,0050	0,2450	0,2250	0,1620	0,1720	0,1860	0,0050	0,0000			3
SP euro derivado	616	0,0100	0,2090	0,2150	0,1500	0,1700	0,2220	0,0210	0,0030			4
SP mulato	440	0,0000	0,2090	0,2930	0,1500	0,1640	0,1800	0,0040	0,0000			5
SP afro derivado	662	0,0000	0,1780	0,3100	0,1890	0,1630	0,1300	0,0200	0,0100			6
SP asiático	114	0,0000	0,2370	0,3420	0,0610	0,2810	0,0610	0,0180	0,0000			7
PE	854	0,0000	0,2100	0,2530	0,1550	0,1660	0,2040	0,0120	0,0000			8
RJ	300	0,0010	0,1980	0,2580	0,1870	0,1430	0,2100	0,0030	0,0000			9
Brasil	695	0,0000	0,2060	0,2220	0,1240	0,1760	0,2580	0,0140	0,0000			10
AL	598	0,0010	0,2230	0,2330	0,1470	0,1700	0,2080	0,0180	0,0000			11
PI	200	0,0000	0,1870	0,2830	0,1510	0,1650	0,2090	0,0050	0,0000			12
RJ euro descendente	262	0,0040	0,2100	0,2180	0,1350	0,1710	0,2180	0,0440	0,0000			13
Brasil	19308	0,0009	0,2252	0,2141	0,1392	0,1742	0,2333	0,0127	0,0004			14

1 – Dalton et al., *in press*; 2 – Barcelos et al., *in press*; 3 – Silva et al., 2004; 4,5,6,7 – Bydlowski et al., 2003; 8 – Dellalibera et al., 2004; 9 – Goes et al., 2004; 10 – Grattapaglia et al., 2001; 11- Silva et al., 2002a; 12- Silva et al., 2002b; 13 – Silva & Moura-Neto, 2004; 14 – Whittle et al., 2004.

**Marcador D16S539**

População	N	Alelos														Referência
		6	7	8	9	10	11	12	13	14	15					
IPDNA	517	0,0000	0,0000	0,0232	0,1770	0,1025	0,2930	0,2621	0,1170	0,0242	0,0010	1				
GO	200	0,0000	0,0000	0,0400	0,1250	0,1130	0,3050	0,2340	0,1700	0,0130	0,0000	2				
MS	208	0,0000	0,0290	0,1630	0,0530	0,2980	0,2600	0,1490	0,0480	0,0000	0,0000	3				
SP euro derivado	584	0,0050	0,0100	0,0410	0,1220	0,1200	0,2550	0,2500	0,1430	0,0400	0,0140	4				
SP mulato	418	0,0000	0,0000	0,0600	0,1600	0,1340	0,2600	0,2000	0,1540	0,0300	0,0020	5				
SP afro derivado	638	0,0020	0,0020	0,0520	0,1610	0,1480	0,2800	0,2000	0,1200	0,0300	0,0050	6				
SP asiático	112	0,0000	0,0000	0,0400	0,2410	0,2100	0,2100	0,1900	0,0790	0,0300	0,0000	7				
PE	874	0,0000	0,0000	0,0150	0,1570	0,0930	0,3030	0,2350	0,1700	0,0260	0,0010	8				
RJ	300	0,0000	0,0000	0,0250	0,1980	0,0690	0,2820	0,2350	0,1610	0,0300	0,0000	9				
Brasil	770	0,0010	0,0000	0,0230	0,1590	0,0840	0,2950	0,2500	0,1560	0,0290	0,0030	10				
AL	598	0,0020	0,0000	0,0170	0,1510	0,0980	0,3110	0,2470	0,1440	0,0270	0,0030	11				
PI	200	0,0000	0,0000	0,0124	0,1792	0,1045	0,2736	0,2736	0,1418	0,0149	0,0000	12				
RJ euro descendente	175	0,0000	0,0000	0,0370	0,1400	0,0770	0,3140	0,2690	0,1260	0,0340	0,0030	13				
Brasil	21498	0,0004	0,0001	0,0218	0,1489	0,0791	0,2922	0,2686	0,1622	0,0253	0,0015	14				

1 – Dalton *et al.*, *in press*; 2 – Barcelos *et al.*, *in press*; 3 – Silva *et al.*, 2004; 4,5,6,7 – Bydlowski *et al.*, 2003; 8 – Dellalibera *et al.*, 2004; 9 – Góes *et al.*, 2004; 10 – Grattapaglia *et al.*, 2001; 11- Silva *et al.*, 2002a; 12- Silva *et al.*, 2002b; 13 – Silva & Moura-Neto, 2004; 14 – Whittle *et al.*, 2004.

**Marcador D7S820**

População	N	Alelos														Referência
		6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16				
IPDNA	516	0,0019	0,0097	0,1754	0,1143	0,2810	0,2355	0,1521	0,0291	0,0010	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1
GO	200	0,0000	0,0180	0,1730	0,1180	0,2900	0,2580	0,1250	0,0150	0,0030	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	2
MS	208	0,0000	0,0240	0,1590	0,0960	0,2690	0,2450	0,1730	0,0290	0,0050	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	3
SP euro derivado	572	0,0030	0,0440	0,1170	0,1820	0,2410	0,1980	0,1700	0,0240	0,0190	0,0020	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	4
SP mulato	412	0,0050	0,0270	0,1720	0,1070	0,2530	0,2060	0,1820	0,0340	0,0120	0,0020	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	5
SP afro derivado	618	0,0070	0,0320	0,1550	0,1440	0,2820	0,2020	0,1460	0,0290	0,0030	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	6
SP asiático	112	0,0180	0,0360	0,0890	0,0620	0,3660	0,2770	0,1250	0,0270	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	7
PE	874	0,0000	0,0170	0,1480	0,1120	0,2860	0,2280	0,1690	0,0350	0,0050	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	8
RJ	300	0,0000	0,0200	0,1870	0,0960	0,2980	0,2000	0,1560	0,0380	0,0050	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	9
Brasil	791	0,0000	0,0120	0,1620	0,1240	0,2590	0,2560	0,1630	0,0210	0,0030	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	10
AL	598	0,0010	0,0110	0,1380	0,1250	0,2680	0,2490	0,1770	0,0280	0,0030	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	11
PI	200	0,0000	0,0000	0,0896	0,1095	0,0347	0,2463	0,3557	0,1144	0,0498	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	12
RJ euro descendente	182	0,0050	0,0470	0,1290	0,1570	0,2200	0,2220	0,1760	0,0300	0,0140	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	13
Brasil	32130	0,0002	0,0173	0,1430	0,1207	0,2742	0,2475	0,1628	0,0308	0,0033	0,0003	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	14
RS	98	0,0000	0,0102	0,1582	0,1531	0,2806	0,2041	0,1633	0,0255	0,0050	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	15

1 – Dalton *et al.*, *in press*; 2 – Barcelos *et al.*, *in press*; 3 – Silva *et al.*, 2004; 4,5,6,7 – Bydłowski *et al.*, 2003; 8 – Dellalibera *et al.*, 2004; 9 – Goes *et al.*, 2004; 10 – Grattapaglia *et al.*, 2001; 11- Silva *et al.*, 2002a; 12- Silva *et al.*, 2002b; 13 – Silva & Moura-Neto, 2004; 14 – Whittle *et al.*, 2004; 15 - Leite *et al.*, 2003

**Marcador D13S317**

População	N	Alelos														Referência
		6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16				
IPDNA	521	0,0019	0,0010	0,0902	0,0806	0,0480	0,2831	0,3109	0,1392	0,0441	0,0010	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1
GO	200	0,0000	0,0000	0,1280	0,0780	0,0530	0,3130	0,2650	0,1250	0,0350	0,0030	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	2
MS	208	0,0000	0,0000	0,0770	0,0910	0,0240	0,3220	0,3080	0,1300	0,0480	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	3
SP euro derivado	558	0,0000	0,0020	0,1180	0,0910	0,0410	0,2560	0,2870	0,1490	0,0430	0,0130	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	4
SP mulato	398	0,0000	0,0100	0,0880	0,0900	0,0580	0,3090	0,2540	0,1460	0,0400	0,0050	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	5
SP afro derivado	596	0,0000	0,0000	0,0690	0,0620	0,0670	0,2690	0,3170	0,1510	0,0550	0,0100	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	6
SP asiático	112	0,0000	0,0540	0,2590	0,1430	0,0710	0,2140	0,2230	0,0180	0,0180	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	7
PE	868	0,0000	0,0000	0,0790	0,0820	0,0560	0,3380	0,3040	0,1030	0,0360	0,0020	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	8
RJ	300	0,0000	0,0000	0,0760	0,0780	0,0650	0,2980	0,3220	0,1300	0,0310	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	9
Brasil	784	0,0000	0,0000	0,1130	0,0950	0,0550	0,2980	0,2740	0,1140	0,0480	0,0030	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	10
AL	598	0,0000	0,0010	0,0840	0,0890	0,0590	0,2910	0,3080	0,1300	0,0380	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	11
PI	200	0,0000	0,0274	0,1866	0,0820	0,3109	0,2214	0,1418	0,0274	0,0025	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	12
RJ euro descendente	195	0,0000	0,0030	0,1040	0,0360	0,0520	0,3420	0,2910	0,1300	0,0390	0,0030	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	13
Brasil	21394	0,0001	0,0007	0,1060	0,0858	0,0539	0,3052	0,2857	0,1177	0,0442	0,0008	0,0001	0,0000	0,0000	0,0000	14
RS	104	0,0000	0,0000	0,1010	0,0962	0,0577	0,2596	0,2740	0,1730	0,0385	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	15

1 – Dalton et al., *in press*; 2 – Barcelos et al., *in press*; 3 – Silva et al., 2004; 4,5,6,7 – Bydłowski et al., 2003; 8 – Dellalibera et al., 2004; 9 – Góes et al., 2004; 10 – Grattapaglia et al., 2001; 11- Silva et al., 2002a; 12- Silva et al., 2002b; 13 – Silva & Moura-Neto, 2004; 14 – Whittle et al., 2004; 15 - Leite et al., 2003

**Marcador D5S818**

População	N	Alelos														Referência
		6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16				
IPDNA	515	0,0000	0,0165	0,0272	0,0291	0,0631	0,3214	0,3757	0,1524	0,0117	0,0029	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1
MS	208	0,0000	0,0240	0,0240	0,0240	0,0670	0,3650	0,3610	0,1150	0,0190	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	3
SP euro derivado	580	0,0000	0,0100	0,0050	0,0430	0,0620	0,3380	0,3350	0,1760	0,0280	0,0030	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	4
SP mulato	400	0,0000	0,0250	0,0270	0,0350	0,0580	0,3320	0,3580	0,1550	0,0100	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	5
SP afro derivado	610	0,0000	0,0180	0,0310	0,0330	0,0620	0,3020	0,3430	0,1850	0,0250	0,0010	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	6
SP asiático	112	0,0000	0,0090	0,0090	0,0710	0,2140	0,2860	0,2770	0,1250	0,0090	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	7
RJ	300	0,0010	0,0150	0,0150	0,0260	0,0520	0,3280	0,3700	0,1780	0,0130	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	9
Brasil	781	0,0000	0,0160	0,0120	0,0290	0,0630	0,3280	0,3680	0,1690	0,0130	0,0020	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	10
Brasil	21604	0,0001	0,0172	0,0125	0,0383	0,0643	0,3402	0,3469	0,1660	0,0124	0,0013	0,0008	0,0008	0,0008	0,0008	14
RS	104	0,0000	0,0144	0,0096	0,0481	0,0865	0,3702	0,3365	0,1058	0,0192	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	15

1 – Dalton et al., *in press*; 3 – Silva et al., 2004; 4,5,6,7 – Bydlowski et al., 2003; 9 – Góes et al., 2004; 10 – Grattapaglia et al., 2001; 14 – Whittle et al., 2004; 15 - Leite et al., 2003.

**Marcador vWA**

População	N	Alelos																			Referência
		11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22								
IPDNA	915	0,0038	0,0011	0,0044	0,0760	0,1344	0,2760	0,2661	0,1677	0,0503	0,0164	0,0038	0,0000	1							
GO	200	0,0050	0,0000	0,0030	0,0930	0,1700	0,2100	0,2800	0,1760	0,0480	0,0100	0,0050	0,0000	2							
MS	208	0,0000	0,0000	0,0100	0,0880	0,1130	0,2750	0,2750	0,1400	0,0740	0,0200	0,0050	0,0000	3							
SP euro derivado	600	0,0070	0,0000	0,0130	0,0750	0,1280	0,2480	0,2780	0,1650	0,0680	0,0180	0,0000	0,0000	4							
SP mulato	424	0,0050	0,0000	0,0190	0,0570	0,1720	0,2500	0,2380	0,1840	0,0560	0,0190	0,0000	0,0000	5							
SP afro derivado	638	0,0080	0,0000	0,0160	0,0920	0,1960	0,2430	0,2510	0,1250	0,0490	0,0170	0,0030	0,0000	6							
SP asiático	104	0,0000	0,0000	0,0100	0,2020	0,0580	0,2400	0,2310	0,1540	0,0860	0,0190	0,0000	0,0000	7							
PE	874	0,0070	0,0000	0,0070	0,0740	0,1520	0,2560	0,2700	0,1580	0,0610	0,0130	0,0010	0,0010	8							
RJ	300	0,0080	0,0000	0,0060	0,0830	0,1620	0,2430	0,2550	0,1650	0,0600	0,0150	0,0030	0,0000	9							
Brasil	781	0,0020	0,0000	0,0060	0,0840	0,1230	0,2460	0,2740	0,1840	0,0610	0,0190	0,0010	0,0000	10							
AL	598	0,0040	0,0010	0,0010	0,0590	0,1640	0,2780	0,2560	0,1700	0,0530	0,0120	0,0020	0,0000	11							
RJ euro descendente	201	0,0000	0,0000	0,0120	0,0920	0,1190	0,2640	0,2840	0,1470	0,0670	0,0150	0,0000	0,0000	13							
Brasil	36466	0,0023	0,0004	0,0044	0,0870	0,1253	0,2566	0,2664	0,1746	0,0680	0,0135	0,0015	0,0001	14							
RS	103	0,0150	0,0000	0,0000	0,0600	0,1410	0,0100	0,2790	0,2800	0,1610	0,0540	0,0000	0,0000	15							

1 – Dalton *et al.*, *in press*; 2 – Barcelos *et al.*, *in press*; 3 – Silva *et al.*, 2004; 4,5,6,7 – Bydlowski *et al.*, 2003; 8 – Dellalibera *et al.*, 2004; 9 – Goes *et al.*, 2004; 10 – Grattapaglia *et al.*, 2001; 11- Silva *et al.*, 2002a; 13 – Silva & Moura-Neto, 2004; 14 – Whittle *et al.*, 2004; 15 - Leite *et al.*, 2003