

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UnB
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**GENÉTICA DE POPULAÇÕES E REINTERPRETAÇÃO DA
HISTÓRIA DEMOGRÁFICA DE REMANESCENTES DE
QUILOMBOS: UMA COMPARAÇÃO ENTRE TRÊS
POPULAÇÕES DO NORDESTE BRASILEIRO**

Carlos Eduardo Guerra Amorim
Brasília, 2009

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UnB
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**GENÉTICA DE POPULAÇÕES E REINTERPRETAÇÃO DA
HISTÓRIA DEMOGRÁFICA DE REMANESCENTES DE
QUILOMBOS: UMA COMPARAÇÃO ENTRE TRÊS
POPULAÇÕES DO NORDESTE BRASILEIRO**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Carlos Eduardo Guerra Amorim

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Silviene Fabiana de Oliveira

Brasília, 2009

Carlos Eduardo Guerra Amorim

**GENÉTICA E REINTERPRETAÇÃO DA HISTÓRIA
DEMOGRÁFICA DE REMANESCENTES DE QUILOMBOS**

Prof^a. Dr^a. Silviene Fabiana de Oliveira

Presidente da Banca Examinadora

GEM – IB – UnB

Prof. Dr. Celso Teixeira Mendes Júnior

Examinador Externo

USP – Ribeirão Preto

Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Menezes Almeida Santos

Examinadora Interna

GEM – IB – UnB

Prof^a. Dr^a. Maria de Nazaré Klautau-Guimarães

Membro Suplente

UnB

Brasília, 13 de Fevereiro de 2009

DEDICO este trabalho ao meu avô Félix Amorim.

AGRADECIMENTOS

São muitas as pessoas às quais eu gostaria de agradecer por terem me ajudado ao longo desses anos na realização desta dissertação de mestrado. Obrigado a todos aqueles que contribuíram com pequenos e grandes estímulos e também aos que dedicaram parte de suas vidas com ensinamentos essenciais para o meu crescimento.

Agradeço à minha mãe e ao meu pai, por me ajudarem ao longo de todo o meu mestrado, me trazendo tranquilidade, estímulo e segurança, por estarem do meu lado e me apoiarem nessa escolha.

Agradeço ao restante da minha família pela atenção e estímulo.

Agradeço à minha orientadora Silviene Oliveira, por ter ajudado e confiado em mim. Obrigado pelo seu carinho e cuidado!

Agradeço ao Rogério, por estar ao meu lado em todos os momentos de dificuldade e de sucesso, por ter me ajudado em cada detalhe da realização dessa dissertação, por estar ao meu lado durante a defesa e sua preparação, por me trazer tranquilidade nos momentos em que mais precisei e por todo o carinho.

Agradeço à Carol, por ter me acompanhando desde meus primeiros passos na genética e na biologia, ter colaborado em todos os momentos difíceis, por ter me ensinado boa parte do que sei hoje e por ter despertado o meu interesse pela evolução humana.

Gostaria de agradecer à Mila e Neide, por serem pacientes desde o início do meu aprendizado e por terem me trazido confiança para seguir adiante. Não poderia esquecer a Arcanjo, a Bianca, o Gabriel e a Rafaela, que nos últimos meses de correria, me ajudaram a finalizar este trabalho. Vocês foram muito importantes nesse momento!

Obrigado a todos os meus amigos do laboratório: Arthur, Eliza, Ana, Eduardo, Penha, Graciana, Gustavo, Guilherme, Diana, Flávia, Cassinha, Angélica, Gabriel Tenório e todos aqueles que colaboraram cedendo seus dados para este estudo.

Agradeço à Clarissa por ter me guiado durante o início desse caminho e por ter compartilhado tantas alegrias.

Obrigado a todos os meus amigos que foram importantes ao longo desse caminho: Isolda, Marianna, Domitila, Patrícia, Thiago, Ivan, Faslala, Lula, Mauro, Juliana(s), Débora, Silvija, Denise, Clarice, Gabriel, Édi, Alisson, Diego, Beth, Morena, Josenilda, Deborah e André.

Muito obrigado à Emily pelos auxílios com a tradução.

Gostaria de agradecer aos professores do Instituto de Ciências Biológicas da UnB, em especial às professoras Maria de Nazaré Klautau-Guimarães, Elizabeth Schwartz, Rosana Tidon, Nilda Diniz e Zulmira Lacava e ao professor César Grisólia.

Agradeço aos professores Celso Teixeira Mendes Jr. e Maria de Fátima Menezes Almeida Santos, membros da banca examinadora por dedicarem seu tempo para o meu aprendizado e aperfeiçoamento.

Agradeço aos professores Jeanine Felfili e Paulo Ernane, por terem participado de momentos essenciais na minha formação.

Agradeço a Tais e Antônio Marcos por todo o suporte, responsabilidade e presteza.

Muito obrigado ao pessoal do GEM: Eduardo, Michel e Manuel.

Agradeço às instituições de fomento CNPq e FINATEC.

Agradeço ao Dr. Marcelo R. Luizon e à Dra. Gilvânia Feijó pelo suporte com materiais de laboratório.

À Profa. Kiyoko Sandes e ao Prof. Aguinaldo Luiz Simões pela atenção dada na qualificação.

Agradeço a todos aqueles que contribuíram em algum momento deste caminho.

Muito obrigado!

Articular historicamente o passado não significa conhecê-lo “como de fato foi”. Significa apropriar-se de uma reminiscência, tal como ela relampeja no momento de um perigo.

Walter Benjamin, 1940
Sobre o conceito de história.

RESUMO

Os remanescentes de quilombos são sociedades multiétnicas com origem relacionada à presença do escravo africano no Brasil. A história demográfica dessas populações tem sido estudada a partir de fontes históricas, demográficas, etnográficas e genéticas. No presente trabalho, buscou-se avaliar a origem e o impacto das imigrações recentes e antigas sobre a constituição genética dos remanescentes de quilombos de Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba. Para tanto, foram analisados parâmetros demográficos (sexo, estado matrimonial e local de nascimento) e genéticos (frequências alélicas e genotípicas de 16 marcadores genéticos autossômicos). Os dados genéticos gerados para cada população foram utilizados na comparação entre as suas proporções de nativos e imigrantes, como também na comparação dessas a outras populações descritas na literatura. Foi encontrada participação considerável de imigrantes em todas as comunidades, que em sua maioria eram mulheres, sendo a contração de matrimônio uma das principais causas para esse quadro. Com relação aos dados genéticos, não foram encontradas diferenças significativas entre as parcelas de imigrantes e nativos. Houve predomínio de casamentos endogâmicos, porém isso não foi suficiente para gerar alterações substanciais na estrutura genética das populações. Os resultados indicam a existência de fluxo gênico contínuo para essas populações. Além disso, a contribuição parental africana foi a predominante, sendo que Mocambo apresentou o quadro mais complexo de mistura, tendo a menor participação dessa parental (52,2%). É possível que em algum momento de suas histórias essas populações estivessem isoladas, porém, a barreira ao fluxo gênico nos dias de hoje já está bastante dissolvida. O impacto da imigração foi baixo, o que deve estar relacionado à homogeneização em processo, ocasionada pelo fluxo gênico operante ao longo de grande parte da história dessas populações. Além disso, os dados encontrados corroboram outras fontes históricas, que indicam a participação predominante de africanos e miscigenação com povos de outras origens durante a formação destas comunidades.

Palavras-chave: migração, fluxo gênico, casamento, AIM, mistura genética.

ABSTRACT

The *remanescentes de quilombos* are multiethnic societies whose origins are related to the presence of African slaves in Brazil. The demographic history of these populations has been studied using historical, demographic, ethnographic and genetic sources. The present work aims to evaluate the origin and the impact of recent and ancient waves of immigration upon the genetic constitution of the *remanescentes de quilombos* of *Mocambo*, *Rio das Rãs* and *Sacutiaba*. For this purpose, demographic and genetic parameters were analyzed. The demographic parameters are sex, matrimonial status and place of birth, and the genetic parameters are allelic and genotypic frequencies of 16 autosomal genetic markers. The genetic data generated for each population were used in a comparison between the proportions of natives and immigrants in each population, as well to eight Brazilian admixed populations and the parental groups of Africans, Amerindians and Europeans. A considerable proportion of immigrants was observed in all communities, most of which were women, indicating that marriage is one of the primary factors shaping the current picture. As for the genetic data, no significant differences were found between the proportions of immigrants and natives. A predominance of endogamic marriages was found, although it was not sufficient to substantially alter the genetic structure of the populations. The results indicate the existence of continuous gene flow in these populations, with the predominant genetic contribution being the African one in all analyses. *Mocambo* showed the most complex admixture estimates, with the lowest African proportion (52.2%). It is possible that at some point in their histories, these populations were isolated. However, the barrier to gene flow nowadays has already been quite dissolved. The impact of immigration was low, which may be related to the homogenization caused by the active gene flow during most of the history of these populations. Furthermore, the data corroborate other historical sources which indicate the prominence of Africans and admixture between Africans and other peoples during the formation of these communities.

Key words: migration, gene flow, marriage, AIM, genetic admixture.

ABREVIATURAS

APS	Persulfato de amônia
BAR	Barra – Remanescente de Quilombo
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DF	Distrito Federal
DH	Déficit de Heterozigotos
DL	Desequilíbrio de Ligação
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucléico
dNTP	Dideoxi-nucleotídeo
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EH	Excesso de Heterozigotos
EHW	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
FGC	Modelo de Fluxo Gênico Contínuo
H ₂ O	Água
HI	Modelo de Hibridação Seguida de Isolamento
IB	Instituto de Ciências Biológicas
Indel	Polimorfismo de Inserção-Deleção
JEQ	Cidade de Jequié – BA
MOC	Mocambo – Remanescente de Quilombo
NaCl	Cloreto de sódio
PCR	Reação em cadeia da polimerase
RFLP	Polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição
RIO	Rio das Rãs - Remanescente de Quilombo
SAC	Riacho de Sacutiaba e Sacutiaba – Rem. de Quilombo
SAG	Santo Antônio do Guaporé – Remanescente de Quilombo
SAL	Cidade de Salvador – BA
SGO	São Gonçalo – Remanescente de Quilombo
SNP	Polimorfismo de Nucleotídeo Único
STI	Santiago do Iguape – Remanescente de Quilombo
TBE	Tampão tris-borato
TEMED	N,N,N',N'-Tetrametiletilenodiamina
UnB	Universidade de Brasília
VAL	Valongo – Remanescente de Quilombo

SUMÁRIO DE TABELAS

Tabela 1: Localização de remanescentes de quilombos e populações urbanas brasileiras utilizadas nas análises comparativas do presente trabalho	17
Tabela 2: Média aritmética das freqüências do alelo *1 de 16 marcadores genéticos nas populações parentais brasileiras encontradas na literatura.....	21
Tabela 3: Diferencial de freqüência alélica (δ) dos marcadores nas populações parentais principais para a população brasileira.	22
Tabela 4: Classificação e localização cromossômica dos marcadores bialélicos utilizados no presente trabalho.	23
Tabela 5: Haplótipos DRD2/ <i>TaqI</i> gerados pela análise da presença/ausência dos sítios de restrição para enzima <i>TaqI</i>	24
Tabela 6: Mistura de reagentes e temperaturas de pareamento dos iniciadores padronizadas para a PCR.....	28
Tabela 7: Seqüência dos iniciadores empregados nas reações de PCR, tamanho do fragmento amplificado e referência bibliográfica de onde a seqüência do iniciador foi obtida.....	29
Tabela 8: Mistura de reagentes para digestão enzimática e condições das reações utilizadas para análise dos RFLP.	30
Tabela 9: Distribuição das categorias de casamentos – endogâmicos, exogâmicos (total e patrilocais) e entre imigrantes – em três remanescentes de quilombos do nordeste brasileiro.....	38
Tabela 10: Freqüência alélica e genotípica de 15 marcadores genéticos para a população de Mocambo, número amostral (N), valor de p dos testes de aderência ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), excesso (EH) e déficit (DH) de heterozigotos e índice de alteração de freqüências alélicas por efeito de imigração (Δq) para cada marcador genético.....	40
Tabela 11: Freqüência alélica e genotípica de 15 marcadores genéticos para Rio das Rãs, número amostral (N), valor de p calculado a partir do teste de aderência ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), excesso (EH) e déficit (DH) de heterozigotos e índice de alteração de freqüências alélicas por efeito de imigração (Δq) para cada sistema.....	41
Tabela 12: Freqüência alélica e genotípica de 15 marcadores genéticos para o remanescente de quilombo de Sacutiaba, número amostral (N), valor de p dos testes de aderência ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), excesso (EH) e déficit (DH) de heterozigotos e índice de alteração de freqüências alélicas por efeito de imigração (Δq) para cada sistema.....	42

Tabela 13: Freqüência dos haplótipos do DRD2 para as populações estudadas e valor de p para o teste de adequação das freqüências genotípicas observadas ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), Déficit (DH) e Excesso de Heterozigotos (EH) e diversidade haplotípica.....	43
Tabela 14: Heterozigose esperada e observada para 16 marcadores moleculares em três populações remanescentes de quilombos. Médias calculadas para a população total e parcela de nativos, com valor de p calculado com o teste T de Student com amostras pareadas para diferença entre essa estimativa.	44
Tabela 15: Valores do coeficiente de endogamia (<i>f</i>) estimados para Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba.	45
Tabela 16: Valores de <i>Fst</i> com intervalo de confiança (95%) para Mocambo (MOC), Rio das Rãs (RIO) e Sacutiaba (SAC).	45
Tabela 17: Proporções (%) de mistura genética em três remanescentes de quilombos considerando o total da suas populações e a parcela de nativos.	49
Tabela 18: Pares de marcadores em desequilíbrio de ligação ($p < 0,5$) na população total de Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba.	55
Tabela 19: Pares de marcadores em desequilíbrio de ligação ($p < 0,5$) na população de Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba, considerando exclusivamente os nativos.	56

SUMÁRIO DE FIGURAS

Figura 1: Localização de remanescentes de quilombos e populações urbanas brasileiras utilizadas nas análises comparativas do presente trabalho (modificado de Gontijo, 2008).....	16
Figura 2: Localização dos SNPs DRD2 “A”, “B” e “D” em relação ao gene do receptor da dopamina D2 (modificado de Kidd <i>et al.</i> , 1996).....	23
Figura 3: Contribuição genética individual estimada com o uso de nove marcadores genéticos em três remanescentes de quilombos brasileiros em relação às suas parentais.....	47
Figura 4: Estrutura populacional de três remanescentes de quilombos brasileiros baseada em nove marcadores genéticos e a afiliação genética de seus indivíduos às parentais Africana, Ameríndia e Européia.....	48
Figura 5: Estrutura de três populações remanescentes de quilombos brasileiros com base em 16 marcadores genéticos.....	48
Figura 6: Matriz de distância genética entre os três remanescentes de quilombos em análise (MOC, RIO, SAC), as parentais (AFR, AME, EUR) com relação à distribuição alélica de 16 marcadores genéticos.....	51
Figura 7: Componente principal gerado a partir da matriz de distância de Reynolds entre as populações parentais (AFR, AME e EUR) e as seguintes populações brasileiras: Mocambo (MOC), Rio das Rãs (RIO) e Sacutiaba (SAC).....	51
Figura 8: : Matriz de distância genética entre as populações em análise (MOC, RIO, SAC), as parentais (AFR, AME, EUR) e outras populações brasileiras urbanas (SAL, JEQ, DF) e remanescentes de quilombos (SGO, BAR, VAL, SAG) baseada na distribuição alélica de cinco marcadores genéticos (AT3, APO, Sb19.3, PV92 e LPL).52	
Figura 9: Componente principal gerado a partir de uma matriz de distância de Reynolds entre as populações parentais (AFR, AME e EUR), remanescentes de quilombos (MOC, RIO, SAC, SGO, BAR, VAL, STI E SAG) e populações urbanas brasileiras (JEQ, SAL e DF).	53
Figura 10: Proporção de loci em desequilíbrio de ligação (DL) esperada a partir da utilização dos modelos HI e FGC para loci não ligados e para loci ligados a 5cM. Figura modificada de Pfaff <i>et al.</i> (2001).....	70

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	1
REVISÃO DA LITERATURA	2
1. A Diáspora Africana.....	2
2. Os Remanescentes de Quilombos do Brasil: aspectos históricos.....	3
3. Os Remanescentes de Quilombos do Brasil: aspectos jurídicos e etnográficos.....	5
4. Genética de Populações e Reconstrução Histórica	7
5. Fluxo Gênico e Evolução	10
6. Migrações e Casamentos no Meio Rural	12
OBJETIVOS	15
MATERIAL e MÉTODOS	16
1. Descrição das Populações.....	16
2. Coleta de Dados Demográficos	19
3. Marcadores Genéticos.....	20
3.1. Seleção de Marcadores.....	20
3.2. Seleção das Amostras Utilizadas para as Estimativas Genéticas.....	24
3.3. Genotipagem Obtida de Bancos de Dados	25
3.4. Coleta, Processamento do Material Biológico e Extração de DNA	25
3.5. Análises Laboratoriais	26
3.6. Considerações éticas.....	27
4. Análises Estatísticas	31
4.1. Definição dos Haplótipos DRD2/ <i>TaqI</i>	31
4.2. Estimativas de Diversidade das Populações e Impacto da Imigração....	31
4.3. Estimativa de Heterozigose.....	32
4.4. Estatísticas F	32
4.5. Comparações das freqüências alélicas e genótípicas das populações e entre as parcelas de imigrantes e nativos	33

4.6 Construção de Gráficos para Inferência da Estrutura Populacional e Afiliação Genética	33
4.7. Mistura Genética.....	34
4.8. Estimativas de Distância Genética	34
RESULTADOS	37
1. Caracterização Demográfica e de Comportamentos Matrimoniais.....	37
2. Impacto do Fluxo Gênico sobre a Distribuição Alélica e Genotípica	38
3. Estimativas de Heterozigose	43
4. Estatísticas F	45
6. Estrutura da População e Afiliação Genética Individual	46
7. Mistura Genética	49
8. Análises Comparativas de Distância	49
9. Impacto da Imigração Recente sobre o Desequilíbrio de Ligação.....	54
DISCUSSÃO	57
1. Caracterização dos Movimentos Demográficos Recentes	57
2. Caracterização Genética e Impactos da Imigração Recente	59
3. Endogamia.....	61
4. Fluxo Gênico e o Processo de Homogeneização	62
5. Formação Demográfica e Mistura Genética	65
6. Fluxo Gênico e Desequilíbrio de Ligação.....	67
CONCLUSÃO.....	71
CONSIDERAÇÕES FINAIS	73
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
ANEXOS.....	83

INTRODUÇÃO

A presença do africano nas Américas remonta ao século XVI, quando homens e mulheres foram comercializados como escravos para servirem de mão-de-obra nas colônias européias. Estima-se que, desde essa época, mais de 15 milhões de pessoas tenham sido trazidas forçadamente para o continente americano, sendo que 40% delas tiveram o Brasil como destino (Reis e Gomes, 1996). Esses africanos e seus descendentes se misturaram com outras pessoas que habitavam a região: os também escravizados nativos americanos e os colonizadores europeus. A influência desses três grupos parentais na cultura brasileira é enorme, influenciando entre outros aspectos a biologia, língua, práticas religiosas, alimentação e outros.

Vários esforços advindos das ciências biológicas e sociais foram empregados com a finalidade de esclarecer a participação dos africanos e seus descendentes na história do Brasil (Ribeiro *et al.*, 2009; Gontijo, 2008; Pedrosa, 2006; Ribeiro, 2005; Bortolini *et al.*, 1999; Funari, 2006; Reis e Gomes, 1996). Apesar disso, parte dessa história ainda é desconhecida. A dificuldade de acesso à história detalhada dos africanos e seus descendentes no Brasil se deve em grande parte à escassez de documentos e outros dados historiográficos sobre o estabelecimento e a vida desses no país (Funari, 2006; Reis e Gomes, 1996).

O presente trabalho visa elucidar alguns aspectos relativos à história da formação e às influências demográficas recentes a que três comunidades afro-descendentes situadas às margens do Rio São Francisco, no nordeste brasileiro, estiveram submetidas. Os dados gerados se somam a outras evidências historiográficas existentes, como a tradição oral e a emissão de documentos como ordens de busca, para a proposição de uma interpretação da história demográfica de cada uma dessas comunidades.

REVISÃO DA LITERATURA

1. A Diáspora Africana

Mais de cinco milhões de africanos foram trazidos para o Brasil forçadamente, para atuarem como mão-de-obra escrava, entre os anos de 1550 e 1855 (Reis e Gomes, 1996). Estes se somaram aos antigos habitantes da região, os nativos americanos, e aos colonizadores portugueses, em um intrincado processo de miscigenação, que é evidente na cultura e biologia da sociedade brasileira até os dias de hoje.

Dos escravos africanos, a maioria era composta por jovens do sexo masculino, pois esses eram os que mais rendiam aos comerciantes, sendo capazes de produzir por cerca de sete anos, quando então eram descartados (Fausto, 2006; Ribeiro, 2006). Durante o primeiro século de escravidão, foram trazidos africanos de regiões situadas ao longo do litoral de Daomé, atual Benin, e, nos séculos seguintes, principalmente de povos do Congo e de Angola, do grupo lingüístico *bantu*. A distribuição destes no território brasileiro não seguiu um padrão, sendo definida pela própria organização do tráfico, pelas condições locais e, em menor parte, pela preferência dos senhores. Havia, no entanto, ressalvas a não utilizarem escravos de uma mesma família e, na medida do possível, de uma mesma tribo, diminuindo, dessa maneira, a chance de se unirem contra o sistema (Ribeiro, 2006). O tráfico de escravos passou a ser proibido em 1830, mas a escravidão persistiu até 1888, quando foi promulgada, no Brasil, a Lei Áurea (Fausto, 2006), momento em que os escravos foram libertos, não havendo, entretanto, qualquer política de integração dessas pessoas na sociedade brasileira.

A presença africana no Brasil se deu principalmente nas regiões de mineração, no centro do país, e nas regiões canavieiras do nordeste. Além dessas regiões, os africanos e os seus descendentes também ocuparam outras localidades, onde também encontraram indígenas, muitas vezes escravizados, e os europeus, em sua maioria portugueses (Ribeiro, 2006). A presença marcante desses três grupos parentais se somou às dinâmicas locais e internacionais de movimentos migratórios, o que resultou no mosaico de populações com diferentes características biológicas e culturais que é o Brasil.

2. Os Remanescentes de Quilombos do Brasil: aspectos históricos

Contra o sistema escravista que se instalou no Brasil colônia e, principalmente, contra a condição de cativos em que se encontravam, os africanos escravizados formaram comunidades em territórios afastados das grandes cidades, em que a economia, calcada no trabalho coletivo, e a organização social e política eram distintas dos centros urbanos. Essas comunidades eram chamadas de mocambos, terras de preto ou quilombos (Reis e Gomes, 1996).

Os quilombos eram sociedades multiétnicas, com a presença principal de escravos africanos e afro-descendentes, porém com grande participação indígena e mesmo de europeus e seus descendentes em sua história. Tal observação é baseada em dados históricos (Reis e Gomes, 1996), como também em evidências materiais (Funari, 1996) e genéticas (Ribeiro *et al.*, 2009; Gontijo, 2008; Pedrosa, 2006; Ribeiro, 2005; Bortolini *et al.*, 1999).

A presença dos nativos americanos nos quilombos ocorreu muitas vezes devido a movimentos insurrecionais que estes realizavam com os escravos de origem africana, além de, em alguns casos, estar relacionado a seqüestros, em que mulheres indígenas eram raptadas e integradas a essas comunidades (Ribeiro, 2006; Karash, 1996; Reis e Gomes, 1996). Já o papel dos europeus nos quilombos apresentou-se de forma distinta. Por terem ligação com os centros urbanos, eles funcionavam como fonte de troca material, afetiva e de informações com as cidades (Reis e Gomes, 1996). Várias evidências apontam para essa confluência de etnias, sendo que a importância relativa da contribuição de cada grupo não é muito conhecida e deve ser bastante variável entre as comunidades.

Um exemplo dessas evidências são as pesquisas arqueológicas desenvolvidas no quilombo de Palmares, em Alagoas. A partir da constatação da existência de artefatos característicos de ameríndios no sítio arqueológico correspondente a esse quilombo, foi sugerida a presença indígena (Funari, 1996). Com essas informações não é possível definir se a influência ameríndia teria atuado somente sobre a cultura material ou também teria influência sobre a constituição demográfica e genética daquele quilombo. Reis e Gomes (1996)

questionam a representação das diversas etnias dentro desses grupos. Esses historiadores notaram a importância do conhecimento da influência de diferentes grupos étnicos para redimensionar a interpretação africanocêntrica de alguns quilombos, propondo assim uma nova interpretação do que se conhece como sendo a história dos africanos e de seus descendentes no Brasil.

Assim como é observada grande heterogeneidade na contribuição de cada um desses grupos parentais, também é observada grande variedade no que diz respeito à dinâmica populacional dos quilombos. Com relação às características de formação dessas comunidades, não há um padrão nacional e sim vários padrões regionais. O estado de Goiás, por exemplo, foi uma região muito propensa à formação de quilombos que, em sua maioria, eram constituídos por escravos mineradores. Isso se deve às características do ambiente da região e ao fato de que as preocupações do governo eram as guerras com os nativos americanos e o contrabando de ouro, somando-se a isso o fato do exército do estado não ser muito forte naquele momento. Nessas regiões de mineração, os homens tinham maiores oportunidades de fugir do que as mulheres, pois elas realizavam o trabalho doméstico, enquanto eles tinham a fuga facilitada pelo garimpo (Karash, 1996). Já em Sergipe, no nordeste do Brasil, os quilombos eram constituídos por pequenos grupos de escravos insurretos. Cerca de 10 ou 15 escravos se albergavam em regiões distantes, de onde mantinham contato com as senzalas que os informavam sobre as operações táticas contra o aquilombamento (Arruti, 2006).

Ao contrário do que é geralmente aceito, os quilombos não eram obrigatoriamente isolados. Apesar de afastados de centros urbanos, os habitantes estabeleciam trocas com as cidades próximas. Para o presente estudo, é importante ressaltar o caráter multiétnico e as constantes trocas entre os quilombos e os centros urbanos, observadas até mesmo no presente. Essa ideia corrobora dados observados em pesquisas genética, que evidenciam a miscigenação, provavelmente desde a fundação até os dias de hoje.

3. Os Remanescentes de Quilombos do Brasil: aspectos jurídicos e etnográficos

Das antigas comunidades quilombolas, se originaram outras que, hoje no Brasil, são denominadas “remanescentes de quilombos”. Esse termo abarca uma variedade de comunidades, tendo sido criado em um contexto jurídico para beneficiar indivíduos que, apesar de heterogêneos no que diz respeito às suas características culturais e históricas, apresentam um traço em comum: a luta pela conquista da terra em que vivem.

Após a Convenção Nacional “O Negro e a Constituinte”, realizado no Distrito Federal, foi aprovado o Artigo 68 do Ato das Disposições Constitucionais Transitórias, da Constituição Federal de 1988, em caráter de reparação pela dívida histórica da sociedade brasileira para com os descendentes de escravos. Esse artigo diz 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 aplicação dessa lei, contudo, foi sempre cheia de equívoco. Um dos pontos problemáticos é a definição de que populações receberiam ou não o título de remanescente de quilombos. Além disso, após o processo de certificação pelo Estado Brasileiro, restam longos processos de regularização dos territórios por eles ocupados. Atualmente, 1.305 comunidades foram reconhecidas e certificadas como “Remanescentes de Quilombos” no país, dessas, pouco mais de 750 estão mapeadas e a maioria se concentra nos estados da Bahia e do Maranhão (Fundação Cultural Palmares, 2009).

Mas o que são, de fato, os remanescentes de quilombos? O Decreto 4.887, artigo 2º, de 20 de Novembro de 2003, define remanescentes das comunidades de quilombos os “grupos étnico-raciais, segundo critérios de auto-atribuição, com trajetória histórica própria, dotados de relações territoriais específicas, com presunção de ancestralidade negra relacionada com a resistência à opressão histórica sofrida”.

Algo que se depreende dessa definição é que os atuais remanescentes de quilombos são reminiscências dos antigos quilombos, reminiscências

materiais e com vínculos obrigatórios a um passado de escravidão e resistência. Porém, em questões práticas, esse termo designa grupos organizados politicamente em torno dos direitos à posse e à titulação das terras. Isso, contudo, não significa que essas comunidades são a continuidade do mundo africano ou da resistência escrava que houve no Brasil (Arruti, 2006), traços que, de fato, não são encontrados em todos os remanescentes de quilombos conhecidos.

O termo gera controvérsias não apenas nos meios jurídico e acadêmico. Dentro de algumas comunidades assim classificadas, a designação remanescente de quilombo gera estranhamento e remete ao caráter repressivo que ele carrega. Esse é o caso de Mesquita, uma comunidade situada no entorno do Distrito Federal. Ali a negritude, a escravidão e os aspectos ligados a isso foram negados (Santos, 2006).

Esse fenômeno não ocorre apenas nessa comunidade, várias outras comunidades brasileiras também passaram por questões similares. Uma vez que o reconhecimento e a titulação por parte do Estado Brasileiro dependem da solicitação e autodefinição da comunidade interessada, essa situação de estranhamento relativa ao termo se torna um problema. Assim, alguns autores propuseram a ressemantização do termo, propondo a incorporação da idéia de “uso comum da terra”, sendo esta uma definição mais empírica do que a anterior, que levava em conta apenas a enumeração de suas características. Não apenas a incorporação dessa idéia, mas o conceito de etnicidade e autodefinição foram incorporados para evitar problemas de interesse (Arruti, 2006), como, por exemplo, a negação do título por parte do Estado Brasileiro com conseqüente não recebimento da posse das terras por parte das comunidades quilombolas.

Em meio a uma variedade de exceções e confusões acerca do significado de “remanescentes de quilombos”, vale ressaltar que essa categoria foi socialmente construída a fim de se pautar ações governamentais em favor dessas comunidades. Apesar de poderem apresentar traços em comum, como a subsistência baseada no uso comum da terra, a origem relacionada à presença de escravos africanos, a miscigenação entre várias etnias, uma vida

rural, entre outros, não há um item que esteja presente em todas as comunidades assim classificadas.

É importante ressaltar que os estudos de genética de populações que visam à reconstrução histórica não têm como objetivo atribuir um conceito biológico para a definição de populações humanas. Este também é o caso para os remanescentes de quilombos. Não há possibilidade de utilização de dados genéticos para definição de que uma população é remanescente de quilombo, bem como, para a definição de que um indivíduo é quilombola.

Em experiências de campo, são comuns as situações em que pesquisas genéticas não são bem-vindas, pois muitos quilombolas e autoridades acreditam que os dados gerados podem ser usados para negar a posse de terras por famílias ou para a destituição do reconhecimento. Dessa forma, a equipe de pesquisa do Laboratório de Genética/IB/UnB tem trabalhado preferencialmente com aquelas comunidades já reconhecidas como remanescentes de quilombos pelo Estado Brasileiro. Assim, a classificação das comunidades alvo do presente estudo como remanescentes de quilombos, diz respeito não a parâmetros biológicos, mas à autotransclassificação, certificada e reconhecida pelo órgão do governo federal designado para tal, a Fundação Cultural Palmares.

4. Genética de Populações e Reconstrução Histórica

Para o acesso à história da espécie humana, especialmente a fatos ocorridos em um passado longínquo, métodos de inferência indireta são necessários. Uma das principais fontes para o acesso a essas informações é a genética de populações. A partir da análise de frequências de polimorfismos genéticos ou do acesso a mutações com origem e data de ocorrência conhecidas, essa ciência busca conhecer as relações históricas e os processos demográficos que levaram as populações da atualidade a apresentarem determinadas características. Dessa forma, a genética passa a ser mais uma evidência a ser utilizada em estudos históricos, podendo contribuir

especialmente para a compreensão de fenômenos não registrados em documentos e mesmo de fatos esquecidos.

Para esses fins, utilizam-se marcadores genéticos polimórficos, que são regiões do genoma que apresentam variação e que o alelo mais comum esteja presente em no máximo 99% da população (Saitou, 1995). Além disso, empregam-se, de preferência, marcadores neutros, isto é, os que não estão sob efeito de seleção e que, por isso, retratam com maior fidelidade determinados processos de interesse para essa ciência.

O reconhecimento de traços comuns entre uma população e outras já analisadas, como uma semelhança na frequência de determinados alelos ou mesmo o compartilhamento de mutações raras, indica, entre outros aspectos, a participação de uma população na constituição da outra ou mesmo uma origem comum. Inferências mais próximas à realidade demandam análise de várias regiões. Dentre os marcadores mais utilizados, destacam-se os marcadores de inserção-deleção e os polimorfismos de nucleotídeo único, pois são marcadores muito estáveis e virtualmente livres de homoplasia¹ (Batzer e Deininger, 2002; Stoneking, 2001).

São chamados indels (**inserção-deleção**) marcadores moleculares caracterizados por uma inserção ou deleção de um fragmento com tamanho variado no genoma (Weber *et al.*, 2002). Em uma das subclasses de indel mais importantes numericamente e amplamente utilizada na genética de populações humanas, encontram-se as inserções *Alu*.

As inserções *Alu* são uma família de SINEs (pequenos elementos móveis espalhados no genoma). Estas se caracterizam como elementos repetitivos com tamanho aproximado de 300pb, capazes de se mobilizarem via mecanismo de retrotransposição, com ponto de inserção randômico do genoma (Batzer e Deininger, 2002; Chen, *et al.*, 2002, Deininger e Bazter, 1993).

No genoma humano, encontram-se mais de um milhão de cópias de elementos *Alu*, o que constitui cerca de 10% do total de sua massa. Dos

¹ Homoplasia é um caráter, como, por exemplo, um alelo, compartilhado por duas espécies ou indivíduos que não estava presente no ancestral comum (Ridley, 2006).

elementos presentes em humanos, aproximadamente 0,5% não é compartilhado com outros grupos de primatas. Desses, apenas uma pequena parte - estimada em 1.200 elementos - se inseriram após a radiação humana a partir da África para os outros continentes (Batzer e Deininger, 2002). São justamente essas inserções que apresentam polimorfismos e são, por tanto, muito empregadas em estudos de populações humanas.

Os polimorfismos de inserções *Alu* se caracterizam pela presença ou ausência da inserção. O que torna esses marcadores únicos para a genética de populações é o fato de serem livre de homoplasias, isto é, é improvável que um evento de inserção ocorra duas vezes em um mesmo *locus* e, além disso, não há um mecanismo de remoção desses elementos que não deixe indícios. Sendo assim, indivíduos que compartilham uma mesma inserção *Alu* o fazem por ancestralidade comum (Batzer e Deininger, 2002; Deininger e Bazter, 1993). Essa característica somada à facilidade de se identificar o alelo ancestral, ou seja, a ausência da inserção, e à facilidade da análise com PCR seguida diretamente por eletroforese em gel vertical, fazem com que os elementos *Alu* sejam um dos mais importantes polimorfismos para o estudo de populações humanas, sejam eles para fins de história recente, como a miscigenação entre indivíduos e populações, ou para a construção de hipóteses acerca de eventos muito antigos, como a origem do homem e a dispersão a partir da África (Batzer e Deininger, 2002; Weber *et al.* 2002; Bazter *et al.*, 1996).

Os SNPs, ou polimorfismos de nucleotídeo único, constituem a classe mais comum de polimorfismos existentes no genoma humano. Esse termo designa uma mutação de ponto do tipo substituição (Brookes, 1999), sendo que o alelo menos freqüente ocorre em pelo menos 1% dos alelos de uma população.

As mutações que geram os SNPs têm taxa de 2×10^{-8} por geração (Kruglyak e Nickerson, 2001). Esses eventos podem gerar três novos alelos para cada base mutada. Dessa forma, apesar de serem basicamente bialélicos, os SNPs também podem ser tri- ou tetra-alelício. Dois indivíduos que compartilham um mesmo alelo de SNP devem ter ancestralidade comum, pois,

na maioria dos casos, os SNPs refletem mutações do passado que são, no geral, eventos únicos (Stoneking, 2001). É possível que haja uma mutação reversa ou recorrente em um mesmo SNP, sendo assim, o alelo observado pode ser idêntico por estado e não por descendência. A vantagem da utilização dos SNPs, porém, reside no fato de que esses marcadores estão amplamente distribuídos no genoma humano, sendo responsáveis por cerca de 90% das variações existentes entre indivíduos (Collins *et al.*, 1998; Kruglyak e Nickerson, 2001), existindo mais de 9 milhões de SNPs polimórficos (Rocha *et al.*, 2006)

5. Fluxo Gênico e Evolução

A mutação é o mecanismo evolutivo básico para que exista variabilidade, seja entre indivíduos de uma população, como também entre populações. No entanto, a mutação não ocasiona alterações substanciais em uma população em um curto período de tempo, principalmente quando se considera marcadores genéticos neutros, que são os rotineiramente utilizados em genética de populações. Nesse caso, o fluxo gênico é o mecanismo evolutivo mais importante, pois num curto espaço de tempo, o seu impacto pode ser consideravelmente maior do que o da deriva genética (Wang e Whitlock, 2003).

O impacto do fluxo gênico na evolução de populações dependerá de dois parâmetros: o fluxo migratório e as diferenças entre as populações participantes do processo. Em curto prazo, o impacto do fluxo gênico pode ser a inserção de uma novidade genética na população. Caso o fluxo se mantenha por um longo período de tempo, tem-se como principal resultado a homogeneização das populações participantes do processo de migração (Futuyma, 2005).

Podem-se encontrar alguns estudos sobre a influência do fluxo gênico na evolução de populações humanas na literatura (Mascie-Taylor e Little, 2004; Relethford, 2004). Esses freqüentemente utilizam marcadores associados a características fenotípicas, como, por exemplo, o tamanho do crânio. Esse tipo

de característica, porém, está sob seleção natural e representa apenas uma ínfima fração do genoma da espécie humana. Por outro lado, o impacto das migrações sobre a distribuição alélica de marcadores genéticos moleculares neutros em populações humanas tem sido pouco avaliado, em especial em eventos de pequena escala, apesar desse tipo de abordagem poder esclarecer os processos evolutivos e a dinâmica da história de populações humanas. Exemplos de estudos dentro dessa perspectiva são as pesquisas de Hamilton *et al.* (2005) e Santos *et al.* (1996).

O fluxo gênico, ocasionado pela mobilidade espacial, tem atuado na população brasileira ao longo de toda sua história, especialmente durante o período colonial, quando o território recebeu grandes influxos populacionais provenientes de diversos continentes. Nesse momento, o impacto das imigrações sobre a composição genética da população nativa da região e da população miscigenada recém formada deve ter sido considerável, uma vez que as populações participantes desse processo apresentavam grandes diferenças genéticas.

Em decorrência desse processo, houve intensa miscigenação entre os nativos americanos e as várias etnias migrantes, em especial os colonizadores portugueses e africanos sub-saarianos. Essa miscigenação ocorreu de maneira não homogênea ao longo do território do país, de forma que, nos dias de hoje, é possível identificar no território brasileiro uma grande diversidade de populações com características biológicas e culturais distintas.

A exemplo da grande diversidade encontrada no país, podem-se citar as 1.305 comunidades atualmente certificadas pelo Estado Brasileiro como Remanescentes de Quilombos (Fundação Cultural Palmares, 2009). O fluxo gênico para essas comunidades aparentemente segue o modelo de continente-ilhas. Esse modelo prediz que haja um movimento unidirecional de uma população grande para outras menores e geograficamente isoladas (Futuyma, 2005). Esse isolamento é observado em alguns remanescentes de quilombos ou pelo menos deve ter ocorrido em algum momento de suas histórias. Por causa disso e também por causa das distinções observadas entre essas

populações e outras no território brasileiro, é possível que essas populações sirvam como modelo para o estudo da migração em populações humanas.

6. Migrações e Casamentos no Meio Rural

Para compreender a variação genética das populações humanas é necessária a avaliação detalhada do contexto sociocultural e da história das populações. Além desse tipo de estudo, a análise demográfica constitui uma importante ferramenta para o geneticista de populações, uma vez que muitas das suas questões são comuns a esta área do conhecimento (Freire-Maia, 1974), principalmente em relação a aspectos da reprodução, casamentos e migração.

Apesar de haver uma literatura extensa a respeito da dinâmica demográfica de sociedades rurais e camponesas, poucos estudos abordam especificamente a dinâmica populacional dos remanescentes de quilombos (são exemplos estudos demográficos com remanescentes de quilombos o de Novion, 2003 e o de Diniz, 2008),

Muitas características apontam para a semelhança entre remanescentes de quilombos e outras comunidades camponesas não afro-descendentes, como, por exemplo, a predominância de homens e a distribuição em classes de idade, dificuldade de acesso à educação formal e a serviços de saúde, além de a maioria se situar em regiões rurais (Diniz, 2008; IBGE, 2008; Novion, 2003). Apesar dessas semelhanças, alguns pontos diferenciam os remanescentes de quilombos das demais comunidades rurais contemporâneas, como, por exemplo, o passado intimamente ligado à presença de escravos africanos no Brasil e à resistência à opressão histórica sofrida. Além disso, o contexto político em que os quilombolas estão vivendo atualmente, bastante distinto dos demais camponeses do país, pode tornar a imigração diferenciada para os remanescentes de quilombos, uma vez que o processo de regularização dos territórios quilombolas, em que a posse de terras por seus habitantes está sendo reconhecida, pode estar agindo, ao lado de outros fatores, como um atrativo para a imigração direcionada a essas populações.

Além desses aspectos políticos, é possível que outros fatores também afetem a dinâmica migratória dos quilombolas. Uma característica bastante comum em sociedades camponesas no Brasil é a associação dos padrões de migração à dinâmica de casamentos e construção de famílias (Woortmann, 1990). Em comunidades rurais, há dois tipos de migração, um deles denominado “saída” e o outro “viagem”. O primeiro, mais conhecido como êxodo rural, é decorrente de fatores econômicos como a venda de terras, procura por locais mais produtivos e expansão de grandes propriedades com conseqüente consumo do território ocupado pelas menores. A migração do tipo “viagem”, diretamente ligada à dinâmica de casamentos, ocorre quando o filho, logo antes do casamento, sai de sua comunidade a fim de acumular recursos que possibilitarão sua vida em família. Apesar de haver alguns estudos que abordam esse aspecto (como, por exemplo, os citados no trabalho de Woortmann, 1990), nenhum considera populações remanescentes de quilombos. Dessa forma, até o momento não foi possível afirmar se a principal razão para a imigração para os remanescentes de quilombos é a atração exercida pela posse das terras habitadas, o matrimônio ou outro fator.

Não apenas nas sociedades camponesas brasileiras, mas também em outros locais do mundo, foi observada a associação de padrões de migração à dinâmica matrimonial. Pesquisas etnográficas apontam para a predominância da migração feminina em relação à masculina em sociedades agricultoras, sendo esse fenômeno também comum em sociedades pastoralistas e de caçadores-coletores (Wilkins e Marlowe, 2006; Marlowe, 2004; Seielstad *et al.*, 1998). O predomínio da imigração feminina foi atribuído principalmente à existência de acumulação de bens, em especial nas comunidades que praticam a agricultura. Nestas sociedades, há certa tendência para que os filhos do sexo masculino herdem as riquezas e as terras dos pais (Wilkins e Marlowe, 2006), dessa forma, as mulheres se locomovem para outras localidades para se casarem, enquanto os homens se mantêm no local em que nasceram. Ao comportamento de permanência do homem e deslocamento da mulher em decorrência de casamentos, dá-se o nome de patrilocalidade.

A forma em que esses padrões de migração devem afetar a estrutura e composição genética das populações humanas tem sido principalmente

estudada em análises em larga escala, principalmente com a utilização de marcadores uniparentais. Muitos desses estudos têm a finalidade de revelar as diferenças nas histórias demográficas de homens e mulheres (Langergraber *et al.*, 2007; Wilkins e Marlowe, 2006; Seielstad *et al.*, 1998).

Baseados em uma maior diversidade interpopulacional para o cromossomo Y do que para o DNAMt, esses estudos também indicam que em alguns casos há maior taxa de migração feminina do que masculina. Já o emprego de cromossomos autossômicos em pesquisas como essas não é muito comum. Apesar disso, os autossomos apresentam a grande vantagem de refletirem ambas as histórias feminina e masculina, além de, devido ao seu maior tamanho efetivo, quatro vezes a mais que o cromossomo Y e o DNAMt, poder refletir eventos mais antigos a respeito de evolução das populações humanas (Wilkins e Marlowe, 2006)

OBJETIVOS

Com a finalidade de compreender a história demográfica de remanescentes de quilombos brasileiros com relação à formação de suas populações e às alterações a que elas foram submetidas ao longo do tempo, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar a origem e o impacto das imigrações sobre a constituição genética de populações remanescentes de quilombos. Para tanto foram avaliados parâmetros demográficos e genéticos em três dessas populações – Mocambo, Rio das Rãs e Riacho de Sacutiaba e Sacutiaba.

Os objetivos específicos foram:

- estimar a proporção de imigrantes nas populações de Mocambo, Rio das Rãs e Riacho de Sacutiaba e Sacutiaba, bem como a relação homem/mulher entre os imigrantes e os nativos;

- analisar os padrões de casamentos com relação ao local de nascimento dos cônjuges;

- avaliar a distribuição gênica e genotípica e variabilidade genética nessas populações com relação a 16 marcadores moleculares autossômicos – APO, D1, ECA, FXIII B, PV-92, Sb19.3, TPA-25, AT3, CRH, CYP3a4, Fy-Null, GC, LPL, RB2300, OCA2 e DRD2/*TaqI* –, mais especificamente com relação a parâmetros como: aderência das frequências genotípicas ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg, déficit e ao excesso de heterozigotos, heterozigose, desequilíbrio de ligação e estruturação populacional;

- avaliar o impacto do fluxo gênico recente causado pela imigração sobre esses parâmetros a partir da comparação entre a constituição genética das suas parcelas de nativos e imigrantes;

- comparar essas três populações entre si e com outras populações brasileiras, com relação à distribuição gênica e genotípica;

- estimar a proporção da contribuição de populações parentais para a composição genética dessas populações e analisar a dinâmica de alterações desse parâmetro em decorrência das imigrações.

MATERIAL e MÉTODOS

1. Descrição das Populações

Em 1998 uma equipe do Laboratório de Genética da Universidade de Brasília e membros da Fundação Cultural Palmares realizaram visitas técnicas a três remanescentes de quilombos: Mocambo, Rio das Rãs e Riacho de Sacutiaba e Sacutiaba. Essas comunidades se situam às margens do Rio São Francisco no nordeste brasileiro. Na Figura 1 e Tabela 1, encontram-se dados a respeito da localização geográfica dessas populações e de outras consideradas neste estudo para a realização de comparações.



Figura 1: Localização de remanescentes de quilombos e populações urbanas brasileiras utilizadas nas análises comparativas do presente trabalho (modificado de Gontijo, 2008).

Tabela 1: Localização de remanescentes de quilombos e populações urbanas brasileiras utilizadas nas análises comparativas do presente trabalho

População	Abreviação	Estado	Coordenadas Geográficas		Referência Bibliográfica dos Dados Genéticos
			Latitude	Longitude	
Barra	BAR	BA	13°36'	41°47'	Luizon, 2007
Distrito Federal	DF	--	15°48'	47°51'	Godinho, 2008
Jequié	JEQ	BA	13°51'	40°05'	Luizon, 2007
Mocambo	MOC	SE	9°45'	37°25'	Presente trabalho
Rio das Rãs	RIO	BA	13°41'	43°20'	Presente trabalho
Sacutiaba	SAC	BA	11°29'	43°47'	Presente trabalho
Salvador	SAL	BA	12°58'	38°30'	Machado, 2008
Santiago do Iguape	STI	BA	12° 41'	38°51'	Gontijo, 2008
Santo Antônio do Guaporé	SAG	RO	12°32'	63°31'	Gontijo, 2008
São Gonçalo	SGO	BA	13°45'	41°02'	Luizon, 2007
Valongo	VAL	SC	27°12'	48°44'	Luizon, 2007

Mocambo

Na época em que visita para coleta de dados demográficos e material biológico foi realizada, havia cerca de 500 indivíduos em Mocambo, localizado no município de Porto da Folha em Sergipe. Em 1994, com respaldo no Artigo 68 do Ato das Disposições Constitucionais Transitórias, foi iniciado o processo de identificação de Mocambo como um remanescente de quilombo (Arruti, 2006), o que, somente em 2004, levou ao reconhecimento da comunidade como tal (Fundação Cultural Palmares, 2009). A área ocupada pela comunidade é fronteira ao território indígena dos Xocó, com os quais os quilombolas de Mocambo mantêm antigos laços de parentesco e outras relações históricas (Arruti, 2006). A data de fundação da comunidade é incerta, porém já em 1825 existia uma pequena população de escravos na região que abrangia cerca de 7% da população do município de Porto da Folha (*op. cit.*).

Rio das Rãs

A comunidade de Rio das Rãs é um remanescente de quilombo situado em Bom Jesus da Lapa na Bahia, em uma região outrora importante para a rota de tráfico interno de escravos. Acredita-se que tenha sido fundada na primeira metade do século XIX, por um pequeno número de famílias de escravos, sendo que sua população foi estimada em 4000 indivíduos no ano de 2002, ocupando uma área de aproximadamente 38000 ha (Brasileiro e Sampaio, 2002). Em 2004, esse povoado foi reconhecido como um remanescente de quilombo pelo Estado Brasileiro (Fundação Cultural Palmares, 2009).

Riacho de Sacutiaba e Sacutiaba

O remanescente de quilombo de Riacho de Sacutiaba e Sacutiaba se localiza no município de Wanderley, a 850 km de Salvador, na região oeste do estado da Bahia. Sua população é estimada em 200 indivíduos, distribuídos em 29 grupos domésticos, que formam uma grande família organizada em torno de

laços de consangüinidade e afinidade. A origem dos escravos fundadores da comunidade é o norte de Minas Gerais, de onde teriam escapado pelo rio São Francisco, subindo o rio Grande e se instalando em uma região de difícil acesso próxima a uma serra. Acredita-se que esses primeiros habitantes tenham chegado à região há mais de 200 anos, sendo que somente em outubro de 1995 foi solicitada a representação junto ao Governo Federal para o pedido de regularização de seu território (Brasileiro e Sampaio, 2002). Em 2004 a comunidade foi reconhecida como um remanescente de quilombo pela Fundação Cultural Palmares (Fundação Cultural Palmares, 2009).

A denominação desta comunidade (Riacho de Sacutiaba e Sacutiaba) apesar de remeter à idéia de que sejam dois povoados distintos, refere-se a uma única população. No presente trabalho, optou-se por utilizar Sacutiaba para designá-la.

2. Coleta de Dados Demográficos

Um total de 171 voluntários com idade superior a 18 anos foram entrevistados em Mocambo, 278 em Rio das Rãs e 70 em Sacutiaba. Esses indivíduos foram questionados acerca de seu sexo, idade, estado conjugal e local de nascimento. Com o mesmo questionário, foram obtidas informações relativas aos seus pais e avós. Todos aqueles indivíduos que disseram ter um cônjuge foram adicionalmente questionados acerca do local de nascimento deste. Com isso, a proporção de imigrantes na população e a proporção homem/mulher entre os nativos e imigrantes foram estimadas por contagem direta para a presente geração. Para a geração atual (F2) e para as antecedentes (F1 e P) foi estimada a proporção de casais formados por dois membros nativos, por um membro nativo e outro imigrante e por dois membros imigrantes, denominados respectivamente de “endogâmicos”, “exogâmicos” e “imigrantes”. Entre os casamentos categorizados como exogâmicos, foi estimada a proporção de patrilocais, ou seja, aqueles em que a mulher é imigrante e o homem, nativo.

A endogamia a que se referem essas análises é uma forma de endogamia local, na qual um indivíduo se casa com um outro de sua população/grupo/comunidade/cidade, e não à endogamia de parentela, na qual um indivíduo se casa com um parente próximo.

3. Marcadores Genéticos

Após a descrição dos parâmetros demográficos, o que incluiu o fluxo demográfico para Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba, buscou-se avaliar o impacto da imigração sobre a composição genética dessas populações. Para tanto, uma amostra das populações, incluindo indivíduos nativos e imigrantes, foi avaliada quanto à distribuição gênica e genotípica de marcadores genéticos. Esses dados foram obtidos de duas fontes: de bancos de dados de marcadores moleculares do Laboratório de Genética do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília e de novas análises laboratoriais.

3.1. Seleção de Marcadores

Marcadores com grandes diferenciais de frequência são os mais indicados para estimativas individuais de afiliação genética e para a reconstrução histórica de populações miscigenadas, como a brasileira. Isto porque estes geram estimativas mais precisas (Shriver *et al.*, 1997) devido à clareza na distinção da contribuição genética de cada grupo parental.

Para análise do impacto das migrações, foram selecionados marcadores moleculares que, com exceção de um marcador, apresentam diferencial de frequência alélica (δ) maior ou igual a 50% entre pelo menos duas das populações consideradas como parentais da população brasileira: africana subsahariana, sul ameríndia e europeia. Na tabela 2, estão apresentadas as médias aritméticas das frequências do alelo *1 (alelo de maior tamanho ou ausência do sítio de ligação para enzima de digestão), observadas nas populações parentais para os 16 marcadores selecionados: APO, D1, ECA, FXIIIB, PV-92, Sb19.3, TPA-25, AT3, CRH, CYP3a4, Fy-Null, GC, LPL,

RB2300, OCA2 e DRD2/*TaqI*. Dados e referências bibliográficas utilizados para essas estimativas encontram-se nos ANEXOS A e B

Tabela 2: Média aritmética das freqüências do alelo *1 de 16 marcadores genéticos nas populações parentais brasileiras encontradas na literatura.

Marcador	População Parental		
	Africano	Ameríndio	Europeu
APO	0,477	0,997	0,969
D1	0,000	0,544	0,370
ECA	0,298	0,859	0,414
FXIIIB	0,083	0,959	0,417
PV-92	0,214	0,869	0,177
Sb19.3	0,418	0,685	0,921
TPA	0,409	0,675	0,587
AT3	0,851	0,047	0,267
CRH	0,318	0,927	0,983
CYP3A4	0,198	0,958	0,959
FyNull	0,026	0,999	0,992
GC1F	0,825	0,339	0,148
GC1S	0,105	0,542	0,589
LPL	0,968	0,454	0,491
OCA2	0,124	0,488	0,764
RB2300	0,880	0,152	0,322
DRD2 *1	0,500	0,343	0,183
DRD2 *2	0,194	0,018	0,013
DRD2 *3	0,064	0,034	0,618
DRD2 *4	0,077	0,032	0,015
DRD2 *5	0,023	0,047	0,011
DRD2 *6	0,135	0,511	0,153
DRD2 *7	0,005	0,005	0,000
DRD2 *8	0,002	0,011	0,007

Na Tabela 3, estão apresentados os diferenciais de freqüência entre as populações parentais. Para o GC, foi considerado o valor referente a dois de seus alelos e, para o DRD2, foi considerado o diferencial de freqüência entre seus haplótipos. Onze marcadores apresentam diferenciais acima de 50% para as populações africana e ameríndia, nove entre África e Europa e três entre as populações europeia e ameríndia. O marcador TPA-25 não apresenta diferencial de freqüência de pelo menos 50%, como os demais, porém é comumente utilizado em estudos dessa natureza o que justifica seu emprego neste estudo.

Tabela 3: Diferencial de frequência alélica (δ) dos marcadores nas populações parentais principais para a população brasileira. Valores calculados a partir da tabela 2.

Marcador	África x Ameríndio	África x Europa	Europa x Ameríndio
APO	52%	49%	3%
D1	54%	37%	17%
ECA	56%	12%	45%
FXIIB	88%	33%	54%
PV-92	66%	4%	69%
Sb19.3	27%	50%	24%
TPA	27%	18%	9%
AT3	80%	58%	22%
CRH	61%	67%	6%
CYP3A4	76%	76%	0%
FyNull	97%	97%	1%
GC1F	49%	68%	19%
GC1S	44%	48%	5%
LPL	51%	48%	4%
OCA2	36%	64%	28%
RB2300	73%	56%	17%
DRD2 *1	16%	32%	16%
DRD2 *2	18%	18%	1%
DRD2 *3	3%	55%	58%
DRD2 *4	5%	6%	2%
DRD2 *5	2%	1%	4%
DRD2 *6	38%	2%	36%
DRD2 *7	0%	1%	1%
DRD2 *8	1%	1%	0%

Todos os marcadores aqui analisados situam-se em cromossomos autossômicos. Desses, um é trialélico e um é analisado como haplótipo. Os demais são bialélicos e a classificação e a localização cromossômica destes encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4: Classificação e localização cromossômica dos marcadores bialélicos utilizados no presente trabalho.

Marcador	Classificação	Localização Cromossômica	Referência Bibliográfica
APO	Inserção <i>Alu</i>	11q23.3	Batzer <i>et al.</i> , 1994
D1	Inserção <i>Alu</i>	3q26.32	ALFRED, 2008
ECA	Inserção <i>Alu</i>	17q23	Tiret <i>et al.</i> , 1992
FXIIB	Inserção <i>Alu</i>	1q31	Webb <i>et al.</i> , 1989
PV-92	Inserção <i>Alu</i>	16q23.3	Batzer <i>et al.</i> , 1994
Sb19.3	Inserção <i>Alu</i>	19p12	Arcot <i>et al.</i> , 1998
TPA-25	Inserção <i>Alu</i>	8p12	Yang-Feng <i>et al.</i> , 1986
AT3	Inserção de 68pb	1q25.1	Shriver <i>et al.</i> , 2003
CRH	SNP	8q13.1	Shriver <i>et al.</i> , 2003
CYP3a4	SNP	7q22.1	Shriver <i>et al.</i> , 2003
Fy-Null	SNP	1q23.2	Shriver <i>et al.</i> , 2003
LPL	SNP	8p21.3	Shriver <i>et al.</i> , 2003
OCA2	SNP	15q13.1	Shriver <i>et al.</i> , 2003
RB2300	SNP	13q14	Bookstein <i>et al.</i> , 1988

Dois marcadores empregados (DRD2/*TaqI* e GC) têm seus alelos definidos por análises haplotípicas. Os haplótipos de DRD2/*TaqI* são definidos por três diferentes SNPs, denominados “A”, “B” e “D”, que podem ser individualmente identificados pela presença/ausência de um sítio de ligação à enzima de restrição *TaqI*. A localização desses SNPs está definida em função do gene do receptor de dopamina D2, localizado em 11q22-23 (Grandy *et al.*, 1989), de acordo com a Figura 2. Os haplótipos definidos pela análise das três mutações estão descritos na Tabela 5.

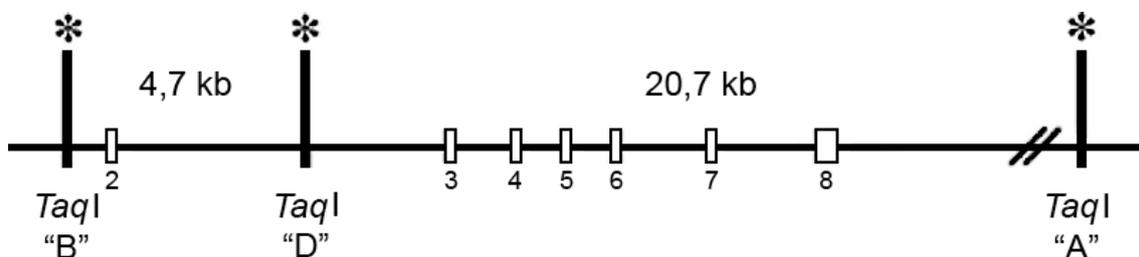


Figura 2: Localização dos SNPs DRD2 “A”, “B” e “D” em relação ao gene do receptor da dopamina D2 (modificado de Kidd *et al.*, 1996). No éxon 8 do gene, está localizado seu códon de terminação.

Tabela 5: Haplótipos DRD2/*TaqI* gerados pela análise da presença/ausência dos sítios de restrição para enzima *TaqI*.

Haplótipo	Sítios de Restrição		
	A	B	D
*1	+	+	+
*2	+	+	-
*3	+	-	+
*4	+	-	-
*5	-	+	+
*6	-	+	-
*7	-	-	+
*8	-	-	-

Presença (+) e ausência (-) do sítio de ligação para enzima de restrição *TaqI*.

O gene do componente grupo-específico humano, GC, está localizado no braço longo do cromossomo 4. Existem três alelos comuns para a proteína codificada por esse gene (*D-vitamin-binding protein*), causados por duas mutações de ponto que geram mudanças nos aminoácidos nas posições 416 e 420 da proteína. Essas mutações são possíveis de serem identificadas pela utilização de enzimas de restrição da seguinte forma: a presença de sítio de restrição para a enzima *HaeIII* define o alelo 1S, enquanto que a clivagem da enzima *StyI* ocorre no alelo 2. Na ausência de sítio de restrição para ambas as enzimas, tem-se o alelo 1F (Braun *et al.*, 1992). Essa nomenclatura dos alelos foi definida na literatura a partir do comportamento dos produtos alélicos das variantes protéicas em eletroforese, sendo o alelo 1S o mais lento e o 2 o mais rápido.

3.2. Seleção das Amostras Utilizadas para as Estimativas Genéticas

Para os dois conjuntos de dados (bancos de dados de marcadores moleculares do Laboratório de Genética do IB/UnB e novas análises laboratoriais), foram selecionados indivíduos com grau de parentesco de no máximo 1/16, ou seja, aqueles que não apresentassem parentesco até a

terceira geração anterior a atual. Assim, foram consideradas 77 amostras de Mocambo, 102 de Rio das Rãs e 30 de Riacho de Sacutiaba.

3.3. Genotipagem Obtida de Bancos de Dados

A genotipagem das amostras selecionadas referente aos marcadores AT3, CYP3a4, CRH, Fy-Null, LPL e OCA2 foi obtida do banco de dados de marcadores genéticos do Laboratório de Genética IB/UnB. Esses marcadores foram genotipados por Pedrosa (2006) que também descreveu os procedimentos laboratoriais para genotipagem desses marcadores por seqüenciamento (SNPs) ou eletroforese em gel vertical (AT3).

3.4. Coleta, Processamento do Material Biológico e Extração de DNA

Nas visitas técnicas realizadas em 1998, 5 mL de sangue periférico foram coletados de cada doador. Para isso, utilizou-se um sistema de punção venosa com tubos a vácuo (*Vacutainer*), com EDTA (ácido etilenodiamino tetraacético) a 5% como anticoagulante, que foram devidamente identificados e refrigerados o mais breve possível.

O processamento do material biológico coletado foi realizado no laboratório de Genética da Universidade de Brasília, logo após o retorno do trabalho de campo. Esta etapa caracterizou-se por sucessivos processos de centrifugação e lavagem com solução salina para separação do material em três frações: plasma, *fração leucocitária* e hemácias. Em seguida, o *fração leucocitária* foi estocado em tubos identificados em congeladores com temperatura de 20° C negativos até o momento da extração do DNA.

Para extração de DNA foi utilizado o kit *Illustra blood genomicPrep Mini Spin Kit™* (GE), para o qual seguiram-se os procedimentos descritos no manual de instrução do produto, traduzido no ANEXO C. Em seguida, as amostras foram armazenadas em congeladores a 20° C negativos. Esse método de extração gera amostras de DNA com concentração aproximada de 30 ng/μL.

3.5. Análises Laboratoriais

A análise laboratorial dos marcadores APO, D1, ECA, FXIIB, PV-92, Sb19.3, TPA-25, GC, RB2300 e DRD2/*TaqI* foi iniciada por uma reação de amplificação por PCR (reação em cadeia da polimerase – Mullis, 1990), em que uma mistura de reagentes e condições específicas para cada sistema foi utilizada (Tabelas 6 e 7). Nas reações de amplificação, foram utilizados como controles negativos uma mistura de reagentes sem DNA.

Os produtos de PCR referentes às sete inserções *Alu* foram analisados diretamente em eletroforese vertical, com gel de poliacrilamida a 6%. Ao produto de PCR foi adicionado tampão de corrida para ser aplicado ao gel que, após um período de cerca de duas horas de corrida, em uma voltagem de 200 V, foi corado com solução de nitrato de prata a 10%. Os procedimentos detalhados da eletroforese e protocolos das soluções utilizadas encontram-se descritos no ANEXO D.

Os SNPs foram analisados pela técnica de RFLP (do inglês, polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição). Esta técnica consiste na adição de uma enzima de restrição específica ao produto da PCR, com a finalidade de identificar uma das duas mutações dos marcadores genéticos considerados (condições das reações de restrição e mistura de reagentes descritas na Tabela 8). A presença do sítio de restrição define o alelo *2, enquanto a ausência de ligação com a enzima define o alelo *1. Após digestão enzimática, os produtos da reação de restrição foram analisados em gel de poliacrilamida vertical, conforme descrito anteriormente para os marcadores do tipo indel, exceto para a análise dos SNPs contidos no haplótipo DRD2/*TaqI*, que foram analisados em gel de poliacrilamida a 10%, com voltagem definida para 180 V, num tempo total de três horas e meia. Vale ressaltar que, para a análise deste haplótipo foram realizadas três PCRs diferentes, com amplificação de três fragmentos específicos, cada um contendo apenas uma das três mutações analisadas em três reações de digestão distintas, mas com o uso da mesma enzima, a *TaqI*. Como controles positivos destas e das demais reações de digestão foram utilizadas amostras com genótipos previamente conhecidos.

Alguns indivíduos homocigotos para presença da inserção *Alu* Sb19.3 podem apresentar amplificação de um fragmento adicional com o tamanho do fragmento indicativo do alelo *2, porém com menor intensidade de coloração do que o observado quando o alelo *2 do marcador está de fato presente. Isso ocorre devido ao fato de que o par de iniciadores desenhado para a PCR tem homologia de cerca de 95% de sua extensão com uma região situada no cromossomo 4. A depender das condições específicas de cada reação, é possível que o iniciador se pareie com essa região. Comparações entre genotipagens por eletroforese em gel vertical e por seqüenciamento confirmam que os indivíduos que apresentam esse padrão, são, de fato, homocigotos para ausência da inserção (Luis *et al.*, 2003) e, por tanto, a medida de correção foi adotada no presente trabalho.

3.6. Considerações éticas

Os protocolos de análises empregados no presente trabalho foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde da Universidade de Brasília, com número 151/07. O termo de aprovação encontra-se no ANEXO E.

Tabela 6: Mistura de reagentes e temperaturas de pareamento dos iniciadores padronizadas para a PCR. Volume final das reações, completados com água deionizada autoclavada até 17 μ L para o GC e até 12 μ L para os demais.

Reagentes	Unidade	Marcadores Genéticos											
		APO	ECA	D1	FXIIB	PV92	Sb19.3	TPA25	GC	RB2300	DRD2A	DRD2B	DRD2D
Tampão^a	μ L	1,25	1,25	1,25	1,25	2	1,4	1,5	1,25	1,75	1,3	1,3	1,3
MgCl₂	μ L	0,25	0,5	0,5	0,15	-	-	-	-	0,8	-	-	-
dNTP^b	μ L	1,25	1,25	1,0	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25	1,6	1,25	1,25
Iniciadores^c	μ L	2	1	1,25	1,25	0,5	1,5	1,25	1,5	1,25	1,25	1,6	1,6
DMSO^d	μ L	-	0,315	0,315	-	0,315	0,325	0,315	-	1,2	0,315	-	-
Taq DNA Polimerase	U	0,8	3,0	0,5	1,0	1,0	2,5	1,0	0,6	2,5	2,5	2,5	2,5
DNA	ng	20	30	10	20	20	30	20	20	20	24	30	24
Temp. de Pareamento^e	$^{\circ}$ C	50	58	58	61	54	60	58	55	61	64	64	64

a: tampão com MgCl₂ a 2mM; **b:** solução de dATP, dTTP, dCTP e dGTP a 10mM para o RB2300 e D1 e 1mM para os demais; **c:** solução dos iniciadores A e B a 5 μ M; **d:** Solução de Dimetilsulfóxido a 10%, exceto para RB2300, a 100%; **e:** Temperatura padronizada para o pareamento dos iniciadores.

Tabela 7: Seqüência dos iniciadores empregados nas reações de PCR, tamanho do fragmento amplificado e referência bibliográfica de onde a seqüência do iniciador foi obtida.

Locus	Iniciadores	Tamanho do Fragmento Amplificado^a	Referência Bibliográfica
APO	5'AAGTGCTGTAGGCCATTTAGATTAG3' 5'AGTCTTCGATGACAGAGTATACAGA3'	400pb ou 110pb	Batzer <i>et al.</i> , 1994
D1	5'TGCTGATGCCAGGGTTAGTAAA3' 5'TTTCTGCTATGCTCTTCCCTCTC3'	700pb ou 400pb	Batzer <i>et al.</i> , 1995
ECA	5'CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT3' 5'GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT3'	490pb ou 190pb	Tiret <i>et al.</i> , 1992
FXIII B	5'TCAACTCCATGAGATITrCAGAAAGT3' 5'CTGGAAAAAATGTATTCAGGTGAGT3'	700pb ou 500pb	Kass <i>et al.</i> , 1994
PV92	5'AACTGGGAAAATTTGAAGAGAAAGT3' 5'TGAGTTCTCAACTCCTGTGTGTTAG3'	400pd ou 110pb	Batzer <i>et al.</i> , 1994
Sb19.3	5'TCTAGGCCAGATTTATGGTAACTG3' 5'AAGCACAATTGGTTATTTCTGAC3'	450pb ou 150pb	Arcot <i>et al.</i> , 1998
TPA25	5'GTAAGAGTTCCGTAACAGGACAGCT3' 5'CCCCACCCTAGGAGAACTTCTCTTT3'	400pd ou 110pb	Batzer e Deininger, 1991
GC	5'AGATCTGAAATGGCTATTATTTTGC3' 5'GGAAGGTGAGTTTATGGAACAGC3'	200pb	Parra <i>et al.</i> , 1998
RB2300	5'CAGGACAGCGGCCCGGAG3' 5'CTGCAGACGCTCCGCCGT3'	180pb	Bookstein <i>et al.</i> , 1990
DRD2A	5'CCGTCGACGGCTGGCCAAGTTGTCTA3' 5'CCGTCGACCCTTCCCTGAGTGTCA3'	280pb	Gelernter <i>et al.</i> , 1998
DRD2B	5'GATGTGTAGGAATTAGCCAGG3' 5'GATACCCACTTCAGGAAGTC3'	459pb	Castiglioni <i>et al.</i> , 1995
DRD2D	5'CCCAGCAGGGAGAGGGAGTA3' 5'GACAAGTACTTGGTAAGCATG3'	419pb	Kidd <i>et al.</i> , 1996

a: os tamanhos dos fragmentos amplificados foram estimados em eletroforese em gel vertical com utilização de um padrão de peso molecular de 100pb e auxílio da literatura indicada quando disponível.

Tabela 8: Mistura de reagentes para digestão enzimática e condições das reações utilizadas para análise dos RFLP. O volume final de cada reação foi igual a 12 μ L, completados com água deionizada autoclavada.

Reagentes	Unidade	GC	RB2300	DRD2A	DRD2B	DRD2D
Tampão^a	μ L	1,2	1,0	1,0	1,2	1,2
BSA^a	μ L	-	0,1	-	0,1	0,1
Enzima^b	-	<i>HaeIII</i>	<i>StyI</i>	<i>BamHI</i>	<i>TaqI</i>	<i>TaqI</i>
Produto PCR	μ L	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Temperatura	$^{\circ}$ C	37	37	37	65	65
Tempo	h	5	5	12	12	12

a: O tampão e BSA utilizados foram adquiridos junto com as enzimas dos seus fabricantes. **b:** 3U de *HaeIII* e *BamHI*; 4,5U de *StyI* e *TaqI*.

4. Análises Estatísticas

4.1. Definição dos Haplótipos DRD2/TaqI

Em decorrência da impossibilidade de inferência direta dos haplótipos de DRD2/TaqI a partir da genotipagem por RFLP para todos os indivíduos, o programa Arlequin 3.1.1 (Excoffier *et al.*, 2005) foi utilizado para conferir a cada cromossomo a fase gamética mais provável, tendo em vista a genotipagem para os SNPs “A”, “B” e “D”. O algoritmo EM versão *zipper* foi utilizado para esses fins, após comparação dos resultados com a outra versão do EM e com o algoritmo ELM.

A diversidade haplotípica para cada população foi estimada com o emprego do programa FSTAT versão 2.9.3.2 (disponível em <<http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>>).

4.2. Estimativas de Diversidade das Populações e Impacto da Imigração

As freqüências alélicas e genotípicas foram calculadas por contagem direta. As alterações de freqüência alélica (Δq) causadas pelo fluxo gênico foram estimadas para cada marcador bialélico com a seguinte fórmula:

$$\Delta q = -m(q_o - q_m) \times 10^4,$$

segundo o modelo continente-ilhas, sendo que m é a proporção de imigrantes na população, q_o é a freqüência de um dado alelo na parcela de **nativos** e q_m é a freqüência do mesmo alelo na população **total**, com imigrantes e nativos (modificado de Futuyama, 2005). Para tanto, como q , foi considerada a freqüência do alelo *1, resultando em um valor positivo no caso do aumento na freqüência desse alelo e em um valor negativo, no caso da diminuição de sua freqüência e conseqüente aumento da freqüência de *2.

Adicionalmente, foi avaliada a ocorrência de inserção de novos haplótipos de DRD2 em decorrência da imigração na geração analisada.

O programa GENEPOP 3.4 (Raymond e Rousset, 1995) foi utilizado para checar se as freqüências genotípicas observadas se adequavam ao

esperado no Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) e para avaliar o excesso e déficit de heterozigotos para cada marcador. Quando a frequência observada não se adequava ao EHW, as análises foram refeitas com a exclusão dos imigrantes da amostragem. Para estimativa do valor de p e do erro padrão associado aos testes realizados, utilizou-se o método da Cadeia de Markov (Guo e Thompson, 1992), com 10.000 dememorizações e 5.000 interações.

4.3. Estimativa de Heterozigose

A heterozigose esperada e observada foi estimada com a utilização do programa *Genetic Data Analysis – GDA* (Lewis e Zaykin, 1997) para cada *locus*, comparadas entre si a partir do índice de fixação f (índice de endogamia), com a utilização do mesmo programa. Foram gerados dois valores médios para cada parâmetro nas três populações: um com a população total e outro com os nativos exclusivamente, comparados entre si com a utilização do teste T de Student para amostras pareadas e intervalo de confiança de 95%. Para esse teste, realizado com o SPSS versão 15.0, cada marcador foi considerado uma amostra e as análises com e sem imigrantes foram consideradas os dois tratamentos distintos.

4.4. Estatísticas F

O F_{st} e o F_{is} foram calculados com a utilização do programa GDA (Lewis e Zaykin, 1997). O F_{st} ou θ é a estatística da probabilidade de dois alelos tomados ao acaso serem idênticos por descendência. Esse parâmetro indica a diversidade interpopulacional. O F_{is} é um índice de endogamia, relativo ao déficit de heterozigotos médio em todas as populações consideradas na análise.

4.5 Comparações das freqüências alélicas e genótípicas das populações e entre as parcelas de imigrantes e nativos

Para a comparação das freqüências gênicas e genótípicas, foi realizado o teste de diferenciação populacional, com o programa GENEPOP 3.4 (Raymond e Rousset, 1995). Essas estimativas foram geradas para cada marcador separadamente e em conjunto. Todas as populações foram comparadas par a par e também em conjunto. Adicionalmente, as freqüências gênicas e genótípicas foram comparadas entre as parcelas de nativos e imigrantes para cada população. Para essas análises, foi utilizado o Teste Exato de Fisher baseado na Cadeia de Markov.

4.6 Construção de Gráficos para Inferência da Estrutura Populacional e Afiliação Genética

O programa *Structure* 2.2.3 (Pritchard *et al.*, 2000 – disponível em <http://pritch.bsd.uchicago.edu/software/structure2_2.html>) foi utilizado para construção de gráficos para avaliação da ocorrência de estruturação populacional assim como para análise da afiliação genética dos indivíduos analisados. Com esse programa, é possível gerar dois tipos de gráficos. Em um deles, em forma de triângulo, os indivíduos são agrupados de acordo com a semelhança entre seus genótipos, sendo que a distância ilustrada reflete a distância genética entre os indivíduos (estrutura populacional). No outro gráfico, com forma de fita, é possível estimar a proporção da contribuição de populações parentais a cada indivíduo analisado (afiliação genética).

Em um primeiro momento, as populações foram analisadas uma a uma, com a utilização dos 16 marcadores genéticos disponíveis e sem a utilização das populações parentais. Em cada gráfico gerado, foram atribuídas distintas cores para os nativos e os imigrantes, no intuito de buscar informações sobre a maneira em que os imigrantes afetam a estruturação populacional.

Em seguida, foram considerados dados das populações parentais em adição aos dados utilizados para cada população. Para essa opção, o programa requer a utilização de genótipos de indivíduos das populações

parentais consideradas e não apenas de frequências alélicas. Por esse motivo, um banco de dados cedido pelo Doutor Mark D. Shriver, da Universidade da Pensilvânia foi utilizado. Esse banco inclui a genotipagem para 132 indivíduos da Nigéria (África Subsaariana), 93 ameríndios e 89 indivíduos europeus (Alemanha e Espanha). Nesta análise, foram considerados para as populações de Mocambo, Rio das Rãs, Sacutiaba e as parentais apenas os dados relativos aos marcadores APO, PV-92, Sb19.3, AT3, Fy-Null, GC, LPL, OCA2 e RB2300.

Em todas as estimativas geradas utilizou-se 10.000 interações no período *burn-in*, com 10.000 interações adicionais após esse período, com a utilização do modelo de ancestralidade de informação populacional e selecionando os indivíduos africanos, ameríndios e europeus como representantes das parentais

4.7. Mistura Genética

Estimativas de contribuição das parentais Africana, Ameríndia e Européia para a constituição genética de cada população foram geradas com a utilização do programa ADMIX3, com método da identidade gênica (Chakraborty, 1985). Para tanto, a média aritmética das frequências alélicas dos 16 marcadores nas populações parentais (Tabela 2) foi utilizada. Duas estimativas de contribuição parental foram geradas, a primeira com a utilização de todos os indivíduos amostrados e a segunda com a utilização dos nativos exclusivamente.

4.8. Estimativas de Distância Genética

A distância genética entre os três remanescentes de quilombos e as populações do Distrito Federal, Salvador, Jequié, as populações parentais e outros cinco remanescentes de quilombos adicionais (São Gonçalo, Barra, Valongo, Santiago do Iguape e Santo Antônio do Guaporé) foram estimadas. A Figura 1 ilustra a posição relativa de cada uma das populações consideradas no mapa do Brasil.

O programa GENDIST do pacote PHYLIP foi utilizado para construção de uma matriz de distância genética de Reynolds (Felsenstein, 1989). Duas diferentes estimativas foram geradas: a primeira delas com a utilização de todos os marcadores disponíveis para as populações de Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba e as três populações parentais (africanos, ameríndios e europeus); e a segunda delas, incluindo as demais populações descritas na tabela 1. Nesta última seleção, foram utilizados cinco marcadores (AT3, APO, Sb19.3, PV92 e LPL), pois esses são os únicos encontrados em comum para as populações consideradas.

A população do DF foi considerada como sendo representativa do Brasil, visto que sua população, recentemente formada por fluxos de todas as regiões do país, apresenta proporções de mistura genética muito próximas à estimada para a população brasileira como um todo (Godinho, 2008). Já as populações de Salvador e Jequié foram consideradas nas análises como sendo representativas da região urbana próxima aos remanescentes de quilombos de Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba. As demais populações afroderivadas utilizadas (Santiago do Iguape, Santo Antônio do Guaporé, São Gonçalo, Barra e Valongo) foram consideradas para fins de comparação com as demais populações, por terem história semelhante à dos remanescentes de quilombos de Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba.

Com as matrizes de distância geradas com o pacote Phylip, os gráficos de distância com duas coordenadas principais foram construídos com a utilização do programa NTSYS (Rohlf, 1995).

4.9 Desequilíbrio de Ligação

O programa GENEPOP 3.4 (Raymond e Rousset, 1995) foi utilizado para estimar o desequilíbrio de ligação (DL) entre os *loci*. Para tanto, o programa utiliza o teste Weir (teste composto de desequilíbrio de ligação) em tabelas de contingência para análise de ligação entre cada par de *loci*. Como nível de significância, utilizou-se inicialmente 5% e, posteriormente, com a correção de Bonferroni, o valor de α foi ajustado para 0,000417. A medida de

correção é indicada para evitar erros do tipo 1 – rejeição espúria da hipótese nula –, em decorrência da realização de sucessivos testes com uma mesma fonte de dados. Adicionalmente, os três SNPs do haplótipo DRD2/TaqI foram testados separadamente para a ocorrência de DL.

Os indivíduos imigrantes foram excluídos dos cálculos, em um segundo momento, a fim de se checar se a exclusão dos efeitos da imigração recente alteraria o padrão de DL observado.

RESULTADOS

1. Caracterização Demográfica e de Comportamentos Matrimoniais

Foi observada predominância de indivíduos do sexo feminino em Rio das Rãs (51%) e Sacutiaba (58,6%). O inverso ocorreu em Mocambo, onde foi observada maior proporção de homens (53,4%). A proporção de indivíduos imigrantes nas populações de Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba foi, respectivamente, 16,1%, 20,2% e 30,0%. Desses, a maioria foi composta por mulheres (60,7%, 63,5, e 66,7 dos imigrantes, respectivamente).

Com relação aos tipos de casamentos, foi observado predomínio de casamentos endogâmicos em Mocambo e Rio das Rãs nas três gerações analisadas (Tabela 9). Enquanto a proporção de casamentos desse tipo se manteve constante ao longo do tempo, houve aumento de casamentos exogâmicos e diminuição de casais imigrantes. Distintamente, em Sacutiaba as proporções entre os três tipos de casamento foram semelhantes ao longo das gerações avaliadas, com predomínio de casamentos entre imigrantes na primeira geração e subsequente decréscimo. Na presente geração dos três remanescentes de quilombos, a proporção de casamentos patrilocais, isto é, entre um homem nativo e uma mulher de fora da comunidade, é maior do que a de matrilocais.

A análise dos questionários revelou que a maioria dos casamentos exogâmicos (97%) ocorreu entre pessoas do mesmo estado em que os remanescentes de quilombos se situam, sendo muitas vezes de regiões vizinhas. Na comunidade de Mocambo, em especial, grande parte (20%) desses casamentos ocorreu com indivíduos da aldeia Xocó.

Tabela 9: Distribuição das categorias de casamentos – endogâmicos, exogâmicos (total e patrilocais) e entre imigrantes – em três remanescentes de quilombos do nordeste brasileiro.

População	Geração	Proporção de Casamentos (%)			
		Endogâmicos	Exogâmicos		Imigrantes
			Total	Patrilocais	
Mocambo	P	57,2	10,8	5,2	32,0
	F1	57,4	24,3	12,4	18,3
	F2	55,0	40	21,2	5,0
Rio das Rãs	P	51,9	11,5	6,2	36,6
	F1	52,2	27,9	17,6	19,9
	F2	49,4	41,6	26,2	9,0
Sacutiaba	P	31,6	31,6	2,2	36,8
	F1	42,6	36,1	14,8	21,3
	F2	43,5	34,8	30,6	21,7

2. Impacto do Fluxo Gênico sobre a Distribuição Alélica e Genotípica

Nas Tabelas 10 a 12 encontram-se descritas as frequências gênicas e genotípicas dos marcadores bialélicos e do sistema GC, bem como o valor de p para o Teste Exato de aderência das frequências genotípicas ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), erro padrão associado e valor de p para os testes de Excesso (EH) e Déficit de Heterozigotos (DH). As frequências genotípicas dos marcadores analisados se apresentaram dentro do esperado quando em Equilíbrio de Hardy-Weinberg. No caso do sistema CRH em Rio das Rãs, único marcador fora do equilíbrio, a exclusão dos indivíduos imigrantes da amostra dessa população permitiu que a diferença entre a proporção genotípica esperada e observada apresentasse um valor de p não significativo ($p=0,351\pm 0,002$). Déficit de heterozigotos foi observado em Mocambo para os marcadores GC e Fy-Null e em Rio das Rãs para o CRH.

A média dos valores absolutos do índice de alteração de frequências alélicas (Δq) foi estimado em 23, 20 e 163 para Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba respectivamente.

A distribuição haplotípica do marcador DRD2 para as três populações (Tabela 13) indicou um desvio nas frequências genotípicas quanto ao esperado pelo EHW na população de Rio das Rãs. Essa foi a população que apresentou a maior diversidade haplotípica e também a única que apresentou excesso de heterozigotos. O haplótipo *1 foi o mais freqüente em todas as populações, seguido do haplótipo *2. O haplótipo *4 foi observado somente em Rio das Rãs enquanto que o haplótipo *8 foi observado apenas em Sacutiaba. Além disso, foi observada a inserção de um novo haplótipo (*6) na população de Sacutiaba em decorrência de imigração.

Tabela 10: Frequência alélica e genotípica de 15 marcadores genéticos para a população de Mocambo, número amostral (N), valor de p dos testes de aderência ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), excesso (EH) e déficit (DH) de heterozigotos e índice de alteração de frequências alélicas por efeito de imigração (Δq) para cada marcador genético.

Marcador	Frequência Alélica			N	Frequência Genotípica						EHW		EH	DH	Δq
	*1	*2	*3		11	12	22	13	23	33	P-valor	Erro Padrão			
APO	0,770	0,230	--	76	0,618	0,303	0,079	--	--	--	0,201	0,001	0,950	0,153	45
D1	0,320	0,680	--	75	0,147	0,347	0,507	--	--	--	0,104	0,001	0,981	0,061	-39
ECA	0,400	0,600	--	75	0,160	0,480	0,360	--	--	--	1,000	0,000	0,618	0,572	5
FXIIIB	0,447	0,553	--	75	0,147	0,600	0,253	--	--	--	0,100	0,001	0,057	0,980	5
PV-92	0,333	0,667	--	75	0,133	0,400	0,467	--	--	--	0,436	0,002	0,883	0,253	-26
Sb19.3	0,687	0,313	--	75	0,480	0,413	0,107	--	--	--	0,789	0,001	0,752	0,445	32
TPA-25	0,380	0,620	--	75	0,187	0,387	0,427	--	--	--	0,142	0,001	0,969	0,086	-14
AT3	0,559	0,441	--	68	0,309	0,500	0,191	--	--	--	1,000	0,000	0,578	0,618	-63
CRH	0,363	0,637	--	73	0,110	0,507	0,384	--	--	--	0,612	0,001	0,306	0,848	-10
CRP3a4	0,342	0,658	--	73	0,110	0,466	0,425	--	--	--	1,000	0,000	0,518	0,690	-16
FyNull	0,682	0,318	--	74	0,514	0,338	0,149	--	--	--	0,061	0,001	0,986	0,046	8
GC ^a	0,382	0,493	0,125	72	0,181	0,347	0,264	0,056	0,111	0,042	0,137	0,002	0,979	0,022	--
LPL	0,637	0,363	--	73	0,411	0,452	0,137	--	--	--	0,805	0,001	0,697	0,497	-31
RB2300	0,662	0,338	--	74	0,405	0,514	0,081	--	--	--	0,290	0,002	0,171	0,931	24
OCA2	0,338	0,662	--	74	0,108	0,459	0,432	--	--	--	1,000	0,000	0,538	0,664	2

$$\bar{x} |\Delta q| = 23$$

a: alelos 1S, 1F e 2 representados por *1, *2 e *3 respectivamente.

Tabela 11: Frequência alélica e genotípica de 15 marcadores genéticos para Rio das Rãs, número amostral (N), valor de p calculado a partir do teste de aderência ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), excesso (EH) e déficit (DH) de heterozigotos e índice de alteração de frequências alélicas por efeito de imigração (Δq) para cada sistema.

Marcador	Frequência Alélica			N	Frequência Genotípica						EHW		EH	DH	Δq
	*1	*2	*3		11	12	22	13	23	33	P-valor	Erro Padrão			
APO	0,700	0,300	--	100	0,520	0,360	0,120	--	--	--	0,157	0,001	0,958	0,109	59
D1	0,367	0,633	--	94	0,096	0,543	0,362	--	--	--	0,125	0,002	0,086	0,964	-26
ECA	0,449	0,551	--	98	0,224	0,449	0,327	--	--	--	0,410	0,002	0,880	0,221	4
FXIIIB	0,405	0,595	--	100	0,120	0,570	0,310	--	--	--	0,095	0,001	0,058	0,978	-6
PV-92	0,200	0,800	--	100	0,040	0,320	0,640	--	--	--	1,000	0,000	0,653	0,593	-8
Sb19.3	0,713	0,287	--	94	0,500	0,426	0,074	--	--	--	0,806	0,001	0,476	0,717	-46
TPA-25	0,410	0,590	--	100	0,140	0,540	0,320	--	--	--	0,303	0,002	0,184	0,904	4
AT3	0,658	0,342	--	98	0,459	0,398	0,143	--	--	--	0,264	0,002	0,922	0,164	-22
CRH	0,470	0,530	--	99	0,273	0,394	0,333	--	--	--	0,042	0,001	0,990	0,025	20
CRP3a4	0,576	0,424	--	99	0,323	0,505	0,172	--	--	--	0,837	0,001	0,464	0,689	18
FyNull	0,258	0,742	--	99	0,051	0,414	0,535	--	--	--	0,601	0,002	0,308	0,855	36
GC ^a	0,179	0,732	0,089	95	0,042	0,253	0,547	0,021	0,116	0,021	0,291	0,002	0,939	0,073	--
LPL	0,717	0,283	--	99	0,505	0,424	0,071	--	--	--	0,806	0,001	0,443	0,741	8
RB2300	0,668	0,332	--	90	0,474	0,389	0,137	--	--	--	0,250	0,002	0,930	0,157	32
OCA2	0,263	0,737	--	99	0,071	0,384	0,545	--	--	--	1,000	0,000	0,664	0,540	1

$$\bar{x} |\Delta q| = 20$$

a: alelos 1S, 1F e 2 representados por *1, *2 e *3 respectivamente.

Tabela 12: Freqüência alélica e genotípica de 15 marcadores genéticos para o remanescente de quilombo de Sacutiaba, número amostral (N), valor de p dos testes de aderência ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), excesso (EH) e déficit (DH) de heterozigotos e índice de alteração de freqüências alélicas por efeito de imigração (Δq) para cada sistema.

Marcador	Freqüência Alélica			N	Freqüência Genotípica						EHW		EH	DH	Δq
	*1	*2	*3		11	12	22	13	23	33	P-valor	Erro Padrão			
APO	0,850	0,150	--	30	0,700	0,300	--	--	--	--	1,000	0,000	0,494	1,000	-201
D1	0,300	0,700	--	30	0,067	0,467	0,467	--	--	--	0,687	0,001	0,478	0,831	-99
ECA	0,500	0,500	--	29	0,276	0,448	0,276	--	--	--	0,710	0,001	0,849	0,390	-333
FXIIIB	0,233	0,767	--	30	0,100	0,267	0,633	--	--	--	0,159	0,001	0,975	0,157	366
PV-92	0,121	0,879	--	29	--	0,241	0,759	--	--	--	1,000	0,000	0,666	1,000	114
Sb19.3	0,690	0,310	--	29	0,414	0,552	0,034	--	--	--	0,204	0,001	0,148	0,980	69
TPA-25	0,433	0,567	--	30	0,200	0,467	0,333	--	--	--	1,000	0,000	0,772	0,503	132
AT3	0,438	0,562	--	24	0,167	0,542	0,292	--	--	--	1,000	0,000	0,513	0,789	45
CRH	0,227	0,773	--	22	0,000	0,455	0,545	--	--	--	0,538	0,001	0,268	1,000	-69
CRP3A4	0,440	0,560	--	25	0,120	0,640	0,240	--	--	--	0,231	0,001	0,160	0,968	-180
FyNull	0,280	0,720	--	25	0,080	0,400	0,520	--	--	--	1,000	0,000	0,748	0,628	147
GC ^a	0,167	0,667	0,167	30	0,033	0,167	0,500	0,100	0,167	0,033	0,347	0,002	0,819	0,220	--
LPL	0,771	0,229	--	24	0,583	0,375	0,042	--	--	--	1,000	0,000	0,671	0,773	63
RB2300	0,483	0,517	--	29	0,172	0,621	0,207	--	--	--	0,278	0,002	0,200	0,946	-330
OCA2	0,348	0,652	--	23	0,174	0,348	0,478	--	--	--	0,355	0,001	0,956	0,219	-135

$$\bar{x}_{|\Delta q|} = 163$$

a: alelos 1S, 1F e 2 representados por *1, *2 e *3 respectivamente.

Tabela 13: Frequência dos haplótipos do DRD2 para as populações estudadas e valor de p para o teste de adequação das frequências genotípicas observadas ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), Déficit (DH) e Excesso de Heterozigotos (EH) e diversidade haplotípica.

Haplótipo	População		
	Mocambo	Rio das Rãs	Sacutiaba
*1	0,339	0,283	0,393
*2	0,212	0,278	0,373
*3	0,017	0,020	--
*4	--	0,034	--
*5	0,154	0,103	0,099
*6	0,072	0,105	0,035
*7	0,206	0,177	0,074
*8	--	--	0,026
EHW	0,162 (0,004)	0,044 (0,002)	0,981 (0,001)
DH	0,468 (0,008)	0,964 (0,004)	0,612 (0,008)
EH	0,526 (0,007)	0,033 (0,004)	0,406 (0,008)
Div. Hapl.	0,771	0,785	0,696

3. Estimativas de Heterozigose

Na Tabela 14, constam os valores de heterozigose esperados e os observados para cada marcador nas três populações. No geral, os valores foram similares, sendo que os marcadores bialélicos mostraram heterozigose observada próxima ao máximo dentro do EHW para marcadores com dois alelos (50%) na maior parte dos casos. Já os sistemas multialélicos GC (três alelos) e DRD2 (oito alelos) apresentaram baixa heterozigose.

As estimativas de heterozigose geradas para cada marcador com a exclusão dos imigrantes mostraram-se similares às obtidas com a amostra total (dados não mostrados), sendo que os valores médios obtidos em cada caso são estatisticamente semelhantes (Tabela 14).

Tabela 14: Heterozigose esperada e observada para 16 marcadores moleculares em três populações remanescentes de quilombos. Médias calculadas para a população total e parcela de nativos, com valor de p calculado com o teste T de Student com amostras pareadas para diferença entre essa estimativa.

Marcador	Mocambo		Rio das Rãs		Sacutiaba	
	He	Ho	He	Ho	He	Ho
APO	0,483	0,480	0,497	0,449	0,509	0,448
D1	0,438	0,347	0,467	0,543	0,427	0,467
ECA	0,600	0,514	0,427	0,389	0,508	0,433
FXIIIB	0,447	0,400	0,322	0,320	0,216	0,241
PV-92	0,498	0,600	0,484	0,570	0,364	0,267
Sb19.3	0,474	0,387	0,486	0,540	0,499	0,467
TPA-25	0,433	0,413	0,412	0,426	0,436	0,552
AT3	0,450	0,459	0,389	0,384	0,464	0,348
CRH	0,453	0,466	0,491	0,505	0,503	0,640
CYP3a4	0,436	0,338	0,384	0,414	0,411	0,400
Fy-Null	0,450	0,514	0,446	0,389	0,508	0,621
GC	0,357	0,303	0,422	0,360	0,259	0,300
LPL	0,497	0,500	0,452	0,398	0,503	0,542
OCA2	0,466	0,452	0,408	0,424	0,361	0,375
RB2300	0,466	0,507	0,501	0,394	0,359	0,455
DRD2	0,771	0,757	0,786	0,835	0,696	0,700
TOTAL	0,483	0,465	0,461	0,459	0,439	0,453
NATIVOS	0,486	0,471	0,457	0,462	0,424	0,451
p-valor	0,840	0,807	0,828	0,855	0,737	0,961

Os valores de f (índice de endogamia) não indicaram endogamia em qualquer das populações quando analisadas separadamente (Tabela 15).

Tabela 15: Valores do coeficiente de endogamia (f) estimados para Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba.

População	f
Mocambo	-0,03356
Rio das Rãs	0,004591
Sacutiaba	0,03716

4. Estatísticas F

Os valores de F_{st} calculados foram significativos em todas as análises (Tabela 16), sendo que o par Rio das Rãs/Sacutiaba apresentou o menor valor para essa estimativa.

Tabela 16: Valores de F_{st} com intervalo de confiança (95%) para Mocambo (MOC), Rio das Rãs (RIO) e Sacutiaba (SAC).

Populações	F_{st}	Intervalo de Confiança
MOC - RIO	0,040	0,007 a 0,086
MOC - SAC	0,042	0,012 a 0,083
RIO - SAC	0,024	0,009 a 0,042
Todas	0,037	0,012 a 0,072

Com relação ao F_{is} , também não foi possível identificar a ocorrência de endogamia nas três populações consideradas, sendo que o valor calculado para essa estatística foi de 0,013, com intervalo de confiança de -0,020 a 0,045.

5. Comparações entre a Distribuição Gênica e Genotípica

Todas as populações, quando comparadas par a par, mostraram-se estatisticamente diferentes quanto à distribuição gênica e genotípica dos marcadores genéticos quando todos os *loci* foram considerados em conjunto ($p \lll 0,05$). Quando os marcadores foram considerados um a um, o *locus* DRD2 apresentou diferenças significativas entre a distribuição gênica e genotípica para todas as comparações realizadas par a par.

Quando as populações foram consideradas em conjunto, foi observada diferença altamente significativa ($p \lll 0,05$) entre as populações. Apesar disso, as inserções *Alu* D1, ECA, Sb19.3 e TPA e os SNPs LPL e OCA2 não apresentaram diferenças quanto às freqüência alélica ou genotípica (p -valor $> 0,05$).

A comparação das freqüências gênicas e genotípicas entre as populações nativas dos remanescentes de quilombos e os imigrantes em cada população apontou semelhanças em todas as comparações (p -valor $> 0,27$ para todos os casos).

6. Estrutura da População e Afiliação Genética Individual

As Figuras 3 e 4 indicam a estrutura de Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba e associam a ancestralidade genética de seus indivíduos (imigrantes e nativos) às populações parentais. Os indivíduos de Mocambo e Sacutiaba apresentaram-se bastante homogêneos quanto à proporção de contribuição das três parentais, ao contrário dos indivíduos de Rio das Rãs, os quais apresentaram, no geral, maior contribuição individual africana e bastante heterogeneidade com relação às proporções das três parentais (Figura 3). Nesta população, os indivíduos também se agruparam mais próximos aos da parental africana, conforme indicado no gráfico correspondente na Figura 4. Já nos gráficos correspondentes às demais populações, os indivíduos amostrados nos remanescentes de quilombos ocuparam posição central em relação aos indivíduos nativos de populações parentais.

O aumento do número de marcadores nas análises (Figura 5) não gerou mudanças substanciais quanto à diferença entre nativos e imigrantes. Apesar disso, gerou maior concentração dos indivíduos, apontando maiores semelhanças genéticas entre eles.

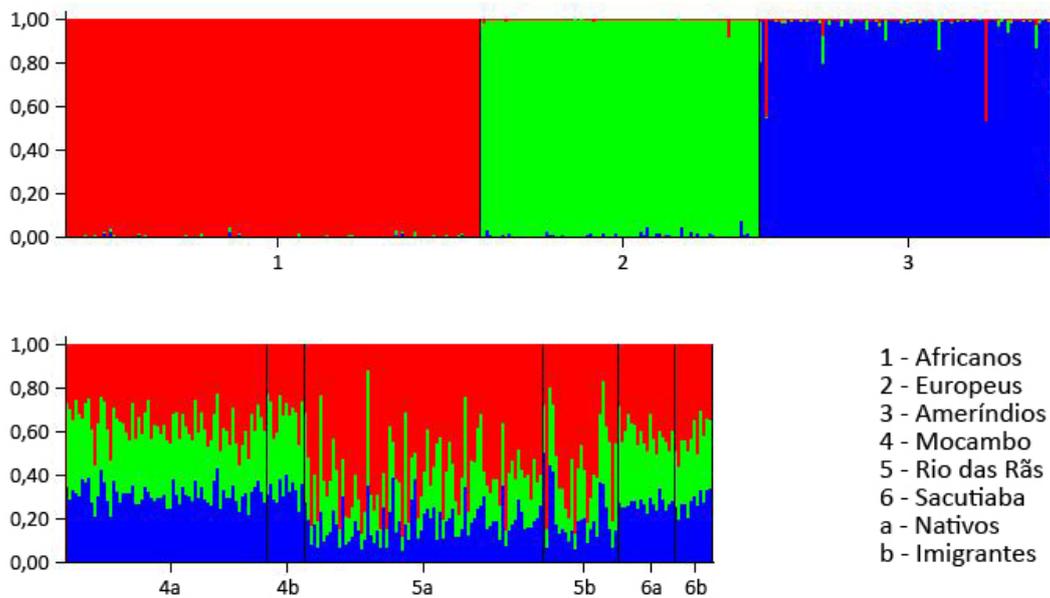


Figura 3: Contribuição genética individual estimada com o uso de nove marcadores genéticos em três remanescentes de quilombos brasileiros em relação às suas parentais.

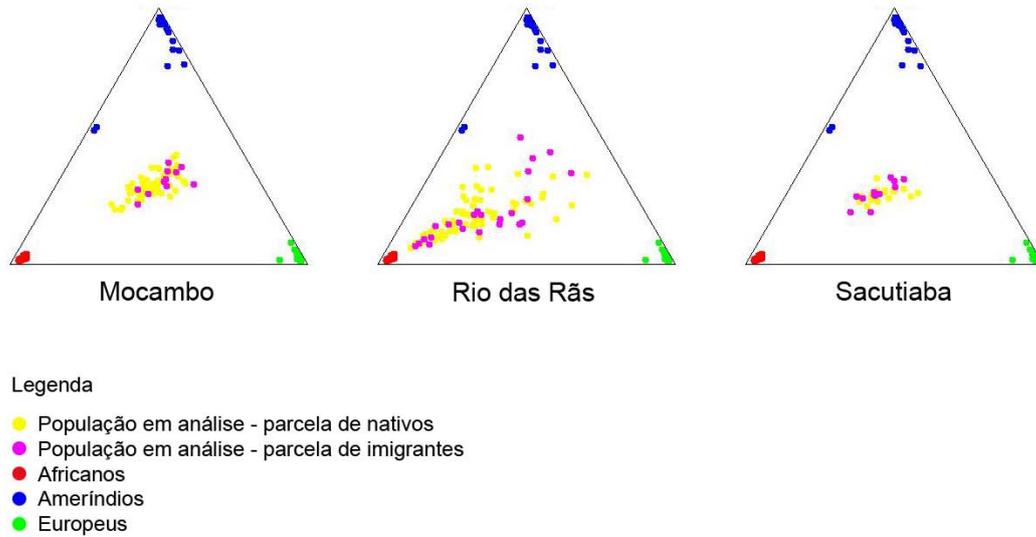


Figura 4: Estrutura populacional de três remanescentes de quilombos brasileiros baseada em nove marcadores genéticos e a afiliação genética de seus indivíduos às parentais Africana, Ameríndia e Européia.

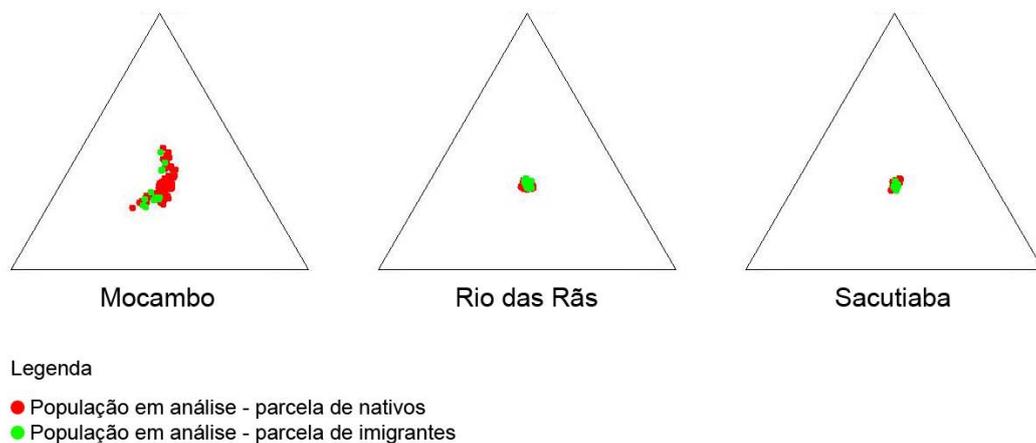


Figura 5: Estrutura de três populações remanescentes de quilombos brasileiros com base em 16 marcadores genéticos.

7. Mistura Genética

A Tabela 17 apresenta as estimativas de contribuição genética, de acordo com o modelo trí-híbrido, nos três remanescentes de quilombos. A contribuição africana foi predominante nas três populações analisadas. Mocambo foi a população com maior contribuição genética ameríndia e Sacutiaba foi a que apresenta a maior contribuição européia. Quando os imigrantes foram excluídos da amostra o quadro geral permaneceu o mesmo, sendo que as maiores diferenças observadas entre o grupo de nativos e migrantes foi quanto à contribuição européia em Mocambo e Rio das Rãs. O grupo de nativos em Mocambo apresentou menor contribuição européia do que o grupo como um todo, sendo que o quadro foi o oposto em Rio das Rãs e Sacutiaba. A alteração percentual nos demais grupos parentais foi menos impactante.

Tabela 17: Proporções (%) de mistura genética em três remanescentes de quilombos considerando o total da suas populações e a parcela de nativos.

	Mocambo		Rio das Rãs		Sacutiaba	
	Total	Nativos	Total	Nativos	Total	Nativos
Africana	52,2	58,6	65,5	57,2	64,3	61,8
Ameríndia	26,6	28,2	20,7	21,2	9,3	10,5
Européia	22,2	13,5	13,8	21,6	26,4	27,7
R-square	0,978	0,989	0,998	0,991	0,999	0,999

8. Análises Comparativas de Distância

Nas Figuras 6 e 8 estão apresentadas as matrizes de distância genética obtidas no presente trabalho, enquanto que nas Figuras 7 e 9 estão representados os gráficos relativos aos dois primeiros componentes principais gerados a partir das análises dessas matrizes.

Com relação aos dois primeiros gráficos (Figuras 6 e 7) a menor distância foi observada entre Rio das Rãs e Sacutiaba. Além disso, os três remanescentes de quilombos considerados nessa análise apresentaram distâncias semelhantes às parentais, sendo que a parental africana é a que se aproxima mais de Rio das Rãs, a ameríndia e europeia, de Mocambo.

Nas figuras 8 e 9, as maiores distâncias foram observadas entre as parentais, que se situaram nos extremos do gráfico de coordenadas principais. As demais populações se posicionaram na região central do gráfico, tendo sido possível identificar um agrupamento central que incluiu a maioria das populações analisadas, com exceção de Barra, que apresentou grande proximidade à parental africana e o Distrito Federal, que apresentou grande semelhança à parental Europeia.

Nos gráficos de componentes principais, pelo menos 94% da variação encontrada pôde ser explicada com a utilização dos dois eixos representados nas figuras.

	MOC	RIO	SAC	AFR	AME
RIO	0,0452				
SAC	0,0557	0,0355			
AFR	0,1803	0,1678	0,1850		
AMER	0,2857	0,3287	0,3575	0,5561	
EUR	0,2097	0,2338	0,2547	0,4737	0,2303

Figura 6: Matriz de distância genética entre os três remanescentes de quilombos em análise (MOC, RIO, SAC), as parentais (AFR, AME, EUR) com relação à distribuição alélica de 16 marcadores genéticos.

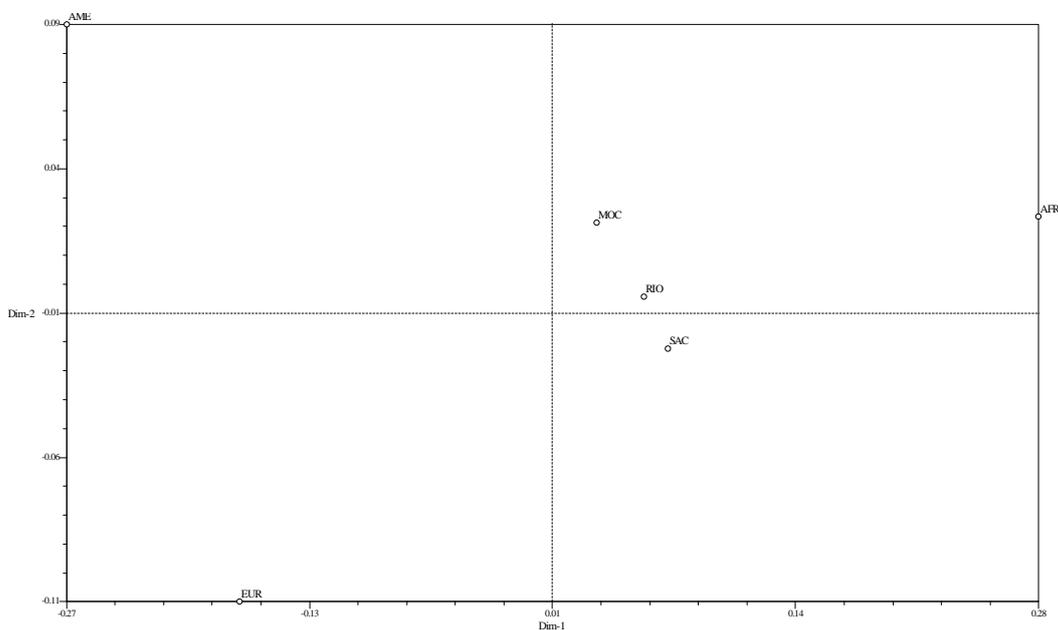


Figura 7: Componente principal gerado a partir da matriz de distância de Reynolds entre as populações parentais (AFR, AME e EUR) e as seguintes populações brasileiras: Mocambo (MOC), Rio das Rãs (RIO) e Sacutiaba (SAC).

	MOC	RIO	SAC	AFR	AME	EUR	SAL	SGO	BAR	VAL	JEQ	DF	SAG
RIO	0,0184												
SAC	0,0410	0,0412											
AFR	0,1611	0,1152	0,2033										
AME	0,2697	0,3755	0,3581	0,5379									
EUR	0,1120	0,1587	0,1023	0,4131	0,3072								
SAL	0,0084	0,0099	0,0199	0,1348	0,3192	0,1289							
SGO	0,0532	0,0405	0,0498	0,0850	0,3918	0,2181	0,0313						
BAR	0,1554	0,1219	0,2271	0,0143	0,5127	0,4132	0,1440	0,1048					
VAL	0,0608	0,0972	0,1305	0,2196	0,2991	0,2303	0,0743	0,1357	0,2063				
JEQ	0,0398	0,0715	0,0631	0,1570	0,2628	0,1751	0,0400	0,0317	0,1569	0,1020			
DF	0,0370	0,0787	0,0460	0,2951	0,2403	0,0260	0,0509	0,1211	0,2945	0,1258	0,0816		
SAG	0,0356	0,0897	0,0968	0,2097	0,1942	0,1671	0,0559	0,0859	0,1934	0,0498	0,0254	0,0731	
STI	0,0569	0,0782	0,1419	0,1297	0,3162	0,2699	0,0674	0,1020	0,1083	0,0285	0,0834	0,1553	0,0542

Figura 8: : Matriz de distância genética entre as populações em análise (MOC, RIO, SAC), as parentais (AFR, AME, EUR) e outras populações brasileiras urbanas (SAL, JEQ, DF) e remanescentes de quilombos (SGO, BAR, VAL, SAG) baseada na distribuição alélica de cinco marcadores genéticos (AT3, APO, Sb19.3, PV92 e LPL).

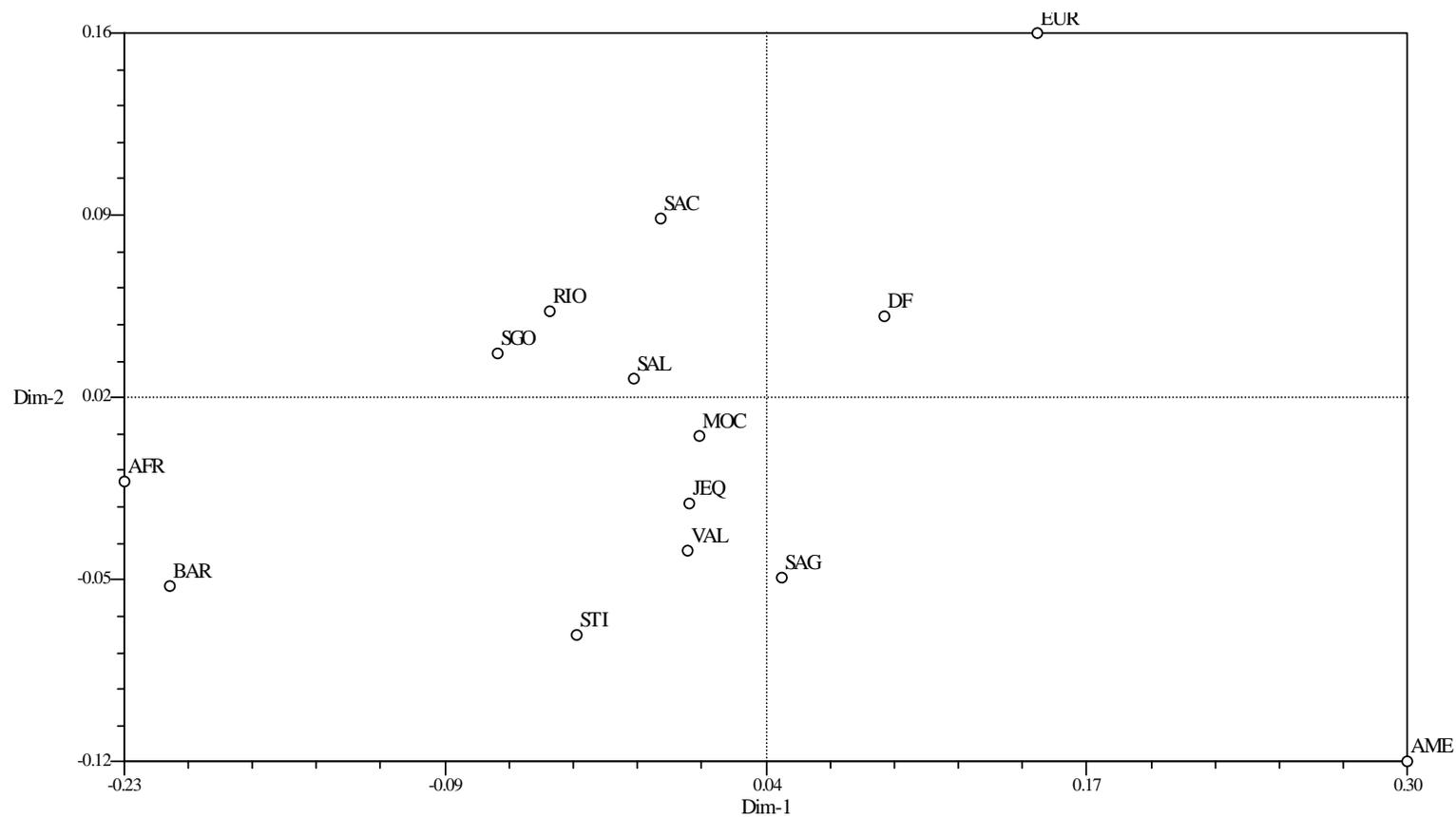


Figura 9: Componente principal gerado a partir de uma matriz de distância de Reynolds entre as populações parentais (AFR, AME e EUR), remanescentes de quilombos (MOC, RIO, SAC, SGO, BAR, VAL, STI E SAG) e populações urbanas brasileiras (JEQ, SAL e DF).

9. Impacto da Imigração Recente sobre o Desequilíbrio de Ligação

Na Tabela 18, constam os pares de marcadores que apresentaram o p-valor para a análise de desequilíbrio de ligação menor que 0,05. Essa análise indicou desequilíbrio de ligação (DL) entre 10, 11 e 3 *loci* em Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba, respectivamente, quando considerado o nível de significância igual a 5%. A exclusão de imigrantes das análises diminuiu o número de pares em DL nas populações de Rio das Rãs e Sacutiaba. Apesar disso, houve mudança nos pares de marcadores em DL entre uma estimativa e outra, não havendo, no entanto, um padrão identificável (Tabela 19). Após correção de Bonferroni, com novo nível de significância definido como 0,0004, não foi identificado DL entre qualquer par.

Quando analisados separadamente, os SNPs DRD2-A e DRD2-B, distantes a aproximadamente 25,5Kb, apresentaram valores significativos ($p < 0,05$) para todas as populações. Apesar de não ter sido indicado DL entre algum desses SNPs e o DRD2-D, este se localiza entre os outros dois SNPs que compõem o haplótipo DRD2/*TaqI* (Figura 2).

Tabela 18: Pares de marcadores em desequilíbrio de ligação ($p < 0,5$) na população total de Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba.

População	Mocambo			Rio das Rãs			Sacutiaba		
	Par em DL	P valor		Par em DL	P valor		Par em DL	P valor	
	GC	LPL	0,00154	FY-NUL	AT3	0,0016	APO	DRD2	0,01109
	APO	CRH	0,00162	SB19.3	RB2300	0,00202	LPL	CRH	0,02764
	GC	APO	0,00921	LPL	FY-NUL	0,01178	D1	AT3	0,03483
	LPL	OCA2	0,01202	OCA2	CYP3A4	0,02141			
	AT3	CRH	0,02342	GC	CYP3A4	0,02961			
	LPL	FY-NUL	0,02454	TPA-25	OCA2	0,02962			
	GC	PV-92	0,02892	FXIIIB	DRD2	0,03308			
	OCA2	DRD2	0,03384	TPA-25	CYP3A4	0,03517			
	SB19.3	CYP3A4	0,03605	SB19.3	FXIIIB	0,0374			
	GC	CRH	0,0434	SB19.3	CYP3A4	0,03889			
				SB19.3	FY-NUL	0,04031			
Pares em DL	8%			9%			2%		

Tabela 19: Pares de marcadores em desequilíbrio de ligação ($p < 0,5$) na população de Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba, considerando exclusivamente os nativos.

População	Mocambo			Rio das Rãs			Sacutiaba		
	Par em DL		P valor	Par em DL		P valor	Par em DL		P valor
	APO	CRH	0,00088	APO	OCA2	0,0078	APO	DRD2	0,02824
	GC	LPL	0,00385	FY-NUL	AT3	0,01432	SB19.3	RB2300	0,0529
	LPL	OCA2	0,01508	GC	CRH	0,01476			
	LPL	DRD2	0,01576	PV-92	TPA-25	0,0171			
	GC	PV-92	0,01745	RB2300	DRD2	0,01833			
	AT3	CRH	0,0209	SB19.3	FY-NUL	0,01927			
	FXIIB	D1	0,03535	SB19.3	RB2300	0,02366			
	GC	APO	0,03634	LPL	FY-NUL	0,03458			
	FXIIB	OCA2	0,03662						
	SB19.3	CYP3A4	0,04138						
pares em DL	8%			7%			2%		

DISCUSSÃO

1. Caracterização dos Movimentos Demográficos Recentes

É possível que em algum tempo no passado, os quilombos brasileiros tenham sido geneticamente isolados. Apesar de haver trocas entre essas comunidades e os centros urbanos, alguns fatores como a resistência contra a escravidão e as freqüentes investidas de grupos com ordens de busca a escravos rebelados os obrigavam a viver em regiões de difícil acesso e afastadas dos centros onde a elite colonial vivia. Dessa forma, pelo menos por algum período, esse isolamento deve ter ocorrido. No entanto, é possível que ocasionalmente houvesse influxo de ex-escravos rebelados, de mulheres ameríndias seqüestradas e outras pessoas, o que dissolve, pelo menos em parte, essa nítida barreira entre as comunidades afroderivadas e as demais populações brasileiras.

Nos dias de hoje, a situação é bastante diferente. A dissolução quase total dessa barreira fica evidente quando se analisa o influxo demográfico para essas comunidades, revelada pela grande participação de imigrantes nas populações de Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba. As características desses imigrantes apresentaram-se bastante peculiares e, em certo grau, comuns às três comunidades estudadas.

Um dos padrões observados para esses remanescentes de quilombos para a atual geração, por exemplo, foi a predominância de mulheres entre os imigrantes. A dispersão preferencial de mulheres é observada em outras populações humanas, principalmente naquelas sociedades em que a agricultura está presente (Wilkins e Marlowe, 2006). Nas sociedades agricultoras, a herança masculina de posses e terras é geralmente favorecida em à feminina, o que leva as mulheres a se deslocarem para outros lugares para contraírem o matrimônio (*op. cit.*). No presente trabalho, não foi avaliado nenhum aspecto da emigração e, portanto, não é possível afirmar que nessas comunidades as mulheres preferencialmente saíam de suas comunidades para outras. Houve, no entanto, a possibilidade de observar maior influxo de mulheres para essas populações. Esse fenômeno está, pelo menos em parte, relacionado aos padrões de casamentos analisados, uma vez que há

predomínio de casamentos patrilocais na presente geração em todas as comunidades aqui consideradas (Tabela 9).

A imigração preferencial de mulheres, indicada tanto pela maior quantidade dessas na parcela de imigrantes, quanto pela maior ocorrência de casamentos patrilocais, pode estar relacionada à emigração masculina comumente observada em sociedades camponesas do Brasil (Woortmann, 1990). No meio rural, é comum que os indivíduos, principalmente homens, saiam de suas comunidades a procura de melhores condições de vida e, mais especificamente, de trabalho. Essas pessoas muitas vezes retornam à sua comunidade de origem quando atingem idade mais avançada (*Op. cit.*).

É possível que esse fenômeno também ocorra nas comunidades remanescentes de quilombos rurais, conforme indicam os estudos de Novion (2003) e Diniz (2008). Nesses estudos, foram construídas pirâmides etárias para algumas populações remanescentes de quilombos brasileiras. Nas pirâmides etárias de duas das comunidades analisadas no presente trabalho – Mocambo e Rio das Rãs – e adicionalmente de outras duas – Itamoari e Kalunga – foi encontrada uma lacuna no lado referente aos indivíduos do sexo masculino com idade entre 20 e 29 anos. Soma-se a isso a predominância de casamentos patrilocais relatada anteriormente.

Com base nessas duas observações, é possível concluir que, ao emigrarem, esses homens se casem com mulheres de fora da comunidade e, num momento posterior, voltem a morar no remanescente de quilombo de que partiram trazendo sua esposa. Assim sendo, é possível que o motivo de haver maior influxo de mulheres para os três remanescentes de quilombos em análise aparentemente não está ligado à agricultura e acumulação de bens (conforme indicado para outras populações rurais do Brasil em Woortmann, 1990), mas à contração de matrimônio fora das comunidades com posterior retorno.

Além da contração de matrimônio, devem existir outros motivos para os indivíduos imigrarem para os remanescentes de quilombos. Esses motivos devem ser a razão para existirem casais compostos por dois membros imigrantes nas populações analisadas, aos quais não se pode associar

diretamente o matrimônio como principal causa da migração. Apesar disso, é muito provável que o casamento seja a razão principal para haver imigração aos remanescentes de quilombos. Essa proposta é baseada na observação fato de que a proporção de casais de imigrantes na presente geração de Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba é menor do que a proporção de casamentos exogâmicos (Tabela 9).

Esse comportamento foi um dos padrões observado para as populações aqui analisadas, porém somente para a presente geração. Ao longo das últimas três gerações, houve diminuição na frequência de casamentos entre imigrantes, aumento de casamentos exogâmicos, enquanto a proporção de casamentos endogâmicos se manteve constante (Tabela 9). Esse padrão é bastante claro em Mocambo e Rio das Rãs, as duas maiores comunidades analisadas. Em Sacutiaba, apesar de haver certa constância nas proporções dos tipos de casamentos ao longo do tempo, os casamentos entre imigrantes, predominantes na geração P, diminuíram sua frequência na geração seguinte, não havendo alterações substanciais entre a geração F1 e F2.

Uma vez que a dinâmica de imigração para esses remanescentes de quilombos aponta para a grande participação de imigrantes na formação dessas populações, é importante avaliar o impacto que as migrações recentes causam a essas populações. A maneira em que esse fluxo gênico altera a estrutura e composição genética dessas populações depende de dois fatores: a intensidade da imigração e as diferenças entre a população receptora e as populações fonte do fluxo gênico.

2. Caracterização Genética e Impactos da Imigração Recente

As frequências alélicas observadas se encontraram de acordo com o esperado para populações miscigenadas, isto é, intermediárias às frequências das parentais, com exceção de dois marcadores – CRH e PV-92 – na população de Sacutiaba (Tabelas 10 a 13). As frequências extremas observadas para ambos os sistemas podem estar relacionadas ao pequeno

tamanho da população de Sacutiaba, o que aumenta a possibilidade de variações randômicas devido à deriva genética.

O emprego do algoritmo EM, em suas diferentes versões, e do ELM não altera as freqüências haplotípicas do DRD2 consideravelmente (dados não apresentados), de maneira que o haplótipo *1, mais comum na África Sub-Saariana, é o mais freqüente em todos os casos (Tabela 13). Os pequenos desvios entre uma estimativa e outra se deve à inferência diferencial da fase gamética em cada caso.

A respeito do índice de alterações nas freqüências alélicas em decorrência da imigração (Δq), pode-se dizer que ele foi baixo em Mocambo e Rio das Rãs (Tabelas 10 e 11). Esse índice leva em conta dois fatores: a proporção de imigrantes na população e a diferença entre as populações participantes do processo de fluxo gênico. Apesar de não se terem disponíveis dados a respeito desse índice em outras populações humanas, é possível afirmar que esses valores foram baixos, já que há grande homogeneidade genética entre os três remanescentes de quilombos em análise e as suas vizinhas, as populações fonte do fluxo gênico. Apesar da grande semelhança entre Sacutiaba e as populações próximas, a proporção de indivíduos imigrantes neste remanescente de quilombo foi grande (30%), de modo que o impacto da imigração sobre as freqüências alélicas é mais elevado do que nas demais (Tabela 12).

A não aderência ao EHW observada para os marcadores DRD2 e CRH em Rio das Rãs é conseqüência do excesso e déficit de heterozigotos, respectivamente. Entretanto, o valor de p calculado para a aderência ao EHW no caso do das freqüências genotípicas do DRD2 foi muito próximo a 5% (Tabela 13), indicando ser esse apenas um leve desvio do esperado no EHW. Com relação ao CRH, o fluxo gênico ocasionado pela imigração na presente geração pode ter sido responsável pela discrepância observada, uma vez que a retirada dos imigrantes das análises possibilitou a adequação das freqüências observadas às esperadas no EHW. Dessa forma, mesmo não tendo sido encontrados dados na literatura sobre a distribuição gênica ou genotípica desse marcador nas populações vizinhas de Rio das Rãs, é possível

que elas apresentem distribuição genotípica diferenciada para o marcador em questão.

Com exceção do proposto para o sistema CRH, o fluxo gênico parece não ser suficiente para desviar as frequências genotípicas de Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba do EHW. Em populações naturais, o baixo impacto do fluxo gênico pode estar relacionado a dois fatores: a baixa intensidade do fluxo, que não foi observado para essas populações, e a semelhança entre as populações participantes do processo de migração. Visto que a intensidade do fluxo gênico é considerável na atual geração, em especial em Sacutiaba, onde os imigrantes constituíram cerca de um terço da população, é provável que a semelhança entre as populações fontes do fluxo gênico e os remanescentes de quilombos seja o principal motivo para não terem sido observados grandes desvios com relação ao EHW.

3. Endogamia

A predominância de casamentos endogâmicos (endogamia local) aparentemente não está ocasionando alterações genéticas na estrutura destas populações, conforme indicado pelo f e Fis (endogamia de parentela). Sacutiaba, mesmo apresentando uma pequena população, com cerca de 200 indivíduos, muitos deles com estreitos laços de parentesco, não apresentou valor significativo para esses índices.

A ausência de indícios de endogamia também ocorre em Santiago do Iguape, Santo Antônio do Guaporé e Barra, outros remanescentes de quilombos brasileiros, apesar do relatado semi-isolamento e pequeno tamanho populacional (Gontijo, 2008; Luizon, 2007). Já os remanescentes de quilombos de Valongo (SC) e São Gonçalo (BA) apresentaram valores de significativos para o coeficiente de endogamia, o que indicou haver endogamia nessas populações (Luizon, 2007). Para essas duas comunidades foi sugerido que o isolamento geográfico seja um dos fatores que acarretaram a endogamia (Luizon, 2007).

De acordo com o estimado para os coeficientes de endogamia, os níveis de heterozigose esperados e observados para cada *loci* apresentaram-se similares (Tabela 14). Esta constatação também indicou a possibilidade de não estar ocorrendo casamentos preferenciais ou endogamia.

Adicionalmente, foi possível sugerir que a imigração na geração em análise não introduziu variação suficiente para alterar os níveis de heterozigose populacional, uma vez que as estimativas para a população total e a de nativos foram semelhantes. Esse fenômeno pode estar ligado à semelhança entre as populações analisadas e as suas vizinhas, em concordância com o indicado nas análises anteriores.

4. Fluxo Gênico e o Processo de Homogeneização

Além das semelhanças apontadas pelas análises de distribuição genotípica desses marcadores, outras análises indicaram que a população fonte do fluxo gênico e os remanescentes de quilombos estudados devam ter uma constituição genética semelhante. A diferenciação gênica e genotípica entre as parcelas de nativos e a de imigrantes em cada população, por exemplo, não apontou diferenças significativas entre elas. Adicionalmente, a parcela de imigrantes não ocasionou estruturação genética perceptível nas três populações analisadas (Figuras 4 e 5), sendo os imigrantes geneticamente semelhantes aos nativos.

A imigração pode causar grandes variações nas freqüências alélicas em um curto espaço de tempo. Para que isso aconteça, no entanto, é necessário que as populações participantes desse processo sejam bastante distintas geneticamente, premissa não observada em nenhum dos casos analisados. Um outro fator associado ao fluxo gênico é a homogeneização das populações, com a conseqüente diminuição da diversidade genética interpopulacional.

É possível que, durante os primeiros anos de existência das comunidades de Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba, houvesse diferenças marcantes entre elas e as outras populações brasileiras, visto que a participação de etnias geneticamente distintas se deu de forma heterogênea ao

longo do território do país e que a presença africana deve ter sido a mais importante numericamente no caso dos quilombos. Soma-se a isso o isolamento causado pelo distanciamento geográfico e por outros fatores culturais.

Nesse período, o impacto de cada novo indivíduo integrado à comunidade deve ter sido considerável, especialmente considerando que o tamanho da população possivelmente era menor na sua fundação. Com o decorrer do tempo, após sucessivos eventos de fluxo gênico, os quilombos devem ter se tornado cada vez mais semelhantes às populações vizinhas a tal ponto que as diferenças observadas entre as parcelas de nativos e imigrantes nas populações de Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba, considerando a diferenciação gênica e genotípica e a homogeneidade ilustrada no gráfico de estrutura populacional, não são significativas.

Estimativas de mistura genética também indicaram haver grande semelhança quanto à contribuição das populações parentais entre os três remanescentes de quilombos em análise e duas populações urbanas da Bahia – Salvador (dados de Machado, 2008) e Jequié (dados de Luizon, 2007). Nessas duas populações urbanas a principal contribuição é africana, sendo de 49% em Salvador e 52% em Jequié, valores inferiores aos observados nos remanescentes de quilombos. Já a população do Distrito Federal, que é considerada como representativa da população brasileira, devido ao grande influxo de pessoas oriundo de todas as regiões do país, apresenta contribuição genética predominantemente (61%) européia (Godinho, 2008).

Essas semelhanças observadas entre os remanescentes de quilombos e as cidades da Bahia e a diferença entre essas e a população do DF também foram indicadas pelas matrizes de distância e análise do componente principal (Figuras 6 a 9). Enquanto a população do Distrito Federal apresentou uma posição intermediária às parentais, com maior proximidade da européia, os remanescentes de quilombos e as duas populações do estado da Bahia apresentaram menores distâncias à parental africana. A semelhança entre as populações pode ser resultado do fluxo gênico entre elas, ocorrido ao longo de

toda a história, o que pode estar levando à homogeneização, incluindo tanto populações urbanas como rurais, desde que situadas mais proximamente.

De acordo com os dados aqui apresentados, há diferenças significativas entre essas três populações com relação à frequência gênica e genotípica dos marcadores aqui empregados, mesmo havendo similaridade com relação ao perfil populacional em termos de estimativas de contribuição das parentais. A utilização do haplótipo DRD2/*TaqI* individualmente foi suficiente para diferenciar as populações. Isso se deve, principalmente, a alta variabilidade desse marcador, que pode apresentar oito haplótipos, apesar do nível de heterozigose aqui observado não ser tão alto (Tabela 13). O sistema GC, apesar de possuir três alelos, não foi eficaz na diferenciação populacional, pois apresentou heterozigose baixa em decorrência da alta frequência do alelo 1F nas três amostras (Tabelas 10 a 12). Por outro lado, o sistema GC é muito informativo com relação à ancestralidade, visto que a alta frequência do alelo 1F é sinalizador de alta contribuição africana.

Várias características apontam para uma possível semelhança entre as populações remanescentes de quilombos brasileiras, como, por exemplo, a ancestralidade africana comum, a história demográfica semelhante, a data de fundação e, para alguns casos, a distância de grandes centros urbanos. Apesar disso, é comum encontrar diferenças significativas entre as populações remanescentes de quilombos estudadas no que diz respeito à distribuição gênica e genotípica de marcadores genéticos (Gontijo, 2008; Luizon, 2007), o que pode estar relacionado à ação deriva genética, mais pronunciada em populações pequenas e também às peculiaridades respectivas à história de formação de cada comunidade.

Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba, além de apresentarem várias semelhanças históricas e culturais, estão localizadas em uma mesma região geográfica, sendo que os municípios de Bom Jesus da Lapa, onde se localiza o Rio das Rãs, e Wanderley, onde se localiza Sacutiaba, estão distantes 246 km (distância calculada com a utilização do sítio <<http://maps.google.com>>). Mesmo assim, as diferenças na distribuição gênica e genotípica entre essas populações são bastante acentuadas. Como dito anteriormente, tais diferenças

são decorrentes do isolamento a que essas populações estiveram submetidas em algum tempo no passado e também do tamanho populacional, o que pode causar alterações randômicas nas freqüências alélicas de alguns marcadores devido à deriva genética.

De acordo com o esperado, a distância genética observada entre as populações e a diferenciação populacional (F_{st} e diferenciação gênica e genotípica) indicam maiores semelhanças entre Rio das Rãs e Sacutiaba. Essas semelhanças devem estar associadas à proximidade geográfica dessas duas populações.

A variação das freqüências alélicas (Δq) indicou maior influxo de alelos característicos de populações européias e nativas americanas na população de Mocambo, com conseqüente diminuição de alelos de alta freqüência na África. De maneira inversa, o influxo de alelos comuns na África para Sacutiaba e Rio das Rãs foi mais alto do que o de alelos comuns entre indivíduos europeus e nativos americanos.

Em concordância com o Δq , as análises de mistura apontaram para um incremento na contribuição européia, com diminuição da contribuição africana e ameríndia na população de Mocambo. Já em Rio das Rãs e Sacutiaba o influxo de alelos mais comuns na África apresentou-se em concordância com o incremento na estimativa de contribuição africana e diminuição das demais (Tabela 17). Apesar disso, não houve distinção clara quanto à afiliação genética dos indivíduos imigrantes dos nativos, de acordo com as figuras 3 e 4, nas quais os indivíduos se mostraram bastante homogêneos.

5. Formação Demográfica e Mistura Genética

Para o acesso a fenômenos antigos da história de populações humanas, métodos de inferência indireta, como a genética, são necessários. A partir do estudo da variação genética de populações contemporâneas, é possível compreender aspectos da formação de grupos humanos e das mudanças subseqüentes a que estes estiveram submetidos. Um exemplo disso é o que se pode inferir do observado nas estimativas de contribuição genética aos

remanescentes de quilombos de Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba baseada na distribuição alélica de 16 marcadores genéticos (Tabela 17). A composição genética dessas populações indica ser grande a participação africana, em especial em Rio das Rãs e Sacutiaba, populações que apresentam mais de 65% de contribuição dessa parental. Por outro lado, a contribuição ameríndia é mais acentuada em Mocambo, em concordância com a sua longa história de contato com a aldeia Xocó (Arruti, 2006), proximidade geográfica e trocas demográficas recentes entre essas duas comunidades observadas nos questionários. É esta a população que deve ter passado por um processo mais complexo de miscigenação, com a participação mais acentuada de outras etnias que não as africanas.

As estimativas de mistura concordaram em grande parte com as estimativas de afiliação genética individual (Figuras 3 e 4) e com os gráficos de distância genética (Figuras 6 a 9). Foi possível observar que os indivíduos de Rio das Rãs se agruparam mais proximamente à parental africana (Figura 4), além de apresentarem maiores proporções de contribuição genética africana (Figura 3). Das três populações remanescentes de quilombos em análise, foi essa que, no geral, apresentou menores distâncias à parental africana. As estimativas de distância genética para Mocambo revelaram ser essa a população mais próxima à parental Ameríndia. Sacutiaba foi a população que, no geral, se aproximou mais da parental européia.

A participação de populações africanas, ameríndias e européias na formação demográfica desses três remanescentes de quilombos não se deu com a participação equitativa de homens e mulheres, como pôde ser observado em estudos do material genético haplóide realizados anteriormente com essas mesmas populações (Ferreira, 2006; Ribeiro, 2005). As análises de haplogrupos do cromossomo Y (Ribeiro, 2005) apontam para a predominância de homens de ancestralidade européia com relação a homens de ancestralidade africana na formação de Mocambo e Sacutiaba, uma participação equilibrada desses dois grupos parentais em Rio das Rãs e uma mínima contribuição ameríndia comum a todas. Já a análise do DNAmT (Ferreira, 2006) indica haver grande predominância de haplogrupos africanos,

seguidos dos ameríndios, não tendo sido detectado qualquer haplogrupo europeu nas amostras analisadas.

Esse panorama geral indicou terem sido os homens os principais responsáveis pela inserção de alelos característicos de europeus e as mulheres pela inserção de alelos ameríndios nessas populações, sendo que a participação de ambos foi importante para a presença africana. A hipótese de presença de homens europeus entre os fundadores é plausível, uma vez que os relatos históricos apontam para a participação desse grupo na constituição dos quilombos. Esses eram os principais responsáveis pelas trocas de informações e de bens entre os centros urbanos e os quilombos (Reis e Gomes, 1996). Da mesma forma, a presença de mulheres ameríndias, em alguns casos integradas aos quilombos em decorrência de seqüestros (Ribeiro, 2006; Karash, 1996; Reis e Gomes, 1996), pode estar relacionada à presença dessas na fundação dos quilombos. Apesar disso, o fenômeno observado pode ser decorrente da presença de indivíduos miscigenados, filhos de pais europeus, principalmente lusitanos, e mães escravas africanas e ameríndias. Esses jovens normalmente encontravam rejeição ou não reconhecimento por parte de seus pais (Ribeiro, 2006), sendo, por esse motivo, deixados com suas mães ou tratados como escravos.

De maneira semelhante ao observado nos remanescentes de quilombos, na genética da população brasileira é comum encontrar maior influência europeia na contribuição masculina (Carvalho-Silva *et al.*, 2001). Esse desequilíbrio entre as participações das etnias fundadoras com relação ao sexo foi ocasionado pela emigração preferencial de homens portugueses, que chegavam à América do Sul e se reproduziam com mulheres de outras etnias.

6. Fluxo Gênico e Desequilíbrio de Ligação

O desequilíbrio de ligação (DL) pode ser entendido como sendo a estatística da ocorrência simultânea de dois alelos pertencentes a dois *loci* distintos com frequência maior do que a esperada por acaso (Pasternak, 2007) ou simplesmente a associação alélica (Gabriel *et al.*, 2002). Um dos fatores

que gera DL é a ligação física entre os *loci*, o que é possível apenas para um dos pares de marcadores utilizados, o AT3 e o Fy-Null, separados por uma distância de 22cM (associação também observada em Pfaff *et al.*, 2001). Além da ligação física, a estruturação da população é uma possível causa de ligação entre os marcadores observados. Porém, a aderência das frequências genotípicas observada para quase todos os marcadores ao EHW e a ausência de estruturação populacional indicada na Figura 5 indicam não ser esse o principal motivo. Uma terceira possibilidade para a ocorrência de DL entre *loci* não ligados é a miscigenação. Esta, provavelmente, é a maior causa dos níveis de DL observados.

A miscigenação entre duas ou mais populações pode causar associação entre *loci* que apresentam frequências alélicas bastante diferentes entre as populações parentais, em especial entre marcadores com alelos específicos de população, como é o caso do Fy-Null. Os níveis de DL, no entanto, devem decrescer ao longo do tempo, na medida em que a população miscigenada se torna mais semelhante às populações parentais ou se torna mais homogênea (Pfaff *et al.*, 2001; Chakraborty e Weiss, 1988)

Dois modelos descrevem a dinâmica de miscigenação e decréscimo nas estimativas de DL em populações humanas, para os quais modelos matemáticos foram elaborados a fim de se prever a taxa de decréscimo da ligação (Pfaff *et al.*, 2001). O primeiro deles é o modelo de hibridação seguida de isolamento ou HI, para o qual a mistura ocorre em uma única geração e é seguida por recorrentes eventos de recombinação e deriva. O segundo modelo é o de fluxo gênico contínuo ou FGC, que prevê a ocorrência de miscigenação ao longo de várias gerações a uma taxa constante. Para ambos os modelos foi gerado um gráfico (Pfaff *et al.*, 2001) que descreve a dinâmica do DL entre *loci* fisicamente ligados e não ligados ao longo das gerações sem utilização da correção de Bonferroni (Figura 10).

Após pouco mais de cinco gerações não é mais observado DL entre *loci* fisicamente não ligados de acordo com o HI (Figura 10). A idade de Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba deve ser cerca de 200 anos (Arruti, 2006; Brasileiro e Sampaio, 2002) e, considerando um tempo de geração de 25 anos (com base

em Novion, 2003), pode-se dizer que, caso o modelo HI fosse o mais provável para essas populações, não deveria se observar DL entre os marcadores. Os níveis de DL observados para Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba vão de 2 a 9%, com nível de significância de 5% (sem correção de Bonferroni), indicando ser o FGC o modelo mais indicado para esses remanescentes de quilombos. Além disso, o grande número de imigrantes observado na presente geração desses remanescentes de quilombos contrapõe o esperado pelo modelo HI, ficando evidente que as populações de Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba não estão isoladas, mas sob influência constante do fluxo gênico ocasionado pela imigração de indivíduos para suas comunidades.

Nas estimativas de distância genética, a população de Rio das Rãs, no geral, foi a que mais se diferenciou das populações urbanas (Distrito Federal, Salvador e Jequié). É essa a população que apresentou maior número de pares de *loci* em DL. Já as demais populações, apesar de terem apresentado distância genética com relação às populações urbanas semelhantes, Mocambo apresentou um quadro de mistura mais complexo, com participação mais acentuada de outras parentais que não a africana (Tabela 17). É possível que esses dois fatores estejam influenciando os altos níveis de DL encontrados em Mocambo e Rio das Rãs.

Apesar de causar uma pequena diminuição na proporção de *loci* em DL em Rio das Rãs e Sacutiaba, a retirada dos imigrantes das análises não foi suficiente para a exclusão de todos os indivíduos com mistura recente. Tal medida poderia ser capaz de diminuir o desequilíbrio entre *loci* não ligados (Pfaff *et al.*, 2001). A exclusão de alguns pares em DL decorrente da desconsideração dos imigrantes recentes era esperada, porém, foi indicado haver DL entre novos pares de *loci*, que não constavam na estimativa realizada com a população total, não havendo, contudo, razão aparente para esse fato.

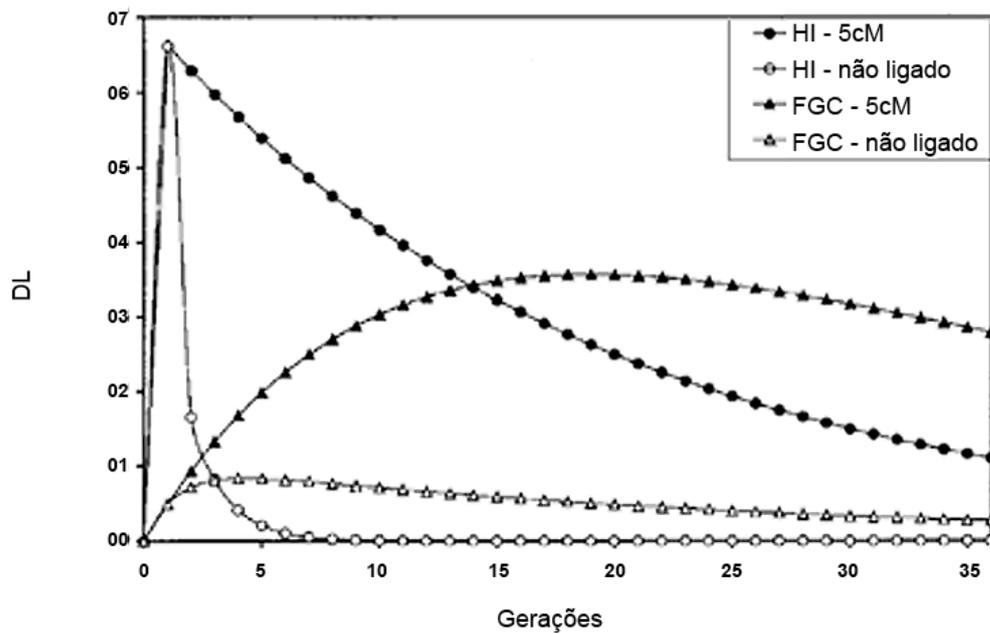


Figura 10: Proporção de loci em desequilíbrio de ligação (DL) esperada a partir da utilização dos modelos HI e FGC para loci não ligados e para loci ligados a 5cM. Figura modificada de Pfaff et al. (2001).

CONCLUSÃO

Com base na análise genética e demográfica das populações remanescentes de quilombos de Mocambo, Rio das Rãs e Sacutiaba, é possível concluir que:

- Existe um padrão demográfico para as três populações analisadas, com participação marcante de imigrantes oriundos de regiões próximas, sendo esses em sua maioria mulheres;

- Os casamentos ocorrem na maioria das vezes entre indivíduos da mesma comunidade, sendo que os casamentos exogâmicos são em sua maioria patrilocais;

- O casamento deve ser a principal causa da imigração direcionada a esses remanescentes de quilombos;

- Não há indícios de isolamento em qualquer das três populações em análise;

- Não há diferenciação genética pronunciada entre as parcelas de imigrantes e nativos dessas populações;

- O impacto do fluxo gênico sobre a composição e estrutura das populações foi baixo, o que deve estar relacionado à homogeneização entre essas populações e as suas vizinhas;

- Apesar da homogeneização em processo, o fluxo gênico não foi suficientemente intenso a ponto de torná-las homogêneas entre si ou à população do DF;

- A contribuição africana é alta, de acordo com a história conhecida. Apesar disso, houve presença de pessoas de outras origens, sendo que os homens foram os principais responsáveis pelo influxo de alelos característicos de europeus e as mulheres, de ameríndios;

- Mocambo apresentou o quadro mais complexo de mistura e leve estruturação, o que deve ter aumentado a proporção de *loci* em DL. Essa complexidade pode estar relacionada ao contato há muito tempo com os Xocó.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A abrangência de estudos como este permitirá a verificação da possibilidade de atribuição dessas características aos remanescentes de quilombos, de maneira a possibilitar uma generalização e a modelagem dos comportamentos matrimoniais em populações afro-descendentes rurais no Brasil. Além disso, emprego de marcadores genéticos associados à dinâmica demográfica das populações pode oferecer novas perspectivas para o estudo da história da espécie humana. A associação dos padrões de imigração com a estrutura e composição genética pôde esclarecer certos aspectos da formação e história das comunidades analisadas. É possível que o emprego de marcadores uniparentais dentro dessa mesma perspectiva revele novos aspectos de suas histórias demográficas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFRED – Allelic Frequencies Database: Banco de dados disponível em <http://alfred.med.yale.edu>. Acesso em Novembro de 2008.

ARCOT, S.S.; ADAMSON, A.W.; RISCH, G.W.; LAFLEUR, J.; ROBICHAUX, M.B.; LAMERDIN, J.E.; CARRANO, A.V.; BATZER, M.A. (1998). High-resolution cartography of recently integrated human chromosome 19-specific Alu fossils. *Journal of Molecular Biology* 281(5): 843-56.

ARRUTI, J.M. (2006) *Mocambo: Antropologia e história do processo de formação quilombola*. Bauru, SP: Edusc. 370p.

BATZER, M.A.; DEININGER, P.L. (2002) *Alu repeats and human genomic diversity*. *Nat. rev. Genet.* 3(5):370-379.

BATZER, M.A.; ARCOT, S.S.; PHINNEY, J.W.; ALEGRIA-HARTMAN, M.; KASS, D.H.; MILLIGAN, S.M.; KIMPTON, C. (1996) Genetic variation of recent Alu insertions in human populations. *J. Mol. Evol.* 42: 22-29.

BATZER, M.A.; RUBIN, CM; HELLMANN-BLUMBERG, U; ALEGRIA-HARTMAN, M; LEEFLANG, EP; STERN, JD; BAZAND, HA; SHAIKH, TH; DEININGER, PL; SCHMID, CW. (1995). Dispersion and insertion polymorphism in two small subfamilies of recently amplified human Alu repeats. *Journal of Molecular Biology.* 247(3):418-27.

BATZER, M.A.; STONEKING, M.; ALEGRI-HERTMAN, M.; BAZAN, H.; KASS, D.H.; SHAIKH, T.H.; NOVICK, G.E.; IOANNOU, P.A.; SCHEER, W.D.; HERRERA, R.J.; DEININGER, P.L. (1994) African origin of human-specific polymorphic Alu insertions. *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA.* 91:12288-12292.

BATZER, M. A.; P. L. DEININGER (1991) A human-specific subfamily of Alu sequences. *Genomics* 9: 481-487

BONILLA, C.; PARRA, E.J.; DIOS, S.; MARSHALL, J.A.; HAMMAN, R.F.; FERREL, R.E.; HOGGART, C.L.; MCKEIGUE, P.M.; SHRIVER, M.D. (2004) Admixture in the Hispanics of the San Luis Valley, Colorado, and its implications for complex trait gene mapping. *Ann. Hum. Genet.* 68: 139-153.

BOOKSTEIN, R.; LAI, C.C.; TO, H.; LEE, W.H. (1990). PCR-based detection of a polymorphic BamHI site in intron 1 of the human retinoblastoma (RB) gene. *Nucleic Acid. Res.* 18(6):1666.

BOOKSTEIN R.; LEE, E.Y.; TO, H.; YOUNG, L.J.; SERY, T.W.; HAYES, R.C.; FRIEDMANN, T., LEE, W.H. (1988) Human retinoblastoma susceptibility gene: genomic organization and analysis of heterozygous intragenic deletion mutants. *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA.* 85(7):2210-4.

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.

BRASILEIRO, S. e 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.

BRAUN, A.; BICHLMAIER, R.; CLEVE, H. (1992) Molecular analysis of the gene for the human vitamin-D-binding protein (group-specific component): allelic differences of the common genetic GC types. *Hum Genet.* (4):401-6.

BROOKES, A.J. (1999) *The essence of SNPs*. *Gene* 234:177-186.

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.

CASTIGLIONE, C. M.; DEINARD, A. S.; SPEED, W. C.; SIRUGO, G.; ROSENBAUM, H. C.; ZHANG, Y.; GRANDY, D. K.; GRIGORENKO, E. L.; BONNE-TAMIR, B.; PAKSTIS, A. J. ; KIDD, J. R. ; KIDD, K. K. (1995) Evolution of haplotypes at the DRD2 locus. *Am J Hum Genet.* 57(6):1445-56.

CHAKRABORTY, R.; WEISS, K.M. (1988) Admixture as a tool for finding linked genes and detecting that difference from allelic association between loci. *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA.* 85(23): 9119-9123

CHAKRABORTY R. (1985) Gene identity in racial hybrids and estimation of admixture rates. In: *Genetic Microdifferentiation in Man and Other Animals* (eds Neel JV, Ahuja Y), pp. 171–180. Indian Anthropological Association, Delhi.

CHEN, C; GENTLES, A. J.; JURKA, J; KARLIN, S (2002) Genes, pseudogenes, and Alu sequence organization across human chromosomes 21 and 22. *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA.* 2002 Mar 5;99(5):2930-5

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.

COMAS, D.; CALAFELL, F.; BENCHEMSI, N.; HELAL, A.; LEFRANC, G.; STONEKING, M.; BATZER, M.A.; BERTRANPETIT, J.; SAJANTILA, A. (2000) *Alu* insertion polymorphisms in NW Africa and the Iberian Peninsula: evidence for a strong genetic boundary through the Gibraltar Straits. *Hum Genet.* 107(4):312-9

DEININGER, P.L. e BATZER, M.A. (1993) *Evolutionary Biology, Volume 27*, edited by Max K. Hecht *et al.* Plenum Press, New York

DINIZ, M.E.C.G. (2008) *Fecundidade e Genética em Kalunga: busca de associação entre dados demográficos e marcadores moleculares num remanescente de quilombo brasileiro*. Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Universidade de Brasília.

EXCOFFIER, L.G.L. e SCHNEIDER, S. (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50.

FAUSTO, B. (2006). *História Concisa do Brasil*. 2. ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo. p 9-77.

FERREIRA, F.L.; LEAL-MESQUITA, E.R.; SANTOS, S.E.B.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, Á.K.C. (2005) Genetic characterization of the population of São Luís, MA, Brazil. *Gen. Mol. Biol.* 28(1)22-31.

FERREIRA, L.B. (2006) *Diversidade do DNA Mitocondrial de populações brasileiras Ameríndias e afrodescendentes*. Tese de Doutorado em Ciências Biológicas (Genética) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

FREIRE-MAIA, N. (1974) Population Genetics and Demography. *Human Heredity* 24: 105-113

FUNARI, P.P.A. (1996) A arqueologia de Palmares – Sua contribuição para o conhecimento da história da cultura afro-americana. In: *Liberdade por um fio*. REIS, J.J.; GOMES, F.S (orgs.) – São Paulo, Cia das Letras: 26-51

FUNDAÇÃO CULTURAL PALMARES (2009) <<http://www.palmares.gov.br/>> Site acessado em Janeiro de 2009.

FUTUYMA, D. (2005). *Evolution*. Sinauer Associates, Inc. 543p.

GABRIEL, S.B.; SCHAFFNER, S.F.; NGUYEN, H.; MOORE, J.M.; ROY, J.; BLUMENSTIEL, B.; HIGGINS, J.; DEFELICE, M.; LOCHNER, A.; FAGGART, M.; LIU-CORDERO, S.N.; ROTIMI, C.; ADEYEMO, A.; COOPER, R.; WARD, R.; LANDER, E.S.; DALY, M.J.; ALTSHULER, D. (2002) The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science* ;296(5576):2225-9.

GELERENTER, J; KRANZLER, H; CUBELLS, JF; ICHINOSE, H; NAGATSU, T. (1998). DRD2 allele frequencies and linkage disequilibria, including the -141Cins/Del promoter polymorphism, in European-American, African-American, and Japanese subjects. *Genomics* 51:21-26.

GODINHO, N. M. O. (2008) *O impacto das migrações na constituição genética de populações latino-americanas*. Tese de doutorado em Biologia Animal. Universidade de Brasília.

GONTIJO, C.C. (2008) *Composição Genética de Duas Populações Afro-derivadas Brasileiras Inferida a partir de Marcadores Informativos de Ancestralidade*. Dissertação de Mestrado em Biologia Animal. Universidade de Brasília.

GRANDY, D.K.; LITT, M.; ALLEN, L.; BUNZOW, J.R.; MARCHIONNI, M.; MAKAM, H.; REED, L.; MAGENIS, R.E.; CIVELLE, O (1989). The human dopamine D2 receptor gene is located in chromosome 11 at q22-q23 and identifies a *TaqI* polymorphism. *Am J Hum Genet* 45:778-785.

GUO, S.W.; THOMPSON, E.A. (1992) Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48: 361-372.

HAMILTON, G; STONEKING, M.; EXCOFFIER, L. (2005) Molecular analysis reveals tighter social regulation of immigration in patrilocal populations than in matrilineal populations. *Proc. Natl. Acad. Sci* 102:7476-7480

IBGE (2008) <www.ibge.gov.br> Sítio acessado em Dezembro de 2008.

KARASH, M. (1996) Os quilombos do ouro na capitania de Goiás. In: *Liberdade por um fio*. REIS, J.J.; GOMES, F.S (orgs.) – São Paulo, Cia das Letras: 240-262

KASS, D.H.; ALEMAN, C.; BATZER, M.A.; DEININGER, P.L. (1994) Identification of a human specific Alu insertion in the factor XIII B gene. *Genetica* 94(1):1-8.

KIDD, K.K.; PAKSTIS, A.J.; CASTIGLIONE, C.M.; KIDD, J.R.; SPEED, W.C.; GOLDMAN, D.; KNOWLER, W.C.; LU, R.B.; BONNE-TAMIR, B. (1996) DRD2 Haplotypes Containing the *TaqI* A1 Allele: Implications for Alcoholism Research. *Alcohol Clin Exp Res.* 20(4):697-705

KRUGLYAK, L. e NICKERSON, D.A. (2001). Variation is the spice of life. *Nat. Genet.* 27:234-236.

LANGERGRABER, K.E.; SIEDEL, H.; MITANI, J.C.; WRANGHAM, R.W.; REYNOLDS, V.; HUNT, K.; VIGILANT, L (2007) The genetic signature of sex-biased migration in patrilocal chimpanzees and humans. *PLoS ONE.* 3;2(10):e973.

LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. (1997) *Genetic data analysis: software for the analysis of discrete genetic data.* Version 1.0. Albuquerque: The University of New Mexico, 1999. 39 p

LUIS J.R.; TERREROS, M.C.; MARTINEZ, L.; ROJAS, D.; HERRERA, R.J. (2003) Two problematic human polymorphic Alu insertions. *Electrophoresis* 24(14):2290-4

LUIZON, MR; MENDES-JUNIOR, CT; DE OLIVEIRA, SF; SIMÕES, AL. (2008). Ancestry informative markers in Amerindians from Brazilian Amazon. *Am. J. Hum. Biol.* 20(1):86-90.

LUIZON, M.R. (2007). *Dinâmica da mistura étnica em comunidades remanescentes de quilombo brasileiras.* Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

MACHADO, T.M.B.M. (2008). *Ancestralidade em Salvador-BA.* Dissertação de mestrado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa – Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz – FIOCRUZ-BA.

MARLOWE, F.W. (2004) Marital residence among foragers. *Current Anthropology* 45:277-284.

MARTÍNEZ-MARIGNAC, V.; BERTONI, B.; PARRA, E.J.; BIANCHI, N.O. (2004) Characterization of admixture in an urban sample from Buenos Aires, Argentina, using uniparentally and biparentally inherited genetic markers. *Human Biology* 76(4):543-557.

MASCIE-TAYLOR, C.G.; LITTLE, M.A. (2004) History of migration studies in biological anthropology. *Am. J. Hum. Biol.* 16(4):365-78.

MULLIS K.B. (1990) The unusual origin of the Polymerase Chain Reaction. *Sci. Am.* 36-43.

NCBI – dbSNP NCBI database (2008) <<http://WWW.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>> Sítio acessado em Março de 2008.

NOVION, H.I. (2003) *Sobrenomes e Demografia em quatro comunidades Remanescentes de Quilombos Brasileiros*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós –Graduação em Biologia Animal. Instituto de Ciências Biológicas. Universidade de Brasília.

OLIVEIRA, SF (1999) *Inserções Alu em populações indígenas da Amazônia brasileira*. Tese de Doutorado. Departamento de Genética do Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo.

PARRA, E.J.; KITTLES, R.A.; ARGYROPOULOS, G.; PFAFF, C.L.; HIESTER, K.; BONILLA, C.; SYLVESTER, N.; PARRISH-GAUSE, D.; GARVEY, W.T.; JIN, L.; MCKEIGUE, P.M.; KAMBOH, M.I.; FERRELL, R.E.; POLLITZER, W.S.; SHRIVER, M.D. (2001) Ancestral proportions and admixture dynamics in geographically defined African Americans living in South Carolina. *Am. J. Phys. Anthropol.* 114(1):18-29.

PARRA, EJ; MARCINI, A; AKEY, J; MARTINSON, J; BATZER, MA; COOPER, R; FORRESTER, T; ALLISON, DB; DEKA, R; FERRELL, RE; SHRIVER, MD. (1998). Estimating African American admixture proportions by use of population-specific alleles. *Am. J. Hum. Genet.* 63(6):1839-51.

PASTERNAK, J. J. (2007) *Uma introdução à Genética Molecular Humana: mecanismos das doenças hereditárias*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. 434

PEDROSA, M. A. F. (2006) *Composição genética de quatro populações remanescentes de quilombos do Brasil com base em microssatélites e marcadores de ancestralidade*. Dissertação de Mestrado em Biologia Molecular – Universidade de Brasília

PFAFF, CL; PARRA, EJ; BONILLA; C; HIESTER, K; MCKEIGUE, PM; KAMBOH, MI; HUTCHINSON, RG; FERRELL, RE; BOERWINKLE, E; SHRIVER, MD. (2001). Population Structure in Admixed Populations: Effect of Admixture Dynamics on the Pattern of Linkage Disequilibrium. *Am. J. Hum. Genet.* 68(1):198-207.

PRITCHARD J.K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics.* 155(2):945-59.

RAYMOND, M; ROUSSET, F. (1995). GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J Heredity* 86:248-249

REIS, J.J.; GOMES, F.S. (1996) Introdução – Uma história de liberdade. In: *Liberdade por um fio*. REIS, J.J.; GOMES, F.S (orgs.) – São Paulo, Cia das Letras: 9-25

RELETFORD, J. H. (2004). Boas and beyond: migration and craniometric variation. *Am. J. Hum. Biol.*16: 379-386.

RIBEIRO, D. (2006) O Povo Brasileiro: a formação e o sentido do Brasil. São Paulo, Companhia das Letras. 435p.

RIBEIRO, G.G.B.L.; LIMA, R. R.; WIEZEL, C. E. V.; FERREIRA, L. B.; SOUSA, S.M.B.; ROCHA, D.; CANAS, M.; NARDELLI-COSTA, J.; KLAUTAU-GUIMARÃES, M.N.; SIMOES, A. L.; OLIVEIRA, S. F. (2009). Afro-Derived Brazilian Populations: Male Genetic Constitution Estimated by Y-Chromosomes STRs and AluYAP Element Polymorphisms. *American Journal of Human Biology*. No prelo.

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. Instituto de Ciências Biológicas. Universidade de Brasília, Brazil.

RIDLEY, M. (2006) *Evolução*. 3ª Edição. Artmed, Porto Alegre, Brasil. p.450.

ROCHA, D.; GUT, I; JEFFREYS, A.J.; KWOK, P.; BROOKES, A.J.; CHANOCK, S.J. (2006) Seventh international meeting on single nucleotide polymorphism and complex genome analysis: 'ever bigger scans and an increasingly variable genome. *Human Genetics* (4) 119, 451-456.

ROHLF, FJ. (1992). NTSYS-pc Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 1.70, New York: Applied Biostatistics.

SAITOU, N. (1995) A genetic affinity analysis of human populations. *Hum. Evol.* 10(1):17-33.

SANTOS, E. J. M.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, A. K. C.; GUERREIRO, J. F.; AGUIAR, G. F. S. ; SANTOS, S. E. B. (1996) Migration and ethnic change in an admixed population from the Amazon region (Santarém, Pará). *Genetics and Molecular Biology*, Brasil, v. 19, p. 511-515.

SANTOS, I.R. (2006) *Ser ou não ser quilombola: terras, festas e parentes da Mesquita*. Monografia apresentada para conclusão do Bacharelado em Ciências Sociais. Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Sociais, Departamento de Antropologia.

SEIELSTAD, M.T.; MINCH, E.; CAVALLI-SFORZA, L.L. (1998) Genetic evidence for a higher female migration rate in humans. *Nat. Genet.* 20(3):278-80

SHRIVER, MD; PARRA, EJ; 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, CJ; MCKEIGUE, PM; KITTLES, RA. (2003). Skin pigmentation, biogeographical ancestry and admixture mapping. *Hum. Genet.* 112(4):387-99.

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.

STONEKING, M. (2001) *Single nucleotide polymorphisms: From the evolutionary past...* *Nature* 409:821-822.

TIRET, L.; RIGAT, B.; VISVIKIS, S.; BREDA, C.; CORVOL, P.; CAMBIEN, F.; SOUBRIER, F. (1992) Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am. J. Hum. Genet.* 51(1):197-205

TOMÁS, G.; SECO, L.; SEIXAS, S.; FAUSTINO, P.; LAVINHA, J.; ROCHA, J. (2002) The peopling of São Tomé (Gulf of Guinea): origins of slave settlers and admixture with the Portuguese. *Hum. Biol.* 74(3):397-411.

WANG, J.; WHITLOCK, M.C. (2003) Estimating effective population size and migration rates from genetic samples over space and time. *Genetics* 163: 429-446

WEBB, GC; COGGAN, M; ICHINOSE, A; BOARD, PG. (1989). Localization of the coagulation factor XIII B subunit gene (F13B) to chromosome bands 1q31-32.1 and restriction fragment length polymorphism at the locus. *Human Genetics* 81:157-160.

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.

WILKINS, J.F.; MARLOWE, F.W. (2006) Sex-biased migration in humans: what should we expect from genetic data? *Bioessays*. 28(3):290-300

WOORTMANN, K. (1990) Migração, Família e Campesinato. *Revista Brasileira de Estudos de População* 7(1) 35-53.

YANG-FENG, TL; OPDENAK, G; VOLCKAERT, G; FRANCKE, U. (1986). Human tissue-type plasminogen activator gene located near chromosomal breakpoint in myeloproliferative disorder. *Am. J. Hum. Genet.* 39(1):79-87.

ANEXO A – Frequências alélicas dos marcadores moleculares bialélicos e do GC em cada população considerada para o cálculo da média aritmética representativa das parentais.

Marcador	Frequência	População	Continente	Referência	
APO*1	0,441	Nigéria e República Centro-Africana	África	Parra <i>et al.</i> , 1998	
	0,500	Nigéria		Batzer <i>et al.</i> , 1994	
	0,490	São Tomé		Tomás <i>et al.</i> , 2002	
	0,997	Tikúna	América	Luizon <i>et al.</i> , 2008	
	1,000	Kashinawa		Luizon <i>et al.</i> , 2008	
	0,989	Baníwa		Luizon <i>et al.</i> , 2008	
	1,000	Kanamari		Luizon <i>et al.</i> , 2008	
	1,000	Quéchua		Batzer <i>et al.</i> , 1994	
	0,927	Inglaterra, Irlanda e Alemanha	Europa	Parra <i>et al.</i> , 1998	
	0,985	Espanha - Andaluzia		Comas <i>et al.</i> , 2000	
	0,983	Espanha - Cataluña		Comas <i>et al.</i> , 2000	
	0,989	França		Batzer <i>et al.</i> , 1996	
	0,960	Portugal		Tomás <i>et al.</i> , 2002	
	D1*1	0,000	Nigéria	África	Batzer <i>et al.</i> , 1996
		0,417	Baníwa	América	Oliveira, 1999
0,650		Kashinawa	Oliveira, 1999		
0,606		Kanamari	Oliveira, 1999		
0,502		Tikúna	Oliveira, 1999		
0,306		Espanha - Andaluzia	Europa	Comas <i>et al.</i> , 2000	
0,350		Espanha - Cataluña		Comas <i>et al.</i> , 2000	

Marcador	Frequência	População	Continente	Referência		
D1*1	0,455	França	Europa	Batzer <i>et al.</i> , 1994		
	0,273	Nigéria	África	ALFRED, 2008		
	0,273	Nigéria		Batzer <i>et al.</i> , 1994		
	0,349	Yorubá		ALFRED, 2008		
	0,930	Gavião		ALFRED, 2008		
	0,773	Quéchua	América	ALFRED, 2008		
	0,730	Quéchua		ALFRED, 2008		
	0,700	Quéchua		Batzer <i>et al.</i> , 1994		
	0,978	Surui		ALFRED, 2008		
	0,870	Surui		ALFRED, 2008		
	0,806	Ticuna		ALFRED, 2008		
	ECA*1	0,980		Way-Way	ALFRED, 2008	
		0,960		Zoró	ALFRED, 2008	
		0,469		caucasiano	Europa	Batzer <i>et al.</i> , 1994
0,410		Espanha		ALFRED, 2008		
0,346		Espanha - Galícia	ALFRED, 2008			
0,407		Espanha - Galícia	ALFRED, 2008			
0,429		Espanha - Galícia	ALFRED, 2008			
0,477		França	Batzer 1996			
0,477		França	Batzer <i>et al.</i> , 1996			
0,342		Itália	ALFRED, 2008			
0,367		Portugal	ALFRED, 2008			
FXIIIB*1		0,083	Nigéria	África		Batzer <i>et al.</i> , 1994
		0,935	Baniwa	América		Oliveira, 1999
	0,879	Kashinawa	Oliveira, 1999			

Marcador	Frequência	População	Continente	Referência
	0,985	Kanamarí		Oliveira, 1999
	0,962	Tikúna		Oliveira, 1999
	1,000	Gavião		ALFRED, 2008
	1,000	Suruí	América	ALFRED, 2008
	0,870	Wai-Wai		ALFRED, 2008
	1,000	Xavante		ALFRED, 2008
	1,000	Zoró		ALFRED, 2008
FXIIIB*1	0,448	Espanha - Andaluzia		Comas <i>et al.</i> , 2000
	0,500	Espanha - Cataluña		Comas <i>et al.</i> , 2000
	0,375	Espanha - Galícia		ALFRED, 2008
	0,423	Espanha - Galícia	Europa	ALFRED, 2008
	0,306	Espanha - Galícia		ALFRED, 2008
	0,453	Espanha - Galícia		ALFRED, 2008
	0,411	Espanha - Galícia		ALFRED, 2008
	0,420	França		Batzer <i>et al.</i> , 1994
	0,225	Nigéria, Serra Leoa e República Centro-Africana	África	Shriver <i>et al.</i> , 2003
	0,203	Nigéria, Serra Leoa e República Centro-Africana		Martinez-Marignac <i>et al.</i> , 2004
	0,792	Nativos Americanos		Shriver <i>et al.</i> , 2003
	0,953	Tikúna		Luizon <i>et al.</i> , 2008
PV-92*1	0,833	Kashinawa	América	Luizon <i>et al.</i> , 2008
	0,848	Baniwa		Luizon <i>et al.</i> , 2008
	0,914	Kanamarí		Luizon <i>et al.</i> , 2008
	0,875	Quéchua		Batzer <i>et al.</i> , 1994
	0,171	Espanhol	Europa	Bonilla <i>et al.</i> , 2004
	0,152	Alemanha e Espanha		Shriver <i>et al.</i> , 2003

Marcador	Frequência	População	Continente	Referência
PV-92*1	0,141	caucasiano	Europa	Batzer 1994
	0,194	Espanha - Andaluzia		Comas <i>et al.</i> , 2000
	0,175	Espanha - Cataluña		Comas <i>et al.</i> , 2000
	0,227	França		Batzer <i>et al.</i> , 1996
	0,425	Nigéria e República Centro-Africana	África	Parra <i>et al.</i> , 1998
	0,410	Nigéria, Serra Leoa e República Centro-Africana		Parra <i>et al.</i> , 2001
Sb19.3*1	0,737	Tikúna	América	Luizon <i>et al.</i> , 2008
	0,893	Kashinawa		Luizon <i>et al.</i> , 2008
	0,700	Baniwa		Luizon <i>et al.</i> , 2008
	0,409	Kanamari		Luizon <i>et al.</i> , 2008
	0,689	Nativos Americanos		NCBI, 2008
	0,910	Irlanda, Inglaterra e Alemanha		Europa
0,923	Espanha	NCBI, 2008		
0,930	Portugal	Tomás <i>et al.</i> , 2002		
	0,409	Nigéria	África	Batzer <i>et al.</i> , 1994
	0,675	Quéchua	América	Batzer <i>et al.</i> , 1994
TPA*1	0,641	caucasiano	Europa	Batzer <i>et al.</i> , 1994
	0,590	Espanha – Andaluzia		Comas <i>et al.</i> , 2000
	0,608	Espanha – Catalunha		Comas <i>et al.</i> , 2000
	0,568	Espanha – País Basco		Comas <i>et al.</i> , 2000
	0,557	França		Batzer <i>et al.</i> , 1996
	0,557	França		Batzer <i>et al.</i> , 1996
AT3*1	0,858	Nigéria, Serra Leoa e República Centro-Africana	África	Shriver <i>et al.</i> , 2003
	0,874	Nigéria e República Centro-Africana		Parra <i>et al.</i> , 1998
	0,820	São Tomé		Tomás <i>et al.</i> , 2002

Marcador	Frequência	População	Continente	Referência
AT3*1	0,061	Nativos Americanos	América	Shriver <i>et al.</i> , 2003
	0,048	Tikúna		Luizon <i>et al.</i> , 2008
	0,050	Kashinawa		Luizon <i>et al.</i> , 2008
	0,033	Baníwa		Luizon <i>et al.</i> , 2008
	0,045	Kanamarí		Luizon <i>et al.</i> , 2008
	0,282	Inglaterra, Irlanda, Espanha e Alemanha	Europa	Shriver <i>et al.</i> , 2003
	0,279	Inglaterra, Irlanda e Alemanha		Parra <i>et al.</i> , 1998
	0,240	Portugal		Tomás <i>et al.</i> , 2002
Fy-Null*1	0,001	Nigéria, Serra Leoa e República Centro-Africana	África	Bonilla <i>et al.</i> , 2004
	0,001	Nigéria, Serra Leoa e República Centro-Africana		Parra <i>et al.</i> , 2001
	0,001	Nigéria, Serra Leoa e República Centro-Africana		Shriver <i>et al.</i> , 2003
	0,100	São Tomé		Tomás <i>et al.</i> , 2002
	1,000	Nativos Americanos	América	Shriver <i>et al.</i> , 2003
	0,996	Tikúna		Luizon <i>et al.</i> , 2008
	1,000	Kashinawa		Luizon <i>et al.</i> , 2008
	1,000	Baníwa		Luizon <i>et al.</i> , 2008
	1,000	Kanamarí		Luizon <i>et al.</i> , 2008
	0,999	Espanha	Europa	Bonilla <i>et al.</i> , 2004
	1,000	Inglaterra, Irlanda e Alemanha		Parra <i>et al.</i> , 1998
	0,998	Inglaterra, Irlanda, Espanha e Alemanha		Shriver <i>et al.</i> , 2003
0,970	Portugal	Tomás <i>et al.</i> , 2002		
GC*1F	0,841	Nigéria, Serra Leoa e República Centro-Africana	África	Parra <i>et al.</i> , 2001
	0,853	Nigéria, Serra Leoa e República Centro-Africana		Bonilla <i>et al.</i> , 2004
	0,780	São Tomé		Tomás <i>et al.</i> , 2002
	0,339	Maia, Ceyenne, Pima e Pueblo	América	Bonilla <i>et al.</i> , 2004

Marcador	Frequência	População	Continente	Referência
GC*1F	0,156	Inglaterra, Irlanda e Alemanha	Europa	Parra <i>et al.</i> , 1998
	0,140	Portugal		Tomás <i>et al.</i> , 2002
GC*1S	0,069	Nigéria, Serra Leoa e República Centro-Africana	África	Parra <i>et al.</i> , 2001
	0,140	São Tomé		Tomás <i>et al.</i> , 2002
	0,542	Maia, Ceyenne, Pima e Pueblo	América	Bonilla <i>et al.</i> , 2004
	0,607	Inglaterra, Irlanda e Alemanha	Europa	Parra <i>et al.</i> , 1998
	0,570	Portugal		Tomás <i>et al.</i> , 2002
LPL*1	0,973	Nigéria e República Centro-Africana	África	Parra <i>et al.</i> , 1998
	0,971	Nigéria e República Centro-Africana		Bonilla <i>et al.</i> , 2004
	0,961	Nigéria		NCBI, 2008
	0,966	Serra Leoa		NCBI, 2008
	0,522	Tikúna	América	Luizon <i>et al.</i> , 2008
	0,204	Kashinawa		Luizon <i>et al.</i> , 2008
	0,489	Baníwa		Luizon <i>et al.</i> , 2008
	0,600	Kanamari		Luizon <i>et al.</i> , 2008
	0,486	Inglaterra, Irlanda e Alemanha	Europa	Parra <i>et al.</i> , 1998
	0,492	Espanha		Bonilla <i>et al.</i> , 2004
0,494	Espanha	NCBI, 2008		
OCA2*1	0,112	Nigéria, Serra Leoa e República Centro-Africana	África	Parra <i>et al.</i> , 2001
	0,115	Nigéria, Serra Leoa e República Centro-Africana		Shriver <i>et al.</i> , 2003
	0,098	Nigéria e República Centro-Africana		Parra <i>et al.</i> , 1998
	0,170	São Tomé	Tomás <i>et al.</i> , 2002	
	0,488	Nativos Americanos	América	Shriver <i>et al.</i> , 2003
	0,746	Inglaterra, Irlanda, Espanha e Alemanha	Europa	Shriver <i>et al.</i> , 2003
	0,769	Inglaterra, Irlanda e Alemanha		Parra <i>et al.</i> , 1998

Marcador	Frequência	População	Continente	Referência
OCA2*1	0,769	Inglaterra, Irlanda e Alemanha	Europa	Parra <i>et al.</i> , 2001
	0,770	Portugal		Tomás <i>et al.</i> , 2002
RB2300*1	0,920	Nigéria e República Centro-Africana	África	Parra <i>et al.</i> , 1998
	0,840	São Tomé		Tomás <i>et al.</i> , 2002
	0,070	Tikúna	América	Luizon <i>et al.</i> , 2008
	0,066	Kashinawa		Luizon <i>et al.</i> , 2008
	0,152	Baníwa		Luizon <i>et al.</i> , 2008
	0,288	Kanamari		Luizon <i>et al.</i> , 2008
	0,333	Inglaterra, Irlanda e Alemanha	Europa	Parra <i>et al.</i> , 1998
	0,310	Portugal		Tomás <i>et al.</i> , 2002

ANEXO B – Frequências dos haplótipos DRD2/*TaqI* em cada população considerada para o cálculo da média aritmética representativa das parentais. Fonte: sítio ALFRED – *Allelic Frequencies Database*.

Frequência Haplótipica								População	Continente	
*1	*2	*3	*4	*5	*6	*7	*8			
0,544	0,225	0,066	0,065	--	0,091	--	0,009	0,544	Tsonga	
0,499	0,146	--	0,079	0,106	0,144	0,026	--	0,499	Hausa	
0,533	0,201	0,084	0,076	--	0,106	--	--	0,533	Ibo	África
0,464	0,229	0,054	0,099	0,008	0,146	--	--	0,464	Yoruba	
0,462	0,169	0,115	0,065	--	0,189	--	--	0,462	Chagga	
0,381	0,010	--	--	0,028	0,581	--	--	0,381	Karitiana	
0,313	0,011	0,027	--	0,097	0,536	--	0,016	0,313	Surui	América
0,334	0,033	0,074	0,096	0,016	0,415	0,016	0,016	0,334	Ticuna	
0,183	0,013	0,617	0,015	0,011	0,153	--	0,007	0,183	Europeus	Europa

ANEXO C – Protocolo de Extração de DNA com utilização do kit *Illustra Blood™* da *GE-Healthcare™*. Tradução livre da sessão correspondente à extração de DNA do manual do fabricante com modificações

- Lise de Células Sanguíneas
 - a. Adicionar 20 µl da Solução de Proteinase K (oferecida pelo fabricante) no fundo de um microtubo com capacidade de 1,5 ml
 - b. Adicionar 200 µl de sangue.
 - c. Adicionar Solução de Lise (oferecida pelo fabricante) ao tubo.
 - d. Agitar a solução com auxílio de vórtex por aproximadamente 10 minutos, até que a solução mude de vermelho para marrom escuro.
 - e. Centrifugar por 30 segundos.
- Separação da Porção de Proteínas
 - a. Após lise das células sanguíneas, adicionar com uma pipeta cerca de 640 µl do conteúdo do tubo ao centro de uma coluna de extração, oferecida pelo fabricante.
 - b. Fechar o tubo e centrifugar por um minuto a 11000 rpm.
 - c. Recolher o conteúdo contido na coluna de extração para lavagem e descartar o conteúdo do tubo coletor.
- Primeira Lavagem
 - a. Adicionar 500 µl da Solução de Lise à coluna e centrifugar a 11000 rpm por um minuto.
 - b. Descartar o conteúdo do tubo coletor após centrifugação.
- Segunda Lavagem
 - a. Adicionar Tampão de Lavagem (oferecido pelo fabricante) à coluna e centrifugar a 11000 rpm por três minutos.
 - b. Descartar o conteúdo do tubo coletor após centrifugação.
- Eluição
 - a. Transferir a coluna de extração para um microtubo limpo.
 - b. Adicionar ao centro da coluna 200 µl de Tampão de Eluição (oferecido pelo fabricante) aquecido a 70°C .
 - c. Incubar os tubos em temperatura ambiente por cerca de um minuto.
 - d. Centrifugar os tubos a 11000 rpm por um minuto.

ANEXO D – Procedimentos para Realização da Eletroforese Vertical

- Soluções Utilizadas para Montagem do Suporte Sólido e Corrida
 - a. Solução de Acrilamida: acrilamida a 29% e bis-acrilamida a 1%.
 - b. Solução de Gel: utilizada nas concentrações de 10% (marcador DRD2) e 6% (demais sistemas). Composição da solução descrita na tabela deste anexo.
 - c. Tampão de corrida com corante bromofenol (*Dye Solution*).
 - d. Tampão TBE 10x: 108,0 g de TRIS; 55,0 g de Ac. Bórico; 9,3 g de EDTA e 1L de água destilada.
 - e. N,N,N',N', tetrametiletilenodiamina (TEMED)
 - f. Persulfato de potássio (APS) a 0,1%

Tabela D1 – Reagente e respectivas concentrações utilizadas na confecção do suporte sólido da eletroforese vertical.

Reagentes	Unidade	Concentração do Gel	
		6%	10%
Solução de acrilamida	ml	4	6
Glicerol	ml	1,4	1,4
Água	ml	12,4	9,6
TBE 10X	ml	2	2
TEMED	µL	15	15
APS	µL	300	300
Volume Final	ml	20	20

- Procedimento para Montagem do Suporte Sólido

O suporte sólido foi montado em placas de vidro com espaçadores de plástico e prendidas com grampos de aço. Cerca de 25 ml da solução de gel foram utilizados para a construção do suporte sólido nas placas montadas, aos quais foram adicionados 15 µl de TEMED e 300 µl de APS.

Quando o suporte sólido estava polimerizado, após cerca de 30 minutos,

as placas foram montadas nas cubas para eletroforese vertical. À cuba de eletroforese, foi adicionada solução de TBE 1x, prepara pela diluição de solução estoque de TBE 10x.

Após a montagem das placas na cuba, a voltagem da eletroforese foi programada para 50 volts durante os primeiros 10 minutos, para que então fosse aumentada para a voltagem relatada na sessão “material e métodos” do presente trabalho.

- Soluções utilizadas para Coloração do Gel

- a. Solução Fixadora: 50 ml de água destilada; 144 ml de Álcool Etilico; 6,0 ml de Ácido Acético.
- b. Solução Reveladora: 22,5 g de NaOH; Completar para 1L de H₂O destilada.
- c. Solução de prata a 10%

- Procedimentos da Coloração

O suporte sólido foi retirado das placas de vidro e colocado em 200mL de solução fixadora. Em seguida, foi acrescentado 1mL de nitrato de prata, mantendo o recipiente em agitação por 10 minutos. O gel foi então lavado com água destilada e mergulhado em 200 ml de solução reveladora previamente aquecida com 1mL de formaldeído até que as bandas se tornassem visíveis.

ANEXO E – Aprovação do Comitê de Ética na Pesquisa da Faculdade de Saúde da Universidade de Brasília de acordo com os preceitos da Comissão Nacional de Ética na Pesquisa.



Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/FS

PROCESSO DE ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA

Registro do Projeto no CEP: 151/07

Título do Projeto: ANCESTRABILIDADE BIOLÓGICA DE POPULAÇÕES REMANESCENTES DE QUILOMBOLAS BASEADA EM MARCADORES MOLECULARES LOCALIZADOS EM CROMOSSOMOS SEXUAIS E AUTOSSÔMICOS.

Pesquisador Responsável: Silviene Fabiana de Oliveira

Data de Entrada: 30/11/2007

Com base nas Resoluções 196/96, do CNS/MS, que regulamenta a ética da pesquisa em seres humanos, o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, após análise dos aspectos éticos e do contexto técnico-científico, resolveu **APROVAR** o projeto 151/2007 com o título: “Ancestrabilidade Biológica de Populações Remanescentes de Quilombolas Baseada em Marcadores Moleculares Localizados em Cromossomos Sexuais e Autossômicos”, analisado na 11ª Reunião Ordinária, realizada no dia 11 de Dezembro de 2007.

A pesquisadora responsável fica, desde já, notificada da obrigatoriedade da apresentação de um relatório semestral e relatório final sucinto e objetivo sobre o desenvolvimento do Projeto, no prazo de 1 (um) ano a contar da presente data (item VII.13 da Resolução 196/96).

Brasília, 12 de Dezembro de 2008.

Prof. Volnei Garrafa
Coordenador do CEP-FS/UnB