Lúcia Inês Macedo de Souza

Variabilidade Molecular do Cromossomo Y em
Remanescentes de Quilombos do Vale do Ribeira

São Paulo

2003

Lúcia Inês Macedo de Souza

Variabilidade Molecular do Cromossomo Y em
Remanescentes de Quilombos do Vale do Ribeira

Dissertação apresentada ao Instituto
de Biociências da Universidade de São
Paulo, para a obtenção de Título de
Mestre em Ciências, na Área de
Biologia.

Orientadora: Prof. Dra. Regina Célia Mingroni Netto

São Paulo
2003

Ficha Catalográfica

Macedo-Souza, Lúcia Inês
Variabilidade Molecular do
Cromossomo Y em Remanescentes de
Quilombos do Vale do Ribeira
95 páginas

Dissertação (Mestrado) - Instituto de
Biociências da Universidade de São Paulo.
Departamento de Biologia.

1. Cromossomo Y 2. Quilombos
3. Vale do Ribeira 4. Variabilidade
Genética
Universidade de São Paulo. Instituto de
Biociências. Departamento de Biologia.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Profa. Dra. Regina Célia Mingroni Netto
Orientadora

Às minhas filhas, Bárbara e Clara,
razão da minha busca pelo conhecimento.

“Encontramos uma estranha pegada na orla do desconhecido. Desenvolvemos teorias profundas, uma após a outra, para explicar sua origem.

Por fim, conseguimos reconstruir a criatura que fez a pegada.

E, ora vejam!

Ela é nossa própria pegada!”

Artur Stanley Eddington, astrônomo

Agradecimentos

À minha orientadora Regina Célia Mingroni Netto, pela paciência, pela dedicação e pelos ensinamentos durante esses anos.

Ao Dr. João Pedro Vicente, médico da equipe de pesquisa, pelo exame clínico de todos os indivíduos dos quilombos, e seu orientador Dr. Cláudio Leone.

Ao Prof. Dr. Paulo A. Otto, do Departamento de Biologia do IBUSP, pelo apoio teórico-matemático, pelas sugestões e disponibilidade em ajudar seus alunos.

Ao colega Nelson Cotrim, pela ajuda no processamento dos programas de computação.

À Maria Teresa B. de M. Auricchio, pelo apoio técnico e companhia nos trabalhos de campo. Também às colegas Eliete Pardono e Cláudia B. Angeli, companheiras de viagem e de laboratório.

Aos colegas Ronaldo S. A. Silva e Karina Lezirovitz, pela colaboração e amizade.

À minha família, pelo apoio.

Aos amigos, pelo incentivo.

Às minhas ajudantes Silvana Ribeiro, Angelúcia Paeslandin Santos e Maria de Lourdes de Souza, pelo suporte domiciliar, sem o qual teria sido impossível esse trabalho.

À Prof. Angela Morgante e todos os colegas do laboratório de Genética Humana, pela ajuda e incentivo, com especial atenção aos funcionários Paulo Rogério, Fátima, Lígia, Mara e Maraísa.

À técnica de laboratório Maria Cristina Ferreira Costa, pelo auxílio no seqüenciamento do DNA.

Aos motoristas do IBUSP, pela competência durante as viagens.

Ao Departamento de Biologia e seus funcionários da secretaria que garantiram a estrutura para o desenvolvimento desse trabalho.

Ao Dr. Dario Grattapaglia, da UCB, Dr Wilson A. Silva Jr, Dr. Aguinaldo L. Simões e seus estudantes, da USP-FMRP, Dr. Rui S. S. Murrieta e Dr. Walter A. Neves, do IBUSP, Dra. Martha M. Lahr, da Universidade de Cambridge, e Profa. Alice Guidon, historiadora e amiga, pelo apoio e sugestões.

À Maria Ignez Maricondi, do ITESP, e a Rosemeire Saco, do ISA, pela ajuda no levantamento de dados e mapas sobre a área estudada.

Às irmãs Maria Antonieta Biagioni e Maria Sueli Berlanga, da Casa Paroquial de Eldorado e a Antônio Carlos Nicomedes, do MOAB, pela ajuda no contato com as comunidades.

Às prefeituras dos municípios de Eldorado e Iporanga pelo apoio.

Ao CNPq e FAPESP pelo auxílio financeiro.

Às comunidades quilombolas, especialmente às lideranças e aos agentes de saúde, pela colaboração, sem a qual seria impossível concretizar esse trabalho.

Índice Geral

Resumo	1
Abstract	3
I - INTRODUÇÃO	5
I.1. MARCADORES MOLECULARES EM ESTUDOS POPULACIONAIS.....	6
I.1.1. Marcadores moleculares.....	6
I.1.2. Marcadores moleculares do cromossomo Y em estudos populacionais	10
I.2. OS REMANESCENTES DE QUILOMBOS	18
I.2.1. A Ocupação humana do Brasil.....	18
I.2.2. Os quilombos	20
I.2.3. Os remanescentes de quilombos do Vale do Ribeira	20
II - OBJETIVOS	27
III - MATERIAL E MÉTODOS	29
III.1. AMOSTRAS	30
III.1.1. Remanescentes de quilombos.....	30
III.1.2. São Paulo	30
III.2. MÉTODOS.....	31
III.2.1. Extração de DNA a partir de sangue periférico.....	31
III.2.2 – Estudos de polimorfismos do cromossomo Y	32
III.2.3 – Análise estatística	35
IV - RESULTADOS	40
V - DISCUSSÃO	52
V.1 – FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E HAPLOTÍPICAS.....	53
V.2 – ÍNDICES DE DIVERSIDADE HAPLOTÍPICA	59
V.3– DENDROGRAMAS	61
VI - CONCLUSÕES	63
VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
ANEXO I	80
Revisão bibliográfica da frequência dos alelos dos marcadores DYS19/DYS199/YAP/DYS390.....	80
ANEXO II.....	90
Resultados da análise dos marcadores polimórficos DYS19, DYS199, YAP e DYS390 em todos os indivíduos estudados.	90

Índice de Figuras

Figura 1 - Esquema do cromossomo Y indicando a localização das regiões PAR 1 e PAR 2 e dos marcadores moleculares empregados nesse estudo.	11
Figura 2(a) - Classificação dos haplogrupos de cromossomo Y com base em 205 SNPs (Underhill e col., 2001).	14
Figura 2(b) - Distribuição geográfica e frequências mundiais dos haplogrupos de cromossomoY (Underhill e col., 2001).	15
Figura 3 - Mapa dos estados de São Paulo e Paraná.	24
Figura 4 - Localização dos remanescentes de quilombo nos municípios de Eldorado e Iporanga	25
Figura 5 (a) - Casas características das comunidades de quilombos.	26
Figura 5 (b) - Igreja da comunidade de Galvão.	26
Figura 6 - Alelos do microssatélite DYS19, com tamanhos variando entre 186 e 210 pb	36
Figura 7 - Alelos do microssatélite DYS390, com tamanhos variando entre 211 e 219 pb.	36
Figura 8 - Alelos do SNP DYS199.	36
Figura 9 - Alelos do polimorfismo de inserção de <i>Alu</i> (DYS287).	36
Figura 10 - Resultado do seqüenciamento do marcador M168	37
Figura 11 - Dendrograma não enraizado obtido com o loco DYS19.	47
Figura 12 - Dendrograma não enraizado obtido com o loco DYS199.	48
Figura 13 - Dendrograma não enraizado obtido com o loco YAP.	49
Figura 14 - Dendrograma não enraizado obtido com o loco DYS390.	50
Figura 15 - Dendrograma não enraizado obtido utilizando-se os os quatro locos estudados.	51
Figura 16 - Diagramas representando a provável origem dos cromossomos Y encontrados nas populações de quilombo e na amostra de São Paulo.	58

Índice de Tabelas

Tabela I – Localização das populações, total de habitantes e número de homens estudados.	30
Tabela II – Sequências dos <i>primers</i> dos locos selecionados para este estudo.	32
Tabela III – Frequência dos alelos dos marcadores DYS19, DYS199, YAP e DYS390 nas amostras dos quilombos e de São Paulo.	43
Tabela IV – Comparações das frequências alélicas das amostras dos indivíduos excluídos através de testes de qui-quadrado (QQ) ou de testes exatos de Fisher (TF).	44
Tabela V – Frequência dos haplótipos dos marcadores DYS19/DYS199/YAP/DYS390 nas populações de São Paulo e quilombos.	45
Tabela VI – Análise estatística do estudo dos locos polimórficos DYS19, DYS390, DYS199 e YAP.	46

Resumo

O Vale do Ribeira é uma área que ocupa cerca de 10% da região sul do estado de São Paulo e abriga pelo menos 25 comunidades remanescentes de quilombos. Dessas, 13 já foram oficialmente reconhecidas ou estão em fase de reconhecimento.

Com o objetivo de contribuir para o conhecimento da estrutura populacional e da história da formação desses remanescentes de quilombos, estudamos os indivíduos do sexo masculino de seis comunidades: Abobral Margem Esquerda (48), Galvão (22), São Pedro (22), Pedro Cubas (60), Pilões (15) e Maria Rosa (9), além de uma amostra de 81 homens da cidade de São Paulo, em relação a quatro locos polimórficos do cromossomo Y: dois microssatélites (DYS19 e DYS390), um SNP (DYS199) e uma inserção de *Alu* (DYS287). Os genótipos foram identificados por meio da amplificação do DNA pela reação em cadeia da polimerase (PCR), seguida de eletroforese em gel de poliacrilamida. Um quinto marcador foi estudado, um SNP (M168), apenas em alguns indivíduos selecionados. Nesse caso os genótipos foram identificados por seqüenciamento direto do DNA.

As frequências alélicas no DYS19 e DYS390 indicaram que nas populações por nós estudadas há uma importante contribuição patrilinear portuguesa. O SNP DYS199, por possuir um alelo-específico de ameríndios, o alelo T, indicou uma baixa contribuição patrilinear ameríndia entre as comunidades de quilombo. Essa contribuição foi detectada somente na população de Pedro Cubas.

A inserção de *Alu* YAP (DYS287), por ser muito freqüente entre africanos, é um bom indicador de contribuição paterna africana. No entanto, nem todos os africanos a possuem. Por essa razão o marcador M168 veio completar a informação em relação à origem africana do cromossomo Y. Esses marcadores moleculares indicaram uma contribuição masculina provavelmente africana nos quilombos, em frequências que variaram de 11 a 55%. Somente em Pedro Cubas, a frequência de cromossomos Y de origem africana superou a frequência de cromossomos Y de origem européia. Em Abobral, a frequência de cromossomo Y provavelmente africano chegou a

aproximadamente 40%, revelando serem essas duas populações as mais africanas do ponto de vista do cromossomo Y.

O total das populações de quilombo apresentou índice de diversidade genética haplotípica equivalente ao da amostra de São Paulo, provavelmente devido à diversidade das populações africanas que as constituíram ou à mistura com populações de outros grupos étnicos. Entre as comunidades de quilombo, Galvão foi a que apresentou menor índice de diversidade, indicando que nessa comunidade o efeito do fundador foi o mais notável. O haplótipo mais freqüentemente observado em Galvão tem provável origem européia.

Quando observamos o dendrograma que reúne as populações quilombolas, a população de São Paulo e outras populações da literatura, os quilombos de Galvão, São Pedro e Abobral mostraram-se mais próximos das populações africanas do que das demais populações da literatura. Dentre os remanescentes de quilombos, Pedro Cubas é a única com afinidade com os ameríndios. Pilões e Maria Rosa ficaram mais próximas de São Paulo, bem como de brasileiros brancos e portugueses, indicando maior contribuição européia.

Abstract

At least 25 quilombos remnants are supposed to exist in the Vale do Ribeira region, located in the southern part of São Paulo State. Thirteen of those quilombo remnants have already been identified and officially recognized.

In order to understand the structure and history of the foundation of these quilombo remnants, we studied male individuals belonging to six populations: Abobral Left Margin (48 individuals), Galvão (22), São Pedro (22), Pedro Cubas (60), Pilões (15) and Maria Rosa (9), in addition to 81 individuals sampled from the city of São Paulo, for four Y chromosome polymorphic loci: two microsatellite loci (DYS19 and DYS390), one SNP (DYS199) and one Alu insertion (YAP). The genotypes were identified by DNA amplification by polymerase chain reaction (PCR) followed by acrylamide gel electrophoresis. A fifth locus was also analysed, by a different SNP (M168), but only in a few individuals. In this analysis DNA direct sequencing was employed.

The allelic frequencies in the locus DYS19 indicated significant male Portuguese contribution in the quilombos. The Amerindian specific allele (T) of the DYS199 locus indicated little or no contribution from Amerindian males, except the population of Pedro Cubas.

The Alu insertion (YAP or DYS287), frequent in Africans, is a good indicator of African ancestry, although not all Africans show it. Thus, the analysis of the M168 locus helped to determine the origin of Y chromosomes. These markers indicated a range from 11 to 55% of probable African contribution in the quilombos. Only in Pedro Cubas the frequency of African Y chromosomes was higher than the one European Y chromosomes. In Abobral, the frequency of African Y chromosomes was approximately 40%, being the most African of the quilombo populations, when Y chromosomes are considered.

The total haplotype diversity in the quilombos was similar to the one observed for the sample from São Paulo, probably due to the diversity of African populations that originated the quilombos, or the admixture with other

ethnic groups. Galvão showed the lowest diversity, indicating that this population was the most influenced by founder effects.

In the neighbor-joining tree built with allelic frequencies obtained in the quilombos, São Paulo and other populations previously reported, the quilombos of Galvão, São Pedro and Abobral were closer to the African populations and Pedro Cubas is the only one close to Amerindians. Pilões and Maria Rosa were closer to São Paulo, white Brazilians and Portuguese populations, indicating European contribution.

I - INTRODUÇÃO

I.1. MARCADORES MOLECULARES EM ESTUDOS POPULACIONAIS

I.1.1. Marcadores moleculares

O estudo da composição genética das diferentes populações humanas sempre ocupou lugar de destaque na ciência. Nesse sentido, foram e ainda são utilizados diversos tipos de marcadores genéticos polimórficos, como os grupos sanguíneos (ABO e Rh), proteínas séricas e eritrocitárias, imunoglobulinas, sistemas de histocompatibilidade e polimorfismos de DNA (Cavalli-Sforza e col., 1996).

Polimorfismos de DNA são seqüências de nucleotídeos que apresentam duas ou mais diferentes formas. Nos dias de hoje, aplica-se a denominação de alelos para qualquer variante das seqüências de base do DNA. Para se considerar que existe polimorfismo, protéico ou de DNA, o alelo mais raro não deve ter sido mantido na população somente por mutações e deve ocorrer com uma freqüência maior que 1% (Kendrew, 1994). Diversos marcadores polimórficos de DNA se encontram distribuídos em todo o genoma e são usados em identificação individual, mapeamento de genes e estudos populacionais.

Existem vários tipos de polimorfismos de DNA. Alguns deles compreendem alterações em um único nucleotídeo (SNPs – *single nucleotide polymorphisms*). Sua origem pode ser por meio de deleções, inserções ou substituições de base, podendo ser identificados por meio da digestão com enzima de restrição (RFLP – *restriction fragment length polymorphisms*), por DHPLC (*denaturing high performance liquid chromatography*) ou por seqüenciamento do DNA. Outro tipo de polimorfismo é o representado pelas variações no número de repetições de seqüências em tandem (VNTR – *variable number of tandem repeats*). Nessa categoria estão representados os microssatélites, formados por unidades de repetição de uma a 13 bases, e os minissatélites, formados por unidades de repetição de 14 a 500 bases (International Human Genome Sequencing, 2001).

Um terceiro tipo de polimorfismo compreende as inserções de elementos retrotransponíveis (LINE - *long interspersed elements* e SINE -

short interspersed elements). As seqüências *Alu*, um tipo de SINE, apresentam cerca de 280 nucleotídeos de comprimento e são constituídas por duas unidades monoméricas menores ligadas por uma região rica em A. A presença ou a ausência das inserções tanto de *Alu* quanto de LINEs caracterizam dois alelos: um em que ocorreu a inserção e outro em que ela não ocorreu (Novick e col., 1996).

SNPs, VNTRs e polimorfismos de inserção podem ocorrer nos autossomos, nos cromossomos sexuais (X e Y). No DNA mitocondrial (DNAMt) ocorrem muitos SNPs. Os diversos tipos de polimorfismos de DNA (marcadores moleculares) podem ser aplicados em identificação individual e mapeamento de genes de interesse clínico. Também podem ser utilizados em estudos de filogenia quando se deseja agrupar duas ou mais populações em função das suas freqüências alélicas ou da similaridade das seqüências. Enquanto os autossomos são herdados de ambos progenitores e o material paterno e materno podem ser “embaralhados” na recombinação meiótica, o cromossomo sexual Y não sofre recombinação em mais de 90% de sua extensão, a chamada NRY (*non recombining portion of the Y*) e é transmitido pelo pai somente a seus filhos homens. A única fonte de variação nessa região é representada pelas mutações que, com o tempo, se acumulam gradativamente (revisão em Hammer e Zegura, 1996).

De forma análoga ao cromossomo Y, o DNAMt não sofre recombinação e é transmitido somente pela mãe a seus filhos, homens ou mulheres. Novamente, a fonte de variação é somente a mutação, cuja taxa de mutação observada é estimada em pelo menos cinco vezes maior do que a do DNA nuclear. Sendo assim, o cromossomo Y e o DNAMt constituem um excelente material para construção de haplótipos, grupos de marcadores transmitidos integralmente de uma geração à outra. Esses marcadores traçam a história paterna e materna de uma população, permitindo algumas vezes estimativas temporais de dispersão e divergência de populações. Comparando-se o número das mudanças da seqüência em amostras diferentes de DNA e estimando-se o ritmo com que essas mutações ocorrem é possível, em alguns casos, estimar o grau de parentesco entre duas amostras e a data aproximada em que elas divergiram (Cavalli-Sforza, 1998).

No entanto, em se tratando de cromossomo Y e DNAmT em estudos populacionais, não se pode deixar de considerar a provável perda de informação quando se estudam populações vivas, pois as linhagens de cromossomo Y e DNAmT podem ser mais facilmente extintas do que outros tipos de seqüências presentes nos autossomos (Jobling e Tyler-Smith, 1995).

Um outro fator limitante do emprego de qualquer tipo de marcador e não apenas os do cromossomo Y e do DNAmT, é a probabilidade da existência de mutações recorrentes, ou seja, uma mesma alteração na seqüência de DNA ocorrer mais de uma vez de forma independente em diferentes populações, sem necessariamente ter a mesma origem filogenética. Além de mutações recorrentes, também podem ocorrer mutações reversas e quanto maior a taxa de mutação de um certo marcador molecular, maior a probabilidade desses eventos recorrentes.

De acordo com sua taxa de mutação, os marcadores polimórficos foram classificados em marcadores de evolução lenta, caracterizados pela baixa taxa de mutação (10^{-7} a 10^{-9}) e marcadores de evolução rápida, com elevada taxa de mutação, de cerca de 0,2% por geração (Santos e Tyler-Smith, 1996).

São exemplos de marcadores de evolução lenta os SNPs e as inserções de elementos retrotransponíveis. Seu emprego em estudos populacionais diminui a probabilidade de mutação recorrente, mas se limita a uma menor diversidade de alelos, pois cada marcador geralmente apresenta apenas dois alelos. Estes marcadores são úteis em estudos populacionais pois, dependendo da idade da mutação, alelos recentes têm uma distribuição geográfica restrita, enquanto alelos que surgiram há mais tempo já foram espalhados através dos movimentos migratórios das populações humanas.

Os marcadores de evolução rápida, as VNTRs, estão mais sujeitos às mutações recorrentes. Mesmo assim, por serem altamente polimórficos, são de grande interesse em testes de identidade, como por exemplo na genética forense, estudos de ligação em mapeamento de genes e na construção de haplótipos em estudos intra-populacionais.

O primeiro grande estudo populacional aplicando marcadores polimórficos de DNA foi feito com o DNAmT. Em 1987, Cann e col. compararam o DNAmT de 147 pessoas da África, Ásia, Austrália, Cáucaso e

Nova Guiné. As seqüências encontradas se dividiam em dois grandes grupos: as africanas num dos grupos e as demais no outro, sugerindo que a seqüência ancestral surgiu na África. A “Eva Mitocondrial”, como ficou conhecida, pressupôs-se ter vivido há 200 mil anos. Este resultado obviamente não significa que havia somente uma mulher naquele tempo, mas que provavelmente, a molécula de DNAm_t dessa mulher prosperou e se tornou a ancestral de todas as linhagens existentes atualmente no mundo.

Jorde e col. (1997) realizaram importantes estudos sobre origem do homem moderno. Com 60 marcadores de microssatélites autossômicos e uma amostra de 72 africanos, 63 asiáticos e 120 europeus, encontraram índices de diversidade que, após vários testes estatísticos, apontaram os africanos como grupo ancestral.

Questões relacionadas à dispersão humana a partir da África e à formação das populações asiáticas vêm sendo esclarecidas também com o uso de marcadores de cromossomo Y, como o do marcador DYS287 (YAP), uma inserção de Alu, presente em 61,7% dos africanos (Hammer e col., 1997). Hammer e col. (1998), com uma amostra de 1544 indivíduos vindos da África, Ásia, Europa, Oceania e América, utilizando YAP e outros sete marcadores, inferiram dois grandes movimentos migratórios relacionados ao continente africano: o primeiro foi um movimento de saída, cuja data foi estimada em 150.000 anos, e o segundo foi um movimento de retorno, que teria ocorrido há 55.000 anos. Movimentos de dispersão pelo continente asiático, entre outros, têm despertado grande interesse na comunidade científica que, com uso desse tipo de marcador vem traçando os possíveis caminhos percorridos pelo homem moderno.

No Brasil, Pena e col. (2000), utilizando marcadores do DNAm_t e do cromossomo Y, tentaram descrever o “retrato molecular” atual da população brasileira. Com uma amostra de 247 indivíduos brancos vindos de quatro regiões do Brasil (Norte, Nordeste, Sul e Sudeste), os autores estimaram que a contribuição européia presente nos cromossomos Y estudados foi de cerca de 80% (Carvalho-Silva e col., 2001). A contribuição materna estimada foi de 28% de mitocôndrias de origem africana, 39% de mitocôndrias européias e 33% de ameríndias (Alves-Silva e col., 2000).

O mesmo grupo de pesquisadores, em um outro trabalho, utilizou 10 marcadores moleculares autossômicos (inserções de Alu e SNPs) e características morfológicas (cor da pele, forma do nariz, lábios e tipo de cabelo) usadas freqüentemente na classificação de raças, na tentativa de investigar a relação entre a cor da pele dos brasileiros e quantidade de alelos considerados específicos de africanos, ameríndios e portugueses. A amostra de 173 indivíduos classificados como brancos, pardos ou negros era oriunda do interior de Minas Gerais. Essa foi comparada às amostras de 93 portugueses, 20 africanos e 10 ameríndios. Os autores não encontraram correlação significativa entre o número de alelos étnicos-específicos e a cor da pele ou aos demais traços morfológicos, indicando que indivíduos apresentando cor negra ou branca, no Brasil, são resultado de importante miscigenação entre africanos e europeus (Parra e col., 2003).

I.1.2. Marcadores moleculares do cromossomo Y em estudos populacionais

O cromossomo Y humano apresenta nas extremidades dos seus dois braços regiões de homologia com o cromossomo X, que permitem a recombinação com esse durante a meiose masculina. Essas regiões são chamadas PAR1 e PAR2 (*pseudo-autosomal regions*), com 2,6 e 0,34 milhões de pares de bases (Mb) nos braços curto e longo, respectivamente (Vogt e col., 1997). O restante do cromossomo Y, cerca de 60 Mb, compreende seqüências de DNA exclusivas desse cromossomo, NRY (Harris e col., 1986; Lahn & Page, 1997). É nessa região que se situam os marcadores de interesse em estudos de patrilinearidade (Figura 1). De acordo com Jobling e Tyler-Smith (1995), o pequeno número de genes reduz a probabilidade do cromossomo Y sofrer intensa seleção natural, o que o torna uma excelente ferramenta para estudos de dispersão humana.

O primeiro marcador polimórfico de DNA no cromossomo Y humano foi descoberto em 1985 por Casanova e col. com uso da sonda p122f2, isolada de uma biblioteca parcial de cromossomo Y. O padrão do RFLP, revelado pela técnica de “Southern blotting” seguida de hibridação com a sonda, mostrou dois alelos após digestão com *Taq I* (Casanova e col., 1985). Desde então, outros marcadores de evolução lenta foram descobertos, inclusive uma

inserção de Alu, chamada de YAP (Persichetti e col., 1992). Presente em alta frequência entre africanos, o YAP é referência para estudos de dispersão do homem moderno e está presente em uma das três principais linhagens de Y que contribuíram para a formação dos povos asiáticos (Tajima e col., 2002).

Figura 1: Esquema do cromossomo Y indicando a localização das regiões PAR 1 e PAR 2 e dos marcadores moleculares empregados nesse estudo.

No trabalho desses autores, a idade da inserção foi estimada em 69.000 anos.

Somente a partir de 1994 foram desenvolvidos os primeiros protocolos para determinação de alelos dos polimorfismos do cromossomo Y por meio da PCR. Hoje são conhecidos diversos marcadores polimórficos, principalmente SNPs, muitos hoje rapidamente identificados através da implementação da técnica de DHPLC (Underhill e col., 1997).

O primeiro marcador de evolução rápida descrito no cromossomo Y foi o microssatélite DYS19 (27H39), um tetranucleotídeo altamente polimórfico, cuja distribuição de frequências alélicas é hoje bem conhecida em diversas populações (Roewer e col., 1992). Por exemplo, o alelo de 186 pb (A) ocorre em alta frequência entre ameríndios (Santos e col., 1996). Além dos micro e minissatélites, existe ainda uma terceira classe de repetições em tandem, os DNA satélites, categoria de seqüências altamente repetitivas, da qual faz parte o DNA satélite alfa (α). O DNA satélite alfa presente na região centromérica do cromossomo Y é caracterizado por subunidades de 171 pb que se repetem formando unidades de aproximadamente 6,0 Kb e o número de cópias da subunidade é variável na população, caracterizando polimorfismo (Santos e col., 1995).

Nossa revisão bibliográfica dará atenção a alguns exemplos selecionados de estudos realizados com o cromossomo Y, ilustrando suas aplicações em diversos tipos de questões: a dispersão do homem moderno, a ocupação das Américas e a história de grupos populacionais específicos.

Underhill e col.(2001) utilizaram 205 marcadores do tipo SNP identificados por DHPLC e reuniram os resultados aos de outros 13 marcadores estudados por outros autores. Com esse estudo, demonstraram a importância do uso desses tipos de marcadores no estudo da diversidade genética e origem das populações humanas. Com uma amostra de 1062 homens oriundos de 21 populações distintas, foi possível construir 131 haplótipos reunidos em dez haplogrupos, que foram numerados e distribuídos geograficamente, compreendendo todas as regiões do planeta. Na concepção da árvore filogenética também foi possível estimar a data das mutações que distinguiram cada haplogrupo, permitindo reconstruir os movimentos migratórios de expansão do homem moderno. Com base na estratégia

desenvolvida por esse trabalho, com a determinação dos alelos de alguns SNPs, é possível em teoria determinar a origem de um cromossomo Y qualquer. O SNP M168, por exemplo, permite identificar no grupo dos cromossomos Y desprovidos da inserção YAP (YAP –), quais são os pertencentes aos haplogrupos I e II, freqüentes em africanos (Figuras 2a e 2b).

A classificação de haplótipos proposta por Underhill e col (2001) não é a única empregada em estudos populacionais realizados com marcadores de evolução lenta no cromossomo Y. No trabalho produzido pelo “The Y Chromosome Consortium” (2002), outros oito trabalhos são analisados no que se refere à nomenclatura de haplótipos do cromossomo Y, e são apresentadas as correspondências entre os diversos sistemas de nomenclatura.

Alguns trabalhos realizados sobre a história do povoamento das Américas, utilizando marcadores do cromossomo Y, sugeriram a ocorrência de apenas uma onda migratória a partir da Ásia. A existência de um haplótipo principal, presente em 90% dos ameríndios da América Central e do Sul (Pena e col., 1995; Santos e col., 1995), somada a trabalhos realizados com os Nadene e Escalauta (Underhill e col., 1996) sugeriram a ocorrência dessa única grande onda de migração para o Novo Mundo, no que diz respeito aos tipos de cromossomo Y fundadores (Rodriguez-Delfin e col., 1997; Bianchi e col., 1998; Santos e col., 1999). Nesses trabalhos, os marcadores DYS199 (SNP) e DYS19 (VNTR) foram extremamente úteis, pois o primeiro, uma substituição de base C→T, apresenta como característica exclusiva de ameríndios o alelo T (Underhill e col., 1996). O segundo marcador apresenta um alelo encontrado em alta freqüência também em ameríndios, o alelo 13 (também conhecido como A ou 186 pb). Com o uso de sete marcadores de cromossomo Y e uma amostra de 306 homens vindos de diferentes partes do mundo, Santos e col. (1999), construíram 32 haplótipos, sendo um desses exclusivo de ameríndios. Esse haplótipo é muito similar a um outro presente na Sibéria, que deve ser o que lhe deu origem. Nesse trabalho foi estimado que a possível migração humana da Ásia para a América, pelo estreito de Bering, ocorreu entre 12 e 30 mil anos. Já Karafet e col (1999) interpretam a diversidade de cromossomo Y encontrada na América como resultado de

Figura 2(a): Classificação dos haplogrupos de cromossomo Y com base em 205 SNPs (Underhill e col., 2001).

Figura 2(b): Distribuição geográfica e frequências mundiais dos haplogrupos de cromossomoY (Underhill e col., 2001).

duas possíveis ondas migratórias, analisando principalmente os cromossomos Y desprovidos da substituição C→T. Vale lembrar que em se tratando de cromossomos Y estudados em populações vivas, a diversidade atual dificilmente retrata a diversidade presente no período em questão. Muitas linhagens de cromossomo Y possivelmente foram extintas, o que em parte explica a discrepância entre os diversos estudos moleculares e achados morfológicos. Segundo Neves e col. (2001), a ocupação mais antiga do continente americano foi empreendida por povos de morfologia craniana não-mongolóide, mais semelhante à africana. Estas populações teriam sido substituídas pelo segundo grupo, o de morfologia mongolóide, característica dos atuais ameríndios. Nessa linha de raciocínio, a segunda discrepância refere-se à datação, pois é sabido que no período acima citado ainda não havia populações morfológicamente mongolóides na Ásia e que, portanto, a população ancestral deveria apresentar uma morfologia distinta da que hoje predomina naquele continente e aqui na América. Pequenas mudanças nas premissas adotadas nas datações moleculares (por exemplo, nas taxas de mutação) acarretam mudanças significativas nas estimativas de data, o que gera ainda mais controvérsias sobre o assunto.

Um exemplo interessante de pesquisa sobre a origem de grupos populacionais específicos foi o esclarecimento da história dos Judeus negros do Sul da África, os Lemba, que falam língua do grupo Bantu e alegam ser uma das tribos perdidas de Israel. Os Lemba têm costumes judaicos e contam histórias de uma terra perdida chamada Sena. Thomas e col. (2000) descobriram a existência de uma vila no sul do Yemen chamada Sanaa e com 12 marcadores do Y analisaram uma amostra de 399 homens vindos de seis populações: Lemba, Bantu, Yemeni-Hadramaut, Yemeni-Sena, judeus Sefaradi e judeus Ashkenazi. As semelhanças obtidas na análise molecular do cromossomo Y dos Lemba, Judeus e Bantu confirmaram a origem judaica dos Lemba, acompanhada por mistura genética com os Bantu, num processo de expansão judaica que provavelmente se iniciou entre três a cinco mil anos atrás.

Recentemente, Zerjal e col. (2003) observaram que um único haplótipo de cromossomo Y está presente em cerca de 8% dos asiáticos. A amostra compreendeu 2123 indivíduos oriundos de 50 populações de toda a Ásia.

Foram usados 16 SNPs e 16 microssatélites nessa análise. Segundo os autores, a frequência elevada desse haplótipo se explicaria pela supremacia de um grupo de homens aparentados que dominou a região ao longo de muitas gerações. Os relatos históricos associados à estimativa da data do surgimento desse haplótipo levou-os a deduzir que pode se tratar do cromossomo Y de Genghis Khan e de seus descendentes, que o sucederam por muitos séculos.

No Brasil foi realizado um estudo sobre a formação da população da cidade de Belém (PA). Santos e col. (1999) estavam interessados nas diferenças entre a contribuição ameríndia, feminina e masculina. Encontraram numa amostra de 105 homens apenas 4 (3,8%) cromossomos Y de origem ameríndia, demonstrando a baixa contribuição genética ameríndia masculina na formação da população de Belém. No entanto, a contribuição ameríndia materna (DNAm_t) foi estimada em cerca de 50%, ou seja, mais de dez vezes superior à paterna. Esse padrão se repete em outros estudos populacionais realizados no Brasil, como o já citado de Carvalho-Silva e col. (2001), em que há predomínio da contribuição genética portuguesa no cromossomo Y e baixa contribuição ameríndia.

Em remanescentes de quilombos no Brasil, Ribeiro-dos-Santos e col. (2002) estimaram, na população de Curiaú (AM), uma contribuição masculina africana de 57%, europeia de 37% e ameríndia de 6%. Já em relação ao DNAm_t, a contribuição materna africana correspondeu a 53% e a ameríndia, 47%. Resultados semelhantes tinham sido observados por Bortolini e col (1999), mas somente com base em um marcador hipervariável do Y. Novamente, observa-se uma assimetria nas contribuições masculina e feminina na formação dos quilombos, semelhante à observada na formação das populações brasileiras das cidades (Alves-Silva e col., 2000; Carvalho-Silva e col., 2001).

Apresentamos no Anexo I uma tabela com os resultados de uma revisão da literatura abrangendo as frequências alélicas obtidas nos trabalhos em que foram utilizados os mesmos marcadores moleculares selecionados para nosso estudo.

Uma vez que as variantes moleculares do cromossomo Y permitem estudos sobre o número de homens fundadores de uma dada população,

taxas de migração dos indivíduos do sexo masculino e efeito dos padrões de casamento sobre a composição genética de uma população (Hammer e Zegura, 1996; Michell e Hammer, 1996), consideramos de importância o uso de marcadores do cromossomo Y no estudo da variabilidade molecular e mistura gênica em populações brasileiras, em especial os remanescentes de quilombos.

I.2. OS REMANESCENTES DE QUILOMBOS

I.2.1. A Ocupação humana do Brasil

Durante os seus primeiros cinquenta anos, a colonização do Brasil constituiu um problema de difícil solução para Portugal; sua população, na época, pouco superior a um milhão de habitantes, não tinha condições de atender as demandas das colônias portuguesas na África, Ásia e América. Além disso, as notícias que chegavam daqui eram desanimadoras: “Pode-se dizer que nela não encontramos nada de proveito” (Holanda, 1981). Portugal tinha, porém, a preocupação da posse da terra, visto que contrabandistas de madeira e outros produtos passaram a visitar constantemente nosso litoral.

Estima-se que em 1500 existiam no Brasil cerca de 2,4 milhões de índios, cujo número hoje não ultrapassa 400 mil (IBGE, 2000). A chegada dos portugueses não perturbou o equilíbrio da vida tribal nos primeiros anos. Antes do açúcar se constituir fonte de riqueza, seguida mais tarde pela mineração, era difícil atrair uma imigração espontânea volumosa. Em 1534 chegaram ao Brasil muitos portugueses, espanhóis, franceses, entre outros degredados e aventureiros em busca de enriquecimento fácil, deixando para trás mulheres e filhos. Alguns desses foram aceitos e se acomodaram às tradições tribais, particularmente através do matrimônio que dava a oportunidade do homem branco ter um lugar na sociedade indígena. O índio era fonte de obtenção de alimentos, de bens e segurança diante das tribos hostis (Holanda, 1981).

O Padre Manoel da Nóbrega escreveu ao rei dizendo que para colonizar a terra seria necessário a vinda de muitas mulheres órfãs, que aqui se casariam e elevariam a moral cristã e os bons costumes. Para se ter uma

idéia de como esse pedido foi satisfeito, em 1551, vieram três irmãs, em 1553 vieram nove mulheres e em 1557, sete (Holanda, 1972). Como se pode deduzir, não era um número que resolvesse o problema.

Mais tarde, o índio passou a ser considerado pelos portugueses como impedimento à posse da terra e uma ameaça à segurança da colonização, o que desencadeou diversos conflitos que explicam em parte a redução da população indígena.

Os negros, terceiro grupo étnico a fazer parte da nossa colonização, vieram desde o princípio em grande número e não se tem a data exata da chegada do primeiro navio. O mais antigo registro que se tem notícia é a data de 1532, com a chegada do navio trazendo Tomé de Souza. Mas, de fato, a miscigenação com os brancos havia começado na metrópole muito antes de 1500 com negros escravos levados à Europa para fazer todo tipo de trabalho braçal (Prado Jr, 1980). A partir de 1550, se intensificou a vinda de africanos das colônias portuguesas no Congo e Angola, quase todos homens, para trabalhar como escravos nas lavouras de cana-de-açúcar. Com a ocupação holandesa (1625 -1650), o tráfico de escravos foi parcialmente interrompido. Em 1700, o ciclo do açúcar entrou em declínio, devido à concorrência entre colônias, e começou o ciclo do ouro. Também foram trazidos africanos de Benin e Nigéria até o século XVIII e de Senegal e Gâmbia a partir deste século. Com o bloqueio naval inglês em 1845, deixam de vir escravos dessas regiões, passando a vir principalmente de Moçambique. Em resumo, em 1855, já havia cerca de 4 milhões de negros no Brasil, constituindo mais de 50% da população.

Fugindo de Napoleão, chegou a família Real ao Brasil em 1808, iniciando o fluxo migratório de famílias européias. Nesse século a Europa passa por mudanças econômicas, políticas e sociais, em decorrência dos processos de unificação dos reinos (Itália e Alemanha), iniciado na Revolução Francesa em 1789 e que “contaminou” toda Europa. A partir de 1830, as elites dirigentes de alguns Estados da península Itálica e da Confederação Germânica passaram a empenhar-se na luta pela unificação de suas respectivas regiões (passo decisivo no esforço desses Estados para equiparar-se à França e à Inglaterra). Em decorrência desse processo, as consequentes obrigações fiscais levaram a massa camponesa à ruína. Diante

da pobreza e da exclusão social, o proletariado emergente e o camponês, alimentados pelo “sonho da América”, desencadearam grandes ondas migratórias para as Américas. Sendo assim, a partir de 1850, o Brasil recebeu grandes contingentes de famílias de portugueses, italianos, espanhóis, alemães, japoneses, sírios e libaneses provocando um “branqueamento da população brasileira”. São esses os principais fatos históricos que culminaram com a formação atual do povo brasileiro, que resulta da miscigenação entre índios, europeus e africanos (Holanda, 1972; Prado Jr, 1980).

I.2.2. Os quilombos

A história dos africanos no Brasil nos primeiros 300 anos foi extremamente conturbada em virtude dos maus tratos que sofreram e, apesar das estratégias empregadas pelos portugueses para evitar revoltas, muitos escravos conseguiam se organizar e formar comunidades negras de resistência à escravidão. Essas comunidades eram chamadas de Quilombos. Entre eles, o mais famoso foi o quilombo dos Palmares, onde chegaram a viver 25 mil pessoas (Holanda, 1981).

Por esse motivo, por muito tempo conceituaram-se quilombos como “Comunidades formadas pelos negros escravos, que fugiram do trabalho forçado e resistiram à recaptura por parte das forças escravocratas” (Carvalho e col., 1995). Hoje, no entanto, considera-se quilombo “Toda comunidade negra rural que agrupe descendentes de escravos vivendo da cultura de subsistência e onde as manifestações culturais têm forte vínculo com o passado” (Andrade e col., 2000). A definição mais atual permite incluir no conceito mesmo as comunidades que resultaram do agrupamento de escravos abandonados ou alforriados, situação freqüentemente observada na origem de muitos dos nossos quilombos.

I.2.3. Os remanescentes de quilombos do Vale do Ribeira

A região do Vale do Ribeira ocupa 10% do território paulista, sendo que 20% do território do Vale é constituído por parques, estações ecológicas e áreas de proteção ambiental e 60% de restrição ao uso. Estão nessa região

os municípios de Eldorado, Jacupiranga, Pariquera-Açu, Registro, Sete Barras, Iporanga, Apiaí, Ribeira, Iguape e Cananéia (Figura 3). O relevo predominante é montanhoso, o clima é quente e úmido e há grandes extensões de Mata Atlântica. De fato, é o último remanescente desse tipo de mata no estado de São Paulo.

A ocupação humana da região do Vale do Ribeira é pré-colombiana. A região foi uma área de passagem para os ameríndios que desciam, no inverno, do planalto para o litoral em busca de pesca (Petrone, 1961). No entanto, com a colonização, o local passou a servir de refúgio para os perseguidos pelo bandeirantismo escravagista.

Os primeiros povoados, constituídos principalmente por portugueses, datam do fim do séc XVI, quando a descoberta de ouro além de Iguape serve de incentivo para incursões rumo ao interior.

Segundo Carril (1995), a chegada de escravos negros na região, vindos de Guiné, Angola e Moçambique, ocorreu em meados do século XVII e esteve ligada à mineração. Outros autores apontam a chegada dos negros apenas no século XVIII, vindos do Nordeste com o fim do ciclo do açúcar. Somente após 1763, com o esgotamento do ouro e fechamento da Casa de Fundição Iguape, a mão-de-obra escrava passou para a produção de alimentos. Neste contexto, mesmo nas fazendas maiores, cresceram as dificuldades para a manutenção dos plantéis de escravos, sendo muitos, abandonados, alforriados e entregues à própria sorte (Andrade, 2000).

Ivaporunduva é a comunidade de quilombo mais antiga do Ribeira (1655) e, neste período de mudança de economia, sofreu uma gradativa saída da população branca. Com o tempo, o bairro foi se transformando numa área para onde era atraído grande contingente de negros livres, libertos, fugidos ou não. O isolamento da comunidade contribuía para que eles próprios realizassem suas celebrações, enterrassem seus mortos e praticassem uma agricultura de subsistência. Ivaporunduva representa um núcleo de referência à formação de outros bairros negros localizados às margens do rio Ribeira (Andrade, 2000)

Do mesmo modo que surgiu Ivaporunduva, surgiram outras comunidades de quilombos na região, que vivem do extrativismo florestal e

da agricultura de subsistência. Hoje, muitas são ameaçadas por políticas ambientais e pela provável construção de barragens no rio Ribeira de Iguape.

A constituição Federal de 1988, no artigo 68, reconheceu a propriedade definitiva das terras ocupadas por comunidades quilombolas, impondo ao Estado o dever de emitir-lhes os títulos respectivos. O Governo do Estado de São Paulo, em 1995, iniciou no âmbito da Secretaria da Justiça e da Defesa da Cidadania e no Instituto de Terras do Estado de São Paulo (ITESP), um programa de equacionamento dessas questões, relativas às áreas de quilombos do Estado. Com a assinatura do Decreto n.40.723/96, pelo Governador Mário Covas, criou-se então um Grupo de Trabalho para estudar o direito de propriedade aos remanescentes das comunidades quilombolas em território paulista (Andrade, 1997). Hoje, estão formalmente reconhecidas pelo ITESP como remanescentes de quilombos as seguintes comunidades no Vale do Ribeira: Ivaporunduva, Pedro Cubas, Pilões, Maria Rosa, São Pedro, Galvão, André Lopes, Nhunguara, Sapatu, Cafundó, Caçandoca e Jaó. Outras treze estão em processo de análise: Abobral, Biguazinho, Bombas, Cangume, Castelhanos, Mandira, Morro Seco, Poça, João Surra, Rio da Cláudia, Carmo, Praia Grande, Camburi.

De acordo com entrevistas realizadas com indivíduos das comunidades e das pesquisas do Instituto Sócio-Ambiental em parceria com o Instituto de Terras de São Paulo (Andrade, 1997; Andrade, 2000) o principal fundador dos quilombos de São Pedro e Galvão foi um escravo fugido proveniente da região de Campinas chamado Bernardo Furquim que, por volta de 1840, casou-se com 2 mulheres e teve 24 filhos que se estabeleceram na região.

A comunidade de Pedro Cubas deve ter sido povoada a partir dos descendentes de um negro chamado Gregório Marinho, escravo da fazenda Caiacanga. A origem dessa comunidade, segundo Andrade (2000), está ligada também à comunidade de Ivaporunduva, já que muitos dos troncos familiares presentes nessa localidade por volta de 1840 reaparecem em Pedro Cubas.

Em relação a origem de Pilões, segundo relatos de Pedro Rodrigues, uma das lideranças comunitárias, um casal, Lino e D. Quentim, já morava na região por volta de 1678. Ela foi a primeira parteira do local e mais tarde ficou

conhecida como Mãe Quentim. A ocupação de Pilões passou por dois ciclos econômicos: o do ouro e o da cultura de arroz e cana de açúcar. O primeiro foi marcado pela violência nos garimpos e a resistência negra à situação escravista, o segundo pela vinda de escravos da Fazenda Santana.

De acordo com relatos de Benedita Dias da Costa, sua bisavó, escrava fugida, casou-se com Lutério, que já habitava a região que hoje é Maria Rosa. Outro morador, Renato Gomes do Nascimento, conta que após o fim da escravidão um senhor chamado Diogo de Moura, que morava em Pilões, abriu a região para que negros ali trabalhassem, e um ex-escravo chamado João Negrão se mudou para lá com “um monte de filhos”. Estes devem ter sido os principais elementos fundadores de Maria Rosa.

Até o momento, não encontramos registros escritos detalhados sobre as origens da comunidade de Abobral. Segundo uma ficha de caracterização da comunidade feita pelo ITESP, a família de Frutuoso Honorato Costa (76 anos) e Pedro Alexandre Castelo (já falecido), já está estabelecida na região há pelo menos três gerações.

A localização geográfica do Vale do Ribeira e das comunidades por nós estudadas podem ser observadas nas Figuras 3 e 4, respectivamente.

As Figuras 5(a) e 5(b) apresentam imagens coletadas em algumas dessas comunidades.

Figura 3 - Mapa dos estados de São Paulo e Paraná. Em verde, a área do Vale do Ribeira. No quadrado azul, a área correspondente à Figura 4, onde se encontram as comunidades remanescentes de quilombos.. Fonte: ISA – Instituto Socioambiental.

Figura 4 - Área correspondente ao retângulo azul da Figura 3, indicando a localização dos remanescentes de quilombo nos municípios de Eldorado e Iporanga. Em verde está representada a área dos parques. Em laranja claro estão apresentadas as comunidades já reconhecidas. Em laranja escuro, as comunidades que já receberam títulos de

Figura 5 (a): Casas características das comunidades de quilombos.

Figura 5 (b): Igreja da comunidade de Galvão.

II - OBJETIVOS

O objetivo deste projeto foi contribuir para o conhecimento da estrutura populacional e filogeográfica de seis comunidades remanescentes de quilombos do Vale do Ribeira.

Para isso, estudamos a frequência dos alelos de 5 marcadores polimórficos do cromossomo Y com o objetivo de:

- a) estimar taxas de diversidade genética;
- b) identificar os possíveis tipos de cromossomo Y fundadores de cada uma das comunidades;
- c) comparar as frequências alélicas com as de populações descritas na literatura;
- d) fazer estimativas da contribuição genética masculina européia, africana e ameríndia;
- e) construir hipóteses de afinidades genéticas entre as comunidades;

Utilizamos também, para efeito de comparação, uma amostra de cromossomos Y de indivíduos da cidade de São Paulo, colhida no âmbito de nosso serviço de Aconselhamento Genético, estudada em relação aos mesmos marcadores moleculares.

III - MATERIAL E MÉTODOS

III.1. AMOSTRAS

III.1.1. Remanescentes de quilombos

Entre 14/07/00 e 15/02/02 foram realizadas dezessete viagens a seis populações de quilombo do Vale do Ribeira, com duração de quatro a cinco dias cada uma. Durante as viagens foram coletadas amostras de DNA obtidas de sangue periférico de todos os indivíduos adultos que consentiram em participar do estudo. Os mesmos indivíduos também foram entrevistados e examinados clinicamente. Para cada indivíduo foi preenchida uma ficha que incluía dados genealógicos e com base nessas informações construímos as árvores genealógicas de todas as comunidades estudadas. Todas as amostras foram testadas para os quatro marcadores escolhidos (DYS19, DYS390, DYS199 e YAP). No entanto, algumas apresentaram problemas de amplificação em pelo menos um dos quatro locos e foram eliminadas das análises. O total de indivíduos de cada comunidade e o total de indivíduos adultos e do sexo masculino estudados estão representados na Tabela I.

Tabela I – Localização das populações, total de habitantes e número de homens estudados.

Município	Eldorado				Iporanga	
População	Abobral ME	Galvão	São Pedro	Pedro Cubas	Pilões	Maria Rosa
Localização	24°28'S	24°32'S	24°31'S	24°34'S	24°29'S	24°28'S
	48°04'O	48°26'O	48°24'O	48°16'O	48°29'O	48°30'O
Total de habitantes	397	134	132	~300	128	56
Nº de homens	48	22	22	60	15	9
estudados	(13%)	(16%)	(17%)	(20%)	(12%)	(16%)

Abobral ME: Abobral Margem Esquerda

III.1.2. São Paulo

Constituímos uma amostra de 81 indivíduos do sexo masculino, não aparentados, dos quais 64 eram portadores da mutação completa da síndrome do cromossomo X frágil atendidos no Laboratório de Genética Humana do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (IB-USP). Como a síndrome tem herança ligada ao cromossomo X, o cromossomo Y

desses indivíduos foi herdado de seus pais, intelectualmente normais. Os 17 cromossomos Y restantes são de indivíduos normais, que trabalham ou estudam na USP.

III.2. MÉTODOS

III.2.1. Extração de DNA a partir de sangue periférico

Foram coletadas duas amostras de cerca de 4 ml de sangue em *vacutainers* contendo EDTA. Ao conteúdo de cada *vacutainer* foram misturados 45 ml de uma solução de lise (sacarose 0,32 M; Tris-HCl 10 mM pH 7,4; MgCl₂ 5 mM; tritonX100 a 1%). A mistura era em seguida centrifugada a 4°C durante 30 minutos a 3.000rpm. O sobrenadante era desprezado e o precipitado era gentilmente ressuspensionado em 4,5 ml de tampão para digestão com proteinase K (NaCl 0,075 M; EDTA 0,02 M, pH 8,0). Foram acrescentados 250 µl de uma solução de proteinase K (10 mg/ml, dissolvida em água estéril e mantida em congelador). As amostras foram então incubadas em estufa a 37 °C por uma noite. No dia seguinte, foram acrescentados 5 ml de fenol destilado e saturado em tampão (Tris-HCl 10 mM; EDTA 10 mM; NaOH 100mM; pH 7,4). As amostras foram homogeneizadas gentilmente na presença de fenol por inversão do tubo e foram em seguida centrifugadas a 4 °C durante 20 minutos a 3.000 rpm. A fase superior era cuidadosamente transferida para tubo limpo e a ela foram acrescentados 5 ml de uma mistura clorofórmio:álcool isoamílico na proporção de 24:1. Após inversão delicada, as amostras foram centrifugadas novamente durante 20 minutos a 3.000 rpm. A fase superior era removida para tubo limpo e a operação, repetida. Após a nova centrifugação com clorofórmio, o sobrenadante era transferido para outro onde era acrescentado 0,5 ml de uma solução de KCl 2 M e 12 ml de etanol gelado. A mistura era invertida e o DNA assim precipitado era removido como auxílio de um bastão de vidro. Após lavar o DNA enrolado no bastão com etanol 70%, a amostra secava ao ar por alguns minutos e o DNA era então dissolvido em cerca de 0,5 ml de TE (Tris-HCl 10 mM; EDTA 1 mM; pH 7,4) e mantido em geladeira.

Após a quantificação do DNA, feita em espectrofotômetro, foi colhida uma alíquota para diluição em TE, com o objetivo de se obter uma amostra com concentração de cerca de 100 a 200 ng/μl de DNA. A concentração após a diluição foi verificada por meio de eletroforese em gel de agarose a 0,8%, comparando a intensidade da banda com a das bandas do marcador de peso molecular λ DNA/*Hind* III *Fragments*.

III.2.2 – Estudos de polimorfismos do cromossomo Y

Foram estudados em todos os indivíduos quatro locos polimórficos. Dentre esses, dois são microssatélites (DYS19, DYS390), um é um SNP (DYS199) e um corresponde a uma inserção de Alu (DYS287 ou YAP). Um quinto marcador do tipo SNP, M168, não foi estudado em todos os indivíduos averiguados, mas somente em uma amostra selecionada de indivíduos com cromossomos Y desprovidos da inserção de Alu (YAP -). As seqüências dos *primers* utilizados na amplificação estão apresentadas na Tabela II.

Tabela II – Seqüências dos *primers* dos locos selecionados para este estudo.

Loco	Referência	Seqüências	
		<i>Primer 1</i>	<i>Primer 2</i>
DYS19	Roewer e col., 1992	5'-CTACTGAGTTTCTGTTATAGT -3'	5'- ATGGCATGTAGTGAGGACA-3'
DYS390	Kayser e col., 1997	5'-TATATTTTACACATTTTGGGCC -3'	5'-TGACAGTAAAATGAACACATTGC -3'
DYS199	Santos e col., 1999	5'-TAATCAGTCTCCTCCCAGCA -3'	5'-AGGTACCAGCTCTCCCAATT -3'
YAP	Hammer e Horai, 1995	5'- CAGGGGAAGATAAAGAAATA -3'	5'- ACTGCAAAAGGGGATGGAT -3'
M168	Underhill e col., 2001	5'- AGTTTGAGGTAGAATACTGTTTGCT-3'	5'-AATCTCATAGGTCTCTGACTGTTC -3'

As reações da PCR dos locos DYS19, DYS390 e YAP foram realizadas em volumes de 25 μl, contendo 100-200 ng de DNA. Usamos 25 pmol de cada *primer* e 0,75 mM MgCl₂ para o loco DYS19. Para os locos DYS390 e YAP 15 pmol de cada *primer* e 1,0 mM MgCl₂. Em cada reação utilizamos 250 μM de dNTPs, 1,5 mM MgCl₂, 20 mM TRIS-HCl pH = 8,4, 50 mM KCl e 1 U de Taq polimerase para os locos DYS19 e DYS390, e 0,5 U para o loco YAP. As reações da PCR do loco DYS199 foram realizadas em volumes de 20 μl, contendo 100-200 ng de DNA, 15 pmol de cada *primer*, 200 μM de dNTPs, 0,6 mM MgCl₂, 20 mM TRIS-HCl pH = 8,4, 50 mM KCl e 1 U de Taq

polimerase. As reações da PCR do loco M168 foram realizadas em volumes de 25 µl, contendo 100-200 ng de DNA, 5 pmol de cada *primer*, 250 µM de dNTPs, 1,25 mM MgCl₂, 20 mM TRIS-HCl pH = 8,4, 50 mM KCl e 1,0 U de Taq polimerase.

Para a amplificação do loco polimórfico DYS19 foi realizada uma desnaturação inicial de 94° C por 10 minutos, hibridação a 53 °C por 30 segundos e extensão a 72 °C por 90 segundos. Em seguida foram realizados 29 ciclos de desnaturação a 94° C por 30 segundos, hibridação a 53 °C por 30 segundos e extensão a 72 °C por 2 minutos. A extensão final foi de 72 °C por 10 minutos. Para a amplificação do loco polimórfico DYS390 foi realizada uma desnaturação inicial de 94° C por 10 minutos, hibridação a 56 °C por 2 minutos e extensão a 72 °C por 2 minutos. Em seguida foram realizados 29 ciclos de desnaturação a 94° C por 1 minuto, hibridação a 56 °C por 2 minutos e extensão a 72 °C por 2 minutos. A extensão final foi de 72 °C por 10 minutos. Para a amplificação do loco polimórfico DYS199 foi realizada uma desnaturação inicial de 94° C por 5 minutos, hibridação a 61 °C por 20 segundos e extensão a 72 °C por 30 segundos. Em seguida foram realizados 29 ciclos de desnaturação a 94° C por 20 segundos, hibridação a 61 °C por 20 segundos e extensão a 72 °C por 30 segundos. A extensão final foi de 72 °C por 10 minutos. Para a amplificação do loco polimórfico YAP foi realizada uma desnaturação inicial de 94° C por 10 minutos, hibridação a 59 °C por 1 minuto e extensão a 72 °C por 1 minuto. Em seguida foram realizados 39 ciclos de desnaturação a 94° C por 1 minuto, hibridação a 59 °C por 1 minutos e extensão a 72 °C por 1 minutos. A extensão final foi de 72 °C por 10 minutos. Para a amplificação do loco M168 a desnaturação inicial foi de 95°C por 10 minutos, hibridação a 62°C por 20 segundos e extensão a 72°C por 1 minuto. Durante 14 ciclos a desnaturação foi de 94°C por 20 segundos e a temperatura de hibridação de 62°C foi reduzida em 0,5°C a cada ciclo. A partir do 16° ciclo, a desnaturação foi de 94°C por 20 segundos, a hibridação a 56°C por 45 segundos e a extensão foi de 72°C por 1 minuto, por mais 20 ciclos. A extensão final foi realizada a 72°C por 6 minutos.

Após a amplificação pela PCR, os fragmentos polimórficos dos dois primeiros marcadores (DYS19 e DYS390) foram submetidos à eletroforese em gel desnaturante de poliacrilamida a 5% (uréia a 42%), cuja dimensão foi

de 30cm x 30 x cm x 0.8mm . As condições da eletroforese foram de aproximadamente 800V (40W) por cinco horas. A visualização das bandas foi feita após coloração por impregnação por nitrato de prata, que consiste de uma fixação do gel em solução de 10% de etanol e 0,5% de ácido acético por cerca de 10 minutos, exposição a uma solução de 0,17% de AgNO₃ por 10 minutos sob agitação, retirada do excesso de nitrato de prata por lavagem com água mili-Q, revelação com solução de NaOH a 3% e formaldeído a 0,1% e, por fim, nova fixação na primeira solução (Santos e col., 1993). O gel corado e fixado foi transferido para papéis celofane molhados e esticados sobre vidro. Este último procedimento serviu para secagem e posterior armazenamento do gel por longos períodos (Figuras 6 e 7). Os tamanhos dos alelos dos microssatélites DYS19 e DYS390 foram determinados por meio da PCR com isótopo radioativo em alguns indivíduos. A migração dos fragmentos foi comparada com o produto de seqüenciamento isotópico do DNA do fago M13mp 18, o que permitiu a determinação exata do comprimento. Os tamanhos desses alelos foram confirmados no laboratório do Dr Dário Gratapaglia, Universidade Católica de Brasília, por meio do seqüenciamento direto das repetições (ABI – Perkin-Elmer 377 com *primers* marcados com fluorescência), e os indivíduos assim analisados foram utilizados como padrão para determinação do genótipo dos demais.

O SNP DYS199 foi transformado em um RFLP por meio de um sítio de restrição artificial incluído no *primer* (Santos e col., 1999). A digestão enzimática com MfeI foi realizada com 20 µl do produto de amplificação, 8 unidades da enzima em um volume final de 25 µl, durante 14 horas. O produto da digestão foi submetido à eletroforese em gel de poliacrilamida 6%, de dimensões de 15cm x 20cm x 1.5cm, a 150V por duas horas e meia. A visualização dos fragmentos foi feita após coloração por nitrato de prata, conforme descrito anteriormente. A digestão com essa enzima origina dois fragmentos de restrição (181pb e 21pb) nos indivíduos com o alelo **C**. Já naqueles onde ocorreu a substituição C→T não há corte, ocorrendo apenas um fragmento de 202pb (Figura 8).

No caso da inserção de *Alu* (DYS 287 ou YAP), o produto da PCR também foi identificado por eletroforese nas mesmas condições descritas para o DYS199 (Figura 9).

O último marcador, o M168, analisado apenas numa amostra selecionada de indivíduos desprovidos da inserção de *Alu* (YAP-), foi estudado por meio de seqüenciamento automático. A purificação do produto da PCR foi feita através do Kit IN CONCERT™ Rapid PCR Purification System (BRL), segundo instruções do fabricante. A concentração do produto de PCR obtido após purificação foi estimada em minigel de agarose a 2%, por comparação a uma amostra do Low DNA mass ladder (BRL). Para hibridação dos *primers* e reação de polimerização foram utilizados 60 ng de DNA, 1µl de cada *primer* (5pmol/µl) e 8µl do DYEnamic ET *terminator reagent premix*. Essa reação consiste em 30 ciclos de 95°C por 20 seg, 56°C por 15 seg e 1 min a 60°C. Todos os indivíduos da amostra selecionada foram seqüenciados com os *primers* 1 e 2 (*Forward* e *Reverse*). O seqüenciamento automático foi realizado no aparelho MegaBACE™ 1000 da Amersham Biosciences (Figura 10).

III.2.3 – Análise estatística

As freqüências alélicas foram calculadas por contagem direta. Com base nas genealogias das populações, a amostra foi analisada de três diferentes formas: (A) amostra total; (B) amostra após a exclusão dos indivíduos nascidos fora dos quilombos e que até o momento da coleta não haviam deixado descendentes (exclusão feita somente em Abobral e Pedro Cubas); e (C) amostra após a exclusão dos indivíduos aparentados até o grau de tio-sobrinho pelo lado paterno e dos nascidos fora dos quilombos (Abobral e Pedro Cubas).

Para verificar a existência de diferenças significativas entre esses três tipos de amostras em cada população, elas foram comparadas por meio de testes de qui-quadrado e testes exatos de Fisher.

Os índices de diversidade em cada loco e os índices de diversidade haplotípica foram calculados através de programas desenvolvidos pelo Prof. Dr. Paulo Alberto Otto (Departamento de Biologia do IBUSP), os quais usam fórmulas descritas na literatura (Nei e Chesser, 1983; Nei, 1987; Weir e Cockerham, 1989).

O índice F_{st} utilizado na construção dos dendrogramas indica a probabilidade de que dois alelos tomados ao acaso de duas subpopulações

Figura 6: Alelos do microsatélite DYS19, com tamanhos variando entre 186 e 210 pb, correspondendo aos alelos de 13 a 19. ϕ X: padrão de peso molecular ϕ X174 RF DNA/Hae III.

Figura 7: Alelos do microsatélite DYS390, com tamanhos variando entre 211 e 219 pb, correspondendo aos alelos de 23 a 25. ϕ X: padrão de peso molecular ϕ X174 RF DNA/Hae III.

Figura 8: Alelos do SNP DYS199: a seta indica um indivíduo com o alelo T, cujo fragmento não foi cortado pela enzima de restrição *Mfe* I. ϕ X: padrão de peso molecular ϕ X174 RF DNA/Hae III.

Figura 9: Alelos do polimorfismo de inserção de *Alu* (DYS287). (+): indivíduos com inserção YAP; (-): indivíduos desprovidos da inserção YAP. ϕ X: padrão de peso molecular. ϕ X174 RF DNA/Hae III.

Figura 10: Resultado do seqüenciamento do marcador M168 com o *primer* 1. A seta indica a posição do SNP, C→T, na base 371 em um fragmento de 473 pb. No exemplo acima o indivíduo apresentou a base T na referida posição.

sejam também idênticos por origem comum. Por constituírem uma medida de parentesco, esse índice é freqüentemente utilizado como medida de diferenciação genética entre dois grupos populacionais.

As matrizes de distancias genéticas (F_{st}) foram calculadas utilizando-se o programa Arlequin versão 2000 (Schneider e col., 2000). No modo STANDARD o programa Arlequin permite a construção de matrizes de distância genética (F_{st}) a partir do haplótipo de cada um dos indivíduos, informação disponível na nossa amostra, mas não nos trabalhos da literatura. Essa análise foi empregada nas amostras dos quilombos e na de São Paulo. Os dendrogramas foram então construídos por método *neighbour-joining* (Saitou e Nei, 1987) utilizando-se o programa MEGA versão 2.1 (Kumar e col., 2001) a partir das matrizes de distância genética. O programa MEGA não reconhece valores negativos de F_{st} na construção de dendrogramas, portanto todos os valores negativos das matrizes calculadas pelo programa Arlequin foram igualados a zero. Essa análise permitiu a construção de um dendrograma reunindo os quatro locos estudados nas populações dos quilombos e de São Paulo.

Já o programa Arlequin no modo FREQUENCY permite a construção das matrizes também a partir das freqüências alélicas da nossa amostra e da literatura (loco a loco), mas não permite reunir as freqüências obtidas em diferentes locos se não houver informação sobre os haplótipos. Nesse caso, foram construídos quatro dendrogramas, um para cada loco, incluindo as amostras já descritas na literatura. Foram escolhidas como populações de referência da literatura somente aquelas analisadas em relação aos mesmos locos utilizados em nosso estudo. Como representantes dos africanos selecionamos populações de origem Bantu (Hammer e col., 1997; Rodriguez-Delfin e col., 1997; Thomas e col., 2000; Forster e col., 2000), uma vez que dados históricos e genéticos indicam que essas são as populações parentais mais prováveis de nossos escravos. Como representantes de europeus escolhemos populações portuguesas (González-Neira e col., 2000; Carvalho-Silva e col., 2001; Flores e col., 2001). Já como representantes de ameríndios foram selecionados os Guarani, grande grupo que habitava o sudeste do Brasil, e outras tribos Sul americanas (Bianchi e col., 1998; Vallinto e col., 1999; Kayser e col., 2001; Bortolini e col., 2002). Algumas populações de

brasileiros brancos urbanos já estudadas (Rodriguez-Delfin e col., 1997; Carvalho-Silva e col., 2001;) e uma população de remanescentes de quilombos (Ribeiro-dos-Santos e col., 2002) também foram incluídas nos dendrogramas.

Por causa das limitações do programa Arlequin em reunir informações dos diferentes locos, também foram construídos dendrogramas a partir das frequências alélicas utilizando-se o programa DISPAN (Ota, 1993), igualmente baseado no método *neighbour-joining* e valores de F_{st} . Nesse caso, foi possível tomar em conta as frequências alélicas dos quatro locos simultaneamente e também incluir as populações da literatura.

IV - RESULTADOS

Os resultados das determinações dos alelos dos cinco marcadores em todos os indivíduos estudados estão apresentados no Anexo II.

As frequências alélicas obtidas no estudo dos quatro locos polimórficos (DYS19, DYS390, DYS199 e YAP) em todas as populações estudadas encontram-se na Tabela III. As frequências alélicas foram calculadas de três modos: (A) com base na amostra total, (B) com base na amostra após exclusão dos indivíduos nascidos fora dos quilombos (somente nas comunidades de Abobral ME e de Pedro Cubas) e (C) após a exclusão dos indivíduos aparentados até o grau tio-sobrinho do lado paterno. Nas comunidades de Abobral ME e Pedro Cubas, a amostra obtida após exclusão dos indivíduos aparentados também não inclui os indivíduos nascidos fora da comunidade.

Foram realizados testes de qui-quadrado e de Fisher para comparar as frequências alélicas na amostra dos indivíduos excluídos por parentesco com as obtidas nas amostras remanescentes após a exclusão por parentesco, em cada quilombo. No caso das comunidades de Abobral ME e Pedro Cubas, comparamos também a amostra de indivíduos excluídos por nascer fora da comunidade com a amostra restante dos indivíduos nascidos na comunidade. Nos tamanhos amostrais maiores foi empregado o teste do qui-quadrado e nas amostras menores, o teste exato de Fisher. As probabilidades obtidas estão apresentadas na Tabela IV. Foram considerados significativos os valores de $p < 0,05$.

Em nenhuma das populações houve diferença significativa entre as frequências alélicas dos indivíduos excluídos por parentesco e dos indivíduos restantes após a exclusão (exceção feita a Pedro Cubas no loco YAP). Isto nos fez concluir que seria adequado prosseguir com as análises estatísticas e com a construção dos dendrogramas considerando a amostra total, reunindo as duas frações da população, para aumentar o tamanho amostral.

Por outro lado, em Abobral ME e em Pedro Cubas, ficou claro que há diferença significativa entre os indivíduos nascidos e os não nascidos nas localidades. Desse modo, a fração dos indivíduos nascidos fora dessas duas populações foi excluída de todas as análises subseqüentes.

Na Tabela V apresentamos os resultados das freqüências haplotípicas obtidas de todos os indivíduos da amostra, excluindo os nascidos fora dos quilombos, nos casos de Abobral e Pedro Cubas.

Os índices de diversidade encontram-se na Tabela VI.

Foram construídos dendrogramas a partir dos valores de F_{st} calculados com base nas freqüências alélicas obtidas para cada um dos quatro locos (Figuras 11, 12, 13 e 14) e para o conjunto dos quatro locos (Figura 15).

Tabela IV – Comparações das frequências alélicas das amostras dos indivíduos excluídos por parentesco ou localidade com as das amostras dos indivíduos restantes, mediante o uso de tabelas de contingência analisadas através de testes de qui-quadrado (QQ) ou de testes exatos de Fisher (TF). São mostradas sempre as probabilidades obtidas com os testes.

Comparações entre os grupos	Locos			
	DYS19	DYS390	DYS199	YAP
Abobral ME após exclusão por localidade	QQ	QQ		TF
X	0,037	<0,001	-	0,098
Indivíduos excluídos por localidade				
Abobral ME após exclusão por parentesco	QQ	QQ		TF
X	0,187	0,243	-	0,147
Indivíduos excluídos por parentesco				
Pedro Cubas após exclusão por localidade	QQ	TF	TF	TF
X	0,001	1,0	0,5471	0,009
Indivíduos excluídos por localidade				
Pedro Cubas após exclusão por parentesco	QQ	TF	TF	TF
X	0,05	0,084	0,545	0,005
Indivíduos excluídos por parentesco				
Galvão após exclusão por parentesco	TF	TF		TF
X	0,616	1,0	-	1,0
Indivíduos excluídos por parentesco				
São Pedro após exclusão por parentesco	TF	TF		TF
X	1,0	0,659	-	1,0
Indivíduos excluídos por parentesco				
Pilões após exclusão por parentesco	TF	TF		TF
X	0,608	1,0	-	1,0
Indivíduos excluídos por parentesco				
Maria Rosa após exclusão por parentesco				
X	-	-	-	-
Indivíduos excluídos por parentesco				

Em negrito, valores considerados significativos ($p < 0,05$).

(-) Testes não realizados em virtude do pequeno tamanho da amostra ou porque a % do alelo T (DYS199) foi zero.

Tabela V – Frequência dos haplótipos dos marcadores DYS19/DYS199/YAP/DYS390 nas populações de São Paulo e quilombos.

Tabela V: Frequência dos haplótipos dos marcadores DYS19/DYS199/YAP/DYS390 na população de São Paulo e nas comunidades de quilombos, após exclusão dos indivíduos nascidos fora das comunidades. Entre parênteses, os números absolutos.									
Haplótipo DYS19/DYS199/YAP/DYS390	São Paulo N=81	Abobral N=32	Galvão N=22	São Pedro N=22	Pedro Cubas N=42	Pilões N=15	Maria Rosa N=9	Total dos Quilombos N=142	Provável Origem
13/C/-/24	(1) 0.012			(2) 0.091	(2) 0.048		(2) 0.222	(6) 0.042	E
13/C/+24	(5) 0.062				(5) 0.119			(5) 0.035	Af/E
13/T/-/24					(3) 0.071			(3) 0.021	Am
14/C/-/23	(2) 0.025	(3) 0.094	(1) 0.045	(3) 0.136	(2) 0.048	(1) 0.067	(2) 0.222	(12) 0.085	E
14/C/-/24	(24) 0.296				(3) 0.071	(8) 0.533	(2) 0.222	(13) 0.092	E
14/C/-/25	(5) 0.062	(14) 0.438			(2) 0.048			(16) 0.113	E
14/C/+21					(1) 0.024			(1) 0.007	Af
14/C/+22	(1) 0.012			(1) 0.045				(1) 0.007	Af
15/C/-/23	(5) 0.062			(2) 0.091	(1) 0.024			(3) 0.021	E
15/C/-/24	(9) 0.111	(3) 0.094	(14) 0.636	(6) 0.273	(3) 0.071	(2) 0.133		(28) 0.200	E
15/C/-/25			(1) 0.045	(3) 0.136			(2) 0.222	(6) 0.042	E
15/C/+21	(1) 0.012	(1) 0.031		(1) 0.045	(4) 0.095	(2) 0.133		(8) 0.056	Af
15/C/+22			(2) 0.091	(1) 0.045				(3) 0.021	Af
16/C/-/23	(5) 0.065		(1) 0.045					(1) 0.007	E
16/C/-/24	(2) 0.025				(3) 0.071			(3) 0.021	E
16/C/+21	(1) 0.012	(4) 0.125	(3) 0.136	(3) 0.136	(13) 0.309			(23) 0.162	Af
17/C/+21		(7) 0.219				(2) 0.133	(1) 0.111	(10) 0.070	Af
outros (14 tipos)	(20) 0.247								
número de haplótipos diferentes	26	6	6	9	12	5	5	17	
E: Européia; Af: africana; Am: ameríndia									

Tabela VI – Análise estatística do estudo dos locos polimórficos DYS19, DYS390, DYS199 e YAP.

		Populações							Total dos quillombos
		São Paulo	Abobral ME	Pedro Cubas	Galvão	São Pedro	Pilões	Maria Rosa	
	N	81	32	42	22	22	15	9	142
DYS19	i.d.±se	0,684 ± 0,028	0,659 ± 0,048	0,743 ± 0,021	0,385 ± 0,080	0,619 ± 0,069	0,590 ± 0,075	0,778 ± 0,078	0,748 ± 0,011
DYS390	i.d.±se	0,660 ± 0,030	0,671 ± 0,035	0,619 ± 0,029	0,584 ± 0,079	0,792 ± 0,035	0,480 ± 0,082	0,778 ± 0,078	0,713 ± 0,014
DYS199	i.d.±se	0,025 ± 0,017	0,000 ± 0,000	0,136 ± 0,048	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,042 ± 0,016
YAP	i.d.±se	0,273 ± 0,039	0,484 ± 0,034	0,508 ± 0,016	0,368 ± 0,071	0,416 ± 0,064	0,419 ± 0,080	0,222 ± 0,118	0,464 ± 0,016
X	i.d.±se	0,410 ± 0,159	0,454 ± 0,157	0,501 ± 0,131	0,334 ± 0,122	0,457 ± 0,171	0,381 ± 0,132	0,444 ± 0,198	0,492 ± 0,163
H	i.d.±se	0,889 ± 0,019	0,750 ± 0,040	0,883 ± 0,022	0,589 ± 0,081	0,887 ± 0,029	0,705 ± 0,079	0,889 ± 0,050	0,900 ± 0,007

N= número total de indivíduos testados; i.d. = índice de diversidade; se = desvio padrão; X = média para os quatro locos; H = índice de diversidade haplotípica.

Figura 11(a): Dendrograma não enraizado obtido com o loco DYS19 utilizando-se os programas Arlequin e MEGA2, a partir do genótipo de cada indivíduo das populações por nós estudadas.

Figura 11(b): Dendrograma não enraizado obtido com o loco DYS19 utilizando-se os programas Arlequin e MEGA2, a partir das frequências alélicas (convertidas em valores absolutos) observadas nas populações por nós estudadas e em populações da literatura: Curiaú (Ribeiro-dos-Santos e col., 2002); ameríndios (Bianchi e col., 1998; Vallinoto e col., 1999); africanos de etnia Bantu (Hammer e col., 1997; Thomas e col., 2000; Forster e col., 2000); brasileiros brancos (Rodriguez-Delfin e col., 1997; Carvalho-Silva e col., 2001) e portugueses (Gonzalez-Neira e col., 2000; Carvalho-Silva e col., 2001; Flores e col., 2001).

Figura 12(a): Dendrograma não enraizado obtido com o loco DYS199 utilizando-se os programas Arlequin e MEGA2, a partir do genótipo de cada indivíduo das populações por nós estudadas.

Figura 12(b): Dendrograma não enraizado obtido com o loco DYS199 utilizando-se os programas Arlequin e MEGA2, a partir das frequências alélicas (convertidas em valores absolutos) observadas nas populações por nós estudadas e em populações da literatura: ameríndios (Vallinoto e col., 1999; Bortolini e col., 2002); brasileiros brancos (Rodriguez-Delfin e col., 1997; Carvalho-Silva e col., 2001); brasileiros negros (Rodriguez-Delfin e col., 1997) e portugueses (Carvalho-Silva e col., 2001).

Figura 13(a): Dendrograma não enraizado obtido com o loco YAP utilizando-se os programas Arlequin e MEGA2, a partir do genótipo de cada indivíduo das populações por nós estudadas.

Figura 13(b): Dendrograma não enraizado obtido com o loco YAP utilizando-se os programas Arlequin e MEGA2, a partir das freqüências alélicas (convertidas em valores absolutos) observadas nas populações por nós estudadas e em populações da literatura: Curiaú (Ribeiro-dos-Santos e col., 2002); ameríndios (Bortolini e col., 2002); africanos de etnia Bantu (Hammer e col., 1997; Thomas e col., 2000; Forster e col., 2000); brasileiros brancos (Rodriguez-Delfin e col., 1997; Carvalho-Silva e col., 2001) e portugueses (Carvalho-Silva e col., 2001; Flores e col., 2001).

Figura 15(a): Dendrograma não enraizado obtido utilizando-se os programas Arlequin e MEGA2, a partir do haplótipo de cada indivíduo por nós estudado para os quatro locos.

Figura 15(b): Dendrograma não enraizado obtido utilizando-se o programa DISPAN a partir das frequências alélicas observadas com os 4 locos nas populações por nós estudadas e nas populações da literatura: ameríndios (Bianchi e col., 1998; Vallinoto e col., 1999; Kayser e col., 2001; Bortolini e col., 2002); africanos de etnia Bantu (Hammer e col., 1997; Thomas e col., 2000; Forster e col., 2000); brasileiros brancos (Rodriguez-Delfin e col., 1997; Carvalho-Silva e col., 2001) e portugueses (Gonzalez-Neira e col., 2000; Carvalho-Silva e col., 2001; Flores e col., 2001). Baseado em 1000 replicações, os valores próximos aos nossos indicam a porcentagem das réplicas de *bootstrap* que dão suporte aos ramos.

V - DISCUSSÃO

V.1 – FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E HAPLOTÍPICAS

Na análise molecular do loco DYS19, observou-se que as frequências dos alelos 14 e 15 em São Paulo, Abobral, Pilões e Maria Rosa são muito semelhantes às observadas em outros estudos com brasileiros brancos de regiões urbanas (Rodriguez-Delfin e col., 1997; Carvalho-Silva e col., 2001) e às observadas entre portugueses (Gonzalez-Neira e col., 2000; Flores e col., 2001; Carvalho-Silva e col., 2001). O padrão observado é diferente do encontrado em amostras africanas de etnia Bantu, em que o alelo 15 é o mais freqüente (Hammer e col., 1997; Forster e col., 2000; Thomas e col., 2000). Isso sugere maior contribuição paterna européia que africana nessas populações. Por outro lado, Galvão e São Pedro apresentaram frequências alélicas semelhantes às observadas nas populações africanas, principalmente por causa da alta frequência do alelo 15.

A análise molecular do loco DYS199 revelou apenas um indivíduo com alelo T em São Paulo. É referido na literatura que este alelo é exclusivo de Ameríndios e ocorre em cerca de 80% deles (Underhill e col., 1996; Hammer e col., 1997; Rodriguez-Delfin e col., 1997; Lell e col., 1997; Bianchi e col., 1998; Santos e col., 1999; Vallinoto e col., 1999; Bortolini e col., 2002). Ele ocorreu em apenas uma das populações quilombolas estudadas, Pedro Cubas, em três indivíduos. Um deles referiu ser descendente de Altamiro “Índio” Galácio que viveu em Itapetininga. Os três indivíduos apresentaram o mesmo haplótipo, sugerindo talvez uma única introdução desse cromossomo na população. No entanto, na genealogia da comunidade, não se encontrou vínculo de parentesco entre esses três indivíduos. Esse resultado indica contribuição patrilinear indígena, embora pequena, na população de Pedro Cubas.

As frequências da inserção YAP nas seis comunidades quilombolas estudadas variaram de 11 a 55%. Essas frequências são inferiores às observadas entre os negros africanos descritos na literatura, que em média apresentaram frequência de 85% (Hammer e col., 1997; Quintana-Murci e col., 1999; Bosch e col., 1999; Thomas e col., 2000; Forster e col., 2000;

Flores e col., 2001). A presença da inserção é freqüente entre africanos, pois ela é muito antiga. Embora tenha se originado na África, também se encontra em freqüência relativamente alta entre japoneses, em média 40% (Hammer e col., 1997; Forster e col., 2000). Entre europeus se encontra em freqüências baixas, variando de 2 a 25% (Pereira e col., 2000; Flores e col., 2001; Carvalho-Silva e col., 2001; Pereira e col., 2002). Na Península Ibérica, uma linhagem YAP+ ocorreu em freqüência de até 24,5% (Pereira e col., 2000) e pode ser identificada pelo SNP 8299 no gene SRY, por nós não testado. Como a inserção YAP ocorreu nos quilombos associada a alelos freqüentes em africanos, assumimos que os cromossomos YAP+ têm com maior probabilidade origem africana. Logo, a freqüência do YAP nos quilombos é um bom indicativo da contribuição paterna africana. Em Galvão, São Pedro e Pilões sua freqüência variou de 23 a 27%, em Abobral foi de 38% e em Pedro Cubas 55%. Somente Maria Rosa (11%) apresentou freqüência inferior a de São Paulo, 16%. Esses achados podem indicar presença de significativa miscigenação com europeus nos quilombos ou efeito de fundador por um ou poucos cromossomos Y sem a inserção de YAP (possivelmente de origem européia), dado que todas essas populações provavelmente se originaram de poucos indivíduos.

Nos trabalhos em que o loco DYS390 foi estudado não se encontrou uma tendência de predomínio de alelos específicos em certos grupos étnicos, como observado nos locos anteriormente discutidos. Por serem alelos pouco étnico-específicos, a utilidade do loco nesse estudo se resumiu principalmente na melhor definição dos haplótipos. Mesmo assim, há tendências que podem ser evidenciadas dos trabalhos da literatura. O alelo 21 é o mais freqüente em africanos Bantu (Forster e col., 2000; Thomas e col., 2000); já o 24 é o mais freqüente em Portugueses (Gonzalez-Neira e col., 2000, Carvalho-Silva e col., 2001), em brasileiros brancos (Rodriguez-Delfin e col., 1997; Carvalho-Silva e col., 2001) e em ameríndios (Bianchi e col., 1998; Kayser e col., 2001). Podemos observar que o alelo 24 foi o mais freqüente em todas as populações quilombolas, exceto na população de Abobral. Situação semelhante foi observada na amostra de São Paulo, onde o 24 também foi o mais freqüente. Esses fatos reforçam a idéia de importante miscigenação com europeus nas populações quilombolas. Na população de Abobral, o alelo

mais freqüente foi o 21 (38%). Em Pedro Cubas, embora esse alelo não seja o mais freqüente, ele apareceu em 43% dos indivíduos. Esse resultado está de acordo com os achados no loco YAP, ou seja, uma contribuição patrilinear mais européia nas comunidades quilombolas de Galvão, São Pedro, Pilões e Maria Rosa. As populações de Abobral e Pedro Cubas são as que aparentemente mostram maior contribuição africana.

O estudo do loco M168 foi realizado para esclarecer se os cromossomos YAP-, observados em tão alta freqüência em nossas amostras quilombolas, poderiam eventualmente ser de origem africana, embora desprovidos da inserção de *Alu*. De acordo com o estudo realizado por Underhill e col. (2000), alguns cromossomos Y africanos, pertencentes aos haplogrupos I e II, são desprovidos da inserção YAP. Todos os cromossomos Y YAP- por nós estudados têm o alelo T para o M168, o que indica que não pertencem aos haplogrupos I e II. Como não encontramos praticamente nenhum indivíduo portador do alelo T para o loco DYS199, exclusivo de ameríndios, podemos supor que, com probabilidade alta, nossos cromossomos Y YAP- não são de origem africana, nem ameríndia. No entanto, deve ser lembrado que cerca de 15% dos ameríndios são C no loco DYS199.

A análise de haplótipos (Tabela V) indicou nas comunidades de São Pedro e Galvão uma combinação muito freqüente: 15 (DYS19), C (DYS199), YAP – (DYS287) e 24 (DYS390). Este haplótipo ocorreu em 6/22 homens estudados em São Pedro e 14/22 homens de Galvão. Esse achado apóia a idéia de origem comum das duas populações. Esse é o haplótipo também encontrado nos indivíduos SP01 e GA17, que haviam se declarado descendentes patrilineares de Bernardo Furquim. Logo, o relato dos mesmos é condizente com os achados moleculares, pois os dois indivíduos são idênticos em relação a todos os marcadores estudados. Considerando que em portugueses o alelo 15 (DYS19) apresenta freqüência de cerca de 27%, o alelo 24 (DYS390) de 62% e que esse cromossomo é YAP- e T para o loco M168, muito provavelmente o cromossomo Y de Bernardo Furquim tem origem européia e não africana. Embora curioso, esse achado é coerente com a história da formação do povo brasileiro, em que se sabe que os homens de origem portuguesa deixaram muitos descendentes com suas escravas. Os

estudos de Pena e col (2000) e Carvalho-Silva e col (2001) realizados com brasileiros de diversas regiões do Brasil indicaram alta frequência de cromossomos Y portugueses mesmo nos indivíduos com mitocôndrias de origem africana. O mesmo também foi observado por Ribeiro-dos-Santos e col. (2002) na população de quilombo de Curiaú. O haplótipo do Furquim acima mencionado esteve também presente em 11% dos indivíduos da amostra de São Paulo, em 9% dos indivíduos de Abobral, 13% em Pilões e 7% em Pedro Cubas, o que demonstra provavelmente que se trata de um cromossomo Y relativamente comum na população brasileira.

Em São Paulo, o haplótipo mais frequentemente observado foi o 14/C-/24 (24/81), cujos alelos são os mais frequentes entre os portugueses (Gonzalez-Neira e col., 2000; Carvalho-Silva e col., 2001; Flores e col., 2001). Esse haplótipo esteve presente também em Pedro Cubas, Pilões e Maria Rosa.

Na comunidade de Abobral é observada a predominância do haplótipo 14/C-/25 (14/32). Novamente, observamos um cromossomo Y com alelos frequentes em indivíduos portugueses correspondendo a 61, 100, 86 e 9% dessa população, respectivamente (Gonzalez-Neira e col., 2000; Carvalho-Silva e col., 2001; Flores e col., 2001). Por outro lado, o haplótipo 17/C+/21, presente no indivíduo mais antigo da comunidade (AB 129) é observado em 7/32 dos indivíduos. Ele indica a contribuição africana nessa população, dado que esse cromossomo apresenta a inserção YAP e o alelo 21 para o loco DYS390, o mais frequente entre africanos. Nessa comunidade, encontramos seis diferentes haplótipos, três destes possuem a inserção YAP e nenhum dos YAP- apresentou o alelo T para o loco M168. Esse achado indica uma provável contribuição patrilinear mista, ou seja, portuguesa e africana em Abobral. Assim como em Galvão e São Pedro, em Abobral também não encontramos o haplótipo mais frequentemente observado em São Paulo.

Em Pedro Cubas, o haplótipo mais frequente foi o 16/C+/21 (13/42), um cromossomo Y cujos alelos estão em altas frequências entre os africanos, especialmente de etnia Bantu (Hammer e col., 1997; Thomas e col., 2000; Flores e col., 2001; Pereira e col., 2002). Este foi o cromossomo Y presente no indivíduo PC 215, que se declarou descendente de Gregório Marinho, o escravo que teria dado origem à comunidade. Além disso, o haplótipo que

apresenta todos os alelos mais freqüentes entre os Bantu, o 15/C/+21, considerado como um haplótipo marcador da expansão Bantu (Pereira e col., 2002), também está presente nessa comunidade (4/42). Somente nessa população de quilombo encontramos um haplótipo com alelo específico de ameríndios, o alelo T para o loco DYS199, conforme já mencionado. Os demais alelos que compõem esse haplótipo (13/T/-24) são também os mais freqüentes entre ameríndios. Esses achados indicam que Pedro Cubas recebeu contribuições importantes dos três grupos que constituíram o povo brasileiro, ou seja, os europeus, os africanos e os ameríndios.

Em Pilões, o haplótipo mais freqüente (8/15) foi o mesmo mais freqüente em São Paulo, o 14/C/-24. No entanto, também observamos a presença de três importantes haplótipos já mencionados: o haplótipo de Bernardo Furquim (15/C/-24), característico de Galvão e São Pedro, o haplótipo do morador mais antigo de Abobral (17/C/+21) e o haplótipo cujos alelos estão em alta freqüência entre Bantu (15/C/+21), também encontrado em Pedro Cubas. Assim, embora o haplótipo mais freqüente seja igual ao mais freqüente em São Paulo, a contribuição africana também é evidenciada em Pilões.

Maria Rosa não apresentou predominância de nenhum haplótipo. Não encontramos nessa comunidade o haplótipo de Bernardo Furquim. Porém, qualquer conclusão sobre Maria Rosa é muito limitada, dado o pequeno número de indivíduos estudados. Além disso, é conhecido que houve uma redução muito grande no número de habitantes de Maria Rosa. Segundo o Relatório do Projeto Diagnóstico Socioambiental do Vale do Ribeira (1998) as comunidades de Pilões e Maria Rosa apresentavam, respectivamente, 250 e 140 habitantes em 1998. Em 2001, Pilões apresentava 128 habitantes, enquanto que Maria Rosa apresentava apenas 56 habitantes. Logo, a redução do tamanho populacional pode ter proporcionado a extinção de diversas linhagens de cromossomo Y presentes na constituição original desses quilombos.

Partindo da premissa de que os haplótipos com a inserção YAP são africanos, com alelo T no DYS199 são ameríndios e que os restantes podem ser europeus ou ameríndios C, na Figura 16 apresentamos diagramas, que representam graficamente a provável contribuição européia, africana e

Figura 16: Diagramas representando a provável origem dos cromossomos Y encontrados nas populações de quilombo e na amostra de São Paulo.

ameríndia nas populações estudadas. No entanto, deve ser lembrado que há na fração dos indivíduos YAP+ (por exemplo, os com haplótipo 13/C/+24) alguns que podem ter cromossomos Y europeus.

Em resumo, as comunidades de Pedro Cubas, Abobral, São Pedro, Pilões e Galvão mostraram contribuição africana maior do que a observada em São Paulo, mas aparentemente reduzida considerando que se tratam de remanescentes de quilombos; por outro lado, esse resultado é coerente com os achados de Pena e col (2000), Carvalho-Silva (2001) e Ribeiro-dos-Santos (2002), no que diz respeito à formação da população brasileira. Esses resultados evidenciaram contribuição genética portuguesa, principalmente originária de indivíduos do sexo masculino, nas populações brasileiras.

V.2 – ÍNDICES DE DIVERSIDADE HAPLOTÍPICA

Os índices de diversidade haplotípica variaram de 0,589 a 0,889 nas populações de quilombos; em São Paulo esse valor correspondeu a 0,889. Três das comunidades apresentaram índices mais baixos que o observado em São Paulo: Galvão (0,589), Pilões (0,705) e Abobral (0,750). Nas demais comunidades o índice observado foi semelhante ao de São Paulo.

Conforme já discutido, Galvão é a comunidade em que se observa menor diversidade haplotípica, como decorrência provável do efeito de fundador causado pelo haplótipo de Bernardo Furquim, presente em 64% dos homens da comunidade. Pilões e Abobral também apresentaram baixos índices de diversidade, quando comparadas a São Paulo. Nelas também encontramos um haplótipo predominante, um deles ocorrendo com frequência de 53% em Pilões e outro 44% em Abobral.

Em Maria Rosa não encontramos predomínio de nenhum haplótipo, mas o número de indivíduos analisados nesta comunidade não permite discutir os resultados. Apesar disso, Pedro Cubas e São Pedro apresentaram índices de diversidade semelhantes à Maria Rosa. Esse resultado pode ser explicado pelo fato de São Pedro e Pedro Cubas apresentarem, respectivamente, 9 e 12 tipos de haplótipos diferentes com frequências parecidas, condição que maximiza a probabilidade de dois haplótipos

tomados ao acaso serem diferentes. Já em Galvão, São Pedro e Abobral, observamos no máximo seis haplótipos diferentes e, como já mencionado, pelo menos um haplótipo ocorre com frequência muito superior aos demais. Portanto, é de esperar que seus índices de diversidade sejam menores que os observados nas demais comunidades.

Os índices de diversidade de São Paulo e o calculado usando-se os dados de todas as comunidades de quilombo são de mesma ordem de grandeza, apesar de, em São Paulo, devido à composição mais heterogênea da amostra, ser encontrado um número maior de haplótipos (26) do que nos quilombos (17). A ocorrência em São Paulo de dois haplótipos com frequências respectivas da ordem de 10 e 30% explica a ocorrência acima. No total de quilombos, por outro lado, não só apenas dois dos haplótipos ocorrem com frequência entre 10 e 15%, como também ocorrem vários haplótipos com frequências insolitamente baixas. Isso significa que essa última classe de haplótipos está representada, cada uma, em apenas uma das comunidades. Essas observações todas estariam de acordo com a tendência geral de que as populações de origem africanas apresentam de maiores taxa de diversidade genética do que as de origem européia. No entanto, Underhill e col. (2001) e Pereira e col. (2002) afirmam que essa tendência geral africana não se repete nos marcadores do cromossomo Y. A aparente perda de diversidade haplotípica ocorreu em virtude da provável expansão Bantu, ocorrida há cerca de 3000 anos (Underhill e col., 2001). Um marcador importante dessa expansão seria o equivalente ao haplótipo 15/C/+21 no nosso estudo. A alta diversidade haplotípica na nossa amostra total é melhor explicada pelos cromossomos Y que se originaram de diversos grupos como europeus, africanos e indígenas em proporções quase equivalentes, associada ao provável fluxo gênico entre comunidades. A mobilidade de indivíduos entre os diferentes quilombos foi por nós observada nos estudos genealógicos.

V.3– DENDROGRAMAS

Na maioria dos dendrogramas construídos e principalmente no que inclui a análise dos quatro locos em conjunto, ou seja, a análise de haplótipos (Figura 15a), as populações de São Pedro e Galvão aparecem próximas. Isto era esperado, pois a distância geográfica entre elas é muito pequena (cerca de 3 km). Além disso, conforme já comentado, os relatos históricos apontam origem comum dessas duas comunidades a partir do escravo Bernardo Furquim. De fato, na construção da genealogia, foi difícil individualizar as comunidades, pois muitas eram as relações de parentesco entre os indivíduos das duas populações. Elas também se apresentaram no dendrograma de haplótipos como as mais distantes geneticamente da amostra de São Paulo. No dendrograma construído com os quatro locos, incluindo resultados obtidos da literatura (Figura 15b), essas populações também permaneceram próximas entre si e ocorreram como próximas às africanas de etnia Bantu.

No trabalho de Cotrim (2003), onde se investigaram marcadores moleculares autossômicos do tipo inserção de *Alu*, Galvão e São Pedro também apareceram como as comunidades mais próximas entre si e com maior proximidade às populações africanas. A mesma situação não aconteceu em relação aos marcadores do cromossomo Y. Na figura 15b observa-se Abobral como a mais próxima dos africanos. Esse fato se deve a presença do cromossomo fundador 17/C/+21, de provável origem africana. Sendo assim, o que distanciou São Pedro e Galvão dos africanos foi o fato do haplótipo do Furquim ter provável origem européia.

As comunidades de Pilões e Maria Rosa, assim como Galvão e São Pedro, são muito próximas geograficamente (cerca de 6 km). Também exibem nas genealogias muitas relações de parentesco entre os indivíduos das duas comunidades. Em alguns dos dendrogramas construídos elas estão próximas, noutros nem tão próximas como o esperado. Nos dendrogramas construídos com quatro locos (com e sem populações da literatura), elas surgiram próximas entre si e próximas a São Paulo. Como já mencionado, houve uma redução muito grande no número de habitantes de Pilões e Maria Rosa (Relatório do Projeto Diagnóstico Social do Vale do Ribeira, 1998), fato que pode ter proporcionado a extinção de diversa linhagens de cromossomo

Y presentes na constituição original, fazendo com que hoje não se pareçam tanto com os demais quilombos e se aproximem mais de São Paulo do que as demais comunidades (Figura 15a).

Pedro Cubas e Abobral, embora sem afinidades genealógicas, geográficas, ou históricas detectáveis, quando analisadas para os quatro locos em conjunto (ou separadamente para os locos YAP e DYS390) apresentam proximidade genética entre si e com a população africana usada como referência (Figuras 13, 14 e 15). No entanto, o fato de em Pedro Cubas termos encontrado cromossomo Y com alelo T no loco DYS199, exclusivo de ameríndios, bem como o alelo A no loco DYS19 numa frequência de aproximadamente 24%, aproximou essa população da população ameríndia, afastando-a das demais. Também observamos que Pedro Cubas foi a comunidade com maior afinidade genética com a população de Curiaú, quilombo estudado por Ribeiro-dos-Santos e col. (2002).

Em resumo, quando observamos a análise que reúne as populações quilombolas, a população de São Paulo e as populações de referência (Figura 15b), os remanescentes de quilombos de Galvão, São Pedro e Abobral mostraram-se mais próximos das populações africanas do que das demais populações da literatura. Dentre os remanescentes de quilombos, Pedro Cubas é a única com afinidade com os ameríndios. Pilões e Maria Rosa ficaram mais próximas de São Paulo, bem como de brasileiros brancos e portugueses, indicando maior contribuição européia.

VI - CONCLUSÕES

O estudo dos marcadores moleculares DYS19, DYS390, DYS199, YAP e M168, do cromossomo Y, nos remanescentes de quilombos do Vale do Ribeira e da amostra de São Paulo nos permitiu chegar às seguintes conclusões:

Os microssatélites DYS19 e DYS390, além de úteis na construção de haplótipos, nos permitiram comparar nossas amostras com as de outros estudos da literatura. As frequências alélicas no DYS19 e DYS390 indicaram que nas populações por nós estudadas há uma importante contribuição patrilinear portuguesa.

O SNP DYS199, por possuir um alelo específico de ameríndios, o alelo T, indicou uma baixa contribuição patrilinear ameríndia entre as comunidades de quilombo. Essa contribuição foi detectada somente na população de Pedro Cubas.

A inserção de *Alu* YAP (DYS287), por ser muito freqüente entre africanos, é um bom indicador de contribuição paterna africana. No entanto, nem todos os africanos a possuem. Por essa razão o marcador M168 veio completar a informação em relação a origem africana do cromossomo Y. Esses marcadores moleculares indicaram uma contribuição patrilinear africana nos quilombos que variou entre 11 e 55%. Somente em Pedro Cubas a frequência de cromossomos Y de origem africana (55%) superou a frequência de cromossomo Y de origem européia. Em Abobral, a frequência de cromossomo Y provavelmente africano chegou a aproximadamente 40%, revelando serem essas duas as populações mais africanas do ponto de vista do cromossomo Y.

Em relação aos haplótipos, foi possível identificar em cada comunidade haplótipos predominantes, candidatos a fundadores, exceção feita a Maria Rosa, onde nenhum haplótipo se destacou. O haplótipo 15/C/-/24 (haplótipo Furquim) foi o predominante nas comunidades de Galvão e São Pedro; o 14/C/-/25 foi o principal em Abobral; o 16/C+/21 (possivelmente o cromossomo Y de Gregório Marinho) predominou em Pedro Cubas e o 14/C/-/24, que predominou em Pilões, estava presente também em 30% dos

indivíduos da amostra de São Paulo. Galvão foi a comunidade de quilombo que evidenciou maior efeito de fundador (14/22 indivíduos com o mesmo cromossomo Y) e, conseqüentemente, onde se observou menor o índice de diversidade haplotípica (0,589).

Na amostra de São Paulo, encontramos 26 haplótipos diferentes, enquanto no total de quilombos apenas 17. No entanto, os índices de diversidade haplotípica para o total de quilombos foi equivalente ao observado na amostra de São Paulo. Isto poderia ser explicado pela origem africana (é sabido que africanos são mais diversos), por uma mistura recente de grupos de diferentes etnias (africanos, europeus e ameríndios) ou ainda por um fluxo gênico constante entre as comunidades e bairros vizinhos.

Na análise dos dendrogramas, os remanescentes de quilombos de Abobral e Pedro Cubas mostraram-se mais próximos das amostras das populações africanas de etnia Bantu do que das populações portuguesas. No entanto, o fato de em Pedro Cubas termos encontrado alelos específicos de ameríndios, afastou essa comunidade das populações africanas. Pedro Cubas foi a população geneticamente mais semelhante a de Curiaú, quilombo estudado por Ribeiro-dos-Santos e col. (2002). Galvão e São Pedro, vizinhas e com origem comum, foram as comunidades mais próximas entre si, porém próximas também de portugueses, muito provavelmente em decorrência de efeito de fundador. As populações de Pilões e Maria Rosa, não se apresentaram tão próximas entre si quanto Galvão e São Pedro, provavelmente devido à redução do tamanho populacional. Pilões e Maria Rosa ficaram mais próximas de São Paulo, bem como de brasileiros brancos e portugueses, indicando maior contribuição patrilinear portuguesa.

VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves-Silva J, MS Santos, PEM Guimarães, ACS Ferreira, HJ Bandelt, SDJ Pena, VF Prado (2000) The Ancestry of Brazilian mtDNA Lineages. **Am J Hum Genet** **67**:444-461.
- AndradeT. (org.): Quilombos em São Paulo: Tradições, direitos e lutas. 1997, IMESP.
- AndradeT., CAC Pereira., MRO Andrade.(orgs.): Negros do Ribeira: Reconhecimento Étnico e Conquista do Território. 2000, ITESP.
- Benedetto, GD, A Ergüven, M Stenico, L Castri, G Bertorelle, I Togan, G Barbujani (2001). DNA Diversity and Population Admixture in Anatolia. **Am J Phys Anthropol** **115**:144-156.
- Bianchi NO, G Bailliet, CM Bravi, RF Carnese, F Rothhammer, VL Martínez-Marignac, SDJ Pena (1997). Origin of Amerindian Y-Chromosomes as Inferred by the Analysis of Six Polymorphic Markers. **Am J Phys Anthropol** **102**:79-89.
- Bianchi NO, CI Catanesi, G Bailliet, VM Martinez-Marignac, CM Bravi, LB Vidal-Rioja, RJ Herrera, JS López-Camelo (1998) Characterization of an Ancestral Derived Y-chromosome Haplotypes of new World Native Populations. **Am J Hum Genet** **63**:1862-1871.
- Blum M, WA Neves, MM Lahar (2001). The long winding of road of the first Americans. **Curr Res Pleistocene** **18**: 69-73.
- Bortolini MC, WA Silva Junior, DC Guerra, G Remonatto, R Mirandola, MH Hutz, TA Weimer, MCBO Silva, MA Zago, FM Salzano (1999). African-derived South American Populations: A History of Symmetrical and Asymmetrical Matings According to Sx Revealed by Bi- and Uni-parental genetic Markers. **Am J Human Biol** **11**:551-563.
- Bortolini, MC, FM Salzano, CHD Bau, Z Layrisse, ML Petzl-Erler, LT Hill, AM Hurtado, D Castro-de-Guerra, G Bedoya, A Ruiz-Linares (2002). Y-chromosome bialelic polymorphisms and Native American population structure. **Ann Hum Genet** **66**: 255-259.
- Bosch E, F Calafell, FR Santos, A Perez-Lezaun, D Comas, N Benchemsi, C Tyler-Smith, J Bertranpetit (1999) Variation in short tandem repeats is deeply structured by genetic background on the human Y chromosome. **Am J Hum Genet** **65**:1623-1638.
- Bosch E, F Calafell, D Comas, PJ Oefner, PA Underhill, J Bertranpetit (2001). High-Resolution Analysis of Human Y-Chromosome Variation Shows a Sharp Discontinuity and Limited Gene Flow between Northwestern Africa and the Iberian Peninsula. **Am J Hum Genet** **68**:1019-1029.
- Bouzekri N, PG Taylor, MF Hammer, MA Jobling (1998). Novel mutation

processes in the evolution of a haploid minisatellite, MSY1: array homogenization without homogenization. **Hum Mol Genet** 7:655-659.

Bravi CM, M Sans, G Bailliet, VL Martínez-Marignac, M Portas, I Barreto, C Bonilla, N Bianchi (1997). Characterization of Mitochondrial DNA and Y-Chromosome Haplotypes in a Uruguayan Population of African Ancestry. **Hum Biol** 69:641-652.

Cann RL, M Stoneking, AC Wilson (1987). Mitochondrial DNA and human evolution. **Nature** 325:31-36.

Carril LFB.: Terras de Negros no Vale do Ribeira: Territorialidade e Resistência. Tese de mestrado. FFLCH/USP, 1995.

Carvalho JJ, SJ Doria, ANJ Oliveira – histórias, tradição e lutas. EDUFBA, Salvador, 1995.

Carvalho-Silva DR, FR Santos, MH Hutz, FM Salzano, SD Pena (1999). Divergent Human Y-Chromosome Microsatellite Evolution Rates. **Mol Evol** 49:204-214.

Carvalho-Silva D.: Estudos Moleculares e Filogenéticos de Cromossomos Y em Populações Humanas do Brasil. Tese de Doutorado. ICB/UFMG, 2000.

Carvalho-Silva D, FR Santos, J Rocha, SDJ Pena (2001). The phylogeography of Brazilian Y-chromosome lineages. **Am J Hum Genet** 68: 281-286.

Casanova M, P Leroy, C Boucekine, J Weissenbach, C Bishop, M Fellous, M Purrello, G Fiori, M Siniscalco (1985) A human Y-linked DNA polymorphism and its potential for estimating genetic and evolutionary distance. **Science** 230:1403-1406.

Cavalli-Sforza LL, P Menozzi, A Piazza – The History and Geography of Human Genes. Princeton University Press, USA, 1996.

Cavalli-Sforza LL (1998) The DNA revolution in population genetics. **Trends Genet** 14:60-65.

Cavalli-Sforza LL & MW Feldman (2003). The application of molecular genetic approaches to the study of human evolution. **Nat Genet suppl** 33:266-275.

Ciminelli BM, F Pompei, M Hammer, F Persichetti, PF Pignatti, A Palena, N Anagnou, G Guanti, C Jodice, L Terrenato, A Novelletto (1995). Recurrent Simple Tandem Repeat Mutations During Human Y-Chromosome Radiation in Caucasias Subpopulations. **Mol Evol** 41:966-973.

Cooper, G, W Amos, D Hoffman, DC Rubinsztein (1996). Network analysis of Y micrisatellite haplotypes. **Hum Mol Genet** 5:1759-1766.

Cotrim NH. Variabilidade Genética das Inserções de *Alu* em Remanescentes

de Quilombos. Tese de Mestrado. IB/USP, 2003.

Cruciani F, P Santolamazza, P Shen, V Macaulay, P Moral, A Olckers, D Modiano, S Holmes, G Destro-Bisol, V Coia, DC Wallace, PJ Oefner, A Torroni, LL Cavalli-Sforza, R Scozzari, PA Underhill (2002). A Back Migration from Asia to Sub-Sahara Africa Is Supported by High-Resolution Analysis of Human Y-Chromosome Haplotypes. **Am J Hum Genet** **70**:1197-1214.

Demarchi DA & AJ Marcellino (1998). Dermatoglyphic Relationships among South Amerindian Populations. **Hum Biol** **70**:579-596.

Dipierri, JE, E Alfaro, VL Martínez-Marignac, G Bailliet, CM Bravi, S Cejas, NO Bianchi (1998). Paternal Diirectional Mating in Two Amerindian Subpopulations Located at Different Altitudes in Northwestern Argentina. **Hum Biol** **70**:1001-1010.

Falcone, E, P Spadafora, M Luca, R Rufolo, C Brancati G Benedictis (1995). DYS19, D12S67, and D1S80 Polymorphisms in Population Samples from Southern Italy and Greece. **Hum Biol** **67**:689-701.

Flores C, N Maca-Meyer, JA Pérez, M Hernández, VM Cabrera (2001). Y-Chromosome Differentiation in Northwest África. **Hum Biol** **73**:513-524.

Florentino M – Em costas negras: uma história do trafico de escravos entre a África e o Rio de Janeiro: séculos XVIII e XIX. Companhia das Letras, São Paulo, SP, 1997.

Forster P, M Kayser, E Meyer, L Roewer, H Pfeiffer, H Benkmann, B Brinkmann (1998). **Mol Biol Evol** **15**: 1108-1114.

Forster P, A Röhl, P Lünemann, C Brinkmann, T Zerjal, C Tyler-Smith, B Brinkmann (2000). A Short Tandem Repeat-Based Phylogeny for the Human Y Chromosome. **Am J Hum Genet** **67**:182-196.

González-Neira A, L Gusmão, M Brión, MV Lareu, A Amorim, A Carracedo (2000). Distribution of Y-chromosome STR defined haplotypes in Ibéria. **Forensic Sci Int** **110**:117-126.

Gusmão L, A González-Neira, C Alves, P Sánchez-Diz, EM Dauber, A Amorim, A Carracedo (2002). Genetic Diversity of Y-Specific STRs in Chimpanzees (*Pan troglodytes*). **Am J Primatol** **57**: 21-29.

Hammer MF (1995). A recent common ancestry for human Y chromosomes. **Nature** **378**:376-378.

Hammer MF & S Horai (1995) Y chromosomal DNA variation and the peopling of Japan. **Am J Hum Genet** **56**: 951-962.

Hammer MF & S Zegura (1996). The Role of the Chromosome in Human

Evolutionary Studies. **Evol Anthropol** 5:116-134.

Hammer MF, AB Spurdle, T Karafet, MR Bonner, ET Wood, A Novelletto, P Malaspina, RJ Mitchell, S Horai, T Jenkins, SL Zegura (1997) The Geographic Distribution of Human Y Chromosome Variation. **Genetics** 145:787-805.

Hammer MF, T Karafet, A Rasanayagam, ET Wood, TK Altheide, T Jenkins, RC Griffiths, AR Templeton, SL Zegura (1998). Out of Africa and Back Again: Nested Cladistic Analysis of Human Y Chromosome Variation. **Mol Biol Evol** 15:427-441.

Harris P, E Boyd, BD Young, MA Ferguson-Smith (1986). Determination of the DNA content of human chromosomes by flow cytometry. **Cytogenet Cell Genet** 41:14-21.

Heyer E, J Puymirat, P Dieltjes, E Bakker, P Knijff (1997). Estimating Y chromosome specific microsatellite mutation frequencies using deep rooting pedigrees. **Hum Mol Genet** 6:799-803.

Holanda SB – História Geral da Civilização Brasileira. Difusão Editorial AS, 1972.

Holanda SB – Raizes do Brasil. Livraria José Olympo Editora, 1981.

Holtkemper U, B Rolf, C Hohoff, P Forster, B Brinkmann (2001). Mutation rates at two human Y-chromosomal microsatellite loci using small pool PCR techniques. **Hum Mol Genet** 10:629-633.

Hurles ME, E Maund, J Nicholson, E Bosch, C Renfrew, BC Sykes, MA Jobling (2003). Native American Y Chromosomes in Polynesia: The Genetic Impact of Polynesian Slave Trade. **Am J Hum Genet** 72:1282-1287.

International Human Genome Sequencing Consortium (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. **Nature** 409:860-921.

Jiménez G, A Picornell, C Tomàs, JA Castro, MM Ramon (2001). Y-chromosome polymorphism data in Majorcan, Minorcan and Valencia populations (eastern Spain). **Forensic Sci Int** 124:231-234.

Jobling MA and C Tyler-Smith (1995). Fathers and sons: the Y chromosome and human evolution. **Trends Genet** 11: 449-456.

Jobling MA, V Samara, A Pandya, N Fretwell, B Bernasconi, RJ Mitchell, T Gerelsaikhan, B Dashnyam, A Sajantila, PJ Salo, Y Nakahori, CM Disteche, K Thangaraj, L Singh, MH Crawford, C Tyler-Smith (1996). Recurrent duplication and deletion polymorphisms on the long arm of Y chromosome in normal males. **Hum Mol Genet** 5:1767-1775.

Jobling MA, N Bouzekri, PG Taylor (1998). Hypervariable digital DNA codes for

human paternal lineages: MVR-PCR at the Y-specific minisatellite, MSY1 (DYF155S1). **Hum Mol Genet** 7:643-653.

Jorde LB, MJ Bamshad, WS Watkins, R Zenger, AE FFraleay, PA Krakwiah, KD Carpenter, H Soodyall, T Jenkins, AR Rogers (1995) Origins and Affinities of Modern Humans: A Comparison of Mitochondrial and Nuclear Genetic Data. **Am. J. Hum. Genet.** 57: 523-538.

Jorde LB, AR Rogers, M Bamshad, WS Watkins, P Krakowiak, S Sung, J Kere, HC Harpending. Microsatellite diversity and demographic history of modern humans (1997) **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 94: 3100-3103.

Jorde LB, WS Watkins, MJ Bamshad, ME Dixon, CE Ricker, MT Seielstad, MA Batzer (2000). The Distribution of Human Genetic Diversity: A Comparison of Mitochondrial, Autosomal, and Y-Chromosome Data. **Am. J. Hum. Genet.** 66: 979-988.

Karafet T, P Knijff, E Wood, J Ragland, A Clark, MF Hammer (1998). Different Patterns of Variation at the X- and Y-Chromosome-Linked Microsatellite Loci DXYS156X and DXYS156Y in Human Populations. **Hum Biol** 70:979-992.

Karafet TM, SL Zegura, O Posukh, L Osipova, A Bergen, J Long, D Goldman, W Klitz, S Harihara, P de Knijff, V Wiebe, RC Griffiths, AR Templeton, MF Hammer (1999). Ancestral Asian Source(s) of New World Y-Chromosome Founder Haplotypes. **Am. J. Hum. Genet.** 64: 817-831.

Kayser M, A Caglia, N Fretwell, C Gehrig, G Graziosi, F Heidorn, S Herrmann, B Herzog, M Hidding, K Honda, M Jobling, M Krawczak, K Leim, S Meuser, E Meyer, W Oesterrich, A Pandya, W Parson, G Penacino, A Perez-Lezaun, A Piccinini, M Prinz, C Schmdtt, PM Schneider, R Szibor, J Teifel-Greding, G Weichhold, P Knijff, L Roewer (1997). Evaluation of Y-chromosomal STRs: a multicenter study. **Int J Legal Med** 110:125-133.

Kayser M, M Krawczak, L Excoffier, D Patrick, D Corach, V Pascali, C Gehrig, LF Bernini, J Jespersen, E Bakker, L Roewer, P Kniff (2001). An Extensive Analysis of Y-Chromosomal Microsatellite Haplotypes in Globally Dispersed Human Populations. **Am. J. Hum. Genet.** 68: 990-1018.

Kayser M, S Brauer, G Weiss, W Schiefenhövel, PA Underhill, M Stoneking (2001). Independent Histories of Human Y Chromosomes from Melanesia and Australia. **Am J Hum Genet** 68:173-190.

Kendrew J (ed) The Encyclopedia of Molecular Biology. Blackwell Science Ltd, Oxford, 1994.

Kittles, RA, M Perola, L Peltonen, AW Bergen, RA Aragon, M Virkkunen, M Linnoila, D Goldman, JC Long (1998). Dual Origins of Finns Revealed by Y Chromosome Haplotype Variation. **Am. J. Hum. Genet.** 62:1171-1179.

Kumar S, K Tamura, IB Jakobsen, M Nei – MEGA2: Molecular Evolutionary

Genetics Analysis software. Arizona State University, Tempe, Arizona, USA, 2001.

Lahermo P, ML Savontaus, P Sistonen, J Béres, P Knijff, P Aula, A Sajantila (1999). Y chromosomal polymorphisms reveal founding lineages in the Finns and the Saami. **Eur J Hum Genet** 7:447-458.

Lahan BT & DC Page (1997). Functional coherence of the human Y chromosome. **Science** 278:675-680.

Lell JT, MD Brown, TG Schurr, RI Sukernik, YB Starikovskaya, A torroni, LG Moore, GM Troup, DC Wallace (1997). Y chromosome polymorphisms in Native American and Siberian poplations: identification of Native American Y chromosome haplotypes. **Hum Genet** 100:536-543.

Lell, JT, RI Sukernik, YB Starikovskaya, B Su, L Jin, TG Schutt, PA Underhill, DC Wallace (2002). The Dual Origin and Siberian Affinits of Native American Y Chromosomes. **Am. J. Hum. Genet.** 70:192-206.

Lell JT, RI Sukernik, DC Wallace (2002). Replay to Tarazona-Santos and Santos. **Am J Hum Genet** 70:1380-1381.

Lucotte G, F David, S Berriche (1996). Haplotype VIII of the Y Chromosome Is the Ancestral Haplotype in Jews. **Hum Biol** 68:467-471.

Malaspina P, F Cruciani, BM Ciminelli, L Terrenato, P Santolamazza, A Alonso, J Banyko, R Brdicka, O García, C Gaudiano, G Guanti, KK kidd, J Lavinha, M Avila, P Mandich, P Moral, R Qamar, SQ Mehdi, A Ragusa, G Stefanescu, M Caraghin, C Tyler-Smith, R Scozzari, A Novelletto (1998). Network Analyses of Y-Chromosomal Types in Europe, Northern Africa, and Wstern Asia Reveal Specific Patterns of Geographic Distribution. **Am. J. Hum. Genet.** 63:847-860.

Mesa NR, MC Mondragón, ID Soto, MV Parra, C Duque, D Ortíz-Barrientos, LF García, ID Velez, ML Bravo, JG Múnera, G Bedoya, MC Bortolini, A Ruiz-Linares (2000). Autossomal, MtDNA, and Y-Chromosome Diversity in Amerinds: Pre- and Post-Columbian Patterns of Gene Flow in South America. **Am. J. Hum. Genet.** 67:1277-1286.

Michell RJ & MF Hammer (1996) Human evolution and the Y chromosome. **Curr Opin Genet Dev** 6:737-742.

Müler S, M Gomolka, H Walter (1994). The Y-Specific SSLP of the Locus DYS19 in Four Different European Samples. **Hum Hered** 44:298-300.

Nebel A, D Filon, DA Weiss, M Weale, M Faerman, A Oppenheim, MG Thomas (2000). High-resolution Y chromosome haplotypes of Israeli and Palestinian Arabs reveal geographic substructure and substantial overlap with haplotypes of Jews. **Hum Genet** 107:630-641.

- Nebel A, D Filon, B Brinkmann, PP Majumder, M Faerman, A Oppenheim (2001). The Y Chromosome Pool of Jews as Part of the Genetic Landscape of the Middle East. **Am. J. Hum. Genet.** **69**: 1095-1112.
- Nei M & RK Chesser (1983). Estimation of fixation indices and gene diversities. **Ann Hum Genet** **47**:253-259.
- Nei M – Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, New York, 1987.
- Neves WA & M Bulm (2001). “Luisa” is not alone: further evidence of a non-mongoloid settlement of the New World. **Curr Res Pleistocene** **18**: 73-77.
- Novick GE, MA Batzer, PL Deininger, RJ Herrera (1996). The Móbile Element *Alu* in the Human Genome. **BioScience** **46**:32-41.
- Novion H, R Lima, DMS Rocha, J Nardelli-Costa, CEV Wiezel, MCT Canas, N Klautau-Guimarães, AL Simões, SF Oliveira (2001). Padrão de Herança de Sobrenomes e Diversidade Haplotípica do YAP/DYS19 em Três Remanescentes de Quilombos do Vale do Rio São Francisco. CD de Resumos do 47º Congresso Nacional de Genética, Águas de Lindóia, SP.
- Oota H, W Settheetham-Ishida, D Tiwawech, T Ishida, M Stoneking (2001). Human mtDNA and Y-chromosome variation is correlated with matrilocal versus patrilocal residence. **Nat Genet** **29**:20-21.
- Ota T – DISPAN: Genetic and Phylogenetic analysis. University Park, PA: Institute of Molecular Evolutionary Genetics. Pennsylvania State University, USA, 1993.
- Pääbo S (1995). The Y Chromosome and the Origen of All of Us (Men). *Science* **268**:1141-1183.
- Parra FC, RC Amado, JR Lambertucci, J Rocha, CM Antunes, SDJ Pena (2003). Color and genomic ancestry in Brazilians. **Proc Natl Acad Sci USA** **100**:177-182.
- Passarino G, O Semino, L Quintana-Murci, L Excoffier, M Hammer, AS Santachiara-Benerecetti (1998). Different Genetic Components in the Ethiopian Population, Identified by mtDNA and Y-Chromosome Polymorphisms. **Am. J. Hum. Genet.** **62**: 420-434.
- Pena SDJ , FR Santos, NO Bianchi, CV Bravi, FR Carnese.,F Rothammer, T Gerlsakhan., B Munkhtuja, T Oyunsuren (1995). A major founder Y-chromosome haplotype in Amerindians. **Nat Genet** **11**:15-16.
- Pena SDJ, DR Carvalho-Silva, J Alves-Silva, VF Prado, FR Santos (2000) Retrato Molecular do Brasil. **Ciência Hoje** **159**:16-25.
- Pena SDJ (org) – Homo Brasilis: Aspectos Genéticos, Lingüísticos, Históricos e

Socioantropológicos da Formação do Povp Brasileiro. FUNPEC, Ribeirão Preto, SP, 2002.

Pereira L, MJ Prata, M Brión, MA Jobling, A Carracedo, A Amorim (2000). Clinal Variation of YAP⁺ Y-Chromosome Frequencies in Western Ibéria. **Hum Biol** 72:937-944.

Pereira L, L Gusmão, C Alves, A Amorim, MJ Prata (2002). Bantu and European Y-lineages in Sub-Saharan África. **Ann Hum Genet** 66:369-378.

Pereira L, MJ Prata, A Amorim (2002). Mismatch distribution analysis of Y-STR haplotypes as a tool for the evaluation of identity-by-state proportions and significance of matches-the European picture. **Forensic Sci Int** 130:147-155.

Pérez-Lazaun, A, F Calafell, M Seielstad, E Mateu, D Comas, E Bosch, J Bertranpetit (1997). Population Genetics of Y-Chromosome Short Tandem Repeats in Humans. **J Mol Evol** 45:265-270.

Pérez-Lazaun, A, F Calafell, D Comas, E Mateu, E Bosch, R Martinez-Arias, J Clarimón, G Fiori, D Luiselli, F Facchini, D Pettener, J Bertranpetit (1999). Sex-Specific Migration Patterns in Central Asian Populations, Revealed by Analysis of Y-Chromosome Short Tandem Repeats and mtDNA. **Am J Hum Genet** 65:208-219.

Persichetti F, P Blasi, M Hammer, P Malaspina, C Jodice, I Terrenato, A Novelletto (1992). Disequilibrium of multiple DNA markers on the human Y chromosome. **Ann Hum Genet** 56:303-310.

Petrone P.: Baixada da ribeira: estudo de geografia humana. Tese de doutorado. FFLCH/USP, 1961.

Picornell A, C Tomàs, G Jiménez, JA Castro, MM Ramon (2002). Jewish population genetic data in 20 polymorphic loci. **Forensic Sci Int** 125:52-58.

Prado Jr C – Evolução Política do Brasil. Editora Brasiliense, 1980.

Qamar R, Q Ayub, S Khaliq, A Mansoor, T Karafet, SQ Mehdi, MF Hammer (1999). African and Levantine Origins of Pakistani YAP⁺ Y Chromosomes. **Hum Biol** 71:745-755.

Qian Y, B Qian, B Su, J Yu, Y Ke, Z Chu, L Shi, D Lu, J Chu, L Jin (2000). Multiple origins of Tibetan Y chromosomes. **Hum Genet** 106:453-454.

Quintana-Murci L, O Semino, ES Poloni, A Liu, MV Gijn, G Passarino, A Brega, IS Nasidze, L Maccioni, G Cossu, N Al-Zahery, JR Kidd, KK Kidd, S Santchiara-Benerecetti (1999). Y-chromosome specific YCAII, DYS19 and YAP polymorphisms in human populations: a comparative study. **Ann Hum Genet** 63:153-166.

- Relatório do Projeto Diagnóstico Socioambiental do Vale do Ribeira: documento síntese. Instituto Socioambiental, São Paulo, SP, 1998.
- Ribeiro-dos-Santos AKC, JM Pereira, MRF Lobato, BM Carvalho, JF Guerreiro, SEB Santos (2002). Dissimilarities in the Process of formation of Curiaú, a Semi-Isolated Afro-Brazilian Population of the Amazon Region. **Am J Human Biol** 14:440-447.
- Rodriguez-Delfin L, SEB Santos, MA Zago (1997) Diversity of the human Y-chromosome of the South American Amerindians: a comparison with Blacks, Whites and Japanese from Brazil. **Ann Hum Genet** 61:439-448.
- Roewer L, J Arnemann, NK Spurr, KH Grzeschik, JT Epplen (1992). Simple repeat sequences on the human Y chromosome are equally polymorphic as their autosomal counterparts. **Hum Genet** 89:389-394.
- Roewer L, M Kayser, P Dieltjes, M Nagy, E Bakker, M Krawczak, PD Knijff (1996) Analysis of molecular variance (AMOVA) of Y-chromosome-specific microsatellites in two closely related human populations. **Hum Mol Genet** 5:1029-1033.
- Rosser ZH, T Zerjal, ME Hurles, M Adojaan, D Alavantic, A Amorim, W Amos, M Armenteros, E Arroyo, G Barbujani, G Beckman, J Bertranpetit, E Bosch, DG Bradley, G Brede, G Cooper, HBSM Côte-Real, P de Knijff, R Decorte, YE Dubrova, O Evgrafov, A Gilissen, S Gasic, M Gölge, EW Hill, A Jeziorowska, L Kalaydjieva, M Kayser, T Kivisild, SA Kravchenko, A Krumina, V Kucinskas, J Iavinha, LA Iivshits, P Malaspina, S Maria, K McElreavey, TA Meitinger, AV Mikelsaar, RJ Mitchell, K Nafa, J Nicholson, S Norby, A Pandya, J Parik, PC Patsalis, L Pereira, B Peterlin, G Pielberg, MJ Prata, C Previderé, L Roewer, S Rootsi, DC Rubinshtein, J Saillard, FR Santos, G Stefanescu, BC Sykes, A Tolun, R Villems, C Tyler-Smith MA Jobling (2000). Y-Chromosome Diversity in Europe Is Clinal and Influenced Primarily by Geography, Rather than by Language. **Am. J. Hum. Genet.** 67: 1527-1543.
- Saitou N & M Nei (1987). The neighbour-joining method: a new method for constructing phylogenetic trees. **Mol Biol Evol** 4:406-425.
- Salzano FR & SM Callegari-Jacques (1988) South Americans. A Case Study in Evolution Clarendon Press, Oxford.
- Santachiara Borecetti AS, O Semino, G Passarino, A Torroni, R Brdicka, M Fellous, G Modiano (1993) The common Near-Eastern origin of Ashkenazi and Sephardi Jews supported by Y-chromosome similarity. **Ann Hum Genet** 57:55-64.
- Santos FR, SDJ Pena, JT Epplen (1993) Genetic and population study of a Y-linked tetranucleotide repeat DNA polymorphism with a simple non-isotopic technique. **Hum Genet** 90:655-656.

- Santos FR, MH Hutz, CEA Coimbra, RV Santos, FM Salzano, SDJ Pena (1995) Further evidence for the existence of a major founder Y chromosomal haplotype in Amerindians. **Bra J Genet** **18**: 669-672.
- Santos FR, T Gerelsaikhan, B Munktuja, T Oyunsuren, JT Epplen, SD Pena (1996) Geographic differences in the allele frequencies of the human Y-linked tetranucleotide polymorphism DYS19. **Hum Genet** **97**: 309-313.
- Santos FR & C Tyler-Smith (1996). Reading the human Y chromosome: the emerging DNA markers and human genetic history. **Bra J Genet** **19**: 665-670.
- Santos FR, L Rodriguez-Delfin, SDJ Pena, J Moore, KM Weiss (1996). North and South Amerindians May Have the Same Major Founder Y Chromosome haplotype. **Am J Hum Genet** **58**:1369-1370.
- Santos FR, NO Bianchi, SDJ Pena (1996). Worldwide distribution of Human Y-chromosome Haplotypes. **Genome Res** **6**:601-611.
- Santos FR, S Pandya, C Tyler-Smith, SDJ Pena, M Schanfield, WR Leonard, L Osipova, MH Crawford, RJ Mitchell (1999) The Central Siberian Origin for Native American Y-chromosomes. **Am J Hum Genet** **64**:619-628.
- Santos SB, JD Rodrigues, AKC Ribeiro-dos-Santos, MA Zago (1999). Differential Contribution of Indigenous Men and Women to the Formation of an Urban Population in the Amazon Region as Revealed by mtDNA and Y-DNA. **Am J Phys Anthropolol** **109**:175-180.
- Schneider S, D Roessli, L Excoffier (2000). Arlequin ver 2.000, A software for population genetics and analysis. Genetic and Biochemistry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.
- Schultes T, S Hummel, B Herrmann (1999). Amplification of Y-chromosomal STRs from ancient skeletal material. **Hum Genet** **104**:164-166.
- Scozzari R, F Cruciani, P Santolamazza, P Malaspina, A Torroni, D Sellitto, B Arredi, G Destro-Bisol, G D Stefano, O Rickards, C Martinez-Labarga, D Modiano, G Biondi, P Moral, A Olckers, DC Wallace, A Novelletto (1999). Combined Use of Biallelic and Microsatellite Y-Chromosome Polymorphisms to Infer Affinities among African Populations. **Am J Hum Genet** **65**:829-846.
- Shen P, F Wang, PA Underhill, C Franco, WH Yang, A Roxas, R Sung, AA Lin, RW Hyman, D Vollrath, RW Davis, LL Cavalli-Sforza, PJ Oefner (2000). Population genetic implications from sequence variation in four Y chromosome genes. **Proc Natl Acad Sci USA** **97**:7354-7359.
- Shriver MD, L Jin, RE Ferrell, R Deka (1997). Microsatellite Data Support an Early Population Expansion in Africa. **Genome Res** **7**:586-591.

- Su B, C Xiao, R Deka, MT Seielstad, D Kangwanpong, J Xiao, D Lu, P Underhill, L Cavalli-Sforza, R Chakraborty, L Jin (2000). Y chromosome haplotypes reveal prehistorical migrations to the Himalayas. **Hum Genet** **107**:582-590.
- Su B, L jin, P Underhill, J martinson, N Saha, ST McGarvey, MD Shriver, J Chu, P Oefner, R Chakraborty, R Deka (2000). Polynesian origins: Insights from the Y chromosome. **Proc Natl Acad Sci USA** **97**:8225-8228.
- Tarazona-Santos E, DR Carvalho-Silva, D Pettener, D Luiselli, GFD Stefano, CM Labarga, O Rickards, C Tyler-Smith, SDJ Pena, FR Santos (2001). Genetic Differentiation in South Amerindians Is Related to Environmental and Cultural Diversity: Evidence from the Y Chromosome. **Am J Hum Genet** **68**:1485-1496.
- Tarazona-Santos E & FR Santos (2002). The Peopling of the Américas: A Second Major Migration? **Am J Hum Genet** **70**:1377-1380.
- Tajima A, IH Pan, G Fucharoen, S Fucharoen, M Matsuo, K Tokunaga, T Juji, M Hayami, K Omoto, S Horai (2002). Three major lineages of Asian Y chromosomes: implications for the peopling of east and southeast Asia. **Hum Genet** **110**:80-88.
- Thangaraj K, GV Ramana, L Singh (1999). Y-chromosome and mitochondrial DNA polymorphisms in Indian populations. **Electrophoresis** **20**:1743-1747.
- The Y Chromosome Consortium (2002). A nomenclature system for the tree of human Y-chromosome binary haplogroups. **Genome Res** **12**:339-348.
- Thomas MG, T Parfitt, DA Weiss, K Skorecki, JF Wilson, M Roux, N Bradman, DB Goldstein (2000). Y Chromosomes Traveling South: The Cohen Modal Haplotype and the Origins of the Lemba-the “Black Jews of Southern Africa”. **Am J Hum Genet** **66**:674-686.
- Torroni A, YS Chen, O Semino, AS Santachiara-Benecere, CR Scott, MT Lott, M Winter, DC Wallace, (1994) mtDNA and Y-chromosome polymorphisms in four Native American populations from southern Mexico. **Am J Hum Genet** **54**:303-318.
- Trovada, MJ, C Alves, L Gusmão, A Abade, A Amorim, MJ Prata (2001). Evidence for population sub-structuring in São Tomé e Príncipe as inferred from Y-chromosome STR analysis. **Ann Hum Genet** **65**:271-283.
- Tyler-Smith C & WRA Brown (1987). Structure of the Major Block of Alphoid Satellite DNA on the Human Y Chromosome. **J Mol Biol** **195**:457-470.
- Underhill PA, L Jin, R Zemans, PJ Oefner, LL Cavalli-Sforza (1996) A pre-Columbian Y chromosome-specific transition and its implications for human evolutionary history. **Proc Natl Acad Sci USA** **93**:196-200.

- Underhill PA, L Jin, A Lin, SQ Mehdi, T Jenkins, D Vollrath, RW Davis, LL Cavalli-Sforza, PJ Oefner (1997) Detection of numerous Y chromosome biallelic polymorphisms by denaturing high-performance liquid chromatography. **Genome Res** 7:996-1005.
- Underhill PA, P Shen, AA Lin, I Jin, G Passarino, WH Yang, E Kauffman, B Bonn-Tamir, J Bretranpetit, P Francalacci, M Ibrahim, T Jenkins, JR Kidd, SQ Mehdi, MT Seilstad, RS Wells, A Piazza, RW Davis, MW Feldman, LL Cavalli-Sforza, PJ Oefner (2000). Y chromosome sequence variation and the history of human populations. **Nat Genet** 26: 358-361.
- Underhill PA, Passarino G, Lin AA, Shen P, Mirazon Lahr M, Foley RA, Oefner PJ, Cavalli-Sforza LL. (2001): The phylogeography of Y chromosome binary haplotypes and the origins of modern human populations. **Ann Hum Genet.** 65(Pt 1):43-62.
- Vallinoto ACR, IMV Cayres-Vallinoto, AKC Ribeiro-dos-Santos, MA Zago, SEB Santos, JF Guerreiro (1999), Heterogeneity of Chromosome Markers Among Brazilian Amerindians. **Am J Human Biol** 11:481-487.
- Vandenberg, N, RAHV Oorschot, C Tyler-Smith, RJ Mitchell (1999). Y-Chromosome-Specific Microlatellite Variaton in Australian Aboriginals. **Hum Biol** 71:915-931.
- Vogt PH, N Affara, P Davey, M Hammer, MA Jobling, YF Lau, M Mitchell, W Schempp, C Tyler-Smith, G Williams, P Yen, GA Rappold (1997). Report of the Third Internatinal Workshop on Chromosome Mapping. **Cytogenet Cell Genet** 79:1-20.
- Weir BS & CC Cockerham – Analysis of disequilibrium coefficients. In: Hill WG, TFC Mackay (eds) – Evolution and Animal Breeding. Commonwealth Agricultural Bureaux, U.K, 1989. pp 45-51.
- Whitfield LS, JE Suiston, PN Goodfellow (1995). Sequence variation of the human Y chromosome. **Nature** 378:379-380.
- Wiesel CEV, Z Arpini-Sampaio, AL Simes (2001). Diversidades Gnica e Haplotpica Baseadas nos STRs do Cromossomo Y em Trs Comunidades Afro-Brasileiras do Estado do Piau. CD de Resumos do 47 Congresso Nacional de Gentica, guas de Lindia, SP.
- Wiesel CEV, Z Arpini-Sampaio, AL Simes (2002). Diferenciao Gentica Baseada em Trs Populaes Afro-Brasileiras do Estado do Piau. CD de Resumos do 48 Congresso Nacional de Gentica, guas de Lindia, SP.
- Yen P (2001). The fragility of fertility. **Natur Genet** 29:243-244.
- Zerjal T, B Dashnyam, A Pandya, M Kayser, L Roewer, FR Santos, W Schiefenhvel, N Frewell, MA Jobling, S Harihara, K Shimizu, D Semjidmaa, A Sajantila, P Salo, MH Crawford, EK Ginter, OV Evgrafov, C

Tyler-Smith (1997). Genetic Relationships of Asian and Northern Europeans, Revealed by Y-Chromosomal DNA Analysis. **Am J Hum Genet** **60**:1174-1183.

Zerjal T, RS Wells, N Yuldasheva, R Ruzibakiev, C Tyler-Smith (2002). A Genetic Landscape Reshaped by Recent Events: Y-Chromosomal Insights into Central Asia. **Am J Hum Genet** **71**:466-482.

Zerjal T, Y Xue, G Bertorelle, RS Wells, W Bao, S Zhu, R Qamar, Q Ayub, A Mohyuddin, S Fu, P Li, N Yuldasheva, R Ruzibakiev, J Xu, Q Shhu, R Du, H Yang, ME Hurles, E Robinson, T Gerelsaikhan, B Dashnyam, SQ Mehdi, C Tyler-Smith (2003). The Genetic Legacy of the Mongols. **Am J Hum Genet** **72**:717-721.

ANEXO I

Revisão bibliográfica da frequência dos alelos dos marcadores
DYS19/DYS199/YAP/DYS390

Tabela VI: Frequência dos alelos dos marcadores DYS19, DYS199, YAP e DYS390 em amostras de africanos.

Marcador	Flores e col., 2001		Kayser e col., 2001		Trovacada e col., 2001		Piorrell e col., 2002		Forster e col., 2000		Thomas e col., 2000	
	África		África central		São Tomé		Norte da África					
	Nordeste	Subsaariana										
	N=122	N=45	N=31	N=103	N=23	N=5	N=28	N=136	N=27	N=49	N=77	
DYS19												
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
12	0	0	0	0.01	0	0	0	0	0	0	0	
13	0.46	0	0	0.07	0.13	0	0.04	0.03	0	0.04	0.01	
14	0.32	0.13	0.06	0.16	0.35	0.20	0.10	0.53	0.97	0.70	0.03	
15	0.13	0.38	0.42	0.49	0.48	0.80	0.57	0.32	0.13	0.16	0.58	
16	0.04	0.40	0.26	0.13	0.04	0	0.25	0.09		0.10	0.30	
17	0.05	0.09	0.26	0.13	0	0	0.04	0.03		0	0.08	
18	0	0	0	0.01	0	0	0	0	0	0	0	
DYS199												
C												
T												
YAP												
(+)	0.80	0.91			0.13	0.4	0.89	0.33	0	0.1	0.83	
(-)	0.20	0.09			0.87	0.6	0.11	0.67	1	0.9	0.17	
DYS390												
18			0	0	0	0	0	0	0	0	0.01	
19			0	0	0	0	0	0	0	0	0	
20			0	0.01	0	0	0	0.02	0	0	0.03	
21			0.31	0.66	0.09	0.20	0.72	0.25	0.15	0.12	0.75	
22			0.07	0.07	0.17	0	0.07	0.07	0.04	0.13	0.07	
23			0.29	0.07	0.26	0.20	0	0.25	0.77	0.35	0.00	
24			0.07	0.14	0.39	0.40	0.15	0.41	0.04	0.28	0.13	
25			0.26	0.04	0.09	0.20	0.07	0	0	0.08	0.01	
26			0	0.01	0	0	0	0	0	0.04	0	

Tabela VII. Continuação

Marcador	Pereira e col., 2002	Bosch e col., 1999	Quintana-Murci e col., 1999	Hammer e col., 1997				Santos e col., 1996	
	Moçambique	Nordeste da África	Etiópia	Congo	Bantus		Africanos do		Quenianos e Pigmeus
	N=70	N=129	N=75	N=13	Oeste N=55	Leste N=86	Norte N=93	Oeste N=56	N=35
DYS19									
11	0	0	0.21	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0.00	0	0	0	0.01	0	0.03
13	0	0.67	0.19	0.05	0.04	0.04	0	0.07	0.06
14	0.06	0.21	0.44	0.10	0.13	0.12	0.16	0.14	0.20
15	0.50	0.05	0.12	0.44	0.45	0.54	0.40	0.21	0.31
16	0.24	0.05	0.03	0.3	0.25	0.24	0.30	0.12	0.26
17	0.20	0.02	0.01	0.11	0.13	0.06	0.14	0.02	0.14
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DYS199									
C									
T									
YAP									
(+)		0.81	0.5	0.98	0.84	0.72	0.88	0.49	0.87
(-)		0.19	0.5	0.02	0.16	0.28	0.12	0.51	0.13
DYS390									
18	0	0							
19	0	0							
20	0	0							
21	0.79	0.05							
22	0.01	0.03							
23	0.00	0.26							
24	0.13	0.50							
25	0.07	0.16							
26		0							

Tabela VIII: Frequência dos alelos dos marcadores DYS19, DYS199, YAP e DYS390 em amostras de europeus.

Marcador	Flores e col., 2001		Jiménez e col., 2001		Kayser e col., 2001		Carvalho-Silva e col., 2001		Forster e col., 2000	
	Portugal	Espanha	Espanha	Itália	Alemanha	Suiza	Holanda	Portugal	Alemanha	
	N=105	N=110	N=234	N=100	N=88	N=64	N=88	N=93	N=39	
DYS19										
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0.01	0	0	0	0	0	0	0
13	0.21	0.08	0.06	0.13	0.09	0.13	0.05	0.14	0	0
14	0.44	0.51	0.62	0.53	0.38	0.57	0.71	0.69	0.64	0.64
15	0.27	0.26	0.22	0.26	0.24	0.22	0.19	0.13	0.23	0.23
16	0.07	0.11	0.09	0.05	0.23	0.08	0.03	0.03	0.13	0.13
17	0.01	0.04	0	0.03	0.06	0	0.02	0.01	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DYS199										
C										1
T										0
YAP										
(+)	0.16	0.13	0.09					0.13	0	0
(-)	0.84	0.87	0.91					0.87	1	1
DYS390										
21			0.02	0.01	0	0.03	0.01	0.02	0.05	0.05
22			0.04	0.15	0.08	0.14	0.18	0.04	0.13	0.13
23			0.22	0.39	0.31	0.28	0.39	0.26	0.26	0.26
24			0.63	0.39	0.29	0.39	0.32	0.56	0.38	0.38
25			0.09	0.05	0.26	0.16	0.07	0.09	0.15	0.15
26			0	0.01	0.06	0	0.02	0.03	0.03	0.03
27			0	0	0	0	0.01	0	0	0

Tabela VIII. continuação

Marcador	Gonzalez-Niira e col., 2000				Quintana-Murci e col., 1999				Hammer e col., 1997				Pérez-Lezaun e col., 1997		Santos e col., 1996		Falcone e col., 1995	
	Portugal	Espanha	Holanda	Grécia	Itália	Centro	Grécia	Itália	Inglaterra	Grécia	Itália	Alemanha	Caralões	Espanha	Bascos	Caucasianos	Itália	Grécia
	N=55	N=31	N=54	N=28	N=42	N=64	N=89	N=105	N=55	N=43	N=83	N=208	N=30	N=25	N=52	N=515	N=101	N=64
DY319																		
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0.09	0.07	0.13	0.15	0.07	0.19	0.22	0.07	0.16	0.12	0.22	0.14	0.07	0.04	0.06	0.06	0.12	0.22
14	0.70	0.51	0.57	0.66	0.64	0.29	0.51	0.56	0.47	0.63	0.37	0.37	0.5	0.80	0.79	0.81	0.54	0.33
15	0.16	0.32	0.21	0.13	0.18	0.33	0.19	0.29	0.28	0.23	0.27	0.31	0.30	0.16	0.09	0.10	0.28	0.25
16	0.05	0.10	0.09	0.07	0.11	0.12	0.08	0.08	0.07	0.02	0.13	0.10	0.10	0	0.04	0.02	0.06	0.19
17	0	0	0	0	0	0.05	0	0.01	0.02	0	0.01	0.08	0.03	0	0	0.02	0	0.01
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DY3199																		
C																		
T																		
YAP																		
(+)				0.04	0.16	0	0.02	0.23	0.17	0.02	0.25	0.14	0.07					
(-)				0.96	0.84	1	0.98	0.77	0.83	0.98	0.75	0.86	0.93					
DY3390																		
21	0.02	0	0.04	0										0	0			
22	0.04	0.07	0.02	0.02										0.07	0			
23	0.14	0.39	0.36	0.28										0.17	0.17			
24	0.69	0.41	0.45	0.55										0.89	0.77			
25	0.09	0.13	0.13	0.15										0.07	0.06			
26	0.02	0	0	0										0	0			
27	0	0	0	0										0	0			

Tabela IX: Frequência dos alelos dos marcadores DYS19, DYS199, YAP e DYS390 em amostras de nativos americanos.

Marcador	Bortoliri e col., 2002 Brasil Guarani N=61	Tarazona-Santos e col., 2001 Brasil Gavião/Zoró/Sunú N=34	Tiouana N=32	Kaysar e col., 2001 Sul americanos N=46	Esquimós N=62	Valindro e col., 1989 Améríndios diversos N=125	Karafet e col., 1989 Norte americanos N=389	Bianchi e col., 1989 Sul americanos N=280	Hammer e col., 1997 Estados Unidos N=47	Santos e col., 1996 Amélicas Améríndios diversos N=110
DYS19										
11		0	0	0	0	0.01		0	0	0
12		0	0	0	0	0.06		0	0	0
13		1	1	0.50	0.78	0.81		0.82	0.57	0.84
14		0	0	0.26	0.16	0.12		0.15	0.32	0.11
15		0	0	0.22	0.03	0		0.02	0.11	0.04
16		0	0	0	0.03	0		0	0	0.01
17		0	0	0.02	0	0		0	0	0
18		0	0	0	0	0		0	0	0
DYS199										
C	0.24					0.17		0.31		
T	0.76					0.83		0.69		
YAP										
(+)	0.04						0.01		0	
(-)	0.96						0.99		1	
DYS390										
21		0	0	0.04	0			0.01		
22		0	0	0.22	0.05			0.02		
23		0.12	0.03	0.26	0.31			0.25		
24		0.70	0.31	0.48	0.85			0.57		
25		0.18	0.63	0	0.03			0.15		
26		0	0.03	0	0			0		

Tabela X: Frequência dos alelos dos marcadores DYS19, DYS199, YAP e DYS390 em amostras de brasileiros.

Marcador	Ribeiro-dos-Santos e col., 2002		Carvalho-Silva e col., 2001		Rodríguez-Delfín e col., 1997			Santos e col., 1996	
	Amapá Quilombo de Dutaú N=30		Brasileiros brancos urbanos N=200		Brancos N=41	Améríndios N=46	Japoneses N=14	Negros N=39	Minas Gerais Brasileiros urbanos N=252
DYS19									
11	0		0		0	0	0	0	0
12	0		0		0	0,07	0	0	0
13	0,10		0,12		0,15	0,80	0,14	0,05	0,16
14	0,33		0,58		0,51	0,13	0,14	0,13	0,54
15	0,30		0,23		0,27	0	0,51	0,54	0,23
16	0,10		0,05		0,07	0	0,07	0,18	0,06
17	0,17		0,02		0	0	0,14	0,10	0,01
18	0		0		0	0	0	0	0
DYS199									
C	0,93		1		0,98	0,17	1	1	
T	0,07		0		0,02	0,83	0	0	
YAP									
(+)	0,63		0,13		0,15	0	0,21	0,82	
(-)	0,37		0,87		0,85	1	0,79	0,18	
DYS390									
21			0,03		0,05	0,09	0,071	0,69	
22			0,11		0,17	0,17	0,21	0,05	
23			0,22		0,22	0,48	0,37	0,13	
24			0,51		0,54	0,24	0,14	0,13	
25			0,12		0,02	0,02	0,21	0	
26			0,01		0	0	0	0	

Tabela XI: Frequência dos alelos dos marcadores DYS19, DYS199, YAP e DYS390 em amostras de asiáticos.

Marcador	Kayser e col., 2001				Pioomelli e col., 2002				Forster e col., 2000				Thomas e col., 2000		Qamar e col., 1999	
	China	Taiwan	Mongólia	Índia	Askenasi	Sefaradi	Japão	Mongólia	China	Turquia	Askenasi	Sefaradi	Askenasi	Sefaradi	Paquistão	
	N=36	N=30	N=40	N=25	N=15	N=23	N=44	N=20	N=35	N=40	N=60	N=50	N=60	N=50	N=406	
DYS19																
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0.03	0	0	0.20	0.13	0.02	0	0.09	0.23	0.23	0.30	0.23	0.30	0.06	0.06
14	0.26	0.03	0.28	0.04	0.53	0.44	0.07	0.30	0.12	0.40	0.50	0.54	0.50	0.54	0.36	0.36
15	0.27	0.70	0.32	0.68	0.20	0.17	0.32	0.36	0.38	0.23	0.22	0.14	0.22	0.14	0.31	0.31
16	0.39	0.14	0.30	0.08	0.07	0.17	0.27	0.26	0.32	0.08	0.06	0.02	0.06	0.02	0.23	0.23
17	0.06	0.10	0.05	0.2	0	0.09	0.32	0.05	0.09	0.06	0	0	0	0	0.05	0.05
18	0.03	0	0.05	0	0	0	0	0.05	0	0	0	0	0	0	0	0
DYS199																
C																
T																
YAP																
(+)					0.47	0.13	0.39	0	0	0.20	0.17	0.14	0.17	0.14	0.06	0.06
(-)					0.53	0.87	0.61	1	1	0.80	0.83	0.86	0.83	0.86	0.95	0.95
DYS390																
21	0.03	0	0	0.08	0	0	0	0	0	0.06	0	0.02	0	0.02	0	0
22	0.06	0	0.08	0.08	0	0.22	0.21	0.15	0.09	0.06	0.12	0.10	0.12	0.10	0.06	0.06
23	0.52	0.67	0.26	0.2	0.13	0.52	0.23	0.26	0.42	0.33	0.36	0.52	0.36	0.52	0.36	0.36
24	0.26	0.30	0.36	0.12	0.54	0.22	0.21	0.30	0.38	0.33	0.33	0.30	0.33	0.30	0.30	0.30
25	0.14	0.03	0.28	0.36	0.33	0.04	0.23	0.30	0.11	0.40	0.17	0.06	0.17	0.06	0.06	0.06
26	0	0	0	0.16	0	0	0.12	0	0	0	0.02	0	0.02	0	0	0
27	0	0	0.03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabela XI. Continuação

Marcador	Pérez-Lezaune et al., 1999		Quintana-Murci et al., 1999				Forster et al., 1998							
	Kasacaquiao		Índia	Tunisia	Libano	Iraque	Seturadi	Askenasi	Malásia	Japão	Mongólia	China	Índia	Java
	N=56		Hindu N=46	N=72	N=77	N=46	N=42	N=41	N=13	N=150	N=40	N=72	N=27	N=53
DYS19														
11	0		0	0.01	0	0	0	0						
12	0		0	0	0	0	0	0						
13	0		0.07	0.38	0.22	0.15	0.19	0.24						
14	0.08		0.35	0.42	0.52	0.61	0.41	0.47						
15	0.08		0.28	0.15	0.18	0.15	0.29	0.20						
16	0.84		0.30	0.03	0.07	0.07	0.05	0.07						
17	0		0	0.01	0.01	0.02	0.03	0.02						
18	0		0	0	0	0	0	0						
DYS199														
C														
T														
YAP														
(+)			0	0.43	0.17	0.11	0.19	0.21						
(-)			1	0.57	0.83	0.89	0.81	0.79						
DYS390														
21	0.02								0	0	0	0.01	0	0.04
22	0.02								0	0.16	0.07	0.04	0.07	0.04
23	0.08								0.32	0.19	0.25	0.51	0.64	0.3
24	0.18								0.37	0.22	0.39	0.29	0.07	0.32
25	0.61								0.31	0.36	0.27	0.14	0.22	0.28
26	0.09								0	0.07	0	0.01	0	0.02
27	0								0	0	0.02	0	0	0

Tabela XI. Continuação

Marcador	Hammer e col., 1997						Santos e col., 1996							
	Arábia Saudita	Emirados Árabes	Irã	Índia	China	Taiwan	Coreia	Tibete	Japão	China	Mongólia	Japão	Coreia	Taiwan
	N=22	N=20	N=5	N=39	N=48	N=76	N=27	N=30	N=132	N=5	N=48	N=136	N=33	N=14
DYS19														
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0.01	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0.05	0.05	0	0	0.04	0.04	0	0	0.08	0	0.02	0.07	0	0.06
14	0.54	0.65	0.20	0.23	0.10	0.28	0.26	0.23	0.03	1	0.33	0.03	0.24	0.29
15	0.23	0.15	0.80	0.51	0.53	0.38	0.22	0.67	0.49	0	0.29	0.49	0.46	0.29
16	0.18	0.15	0	0.21	0.25	0.25	0.41	0.10	0.25	0	0.27	0.24	0.21	0.29
17	0	0	0	0.05	0.08	0.04	0.11	0	0.15	0	0.04	0.16	0.09	0.06
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.04	0.01	0	0
DYS199														
C														
T														
YAP														
(+)	0.09	0.10	0.20	0	0	0.01	0	0.47	0.42					
(-)	0.91	0.90	0.80	1	1	0.99	1	0.53	0.58					
DYS390														
21														
22														
23														
24														
25														
26														
27														

ANEXO II

Resultados da análise dos marcadores polimórficos DYS19, DYS199, YAP e DYS390 em todos os indivíduos estudados.

Resultados da análise dos marcadores polimórficos DYS19, DYS199, YAP e DYS390, em todos os indivíduos estudados. Os alelos dos microssatélites DYS19 e DYS390 estão representados pelo número do alelo; C significa o alelo “C” e T o alelo “T” no loco DYS199; (+) significa presença da inserção YAP e (-) significa ausência desta; T significa o alelo T do M168 e **T** significa o alelo T no M168, porém deduzido com base no parentesco. AB representa os indivíduos estudados em Abobral, GA os de Galvão, SP os de São Pedro, PC os de Pedro Cubas, PS os de Pilões, MR os de Maria Rosa, F e COM, os de São Paulo.

Indivíduo	DYS19	DYS199	YAP	DYS390	M168
AB-01	14	C	-	23	
AB-06	17	C	+	21	
AB-11	16	C	+	21	
AB-12	14	C	-	25	T
AB-24	14	C	-	25	T
AB-30	15	C	+	21	
AB-40	15	C	-	24	T
AB-44	15	C	-	24	T
AB-46	16	C	+	21	
AB-47	15	C	-	24	T
AB-48	17	C	+	21	
AB-49	14	C	-	25	T
AB-50	14	C	-	25	T
AB-56	14	C	-	25	T
AB-58	14	C	-	25	T
AB-61	14	C	-	23	
AB-66	17	C	+	21	
AB-74	14	C	-	23	
AB-77	16	C	+	21	
AB-83	16	C	+	21	
AB-85	14	C	-	23	
AB-88	14	C	-	25	T
AB-90	14	C	-	25	T
AB-97	15	C	-	24	
AB-111	14	C	-	24	
AB-120	14	C	-	23	
AB-127	17	C	+	21	
AB-129	17	C	+	21	
AB-131	17	C	+	21	
AB-136	14	C	-	24	
AB-158	15	C	-	24	
AB-168	14	C	-	24	
AB-175	13	C	+	23	
AB-179	16	C	-	24	
AB-187	17	C	+	21	
AB-189	14	C	-	25	T
AB-201	15	C	-	22	
AB-202	14	C	-	25	T
AB-206	14	C	-	25	T
AB-210	14	C	-	25	T
AB-213	15	C	-	24	
AB-217	14	C	-	24	
AB-218	15	C	-	22	
AB-224	14	C	-	23	
AB-226	14	C	-	23	T
AB-239	15	C	+	21	

ANEXO II (Continuação)

Indivíduo	DYS19	DYS199	YAP	DYS390	M168
AB-249	14	C	-	25	T
AB-258	14	C	-	25	T
GA-01	15	C	-	24	T
GA-07	15	C	-	24	T
GA-17	15	C	-	24	T
GA-21	15	C	-	24	T
GA-22	15	C	-	24	T
GA-23	15	C	-	24	T
GA-25	16	C	+	21	T
GA-31	15	C	-	24	T
GA-33	16	C	+	21	T
GA-38	15	C	-	24	T
GA-43	15	C	-	24	T
GA-45	14	C	-	23	T
GA-46	15	C	-	24	T
GA-55	15	C	-	24	T
GA-59	15	C	-	24	T
GA-60	15	C	-	25	T
GA-64	15	C	+	22	
GA-65	15	C	+	22	
GA-66	16	C	-	23	T
GA-69	15	C	-	24	T
GA-75	15	C	-	24	T
GA-87	16	C	+	21	
SP-01	15	C	-	24	T
SP-07	15	C	-	25	T
SP-10	16	C	+	21	T
SP-25	15	C	-	23	T
SP-26	15	C	-	24	T
SP-27	15	C	-	25	T
SP-28	14	C	-	23	T
SP-30	14	C	-	23	T
SP-33	16	C	+	21	T
SP-42	15	C	-	24	T
SP-43	15	C	+	22	T
SP-52	15	C	-	24	T
SP-57	15	C	-	25	T
SP-60	15	C	-	23	T
SP-61	16	C	+	21	T
SP-63	15	C	-	24	T
SP-68	14	C	-	23	T
SP-70	15	C	+	21	T
SP-72	14	C	+	22	
SP-81	13	C	-	24	T
SP-83	15	C	-	24	T
SP-89	13	C	-	24	T
PC-03	13	C	-	24	T
PC-10	15	C	-	21	
PC-12	14	C	-	24	
PC-14	16	C	+	21	T
PC-21	15	C	+	21	
PC-26	14	C	-	24	T

ANEXO II (Continuação)

Indivíduo	DYS19	DYS199	YAP	DYS390	M168
PC-27	16	C	+	21	
PC-34	14	C	-	24	
PC-38	15	C	-	22	
PC-40	16	C	+	21	T
PC-51	14	C	+	21	T
PC-52	14	C	-	25	T
PC-58	13	C	+	23	
PC-61	16	C	-	24	T
PC-62	16	C	-	24	T
PC-64	14	C	-	23	
PC-65	15	C	-	24	T
PC-72	13	C	+	24	
PC-76	14	C	-	25	
PC-93	15	C	-	24	
PC-101	15	C	+	21	
PC-105	13	T	-	24	T
PC-111	13	C	+	24	
PC-115	13	C	+	24	
PC-130	15	C	+	21	
PC-134	14	C	+	21	
PC-135	15	C	+	21	
PC-143	16	C	+	21	
PC-148	13	T	-	24	T
PC-153	15	C	-	21	
PC-156	16	C	+	21	T
PC-157	16	C	+	21	T
PC-158	14	C	-	24	T
PC-164	15	C	-	21	
PC-168	13	C	+	24	
PC-175	16	C	+	21	T
PC-177	14	C	-	24	
PC-178	16	C	+	21	
PC-186	13	C	+	24	
PC-187	15	C	-	22	
PC-189	14	C	-	24	T
PC-192	15	C	-	23	T
PC-197	16	C	+	21	T
PC-198	14	C	-	25	
PC-201	16	C	+	21	
PC-203	14	C	-	25	
PC-205	14	C	-	23	T
PC-210	15	C	-	23	
PC-211	14	C	-	24	
PC-216	13	C	-	24	T
PC-223	16	C	+	21	
PC-224	15	C	-	24	T
PC-225	15	C	+	21	
PC-227	15	C	-	24	T
PC-228	16	C	+	21	T
PC-229	16	C	-	24	T
PC-230	14	C	-	24	
PC-231	14	C	-	24	
PC-238	13	T	-	24	T

ANEXO II (Continuação)

Indivíduo	DYS19	DYS199	YAP	DYS390	M168
PC-251	16	C	+	21	
PS-01	14	C	-	24	T
PS-05	14	C	-	24	T
PS-09	14	C	-	24	T
PS-24	14	C	-	24	T
PS-35	14	C	-	23	T
PS-49	14	C	-	24	T
PS-52	15	C	-	24	T
PS-69	15	C	+	21	
PS-71	17	C	+	21	
PS-72	17	C	+	21	
PS-76	15	C	+	21	
PS-79	14	C	-	24	T
PS-80	15	C	-	24	T
PS-84	14	C	-	24	T
PS-96	14	C	-	24	T
MR-01	14	C	-	23	T
MR-09	13	C	-	24	T
MR-11	13	C	-	24	T
MR-20	15	C	-	25	T
MR-23	17	C	+	21	
MR-24	15	C	-	25	
MR-34	14	C	-	24	T
MR-43	14	C	-	24	T
MR-45	14	C	-	23	T
F-1	14	C	-	24	
F-2	15	C	-	23	
F-3	15	C	-	24	
F-4	14	C	-	24	
F-5	14	C	-	24	
F-6	13	C	-	23	
F-7	14	C	-	25	
F-8	15	C	-	21	
F-9	14	C	-	22	
F-10	14	C	-	24	
F-11	14	C	-	24	
F-12	14	C	-	22	
F-13	14	C	-	21	
F-14	15	C	-	24	
F-15	16	C	-	23	
F-16	14	C	-	24	
F-17	15	C	-	23	
F-18	15	C	-	24	
F-19	14	C	-	24	
F-20	14	C	-	24	
F-21	14	C	-	24	
F-22	15	C	-	24	
F-23	16	C	-	24	
F-24	14	C	-	21	
F-25	13	C	+	24	
F-26	15	C	-	23	
F-27	15	C	-	24	
F-28	13	C	+	24	
F-29	14	C	+	24	

ANEXO II (Continuação)

Indivíduo	DYS19	DYS199	YAP	DYS390	M168
F-30	14	C	-	24	
F-31	15	C	-	22	
F-32	16	C	-	24	
F-33	16	C	-	23	
F-34	13	C	+	24	
F-35	14	C	-	25	
F-36	14	C	-	24	
F-37	14	C	+	22	
F-38	13	C	+	24	
F-39	16	C	-	25	
F-40	14	C	-	24	
F-41	14	C	-	24	
F-42	16	C	+	21	
F-43	14	C	-	24	
F-44	16	C	-	23	
F-45	14	C	-	24	
F-46	14	C	-	24	
F-47	14	T	-	23	
F-48	14	C	-	24	
F-49	13	C	-	23	
F-50	14	C	-	25	
F-51	15	C	-	24	
F-52	15	C	-	24	
F-53	14	C	-	23	
F-54	15	C	-	22	
F-55	14	C	+	23	
F-56	14	C	-	24	
F-57	16	C	-	22	
F-58	14	C	-	24	
F-59	14	C	-	24	
F-60	14	C	-	24	
F-61	13	C	+	23	
F-62	16	C	-	23	
F-63	15	C	-	23	
F-64	15	C	+	21	
CON03	13	C	+	23	
CON04	14	C	-	25	T
CON07	13	C	-	24	T
CON12	15	C	-	24	T
CON13	14	C	-	24	T
CON17	17	C	-	25	T
CON18	14	C	-	25	T
CON19	15	C	-	23	
CON24	15	C	-	24	
CON27	16	C	-	23	
CON28	18	C	-	23	
CON33	12	C	+	23	
CON36	14	C	-	22	
CON37	13	C	+	24	T
CON40	14	C	-	24	
CON43	14	C	-	24	
CON56	14	C	-	23	