Daniel Rincon

Estudos de DNA Mitocondrial em Populações Remanescentes de Quilombos do Vale do Ribeira – São Paulo.

São Paulo

2009

Daniel Rincon

Estudos de DNA Mitocondrial em Populações Remanescentes de Quilombos do Vale do Ribeira – São Paulo.

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

Orientador(a): Profa. Dra. Regina Célia Mingroni Netto

São Paulo

2009

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 30 remanescentes de quilombos. Dessas, 24 já foram oficialmente reconhecidos ou estão em fase de reconhecimento.

Com a finalidade de contribuir para o conhecimento da estrutura populacional e da história de formação dessas comunidades afro-descendentes, estudamos o DNA mitocondrial de 939 indivíduos adultos de doze populações de quilombos: Abobral Margem Esquerda (100), Abobral Margem Direita (41), Galvão (59), São Pedro (65), Pedro Cubas (100), Pilões (49), Maria Rosa (19), André Lópes (110), Nhunguara (123), Sapatu (95), Ivaporunduva (133), Poça (51), além de uma amostra de 104 indivíduos da cidade de São Paulo. As estratégias empregadas para a determinação dos haplogrupos de DNA mitocondrial se basearam em PCR-RFLP (sítio 3592 com a enzima *Hpa* I), estudo da deleção de 9pb (entre os genes da *COII* e $RNAt^{Lys}$) e sequenciamento da região hipervariável I do DNA mitocondrial (HVS-I).

Nas doze populações de quilombos, importante contribuição ameríndia (com 49,3% de linhagens) e africana (49,2% das linhagens) foram detectadas e poucas linhagens européias foram observadas. Resultados de estudos sobre a origem dos cromossomo Y, realizados nas mesmas comunidades do Vale do Ribeira por nossa equipe contrastam com as análises de DNA mitocondrial, pois indicaram reduzida contribuição ameríndia. Essa assimetria sugere pouca importância do homem indígena e muita importância da mulher indígena na origem dessas comunidades. Os resultados de sequenciamento da HVS-I indicaram a provável origem na região centro-oeste africana (Bantos) para as linhagens africanas, com destaque para o atual território de Angola. Uma possível contribuiçãodas populações indígenas Guarani e Kaigang na origem das linhagens ameríndias foi detectada.

Foi possível identificar em quase todas as populações afro-descendentes haplótipos predominantes, tanto de origem africana como ameríndia, candidatos a fundadores, com exceção feita a Maria Rosa, André Lópes, Nhunguara e Poça. Galvão foi a comunidade de quilombo que evidenciou maior efeito de fundador e, consequentemente, onde se observou o menor índice de diversidade haplotípica.

Na análise dos dendrogramas, os remanescentes de quilombos de Galvão, São Pedro, Sapatu e Ivaporunduva mostram-se mais próximos das populações ameríndias do que das

demais populações da literatura. As demais comunidades remanescentes de quilombos (André Lópes, Poça, Pedro Cubas, Abobral, Nhunguara, Pilões e Maria Rosa) estão geneticamente mais próximas de populações da etnia Banto. A comunidade da Poça se manteve próxima a São Paulo e separada das demais comunidades quilombolas, provavelmente devido à maior presença de material genético europeu nessa comunidade. As proximidades genéticas observadas entre os grupos de populações Galvão e São Pedro; Abobral Margem Esquerda e Margem Direita; São Pedro, Galvão, Sapatu e Ivapotunduva e, finalmente, entre Nhunguara e André Lopes, é confirmada pelos registros históricos, que atestam para proximidade genealógica e geográfica desses grupos. Pilões e Maria Rosa não se apresentaram tão próximas entre si, como esperado, provavelmente devido à redução do tamanho populacional. Finalmente, como esperado pelos registros históricos, os demais afro-descendentes do Brasil e populações africanas da etnia banto formaram um clado, assim como os brasileiros brancos e as populações de origem portuguesa que também formaram um clado.

Os nossos resultados apontam para uma formação genética e histórica muito rica e diversa nos remanescentes de quilombos. Especialmente relevante foi a constatação de importante contribuição genética indígena preservada nos quilombos. Essas populações, paradoxalmente, podem fornecer um excelente material para investigar a diversidade genética dos ameríndios. Este fato é é importante, se considerarmos o processo contínuo de depopulação indígena provocada pela entrada de grupos europeus no continente americano.

Abstract

At least 30 *quilombo* remnants are supposed to exist in the Vale do Ribeira region, located in the southern part of São Paulo State. Twenty-four of those African-derived have already been identified and officially recognized as *quilombo* remnants.

In order to shed light on the structure and history of the foundation of these *quilombo* remnants we investigated the mitochondrial DNA of 939 individuals from twelve populations: Abobral Left Margin (100), Abobral Right Margin (41), Galvão (59), São Pedro (65), Pedro Cubas (100), Pilões (49), Maria Rosa (19), André Lópes (110), Nhunguara (123), Sapatu (95), Ivaporunduva (133), Poça (51). In addition, we investigated 104 individuals sampled from the city of São Paulo. The mitochondrial DNA haplogroups were identified by PCR-RFLP (site 3592 with the *Hpa* I enzyme), a 9pb deletion (between *COII* e $RNAt^{Lys}$ genes) and sequencing of the first mitochondrial DNA hipervariable region (HVS-I).

The twelve African-derived populations investigated showed high frequencies of Amerindian (49,3%) and African (49,2%) lineages and a small European contribution (1,5%). Studies based on Y chromosome haplotypes carried out with the same *quilombo* populations in our laboratory presented contrasting results with the analyses of mtDNA and showed reduced amerindian contribution. This asymmetry suggests reduced genetic contribution of Amerindian men and an important role of Amerindian women during the foundation process of these populations. The sequencing data indicated a probable geographic origin in Central and Western Africa (Bantu) for the African lineages, especially in the current territory of Angola. A possible Guarani and Kaigang origin for the amerindian lineages was indicated.

It was possible to identified in almost all the afro-derived populations, frequent haplotypes considered as candidates to founders, some African and some Amerindian. Exceptions to this rule occurred in Maria Rosa, André Lopes, Nhunguara e Poça populations. Galvão showed the lowest genetic diversity, indicating that this population was the most influenced by founder effect.

In the neighbor-joining tree, built with haplotypic frequencies found in the *quilombos*, São Paulo and other previously reported populations, the *quilombos* of Galvão, São Pedro, Sapatu and Ivaporunduva were closer to the Amerindian populations. The remaining

populations (André Lopes, Poça, Pedro Cubas, Abobral Left Margin, Abobral Right Margin, Nhunguara, Pilões and Maria Rosa) were closer to African Bantu populations. The genetic similarities observed between the population groups of Galvão and São Pedro, Abobral Left Margin and Abobral Right Margin; Nhunguara and André Lopes, and São Pedro, Galvão, Sapatu and Ivaporunduva, were confirmed by historical records that support their geographic and genealogical proximity. Pilões and Maria Rosa, also geographically close, did not cluster together as expected, probably due to a recent population bottleneck. Poça clustered with São Paulo, but kept distant from the remaining *quilombo* remnants, probably due to the highest relative European ancestral contribution. As expected based on historical records, other Brazilian African-derived populations and African Bantu populations grouped. The same was observed with white Brazilian and Portuguese populations.

Our results indicated a diverse genetic background in the foundation of the *quilombo* populations. Interestingly, these studies have revealed a high matrilineal genetic contribution of Amerindians. The *quilombo* remnant populations, paradoxically, seem to be an excellent source of material to investigate the genetic diversity of Amerindian populations. This is of great relevance, taking into account the depopulation of Brazilian native populations which happened after the beginning of the occupation process by European colonizers.

1 - INTRODUÇÃO

1 – Introdução

1.1 - Polimorfismos Genéticos e a Genética de Populações

As metodologias históricas, sociológicas e antropológicas eram e ainda são as tradicionais ferramentas nos estudos e da origem do povo brasileiro. Dentro deste contexto, podemos destacar as obras de Paulo Prado em *Retrato do Brasil* de 1927, de Gilberto Freyre em *Casa Grande e Senzala* de 1933, de Sérgio Buarque de Holanda em *Raízes do Brasil* de 1936 e de Darcy Ribeiro em várias obras, como, por exemplo, em *O Povo Brasileiro*, de 1995, como trabalhos marcantes sobre as origens do povo brasileiro.

Neste esforço multidisciplinar que é reconstruir aspectos da história da formação e miscigenação da população brasileira, a genética molecular e a genética de populações constituem as mais novas ferramentas na compreensão do processo que gerou o brasileiro atual. Dentro deste novo panorama, a filogeografia, ramo da ciência que estuda os processos que governam a distribuição geográfica de linhagens genealógicas dentro das espécies, com ênfase em fatores históricos, ganha um papel importante, integrando conhecimentos da genética molecular, genética de populações, demografia e geografia histórica.

Duas estratégias de estudo são empregadas na genética molecular para a análise da história passada dos humanos: o estudo genético de populações atuais, que permitem inferências sobre a sua história, e o de populações do passado, por meio de estudo genético de ossadas e múmias. Esta segunda estratégia também pode ser chamada de arqueologia molecular (Renfrew e Boyle, 2000).

Por muito tempo predominaram os polimorfismos protéicos, hoje chamados de polimorfismos clássicos, como objeto dos estudos sobre a variabilidade genética humana. Os mais difundidos foram os estudos sobre polimorfismos de grupos sanguíneos, de proteínas do complexo de histocompatibilidade (HLA), de imunoglobulinas e de outras proteínas plasmáticas ou presentes nas hemácias (Cavalli-Sforza e col, 1996; Cavalli-Sforza, 1998; revisão em Cavalli-Sforza e Feldman, 2003).

Os antígenos que caracterizam os diferentes grupos sanguíneos se encontram na superfície das hemácias e podem ser identificados por meio de técnicas imunológicas. Os

grupos sanguíneos mais estudados são aqueles de importância clínica, como ABO e Rh, mas muitos outros foram estudados.

As proteínas do HLA também se encontram na superfície de certas células, os linfócitos. O sistema antígeno leucocitário humano, ou HLA (do inglês: *Human leukocyte antigen*), é o nome do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) humano. Essas proteínas participam de processos que culminam com a formação dos anticorpos e seu estudo é importante em transplantes de órgãos. O grau de polimorfismo nos genes dessa super família gênica é muito elevado (Cavalli-Sforza e col, 1996; Cavalli-Sforza, 1998; revisão em Cavalli-Sforza e Feldman, 2003). As proteínas da família das imunoglobulinas, os anticorpos, são também muito polimórficas e podem ser estudadas quanto a variações.

Os estudos com marcadores clássicos predominaram entre os anos de 1950 a 1980, aproximadamente. Eles mostram apenas uma pequena parcela da variação genética existente, isto é, apenas aquela que resulta em modificações do produto gênico. Contudo, as análises com polimorfismos protéicos são ainda muito úteis em estudos evolutivos de longo prazo, uma vez que as variações protéicas são evolutivamente mais conservadas que variações de sequências de DNA.

Com o desenvolvimento de métodos investigativos de sequências de DNA, a base molecular desses polimorfismos pode ser diretamente observada. As inferências evolutivas puderam a partir de então ser realizadas não somente pela análise de frequências alélicas, mas também pela comparação molecular entre os diferentes alelos, ou seja, de suas sequências nucleotídicas. Além disso, as regiões não codificadoras de polipeptídeos passaram também a ser alvo de estudo. Os estudos genético-populacionais tornaram-se especialmente mais atraentes e factíveis com o emprego dos marcadores polimórficos de DNA, mais numerosos e, em geral, com maior número de variações do que os polimorfismos protéicos. Ainda acrescenta-se a vantagem de terem sua análise menos trabalhosa e cada vez mais veloz em virtude da automação dos métodos de análise. Diversos marcadores polimórficos de DNA se encontram distribuídos em todo o genoma e são empregados na identificação individual e mapeamento de genes, além dos estudos genético-populacionais.

Polimorfismos de DNA são sequências de nucleotídeos que apresentam duas ou mais diferentes formas. Nos dias de hoje, pode-se aplicar a denominação de “alelos” a qualquer

variante das sequências 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 recorrentes e deve ocorrer com uma frequência maior que 1% (Kendrew, 1999). É importante destacar que esse limiar de frequência para que se considere um alelo como polimórfico é essencialmente arbitrário e outras propostas para esse valor coexistem na literatura. É problemática não somente a definição de polimorfismo, mas também a confusão que abrange termos como variante ou mesmo mutação, especialmente entre profissionais das área de genética evolutiva e genética médica (Cummings, 2000; Condit e col, 2002).

A seguir apresentaremos uma breve revisão sobre os tipos de polimorfismos genéticos. Esta revisão foi compilada de algumas fontes, como Cavalli-Sforza (1998), Nei e Kumar (2000), "International Human Genome Sequencing Consortium" (2001), Cavalli-Sforza e Feldman (2003), Jobling (2004) e "The International HapMap Consortium" (2007).

Polimorfismos de DNA se originam devido a deleções, substituições e inserções de um ou mais nucleotídeos, devido a variações no número de cópias de sequências repetidas ou também a inserções de elementos genéticos móveis.

Alterações em um único nucleotídeo, causadas por deleções, substituições e inserções, são conhecidas como SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) e podem ser identificados por alterações em sítios de restrição de enzimas, que podem ser criados ou suprimidos (técnica de RFLP), ou pelo sequenciamento de um segmento de DNA. Dados do projeto HapMap registram aproximadamente 3,1 milhões de SNPs mapeados e genotipados em 270 indivíduos de quatro regiões geográficas do planeta (International HapMap Comsortium, 2007).

Variações no número de cópias de sequências repetidas são conhecidas como VNTRs (*variable number of tandem repeats*). Uma repetição em série *(tandem repeat*) é uma sequência de DNA que é repetida em série e adjacente num locos cromossômico específico. As repetições em série são encontradas ao longo de todo o genoma humano e o número de unidades repetidas varia entre indivíduos. As vantagens das VNTRs são a existência de grande número de alelos diferentes na população e o fato de serem muito numerosas, consistindo em cerca de 3% do total do genoma humano. Elas podem ser classificadas de acordo com o tamanho de suas unidades de repetição. As mais abundantes no genoma

humano são as repetições do tipo microssatélites, com unidades de repetição entre uma a 13 bases. Existem também as repetições do tipo minissatélites, com unidades de repetição que variam de 14 a cerca de 500 bases (International Human Genome Sequencing, 2001). Há outros critérios, no entanto, para a classificação de microssatélites e minissatélites, em função do tamanho da unidade de repetição.

Outro grupo de polimorfismos é aquele relacionado às inserções de elementos retrotransponíveis, divididos em LINEs (*long interspersed elements*) e SINEs (*short interspersed elements*). As inserções de sequências Alu, um tipo de SINE, são uma classe de DNA repetitivo encontrada no genoma de mamíferos, composta principalmente por sequências que se originaram como transcritos reversos de moléculas de RNA 7SL. A família de elementos *Alu* representa a SINE mais frequente, correspondendo a cerca de 14% do genoma humano. A LINE mais abundante no genoma humano é a L1, correspondendo a cerca de 21% do genoma humano. As LINEs possuem sequências codificadoras de transcriptase reversa e de endonuclease, sequências reguladoras de transcrição e regiões promotoras. Possuem, portanto, a maquinaria enzimática completa necessária à sua retrotransposição, o que não ocorre com as SINEs. 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.

Os diferentes tipos de marcadores polimórficos possuem uma taxa de evolução característica. Essas taxas podem ser classificadas como lentas ou rápidas. Os marcadores com taxas lentas (SNPs e inserções de elementos retrotransponíveis) têm a vantagem de diminuir a probabilidade de mutações recorrentes, mas se limitam a uma menor diversidade de alelos na população. Os marcadores com taxas evolutivas rápidas (VNTRs) contam com a vantagem de serem altamente polimórficos, estando, porém, mais sujeitos às mutações recorrentes. Mutações recorrentes podem levar a interpretações errôneas sobre a relação entre as entidades em estudo, sejam elas espécies ou moléculas.

O segmento exclusivo não recombinante do cromossomo Y e o DNA mitocondrial (DNAmt) possuem particularidades genéticas que os tornam atraentes para o estudo da história humana. Primeiro, eles são herdados de apenas um dos pais: o cromossomo Y é transmitido pelo espermatozóide apenas para descendentes do sexo masculino e o DNA mitocondrial é transmitido por meio do óvulo para filhos e filhas. Em segundo lugar, não

trocam genes com segmentos genômicos semelhantes, isto é, não sofrem recombinação, sendo transmitidos em bloco às gerações seguintes.

Os polimorfismos encontrados no DNAmt e no segmento exclusivo não recombinante do cromossomo Y são fruto única e exclusivamente de mutações que ocorreram ao acaso ao longo do tempo e são transmitidas às gerações futuras de forma inalterada. As mutações ocorridas ao longo da evolução geram, portanto, as variações que servem como marcadores de linhagens. Estas características permitem estudos sobre as histórias matrilineares e patrilineares, respectivamente, das populações humanas, fornecendo informações complementares.

Contudo, devemos considerar as eventuais perdas de informação quando se estudam populações atuais. Isto ocorre, pois as linhagens de DNAmt e de cromossomo Y podem ser mais facilmente extintas do que outros tipos de seqüências presentes nos autossomos. Isto acarreta que a informação obtida corresponde a uma pequena parcela da contribuição genética total dos antepassados de um indivíduo (Hedges e col, 1992).

1.2 - Estudos sobre a variabilidade humana em escala global

Questões amplas como a origem do homem moderno e os grandes trajetos da sua dispersão pelo globo, bem como as grandes migrações intercontinentais que ocorreram ao longo de milhares de anos e que moldaram a atual diversidade de povos foram tratadas em diversos estudos por meio de análises de polimorfismos de DNA (e.g, Schurr e col, 1990; Torroni e col, 1992, 1993; Forster e col, 1996; Underhill e col, 2000; Underhill e col, 2001; Fiedel, 2000; Ingman e Gyllensten, 2001; Fix, 2002; Forster, 2004; Schurr, 2004; Schurr e Sherry, 2004; Ballard e Rand, 2005; Forster e Matsumura, 2005; Mellars, 2006; Underhill e Kivisild, 2007; Derenko e col, 2007; Atkinson e col, 2008).

Como a modernização das técnicas de análise de DNA e com o acúmulo de informações dos estudos genético-populacionais, surgiram nos últimos anos diversas iniciativas em escala global de unificar os esforços dos estudos sobre a variabilidade genética humana. Com esse objetivo, vale a pena citar três importantes e audaciosos projetos para mapear a diversidade genética humana. Questões sobre as origens do homem moderno, os padrões de dispersão das populações humanas, padrões de diversidade genética e possíveis aplicações dessas informações na área biomédica estão entre os objetivos comuns a essas iniciativas.

1.2.1 - Projeto da Diversidade do Genoma Humano (HGDP)

O primeiro projeto de um estudo sistemático da diversidade genética humana com base nas moléculas de DNA teve início nos anos 90. O geneticista Luigi Cavalli-Sforza, do Morrison Institute da Universidade de Stanford, propôs um projeto para construir uma grande coleção de informações genéticas de populações das mais diversas partes do mundo para a realização de estudos comparativos sobre variabilidade humana (http://www.stanford.edu/group/morrinst/hgdp.html). A proposta foi conhecida como HGDP (*The Human Genomic Diversity Project*). Logo no início do projeto, em 1994, dificuldades éticas e obstáculos políticos atrasaram o andamento das investigações. Um importante obstáculo inicial foi o questionamento de povos indígenas e organizações não-governamentais quanto a um possível envolvimento de interesses comerciais no projeto (Cavalli-Sforza, 2005). De 1994 a 1997 os organizadores do HGDP reorganizaram o projeto que foi submetido a análise no NAS-NCR (*National Research Council of the National Academy of Sciences*) dos EUA, recebendo aprovação no final de 1997. O projeto desde então é supervisonado pelo NIH *(National Institute of Health)*. O principal esforço do HGDP foi organizar uma coleção de linhagens celulares linfoblastóides provenientes de populações de diversas partes do planeta. Esta coleção está sediada no CEPH (*Center for the Study of Human Polymorphims*) localizado na Fundação *Jean Dausset* em Paris, França. Este centro também é responsável pela distribuição de amostras de DNA da coleção para laboratórios interessados em pesquisas antropológicas e biomédicas. Atualmente, a coleção consiste em 1064 linhagens celulares provenientes de 52 populações ao redor do globo. Até o momento, 56 laboratórios já realizaram pedidos para ter acesso à coleção.

Em 2002, Rosenberg e col. realizaram o primeiro estudo populacional com enfoque bioantropológico utilizando a coleção do HGDP. Analizando 377 locus de microsatélites distribuídos em todos os autossomos, encontraram resultados que dão ênfase ao isolamento geográfico aliado ao efeito de deriva genética como importante fator determinante da diversidade genética humana.

Na área biomédica, a coleção também mostrou ser uma ferramenta valiosa. Seu valor está relacionado, além de outras potenciais aplicações, a ser um importante provedor de amostras populacionais para uso como grupos controle. Estudos de associação que buscam

por variantes gênicas que influenciam a susceptibilidade a diversas doenças genéticas humanas encontram uma dificuldade importante que é a obtenção de grupos controle confiáveis. A coleção se propõe a se tornar uma ferramenta importante para a obtenção de amostras apropriadas para tais estudos (Cavalli-Sforza, 2005).

1.2.2 - The International HapMap Consortium

O objetivo do projeto internacional do *HapMap* é desenvolver um mapa de haplótipos do genoma humano. Tem como objetivo descrever os padrões frequentes da variação da seqüência do DNA humano, pelo método de genotipagem de *SNP*s. Espera-se que o *HapMap* seja um importante recurso para que os pesquisadores possam encontrar genes associados às doenças e às respostas às drogas.

Dados da segunda fase do projeto apontam para aproximadamente 3,1 milhões de SNPs mapeados e genotipados em 270 indivíduos de quatro regiões geográficas do planeta (The International HapMap Consortium, 2007). Dados podem ser acessados publicamente no dbSNP (*The Single Nucleotide Polymorphism database*) hospedado no NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) e acessados em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/.

1.2.3 - Projeto Genográfico

Em 2005, a National Geographic Society e a IBM deram início a um projeto na tentativa de recompor a história das migrações da espécie humana. O Projeto Genográfico (*Genographic Project*) pretende análisar amostras de DNA, por meio de marcadores mitocondriais, do cromossomo Y e dos autossomos, de centenas de milhares de pessoas, incluindo representantes de populações nativas e de diversos segmentos da sociedade em geral, para rastrear a história do povoamento da Terra. Liderado por Spencer Wells, PhD, pesquisador-residente da National Geographic, um grupo de cientistas irá coletar amostras, analisar os resultados e elaborar relatórios a respeito das raízes genéticas dos seres humanos contemporâneos. Dez centros de pesquisas estão distribuídos em áreas estratégicas nos cinco continentes, para a coleta de amostras de DNA de comunidades nativas locais. O projeto conta com a aprovação do IRB (*Social and Behavioral Sciences Institutional*

Review Board) da *University of Pennsylvania Office Regulatory Affairs*, desde abril de 2005.

Espera-se que o projeto revele detalhes a respeito da história da migração e que leve a uma nova abordagem das conexões e diferenças que ocorrem entre os indivíduos da espécie humana. O banco de dados público resultante do trabalho abrigará uma das maiores coleções de informações genéticas sobre os humanos.

Os dados preliminares do projeto podem ser acessados publicamente em: http://www.nationalgeographic.com/genographic. O estudo iniciou em 2005 e há a previsão de que vai durar cinco anos. Dados até agora coletados totalizam 78.590 genótipos provenientes de indivíduos de diversas partes do mundo (Behar e col, 2007).

1.3 - Estudos com Polimorfismos Genéticos no Brasil

No Brasil, os estudos com marcadores clássicos, realizados predominantemente com populações do nordeste e do sudeste do país, já demonstravam um certo grau miscigenação da população brasileira, cujo padrão variava de acordo com a região analisada (revisão em Salzano, 1997; Callegari-Jacques e Salzano, 1999; Dornelles e col, 1999; Guerreiro e col., 1999; Salzano, 2002). Estudos realizados em comunidades afro-brasileiras nas regiões Norte, Sul e Nordeste do Brasil, revelaram em suas estimativas de mistura interétnica uma maior contribuição de genes de origem africana em relação a contribuição de origem ameríndia e européia (Schneider e col, 1987; Bortolini e col, 1995, 1998; Guerreiro e col, 1999). Estes resultados ratificam a história de formação dessas comunidades, que são de origem predominantemente africana. Por outro lado, estudos com populações brancas da região Sul do Brasil (Rio Grande do Sul e Santa Catarina) revelaram, como esperado, maior contribuição de genes de origem européia (Dornelles e col, 1999). Em relação às populações indígenas do Brasil, diversos trabalhos realizaram estudos sobre a variabilidade genética por meio de marcadores clássicos (Salzano e Callegari-Jacques, 1988; Salzano e col, 1991; Callegari-Jacques e col, 1994, 1996; Salzano e col, 1997; Bortolini e col, 1997). O achado mais importante desses trabalhos é a tendência geral das estimativas de diversidade genética nos ameríndios serem menores quando comparadas com qualquer outro grupo populacional, miscigenado ou não. O despovoamento provocado pelo colonizador português e os prováveis efeitos de graves gargalos sofridos durante o processo

de expansão do homem moderno da Ásia para a América, foram as explicações frequentemente levantadas para explicar esses relativos baixos índices de diversidade.

Desde a década de 80, os polimorfismos de DNA (presentes nos autossomos, no cromossomo Y e no DNA mitocondrial) foram utilizados no Brasil em estudos relacionados à origem e formação da população brasileira e relacionados também à origem do homem no Novo Mundo (e.g, Santos e col, 1993; Pena e col, 1995; Rodriguez-Delfin e col, 1997; Santos e col, 1999; revisão em Salzano, 1997; Bonatto e col, 1997a, 1997b; Bortolini e col, 1997b, 1999, 2002, 2003; Callegari-Jacques e Salzano, 1999; Alves-Silva e col, 2000; Carvalho-Silva e col, 2001; Rodriguez-Delfin e col, 2001; Tarazona-Santos e col, 2001; Tarazona-Santos e Santos, 2002; Battilana e col, 2002; Fagundes e col, 2002; Marrero e col, 2005; Dornelles e col, 2005; Ribeiro-dos-Santos e col, 2002; Feio-dos-Santos e col, 2006; Salzano e Callegari-Jacques, 2006; Ribeiro-dos-Santos e col, 2007; Wang e col, 2007; Carvalho e col, 2008; Barbosa e col, 2008; Fagundes e col, 2008a, 2008b).

Dois estudos importantes foram realizados sobre a caracterização de populações brasileiras brancas de grandes centros urbanos, utilizando marcadores de DNA mitocondrial (Alves-Silva e col, 2000) e do cromossomo Y (Carvalho e col, 2001). Os resultados destes estudos indicaram que cerca de 60 a 80% dos cromossomos Y dos brasileiros brancos são de origem européia, provavelmente portuguesa. Não foi encontrado nenhum cromossomo Y de origem ameríndia nessas amostras. Em relação às linhagens de DNA mitocondrial, os resultados são bem diferentes: cerca de 40% são de origem européia, 30% de origem africana e 30% de arigem ameríndia ou asiática. Esse elevado grau de miscigenação em indivíduos considerados brancos é um achado notável. A importância da contribuição negra na população brasileira foi também reforçada pelas estimativas de miscigenação obtidas pela análise de polimorfismos autossômicos (Pena e Bortolini, 2004). Neste trabalho foi estimado que 87% dos brasileiros (cerca de 146 milhões de pessoas) apresentam mais de 10% de ancestralidade genômica africana.

O grau elevado de miscigenação da população brasileira ficou também evidente em um estudo realizado por Parra e col, em 2003. Os pesquisadores analisaram 10 marcadores moleculares autossômicos (inserções de Alu e SNPs) e características morfológicas (cor da pele, forma do nariz, lábios e tipo de cabelo) comumente usadas para definição de raças. O

objetivo do trabalho foi verificar a existência de uma correlação entre cor de pele dos brasileiros e alelos considerados específicos de africanos, ameríndios e portugueses. Nenhuma correlação foi encontrada entre estimativas genéticas de ancestralidade e as características morfológicas comumente utilizadas para definição de raças. Outros trabalhos na mesma linha reforçam conceito de que no Brasil, a cor da pele nem sempre mostra correlação direta com a ancestralidade (Pimenta e col, 2006).

Com o objetivo de avaliar a constituição genética e origem do estoque africano presente no Brasil, diversos estudos analisaram populações afro-brasileiras rurais (remanescentes de quilombos) (eg. Schneider e col, 1987; Guerreiro e col, 1999; Bortolini e col, 1992, 1995, 1998, 1999; Silva Jr. e col, 2006; Ribeiro-dos-Santos e col, 2002, 2007; Carvalho e col, 2008) e urbanas (eg. Bortolini e col, 1995, 1997a, 1997b, 1999; Silva Jr. e col, 2006; Hünemeier e col, 2007; Gonçalves e col, 2008) além de populações urbanas miscigenadas (eg. Feio-dos-Santos e col, 2006; Barbosa e col, 2008).

Um exemplo recente de estudo com afro-brasileiros do estado de São Paulo foi o de Gonçalves e col. (2008). Foi detectado que 48% das linhagens de cromossomo Y e 85% das linhagens mitocondriais eram originárias da África subsaariana. Apenas 1,7% das patrilinhagens possuíam origem ameríndia. A presença de linhagens de cromossomo Y européias foi significativa, provavelmente causada pelo fenômeno de cruzamento direcional entre homens europeus e mulheres africanas. Assimetrias sexuais similares foram também descritas em populações afro-americanas (e.g. revisão em Lind e col, 2007; Mendizabal e col, 2008).

Vale a pena também destacar alguns trabalhos que procuraram obter estimativas da origem geográfica da contribuição africana na população brasileira por meio do estudo de pacientes afetados por anemia falciforme (Zago e col, 1992; Gonçalves e col, 1994; Figueiredo e col, 1994; Wagner e col, 1996; Pante-de-Souza e col, 1998; Gonçalves e col, 2003; revisão em Cardoso e Guerreiro, 2006). Sabe-se que existem cinco haplótipos de RFLPs ligados à mutação que causa a anemia falciforme, nomeados de acordo com sua área de ocorrência. Desses, quatro são africanos: haplótipo Banto, presente nos afetados da região Sul e central da África (inclui Congo, Angola e África do Sul) e regiões da África oriental (que inclui Moçambique); haplótipo Senegal, predominante na África Ocidental (Senegal e Gâmbia); haplótipo Benin, presente na região de Benin, Nigéria, e haplótipo

Camarões, presente na região de Camarões. O quinto haplótipo, chamado de Indo-árabe, ocorre na região sul da Ásia. O quadro geral obtido nesses estudos indicou que cerca de 69% dos indivíduos afetados têm o haplótipo Banto, 30% o haplótipo Benin e 1% o haplótipo Senegal. O haplótipo Benin foi o mais frequente somente em Salvador (45%), o que comprova o grande fluxo de escravos entre essas duas regiões. Em um trabalho do nosso grupo realizado com afro-descendentes dos remanescentes de quilombos do Vale do Ribeira, região Sudeste do Brasil (Auricchio e col, 2007), ao se analisarem 86 indivíduos com traço falcêmico de 11 comunidades, o haplótipo Banto foi também o mais frequente (81,4%), seguido dos haplótipos Benin e Senegal (8,1%) e finalmente do haplótipo Camarões (2,3%). Esta proporção corrobora os relatos históricos de que a maior parte dos escravos africanos teriam origem nos Bantos, grupo étnico que habita a região central da África (Congo, Angola) e regiões da África oriental (Moçambique).

Em relação aos estudos realizados em populações ameríndias brasileiras destacam-se aqueles realizados com a análise de polimorfismos mitocondriais e de cromossomo Y (e.g, Santos e col, 1996; Bortolini e col, 1997; Bonatto e col, 1997a, 1997b; Bortolini e col, 2002; Marrero e col, 2007; Fagundes e col, 2008a, 2008b). Reforçando os achados obtidos com marcadores clássicos, esses trabalhos com ameríndios também indicaram baixa diversidade genética com elevada diferenciação interpopulacional e, em alguns casos, presença de material genético não indígena devido a fluxo gênico com europeus e africanos.

1.4 - O DNA Mitocondrial

A mitocôndria é a organela produtora de energia nas células eucarióticas. Uma característica peculiar da mitocôndria é a presença de material genético próprio circular de dupla-hélice, o chamado DNA mitocondrial (DNAmt). O DNAmt é um material de fácil manuseio em laboratório pois se apresenta já naturalmente muito amplificado. Isto se deve ao fato de que cada célula possui muitas mitocôndrias. O número de mitocôndrias por célula varia significativamente de acordo com o tipo de célula e função biológica que exerce, variando de algumas centenas a alguns milhares destas organelas por célula (revisão em Scheffler, 2001). Além disso, cada mitocôndria apresenta várias cópias de seu próprio

genoma. Essas características resultam na obtenção de uma quantidade razoável de DNA em uma amostra pequena de tecido coletado.

Nos últimos 30 anos tem sido consolidada a teoria endossímbiótica para a origem da organela mitocondrial. Segundo essa teoria, os ancestrais da organela mitocondrial eram organismos procarióticos, que passaram a viver dentro dos ancestrais das células eucarióticas modernas. Após a consolidação de uma relação de simbiose entre a célula procariótica e a célula hospedeira, o ancestral mitocondrial (endossimbionte) perdeu genes e teve início um processo de transferência desses genes para o núcleo da célula eucariótica ancestral (revisão em Scheffer, 2001). Essas transferências são provavelmente responsáveis pelas variações no tamanho e capacidade codificante nos diferentes DNAs mitocondriais em diversas espécies de eucariotos.

Na maior parte dos genomas mitocondriais há um pequeno número de genes que codificam constituintes dos complexo da cadeia de transporte de elétrons e de um complexo da ATP sintase. Usualmente, em mamíferos e em grande parte dos metazoários, encontram-se 13 proteínas, integrantes desses complexos, codificadas pelo DNAmt. Além disso, encontram-se também codificados 2 RNAs ribossômicos e um conjunto de RNAs transportadores suficientes para a tradução dos RNAs mensageiros mitocondriais. Na grande maioria dos metazoários, o DNAmt apresenta pequenas dimensões, de aproximadamente 16,5Kb. Em outros organismos, como em algumas plantas, o tamanho pode atingir aproximadamente 350kb (revisão em Scheffer, 2001).

O DNA mitocondrial humano foi sequenciado totalmente em 1981 (Anderson e col, 1981). Ele possui um total de dezesseis mil quinhentos e sessenta e nove nucleotídeos, sendo a maior parte presente dentro de genes (Figura 1). As duas fitas do DNAmt têm diferenças significativas em relação às suas composições: a fita ou cadeia H (*heavy*) é rica em guaninas e a cadeia L (*light*), em citosinas. Uma extensão de aproximadamente mil e duzentos nucleotídeos constitui uma região não codificadora de RNAs ou peptídeos, nomeada como *Região Controle* ou *D-loop*. A denominação região controle se refere ao fato dessa região conter os promotores para a transcrição e as origens para a replicação. O termo D-*loop* está relacionado aos estágios iniciais da replicação onde a recém-sintetizada cadeia de nucleotídeos formada a partir das cadeias parentais se dispõe num formato de alça ou *loop*. Três segmentos do DNAmt localizados na região controle são altamente

polimórficos na população humana. Essas regiões são conhecidas como regiões hipervariáveis 1, 2 e 3 (HVS-1, HVS-2 e HVS-3). A região hiperveriável 1 (HVS-1) compreende as posições nucleotídicas de 16024 a 16325, a região hiperveriável 2 (HVS-2) se estende da posição 73 até a 340 e o terceiro segmento hipervariável, chamado HVS-3, está localizado entre as posições 438 e 574 (Lutz e col, 1997). Este terceiro segmento, no entanto, é menos polimórfico que HVS-1 e HVS-2. Estudos bioantropológicos tradicionalmente investigam a região HVS-1. Recentemente, diversos trabalhos têm identificado haplogrupos correlacionando polimorfismos de HVS-1/HVS-2 com variações no restante do DNA mitocondrial (e.g, Crespillo e col, 2000; Thomas e Coble, 2001; Maruyama e col, 2003; Zupanic e col, 2004; Zhang e col, 2005; Umetsu e Yuasa, 2005; Coble e col, 2006; Jin e col, 2006; Lee e col, 2006; Pellekaan e col, 2006; Hedman e col, 2007; Mabuchi e col, 2007; Morovvati e col, 2007; Gonder e col, 2007; Tetzlaff e col, 2007; Wong e col, 2007; Derenko e col, 2007; Barbosa e col, 2008; Chen e col, 2008; Achilli e col, 2008). A região HVS-3 é investigada apenas em alguns casos, quando uma discriminação adicional torna-se necessária tanto em estudos genético-populacionais como forenses.

O termo hipervariável está relacionado com a alta taxa de mutação dessas regiões, cerca de dez vezes maior que a taxa de mutação do DNA nuclear. Essa elevada taxa de mutação tem sido atribuída a três fatores que explicam não só a elevada taxa de mutação das regiões hipervariáveis como de todo o genoma mitocondrial em relação ao DNA nuclear: o fato da mitocôndria ser geradora de espécies reativas de oxigênio, proporcionando um ambiente favorável a mutações no DNA; a ausência de histonas, que exercem um papel protetor no DNA nuclear e o fato do sistema de replicação do DNA mitocondrial possuir baixa atividade de reparo quando comparado ao nuclear (revisão em Wallace, 2007; revisão em Druzhyna e col, 2008).

As regiões codificadoras contêm os genes para vários RNAs e proteínas e representam mais de 90% do DNA mitocondrial. Possuem uma taxa mutacional cerca de cinco vezes maior que a do DNA nuclear (Anderson e col, 1981) (Figura 1).

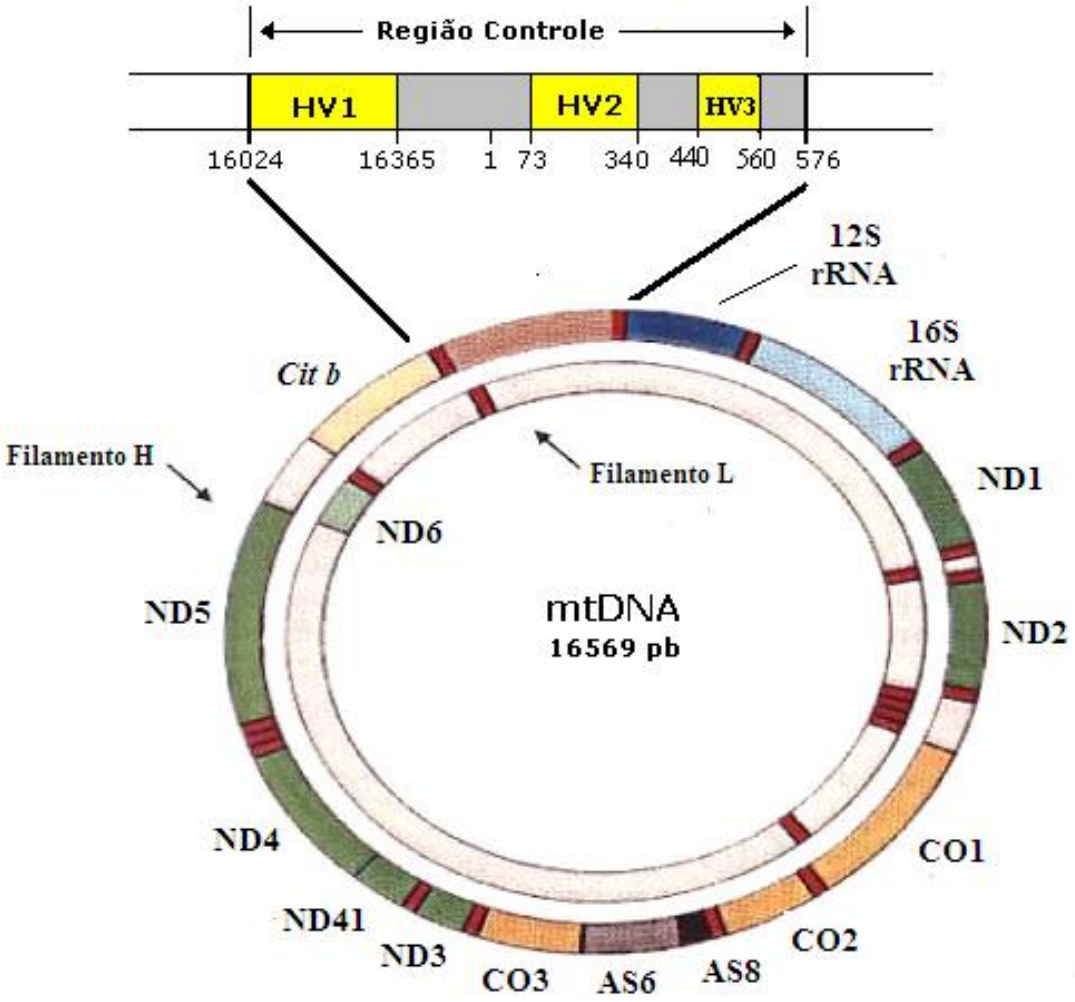

Figura 1 - Mapa do DNA mitocondrial humano com destaque para a região controle não-codificante. A figura mostra a localização das regiões hiperveriáveis 1 (HV1), 2 (HV2) e 3 (HV3); O sistema de numeração segue o da seqüência de referência padrão (Anderson e col. 1981). Os genes ND indicados na figura (ND1, ND2, ND3, ND4l, ND4, ND5 e ND6) codificam as subunidades do complexo desidrogenase ou complexo I. Os genes AS6 e AS8 codificam as subunidades para o complexo da ATP sintase ou complexo V. Os genes CO (CO1, CO2 e CO3) codificam as subunidades para o complexo citocromo c oxidase ou complexo IV. O gene *Cit b* codifica uma subunidade do complexo ubiquinol; citocromo c oxiredutase ou complexo III. Os genes 12S rRNA e 16S rRNA codificam os RNAs ribossômicos. Os genes que codificam os RNA transportadores são os curtos segmentos representados em vermelho. O filamento H corresponde à cadeia pesada e o filamento L à cadeia leve do DNA mitocondrial. (Adaptado de www.mitomap.org).

1.4.1 – Polimorfismos de DNA mitocondrial

As sequências nucleotídicas do genoma mitocondrial podem apresentar pequenas variações entre indivíduos, que geralmente compreendem mutações não-deletérias do tipo SNPs (*single nucleotide polimorphisms*).

Devido à herança estritamente materna e a sua elevada taxa de mutação, DNAs mitocondriais humanos têm sequencialmente acumulado mutações ao longo do tempo, provocando constante irradiação de matrilinhagens desde o ancestral comum africano que existiu aproximadamente entre 150.000 e 200.000 anos atrás (Johnson e col, 1983; Cann e col, 1987; Merriwether e col, 1991; Ingman e col, 2000; Wallace e col, 2000; Mishmar e col, 2003). Como resultado, a história das variantes mitocondriais pode ser reconstruída filogeneticamente a partir de sua origem comum (Ruiz-Pesini e col, 2007).

A medida que as relações filogenéticas passaram a ser elucidadas por meio de estudos de populações nativas oriundas de diferentes regiões do planeta, observou-se que os ramos dessa árvore, isto é, as diferentes linhagens mitocondriais, apresentavam forte correlação com a origem geográfica. Essas correlações foram inicialmente observadas por causa da constatação de que cada grupo populacional apresentava polimorfismos de sítios de restrição continente-específicos (Denaro e col, 1981).

Estudos subsequentes mostraram que todas as variantes mitocondriais podiam ser agrupadas em uma única filogenia e que as variantes mais polimórficas, situadas na raiz dessa filogenia, estavam presentes nas linhagens mitocondriais africanas (Cann e col, 1987; Merriwether e col, 1991).

Os conjuntos de variações de sequência encontradas em uma determinada molécula de DNA mitocondrial foram denominados de haplótipos mitocondriais. Um grupo de haplótipos relacionados, formando um clado filogenético definido, é denominado de haplogrupo (Ingman e col, 2000; Wallace e col, 2000; Mishmar e col, 2003; revisão em Wallace, 2007).

Ambas as regiões, controle e codificadora, são estudadas na detecção dos polimorfismos e identificação de haplótipos e haplogrupos. A região controle tem frequentemente seus nucleotídeos sequenciados e comparados. A região codificadora é analisada buscando-se SNPs em posições específicas. Essa busca é frequentemente realizada com o auxílio de enzimas de restrição.

As linhagens mitocondriais mais diversificadas e portanto mais antigas são as africanas, que são classificadas em quatro grandes haplogrupos: L0 (mais antigo), L1, L2 e L3 (linhagem mais recente). Os haplogrupos L0, L1 e L2 representam aproximadamente 76% de todas as linhagens subsaarianas e são definidos pela presença de um sítio de restrição

para a enzima *Hpa*I na posição 3592. Estes três haplogrupos são também usualmente agrupados no chamado Macro-Haplogrupo L. No nordeste do continente africano, duas linhagens mitocondriais denominadas M e N divergiram a partir do haplogrupo L3, aproximadamente há 65.000 anos atrás. Estes dois haplogrupos foram os únicos a deixar o continente africano em direção à Eurásia. Na Europa, o haplogrupo N deu origem ao haplogrupo H, que atualmente compreende 45% de todas as linhagens mitocondriais européias, aos haplogrupos T, U, V, W, além dos haplogrupos I, J e K. Essa irradiação das linhagens européias ocorreu aproximadamente entre 40.000 a 50.000 anos atrás. Na Ásia, as linhagens M e N deram origem a diversos haplogrupos. Entre os principais estão os haplogrupos A, B, C, D, F, G, Y e Z (Wallace e col, 1999; Mishmar e col, 2003). Durante a migração humana para a região da Sibéria, apenas os haplogrupos A, C, D e G tornaram-se prevalentes. Os haplogupos A, C e D, que representam 58% das linhagens mitocondriais siberianas, foram os que incialmente atravessaram o estreito de Bering em direção às Américas. Evidências apontam que o haplogrupo B tenha atingido o continente americano em épocas relativamente mais recentes através de uma rota alternativa contornando a Sibéria. Esta hipótese para o padrão de migração do haplogrupo B se deve ao fato de que este haplogrupo é o único encontrado em nativos americanos que está ausente em populações do norte da Sibéria, é extremamente raro no Norte do continente americano e a diversidade de sequência desse haplogrupo é mais baixa em relação aos haplogrupos A, C e D (revisão em Mishmar e col, 2003; revisão em Wallace, 2005). Finalmente um quinto haplogrupo foi identificado nas Américas, o haplogrupo X. Este haplogrupo é encontrado em baixas frequências no Norte da África, nas regiões oeste e central da Ásia, na Europa e no extremo norte do continente americano. No entanto, está ausente na Sibéria e leste da Ásia (Reidla e col, 2003). Dúvidas ainda persistem sobre a origem desse haplogrupo no Velho Mundo e razões de sua aparente presença no Novo Mundo limitada ao extremo norte da América do Norte (Dornelles e col, 2005). Um resumo da história dos principais haplogrupos mitocondriais está apresentado nas Figuras 2a e 2b.

Todas as evidências apontam que o continente americano foi o último a ser colonizado pelo homem moderno. Dados moleculares provenientes provenientes de estudos com DNAmt têm sido empregados na tentativa de desvendar os padrões, as rotas e o momento da chegada e dispersão do homem moderno no Novo Mundo (e.g, Torroni e col, 1993; Ward e col, 1993; Szathmary, 1993; Baillet e col, 1994; Torroni e col, 1994; Cann, 1994; Torroni e Wallace, 1995; Bianchi e col, 1995; Forster e col, 1996; Bonatto e Salzano, 1997a,b; Schurr e Sherry, 2004; Tamm e col, 2007; Wang e col, 2007; Kitchen e col, 2008; Fagundes e col, 2008a, 2008b).

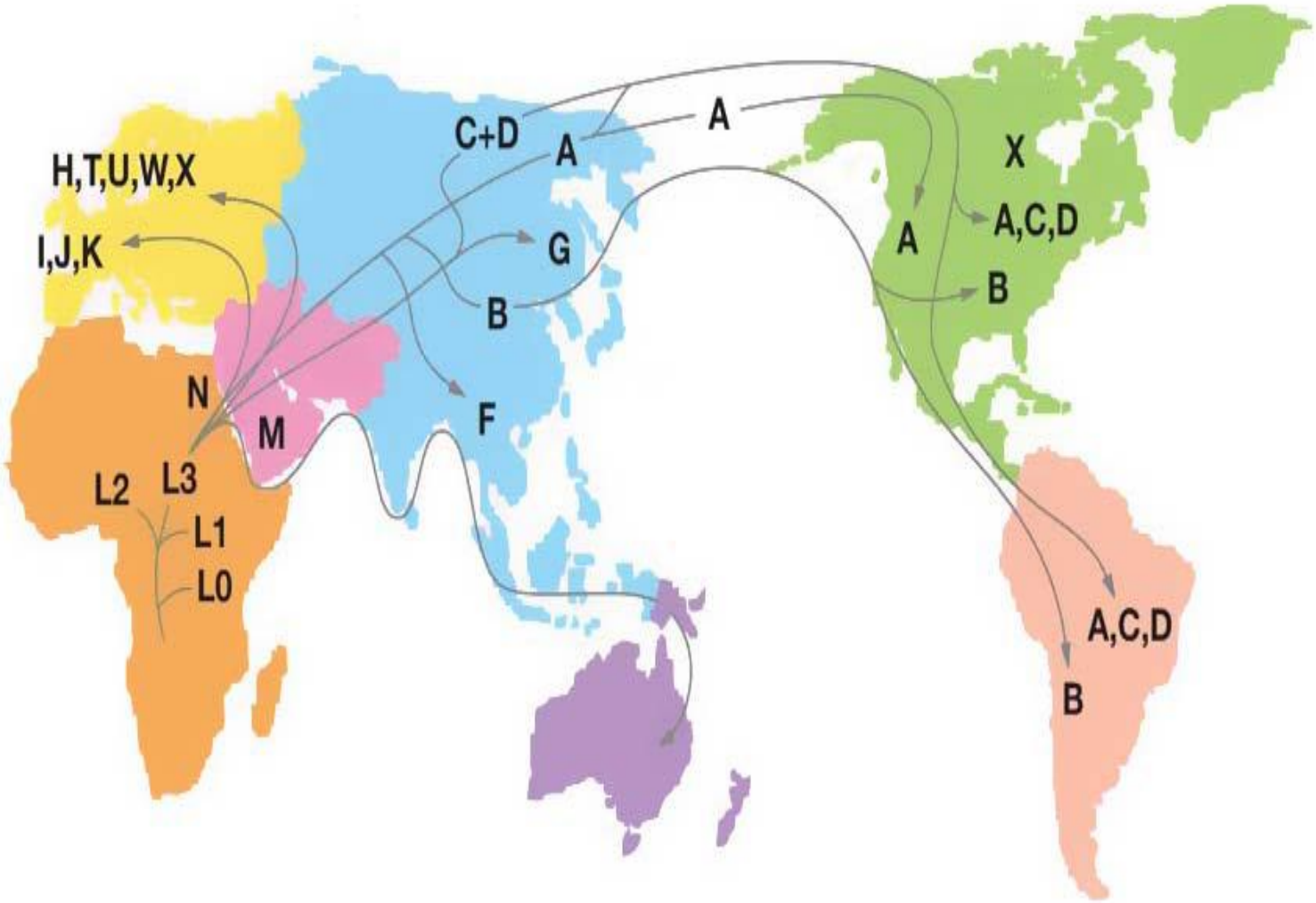

Figura 2a – Distribuição geográfica mundial dos haplogrupos e inferências sobre o padrão das migrações humanas. (Adaptado de http://www.mitomap.org).

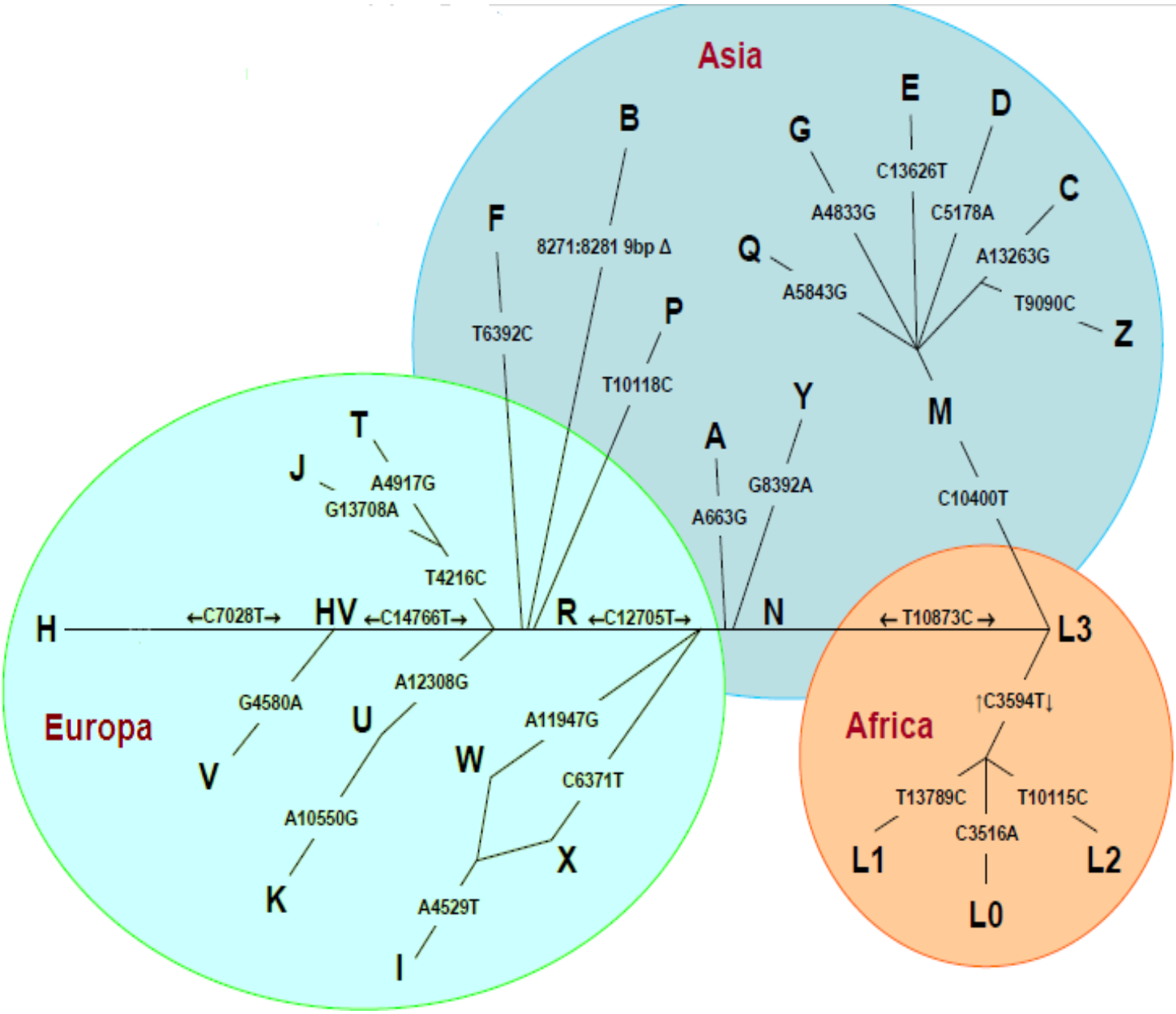

Figura 2b – Filogenia simplificada dos haplogrupos de DNA mitocondrial. As mutações, características de cada haplogrupo, são mostradas nos ramos da filogenia. Os círculos coloridos agrupam os haplogrupos de acordo com sua origem geográfica. (Adaptado de http://www.mitomap.org).

1.4.2 - Propriedades do DNA Mitocondrial

Diversos trabalhos recentemente levantaram dúvidas em relação à validade de algumas propriedades atribuídas à molécula de DNAmt, em especial no que se refere à ausência de recombinação, transmissão exclusivamente materna e sua utilização como um marcador molecular evolutivamente neutro.

A herança estritamente materna foi colocada em questão em 2003 por Bromham e col, por causa de um caso de herança paterna descrito em 2002 por Schuartz e Vissing. Neste trabalho, os pesquisadores identificaram um indivíduo que apresentava predomínio de mitocôndrias paternas em seu tecido muscular. Além de miopatia grave, o indivíduo em questão sofria de intolerância ao exercício, porque o DNAmt de origem paterna tinha uma deleção de 2pb no gene *ND2*. Outros casos de transmissão paterna não foram descritos posteriormente em humanos. Diversos estudos subsequentes falharam na identificação da presença de DNAmt paterno, mesmo em indivíduos com miopatias sabidamente de origem mitocondrial (Filosto e col, 2003; Taylor e col, 2003; revisão em Pakendorf e Stoneking, 2005). Sabe-se que as mitocôndrias espermáticas são seletivamente destruídas no oócito (Manfredi e col, 1997; Shitara e col, 1998) e que a mitocôndria paterna é marcada por ubiquitinação para que essa destruição ocorra (Sutovsky e col, 1999; Sutovsky e col, 2000). Atualmente é consenso entre os pesquisadores que os casos de transmissão paterna detectados representam na verdade falhas do mecanismo normal de reconhecimento e destruição da mitocôndria paterna. Desta forma, a transmissão exclusivamente materna da molécula mitocondrial permanece válida como paradigma nos estudos genético-populacionais (Schuartz e Vissing, 2003), dada a raridade da transmissão paterna.

A ausência de recombinação da molécula mitocondrial foi também questionada entre os anos de 1999 e 2000 por quatro trabalhos que alegavam apresentar evidências de recombinação mitocondrial (Awadalla e col, 1999; Eyre-Walker e col, 1999; Hagelberg e col, 1999; Kivisild e Villems, 2000). Diversos autores reanalizaram os dados de recombinação inicialmente apresentados e constataram erros de manipulação de dados e estratégias de análise duvisosas, o que teria levado a conclusões errôneas sobre a presença de recombinação (Actander, 1999; Macaulay e col, 1999; Merriwether e Kaestle, 1999; Parsons e Irwin, 2000; Elson e col, 2001; Kvist e col, 2003). No único caso descrito de transmissão mitocondrial paterna em humanos (Schwartz e Vissing, 2002), a recombinação

entre o DNA mitochondrial materno e paterno foi detectada com uma frequência de 0,7% do total de mitocôndrias do tecido muscular do indivíduo (Kraytzberg e col, 2004). Este achado reforça a idéia de que recombinação é possível, uma vez que a mitocôndria possui uma recombinase funcional (Thyagarajan e col, 1996). Qual a frequência desse fenômeno em humanos é um dado ainda incerto. Entretanto, tudo indica que se a recombinação está presente, sua incidência é provavelmente baixa. Além disso, a ausência de transmissão de mitocôndrias paternas indica que esse fenômeno, se existir, é certamente pouco relevante para os estudos populacionais. Logo, a ausência de recombinação da molécula mitocondrial permanece ainda como uma premissa válida em estudos populacionais.

A correlação entre as diferentes variantes do DNAmt e a geografia é tradicionalmente atribuída a efeitos de deriva genética. Entretanto, diversos estudos passaram a levantar evidências de que essa distribuição das variantes mitocondriais pode ter sido o resultado de seleção natural (Denaro e col, 1981; Wallace e col, 1999; revisão em Wallace, 2007). Para estes autores, o modelo de deriva genética para explicar as diferenças na distribuição das linhagens passou a ser de difícil reconciliação com os dados observados. Como exemplo, os autores citam o fato de que na região nordeste do continente africano, apesar da presença de todas as linhagens africanas, apenas os progenitores das linhagens Euroasiáticas M e N deixaram o continente e colonizaram a Eurásia. Além disso, as diferenças de frequências dos haplogrupos A, C, D e E entre a Ásia Central e a Sibéria é difícil de ser explicada apenas por efeito de deriva. Foi sugerido como mais plausível que fatores ambientais tenham favorecido a seleção de certas linhagens mitocondriais à medida que os grupos humanos se dispersavam pelo planeta.

Os genes mitocondriais possuem um papel central na produção de energia, tanto sob a forma de ATP, como sob a forma de calor para manter a temperatura do corpo. Mishmar e col. (2003) especularam que as diferenças encontradas na distribuição de linhagens podem ser reflexo de adaptações para a vida em climas cada vez mais amenos na medida em que os humanos modernos deixavam a África e se dirigiam para a Europa e o nordeste da Ásia. A fim de detectar a possível influência da seleção natural, foram calculadas razões entre as taxas de substituições não-sinônimas e taxas de substituições sinônimas nos genes mitocondriais para as diferentes regiões geográficas. Além disso, a distribuição das linhagens foi comparada com aquela que seria esperada sob a teoria da neutralidade, por

meio dos testes de Tajima e Fu (Tajima, 1989; Fu e Li, 1993). Se a seleção natural foi um importante fator na moldagem da distribuição das variantes de sequências mitocondriais, então a seleção teria atuado preferencialmente sobre variações de aminoácidos nos polipeptídeos da cadeia de fosforilação oxidativa. Os achados do grupo de Mishmar e col. (2003) corroboram essas especulações. As análises mostraram que as variações no DNA mitocondrial desviaram de uma distribuição esperada admitindo neutralidade para as linhagens Européias, Ásia Central, Sibéria e América, mas não na África. Os genes ATP6, cytb e COI são especialmente variáveis nas zonas ártica, temperada e tropical, respectivamente, e grande parte dessa variação alterou aminoácidos evolutivamente conservados. Se a seleção realmente for o principal fator da distribuição das variantes mitocondriais, a taxa de evolução molecular do DNA mitocondrial não foi, portanto, constante ao longo da história humana. Este fato poderia ter impacto nas estimativas de datação das migrações do homem moderno realizadas por meio do DNAmt.

1.5 - Diversidade genética do DNA mitocondrial nos brasileiros atuais

1.5.1 - Populações Ameríndias

Informações referentes a ameríndios mostram um padrão heterogêneo nas freqüências dos haplogrupos nas diferentes regiões do país. Os primeiros trabalhos em populações ameríndias brasileiras foram realizados na década de 90. Ao analisar tribos como Yanomami, Macushi, Tikuna e Khrao, juntamente com outras populações da América do Sul, Central e Norte, verificou-se a presença dos quatro principais grupos de haplogrupos ameríndios A, B, C e D. Grande parte dos estudos com indígenas brasileiros concentram-se na região Norte onde se encontra a maior parte das populações indígenas atuais. O que se verifica, geralmente, é uma alta freqüência de haplogrupo C, seguida pelo haplogrupo D e uma baixa freqüência dos haplogrupo A e B (revisão em Salzano, 2002). Um importante trabalho com amostras da região central e norte do país foi realizado por Ward e col. (1996). Foi analisada a região controle do DNAmt de 82 ameríndios provenientes das tribos Xavante, Zoró e Gavião. As duas primeiras tribos estão no Mato Grosso e a terceira, em Rondônia. Todas as linhagens pertenciam a um dos quatro principais haplogrupos ameríndios. De um total de 14 diferentes linhagens, 19% foram classificadas como

pertencentes ao haplogrupo A, 44% ao haplogrupo B, 7% ao haplogrupo C e 30% ao haplogrupo D. Na demais regiões do país, principalmente da costa atlântica, há lacunas na definição da distribuição dos haplogrupos indígenas.

Mendes-Júnior (2005) organizou mapas sul-americanos alternativos de distribuição das freqüências dos haplogrupos ameríndios, incorporando também dados de linhagens indígenas encontradas em populações urbanas e afro-derivadas. De uma maneira geral, é possível observar que no nordeste do Brasil, o haplogrupo B é o mais freqüente. No sudeste do país, o haplogrupo B também prevalece, seguido pelo haplogrupo A. Os haplogrupos C e D, por sua vez, apresentam baixas freqüências. Na região Sul, os haplogrupos B e D apresentam freqüências moderadas e os haplogrupos A e C são pouco freqüentes. Finalmente, no Centro-Oeste, o haplogrupo B se destaca claramente como o mais freqüente e o haplogrupo A é o menos freqüente.

No trabalho de Silva Jr. e col. (2002) com 40 indivíduos, grande parte indígenas brasileiros pertencentes a 8 etnias (Yanomama, Arara, Waiampi, Tyrio, Poturujara, Katuena, Kayapo e Guarani), foi detectada a maior prevalência dos haplogrupos A e B, seguidos pelo haplogrupo C e finalmente pelo haplogrupo D. Outro trabalho com populações indígenas foi realizado por Brandão-Ferreira (2006) com 184 indígenas pertencentes a seis aldeias Pataxó, localizadas no extremo sul da Bahia. Todos os quatro principais haplogrupos ameríndios foram detectados em todas as comunidades Pataxó, com exceção do haplogrupo D em uma delas. O haplogrupo X não foi identificado. Recentemente, Marrero e col. (2007) analisaram o DNAmt de 278 amostras de indivíduos de duas tribos indígenas, Guarani e Kaigang, localizadas em 6 reservas indígenas nas regiões central e sul do país (Mato Grosso do Sul, Paraná e Rio Grande do Sul). Dentre os 200 indivíduos Guarani analisados , três dos quatro haplogrupos ameríndios foram identificados, prevalecendo o haplogupo A (84%), seguido pelo haplogrupo C (9,5%) e D (6,5%). O haplogrupo B não foi detectado, o que contrasta com sua presença em estudos realizados com outras tribos Tupi na América do Sul (Schmitt e col, 2004). Nas 78 amostras analisadas de Kaigang, predominou o haplogrupo C (46%), seguido pelo haplogrupo A (42%) e B (5%). O haplogrupo D não foi detectado.

1.5.2 - Populações Urbanas Predominantemente Brancas

Um importante estudo foi realizado com brasileiros brancos de diferentes regiões urbanas, com uma amostra de 247 indivíduos (Alves-Silva e col, 2000). Os resultados indicaram uma diversidade muito grande de haplótipos mitocondriais. Os DNAs das mitocôndrias tiveram, em todas as regiões estudadas, uma frequência das diferentes origens geográficas relativamente uniforme: 33% de linhagens ameríndias, 28% de linhagens africanas e 39% de européias. Os haplogrupos europeus mais comuns foram o H (44%), T (14%) e J (11%), sugerindo uma origem predominantemente da Europa Ocidental; 49% da contribuição total africana foi devida principalmente aos haplogrupos L3e e L1c, freqüentes em populações da África central (Mateu e col, 1997). Os haplogrupos L3d e L1b, específicos da região ocidental do continente africano, foram detectados conjuntamente em 10% do total da contribuição africana. Poucos haplótipos específicos da África oriental foram encontrados nesse estudo, sugerindo que a maioria das linhagens africanas no Brasil são oriundas principalmente da África centro-ocidental, incluindo Camarões e Angola. Foram encontrados os quatro haplogrupos ameríndios (A, B, C e D) entre os brasileiros brancos, sendo o haplogrupo A o mais freqüente. Entretanto, a distribuição dessas linhagens nas diversas regiões do país não se mostrou uniforme. Na região Norte, o haplogrupo C era o mais freqüente e ele era o menos freqüente no Nordeste. Em 2005, Marrero e col. analisaram o DNA mitocondrial de 119 indivíduos classificados como brancos de diversas localidades do estado do Rio Grande do Sul. Apesar do predomínio das linhagens européias, a fração de linhagens ameríndias atingiu 36% e as linhagens africanas atingiram uma freqüência de 16%.

O que se conclui desses estudos é que, embora durante os 500 anos de colonização o número de indígenas tenha diminuído drasticamente, uma porcentagem significativa de linhagens ameríndias foram assimiladas pela população branca. Os brancos brasileiros guardam grande parte da história da variabilidade do DNAmt indígena. Portanto, é possível, ao se analisar a população de uma região qualquer, ter uma idéia da variabilidade do DNAmt dos índios que viveram naquela região.

Vale a pena destacar também outros quatro estudos brasileiros com populações urbanas miscigenadas (tri-híbridas). Os três primeiros foram realizados com amostras da região Amazônica e o quarto da região Nordeste do país. Na população de Belém, Santos e col.

(1999) encontraram importante assimilação de mitocôndrias ameríndias (57,5%). Marinho (2004) estudou também amostras de Belém e observou uma contribuição ameríndia ainda maior, de 64,5%. Feio-dos-Santos e col. (2006) investigaram 150 amostras não aparentadas da população de Santarém em relação ao DNA mitocondrial. Os resultados demonstraram também uma elevada contribuição de linhagens ameríndias (83,5%), distribuídas entre os 4 principais haplogrupos (A-D), seguida de linhagens africanas (14%) e européias (2,5%). Barbosa e col. (2008) estudaram as regiões hipervariáveis 1 e 2 do DNAmt de amostras provenientes de Alagoas. Com base nos resultados, um quadro distinto foi identificado em relação às populações urbanas amazônicas: 45% das sequências puderam ser classificadas como haplogrupos africanos, 27% como nativo-americanos e 25% como europeus, indicando a presença mais frequente das linhagens africanas.

1.5.3 - Populações Afro-descendentes

Estudos realizados com populações afro-brasileiras da Amazônia, comunidades remanescentes de quilombos, evidenciaram elevadas freqüências de linhagens mitocondriais africanas (L1, L2 e L3) seguidas pelas linhagens ameríndias (A, B, C e D). A detecção de haplogrupos europeus é pouco expressiva (Ribeiro-dos-Santos e col, 2002; Ribeiro-dos-Santos e col, 2007; Carvalho e col, 2008). Estes estudos indicaram que as populações quilombolas tornaram-se informativas também no que concerne à investigação da variabilidade indígena.

Abê-Sandes (2002) ao analisar duas comunidades remanescentes de quilombos no estado da Bahia, Barra e São Gonçalo, observaram ausência da contribuição européia e contribuição ameríndia variando de 6 a 22%, porcentagem inferior quando comparada as análises com remanescentes do norte do país. Silva Jr. e col. (2006) analisaram o DNA mitocondrial de indivíduos pertencentes a duas populações africanas (Congo e Camarões) e quatro populações afro-brasileiras (quilombos de Cametá, Trombetas, Cajueiro e “negros” da cidade de Ribeirão Preto). Segundo esses estudos, 80% dos indivíduos vieram da região Centro-Oeste africana, 15% do Oeste e 5% do Leste. Brandão-Ferreira, também em 2006, analisou 208 indivíduos pertencentes a quatro remanescentes de quilombos. Três eram localizados na região nordeste (Mocambo, Sacutiaba e Rio das Rãs) e quarto era localizado no Centro-Oeste brasileiro (Kalunga). Todas as comunidades apresentaram um padrão

similar: L2a e L3e foram os haplogrupos mais freqüentes, seguidos dos haplogrupos L0a, L1c, L2b e L3d. Os quatro principais haplogrupos ameríndios (A, B, C e D) foram também detectados.

Bortolini e col. (1997) estudaram 42 indivíduos afro-brasileiros de duas populações urbanas, Porto Alegre, e Salvador. Este estudo, em contraste com os realizados com quilombolas, evidenciou maior freqüência de linhagens mitocondriais africanas. Variantes das linhagens encontradas no trabalho foram descritas previamente em Senegal (Graven e col, 1995), populações da etnia Banto (Soodyall e col, 1996) e Pigmeus (Vigilant e col, 1991). Apenas 5 linhagens foram identificadas como sendo ameríndias. A baixa assimilação relativa de linhagens ameríndias sugere pouca miscigenação com indígenas nas cidades.

Recentemente, Gonçalves e col. (2008) estudaram o DNA mitocondrial de 120 indivíduos afro-descendentes da cidade de São Paulo. De maneira similar ao trabalho de Bortolini e col (1997) e em contraste com os dados obtidos com quilombos, foi detectada alta frequência de linhagens mitocondriais africanas: 102 apresentaram linhagens africanas (85%), 14 apresentaram linhagens ameríndias (11,7%) e apenas 3 indivíduos apresentaram linhagens européias (2,5%). As linhagens identificadas coincidiram com aquelas detectadas em populações nativas da África Ocidental (Kanuri, Yoruba, Senegal, Serer, Wolof, Mandenka, Mende, Loko, Limba, Temne, Guiné-Bissau e Hausa) e África Centro-Ocidental (Angola, Fang, Cabinda, Bakaka e Bassa) e África Oriental (Moçambique).

1.6 - Ocupação Humana do Brasil

Os brasileiros constituem uma das populações mais heterogêneas do mundo. São o resultado de cinco séculos de miscigenação interétnica de populações provenientes de três continentes: os colonizadores europeus, representados principalmente pelos portugueses, os escravos africanos e as comunidades indígenas.

No Brasil, ainda hoje, existem populações semi-isoladas de ameríndios e afro-descendentes que preservam, em graus variados, seus aspectos culturais e genéticos. Essas populações constituem-se importantes fontes de informação sobre os grupos étnicos fundadores da população brasileira. Para os geneticistas, um grupo populacional é considerado isolado quando está separado de outros grupos por barreiras geográficas,

políticas, sócio-culturais ou religiosas que impedem ou dificultam a troca de genes com outras populações (Beiguelman, 1994). Além do valor histórico, o estudo de populações isoladas ou semi-isoladas é de grande importância médica. Em relação à genética médica, o estudo dessas populações é relevante no mapeamento de doenças genéticas ou no estudo de doenças recessivas, como por exemplo, a retinite pigmentosa na população finlandesa ou a doença de Tay-Sachs em judeus Ashkenazi (Vogel e Motulsky, 2000).

A seguir será apresentada uma breve revisão histórica sobre a origem dos principais grupos populacionais que formaram a sociedade brasileira (europeus, ameríndios e africanos) e os principais aspectos do processo de interação entre esses grandes grupos étnicos em território brasileiro. Esta revisão foi realizada após uma compilação de informações provenientes de diversas fontes, como Salzano e Freire-Maia (1970), Carneiro da Cunha (1992), Monteiro (1994), Ribeiro (1995), Bethell (1997), Florentino (1997), Sans (2000), Alpers (2000), Bezerra-Neto (2001), Del Priori (2001) e Klein (2002).

1.6.1 – O Colonizador Português

Durante os primeiros cinquenta anos após a descoberta do Brasil, a ocupação portuguesa no território brasileiro foi mínima. Organizados em poucas feitorias dispersas ao longo do litoral, dependiam dos indígenas para alimentação e proteção. Neste período, a presença portuguesa e mesmo de outros grupos europeus, como espanhóis e franceses, consistiu nos chamados degredados. Esses indivíduos, condenados e banidos de suas terras natais, além de aventureiros em busca de enriquecimento fácil, deixaram para trás mulheres e filhos.

No período colonial, a ocupação do Brasil constituiu um problema de difícil solução para Portugal. Sua população, na época, era pouco superior a um milhão de habitantes e não tinha condições de atender as demandas das colônias portuguesas na África, Ásia e América. Além disso, segundo alguns historiadores, entre os portugueses que vinham para o Brasil, a proporção era de oito ou nove homens para cada mulher. Portugal tinha a preocupação da posse da terra. A união entre homem europeu e mulher indígena tornou-se corriqueira e mesmo encorajada oficialmente como estratégia para o aumento populacional, necessário ao processo de ocupação das terras. A partir da segunda metade do século XVI, essas uniões se intensificaram também com escravas africanas. Indícios históricos mostram

que nos tempos da colônia prevaleciam os relacionamentos sexuais entre os colonizadores europeus, que vinham em grupos de muitos homens e poucas mulheres, e as mulheres nativas (ameríndias) ou trazidas como escravas da África.

A economia colonial teve início a partir de 1531 com a expedição de Martim Afonso de Souza e seguiu o modelo do cultivo de cana-de-açúcar, construção de engenhos e uso de mão-de-obra escrava. Começava assim a caça ao indígena e, logo em seguida, o tráfico de "negros da terra", termo utilizado para diferenciá-los dos negros africanos, a fim de abastecer os núcleos de colonização.

A imigração européia, principalmente portuguesa, foi estimada em aproximadamente 500.000 indivíduos entre os anos de 1500 e 1808. Após a abertura dos portos às nações amigas, o Brasil passou a receber também um número crescente de imigrantes de diversas partes do mundo. Entretanto, a fonte portuguesa se manteve em destaque, seguida pelos italianos, espanhóis e alemães.

1.6.2 - Os Nativos brasileiros

As estimativas sobre a densidade populacional indígena presente antes da chegada do colonizador português variam entre diversos historiadores. Os números oscilam de 1,0 a 8,5 milhões para a América do Sul e de 1,0 a 6,8 milhões para o Brasil. Entre essa vasta população, desenvolveram-se civilizações heterogêneas entre as quais podemos citar os xavantes, caraíbas, tupis, jês e guaranis.

A presença dos índios no território brasileiro é muito anterior ao processo de ocupação pelos exploradores europeus. Especulações arqueológicas recentes, com base em restos de fogueira pré-históricas, sugerem que, há cinquenta mil ou quarenta mil anos antes do presente, grupos humanos já poderiam estar na serra da Capivara, no Piauí. Outras datações situam esse limite para dez ou nove mil anos antes de Cristo. Os vestígios materiais, em resumo, indicam a existência de uma cultura indígena instalada em solo brasileiro pelo menos há milhares de anos antes da chegada de Cabral.

Em geral, o maior contato desenvolvido entre índios e europeus aconteceu nas faixas litorâneas do nosso território, onde predominavam os povos indígenas pertencentes ao grupo tupi-guarani. Desde o contato com o europeu, as tribos ameríndias sofreram um

drástico declínio demográfico devido aos conflitos e doenças às quais eles não tinham resistência. Os povos que habitavam a costa, na maioria falantes de línguas do Tronco Tupi, foram dizimados, dominados ou refugiaram-se nas terras interioranas para evitar o contato. Atualmente, existem cerca de 300.000 ameríndios no Brasil, vivendo em reservas protegidas pelo Governo Federal.

1.6.3 – Os Africanos

A chegada dos africanos da África Negra em território brasileiro teve início na metade do século XVI. Desde o início vieram 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 capitaneado por Tomé de Souza.

O Brasil absorveu cerca de 39%, aproximadamente 4 milhões de indivíduos, dos cerca de dez milhões de escravos que foram trazidos para a América entre os séculos XVI e XIX. Esses escravos vinham principalmente das colônias portuguesas na África, localizadas no Congo, Angola, Moçambique, Senegal e Gâmbia, além da região de Benin e Nigéria.

Registros históricos, ainda que incompletos, indicam que a grande maioria dos escravos africanos veio da região do Congo e Angola, ou seja, do Centro-Oeste da África, onde os portugueses já haviam estabelecido colônias desde o século XVI. Esta foi a única região que manteve um fluxo constante de escravos durante todo o período do tráfico. Acredita-se que entre 1701 e 1810, mais de dois terços dos africanos importados pelo Brasil tenham vindo desta região, e apenas um terço teria vindo de portos da África Ocidental.

A região de Moçambique, na África Oriental, só passou a exportar escravos no século XIX, devido a várias dificuldades, como alto custo dos transportes, a rota mais distante e a fraca penetração portuguesa no interior do continente. Os escravos de Moçambique foram enviados principalmente para o Rio de Janeiro e daí distribuídos para Minas Gerais e para estados mais ao sul (Figura 3).

A região de Senegal e Gâmbia teria tido participação mais ativa no tráfico somente durante o século XVIII, quando guerras santas entre os estados muçulmanos da região criaram um mercado em massa de escravos.

As colônias da Baía de Benin enviaram muitos africanos para os portos de Salvador e Recife durante os séculos XVI e XVII, mesmo depois da tomada da região pelos holandeses. Esta região, juntamente com Congo e Angola, foi a fonte mais importante de escravos durante o início e fim do século XVIII.

Entre os escravos que habitavam o Brasil, havia uma grande diferença nas proporções entre as faixas etárias e entre os sexos. Devido à alta mortalidade durante a travessia do Atlântico, eram selecionados principalmente jovens saudáveis. Cerca de 80% dos escravos vendidos eram adultos, e destes, dois terços eram homens.

Apesar da baixa fecundidade da população escrava, essa população cresceu no Brasil com o passar do tempo, mantendo as mesmas características, provável resultado de um constante fluxo de novos escravos devido ao tráfico. Os negros trabalhavam em média 18 horas por dia, não podiam casar e ter filhos. Em função das precárias condições de vida e trabalho, os escravos africanos sobreviviam, em média, apenas 10 anos no território brasileiro.

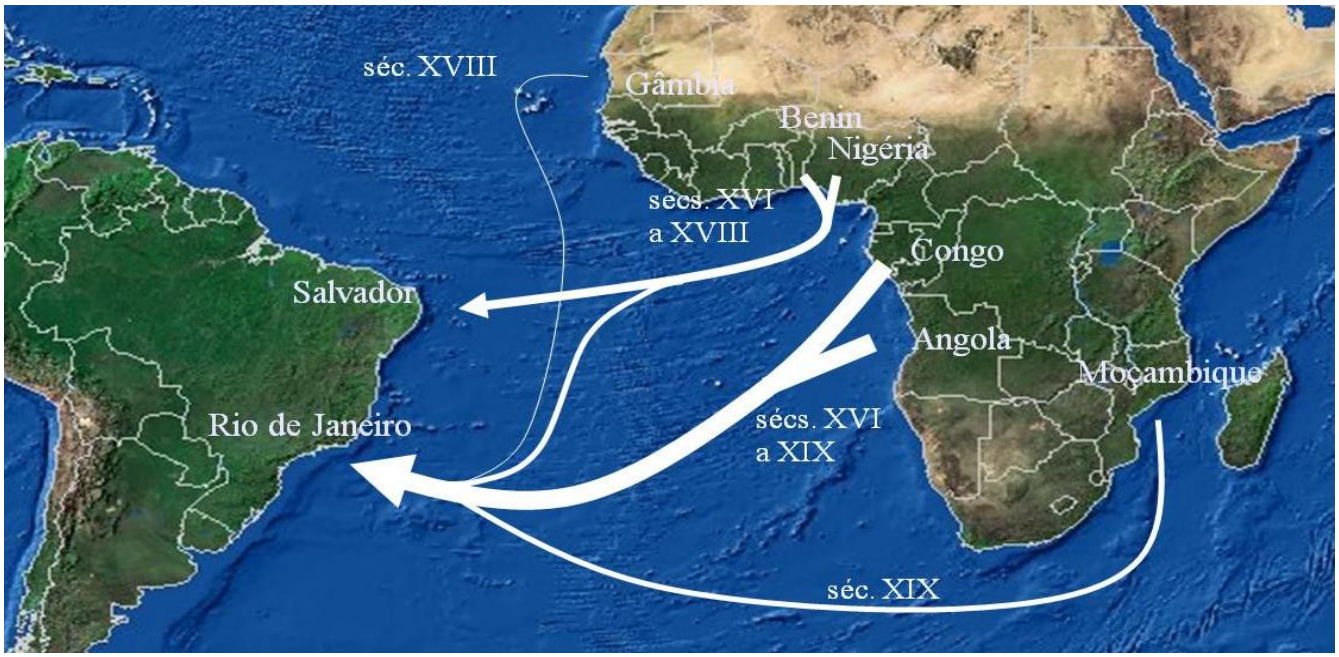

Figura 3 – Representação esquemática das principais rotas e períodos do tráfico de escravos entre o continente africano e o território brasileiro (baseado em Curtin, 1969; Klein, 2002).

1.7 – Os Remanescentes de Quilombos

Como estratégias de defesa aos maus tratos e aos pesados serviços que lhes eram impostos, muitos negros africanos fugiram das senzalas e se organizaram em comunidades denominadas de quilombos ou mocambos, fundados em regiões de difícil acesso (Azevedo e Castro, 1998; Bezerra-Neto, 2001).

As comunidades quilombolas, quanto ao espaço físico, podem ser definidas simplesmente por um agrupamento de africanos. Economicamente, os quilombos eram locais onde os africanos desenvolveram o extrativismo e pequenas plantações comunitárias além de realizar a troca e a venda de seus produtos em cidades vizinhas. Além disso, os quilombos detinham um significado de resistência e de auto-afirmação do grupo negro diante da ordem escravista (Azevedo e Castro, 1998).

Segundo a Associação Brasileira de Antropologia (ABA), atualmente o termo quilombo se refere a 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 (Oliveira Jr. e col, 2000). Esta definição passa a incluir não somente negros fugidos, mas também aqueles libertos ou abandonados pelos seus senhores.

Da época da formação dos primeiros quilombos até o presente momento, muitas comunidades foram extintas, porém outras persistiram. Alguns quilombos miscigenaram-se com populações vizinhas e outros permaneceram em relativo grau de isolamento, preservando, em parte, a sua identidade biológica e cultural. Um levantamento feito pelo CIGA da UnB (Centro de Cartografia Aplicada e Informação Geográfica da Universidade de Brasília) e coordenado pelo geógrafo Rafael Sanzio mostrou que existiam, em 2005, 2.300 comunidades quilombolas no Brasil. Uma nova estimativa em 2008 elevou este número para mais de 3.000 comunidades. Até o fim de 2008, foram emitidas 1.087 certidões, que reconhecem 1.305 comunidades (www.pnud.org.br).

1.7.1 - Remanescentes de quilombos do Vale do Ribeira – São Paulo

A descrição da ocupação do Vale do Ribeira e da origem dos remanescentes de quilombos que se segue foi baseada no trabalho de Paes (2009) e de informações coletadas nos seguintes portais: Fundação Nacional do Índio (FUNAI – http:// www.funai.gov.br*)*,

Instituto Socio Ambiental (ISA – http://www.socioambiental.org) e Instituto de Terras do Estado de São Paulo (ITESP – http://www.itesp.sp.gov.br).

O Vale do Ribeira é uma região localizada no extremo sul do estado de São Paulo, limitando-se ao sul e sudoeste com o estado do Paraná, a leste com o oceano Atlântico e a oeste e noroeste com a serra de Paranapiacaba. Esta região concentra os maiores remanescentes de Mata Atlântica do Estado, tendo cerca de 60% de seu território coberto por vegetação natural. Geograficamente, o Vale do Ribeira pode ser dividido em três regiões: a Baixada do Ribeira, englobando os municípios de Eldorado, Jacupiranga, Pariquera-Açu, Registro e Sete Barras, a região sub-litorânea, envolvendo os municípios de Cananéia e Iguape, e o Alto do Ribeira, compreendendo os municípios de Ribeira, Iporanga e Apiaí. O Rio Ribeira de Iguape nasce na Serra das Almas, no município de Serro Azul, no Estado do Paraná. Suas águas penetram pelo estado de São Paulo por meio do vale formado entre as Serras Agudos Grande e Caroca, no município de Apiaí. O rio segue paralelo à Serra do Mar e deságua no oceano Atlântico, no município de Iguape.

A ocupação humana dessa área remonta ao período pré-colombiano e é antiga como testemunham numerosas evidências de sambaquis presentes em toda a faixa litorânea, principalmente em torno de Cananéia e Ilha Comprida.

Antes da chegada de europeus, o litoral da região era povoado pelos Guaianás, e ao sul de Cananéia pelos Carijós. A região era fracamente povoada, com poucos e pequenos agrupamentos indígenas localizados no litoral e nas margens do Rio Ribeira. Esta região também foi zona de passagem de ameríndios que no inverno desciam do Planalto para o litoral em busca de áreas onde pudessem pescar.

Atualmente, a Fundação Nacional do Índio (FUNAI) estima que a população indígena na região tenha cerca de 400 indivíduos organizados em dez aldeias. A presença do povo Guarani no Vale do Ribeira é marcada atualmente por intensa mobilidade de sua população, em parte, à falta de regularização fundiária de seus territórios tradicionais, que muitas vezes são sobrepostos a unidades de conservação. No censo de 2000, o IBGE levantou a existência de uma população de 63.789 indígenas no estado de São Paulo. Desse total, cerca de 4.000 indígenas, dos povos Guarani, Kaigang, Terena e Krenak, residem em 31 Terras Indígenas, localizadas na Capital, na Baixada Santista, no Litoral Norte, no Oeste Paulista, no Vale do Ribeira e no Complexo Estuarino Lagunar Cananéia-Iguape.

A chegada dos europeus no Vale do Ribeira ocorreu logo após os primeiros anos da descoberta do Brasil, com a esquadra de Martim Afonso de Souza ao aportar nas imediações de Cananéia, em 12 de agosto de 1531.

Acreditando ser esta região favorável para a conquista de riquezas minerais, a primeira bandeira rumo ao interior foi comandada por Pedro Lobo no dia 1 de setembro de 1531. O Rio Ribeira de Iguape era o caminho natural para as bandeiras em busca de ouro e foi percorrido por diversas expedições desde o século XVI, partindo de Iguape e Cananéia. As expedições exploravam não apenas o rio Ribeira, mas também seus afluentes, formando vários núcleos populacionais pelo caminho. O primeiro núcleo oriundo dessas expedições foi Xiririca, atual Eldorado. Esses núcleos aliavam mineração com agricultura de subsistência e muitas vezes surgiram em locais anteriormente ocupados por aldeias indígenas. Com o aumento da frequência das incursões, outros núcleos populacionais foram formados rio acima, como Ivaporunduva, Iporanga e Apiaí.

Além da busca de metais preciosos, os bandeirantes também se dedicaram ao apresamento e a comercialização de indígenas. Sua importância diminuiu ao longo do tempo e já no ano de 1806 os indivíduos escravizados eram majoritariamente negros africanos. Embora a maior concentração de escravos estivesse em Iguape, contingentes negros oriundos principalmente de Guiné, Angola e Moçambique, foram levados a outras localidades Ribeira acima.

A partir do século XVII, a mineração na região deva seus primeiros sinais de declínio. A razão principal dessa queda, além de indícios de rápido esgotamento das jazidas, foi a descoberta de ouro em Minas Gerais, em 1697, e o consequente êxodo de mineradores do Vale do Ribeira para essa região. O abandono, entretando, não foi total e a extração de ouro permanceu ainda durante algum tempo. O ponto crítico foi atingido em 1763, quando a Casa da Moeda em Iguape foi fechada. Nesse período, os registros históricos indicam uma gradativa saída da população branca da região, sendo os escravos negros adquiridos no auge da mineração alforriados ou simplesmente abandonados. Além do abandono ou da alforria, tanto indígenas como os negros africanos apresentaram formas de resistência a escravidão. Uma dessas formas foram as fugas, as quais foram favorecidas pela geografia da região, com sua densa mata, vales e serras servindo como zonas de refúgio.

No final do século XVIII a agricultura ganha impulso na região e o arroz desponta como gênero de destaque. A economia local se dinamizou e houve aumento da importação de escravos para a região. Após o auge, em 1850, a região do Vale entra em novo período de decadência que se agrava com a fracassada tentativa de implantação de cultivos de café. Em seguida, a perda da função portuária de Iguape para Santos, o prolongamento da estrada de ferro Sorocabana e a construção da ferrovia Santos-Jundiaí na metade do século XIX impediram uma recuperação econômica da região do Vale do Ribeira, agravando seu isolamento econômico que perdura até os dias de hoje.

A ocupação da região pelos negros foi marcada por intensa mobilidade geográfica, que caracterizou a extração de ouro de lavagem, e absorção expressiva de mão-de-obra escrava por pequenas roças de subsistência. O fim da mineração e a saída da presença branca na região ampliou a presença da população negra na localidade. A área se transformou em um importante ponto de fuga de um grande contingente de negros livres, libertos ou fugidos.

Os negros transformados em pequenos agricultores desbravaram novos lugares promovendo um repovoamento da região. A população negra que se manteve livre durante o período escravista ocupou o Vale do Ribeira em uma extensa área de continuidade geográfica.

De acordo com a o Instituto Sócio-Ambiental, podem existir até cinquenta e dois povoados remanescentes de quilombos no Vale do Ribeira. Segundo o Instituto de Terras do Estado de São Paulo, foram identificadas até o momento nessa região 25 comunidades e destas seis comunidades já receberam os títulos de suas terras: Ivaporunduva, São Pedro, Pedro Cubas, Pilões, Maria Rosa e Galvão.

A localização geográfica do Vale do Ribeira e das populações estudadas pode ser observada nas Figuras 4 e 5. As Figuras 6a e 6b apresentam imagens características do ambiente e do tipo de habitação encontrada nas comunidades que foram por nós estudadas. A investigação dessas comunidades pode resgatar parte da história do Brasil, assim como, auxiliar em um melhor entendimento de como os africanos contribuíram para a formação da população brasileira.

Figura 4 – Mapa dos estados de São Paulo e Paraná. Em verde, a área do Vale do Ribeira. No quadrado azul, a área corresponde à Figura 5, onde se encontram os remanescentes de quilombos (Fonte: ISA – Instituto Socioambiental).

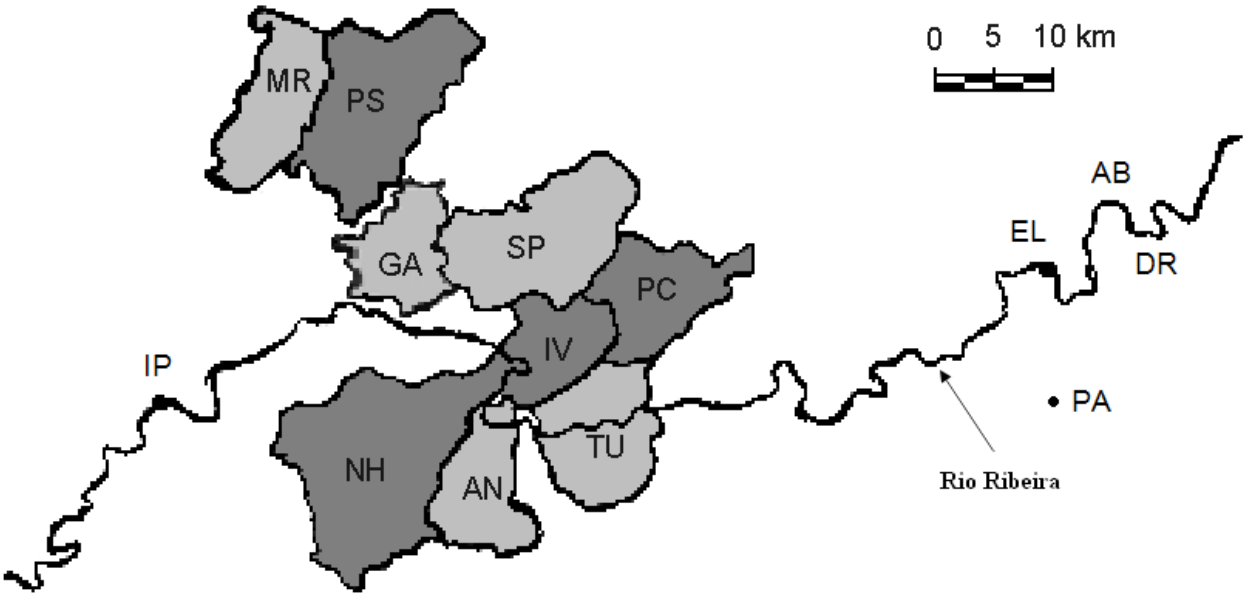

Figura 5 - Localização geográfica das comunidades remanescentes de quilombos na região do Vale do Ribeira. As siglas AB, DR, NH, AN, TU, IV, PC, SP, GA, PS, MR e PA indicam as populações investigadas de Abobral Margem Esquerda, Abobral Margem Direita, Nhunguara, André Lopes, Sapatu, Ivaporunduva, Pedro Cubas, São Pedro, Galvão, Pilões, Maria Rosa e Poça, respectivamente. As populações estudadas encontram-se nas imediações dos municípios de Eldorado (EL) e Iporanga (IP).

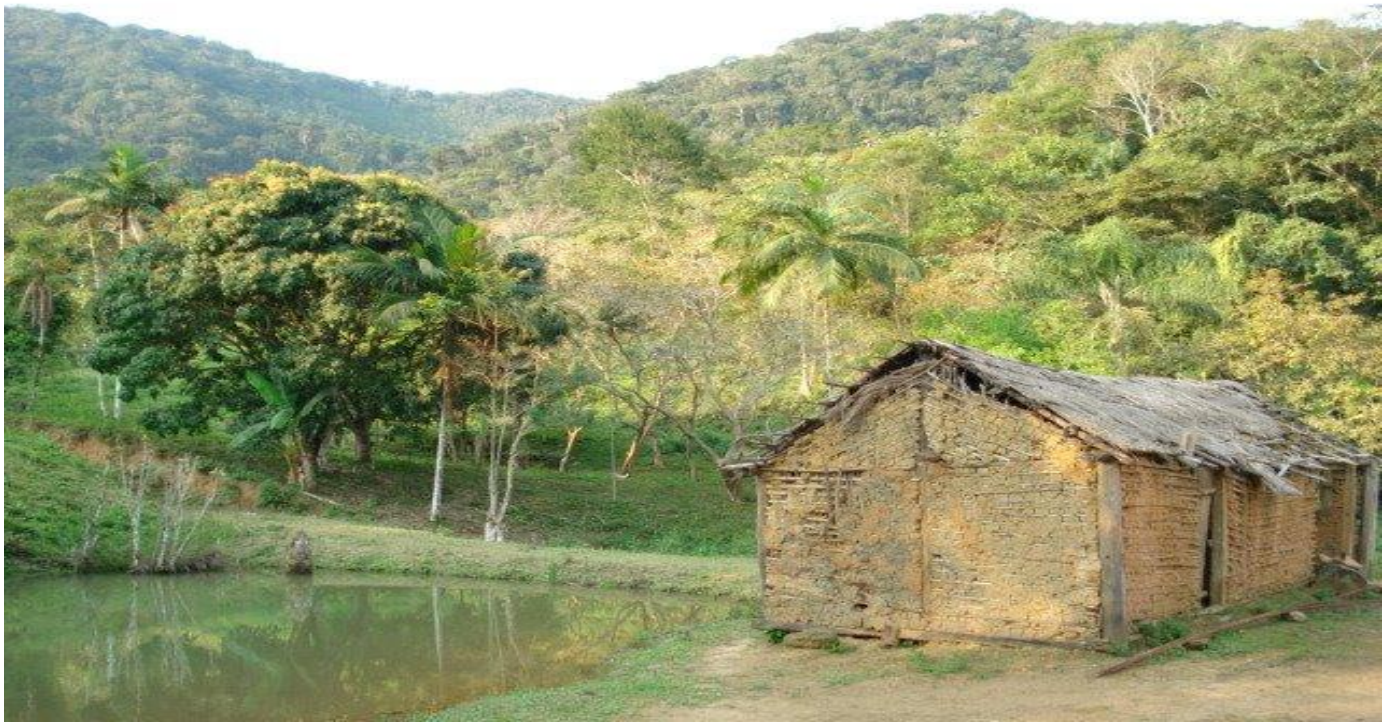

Figura 6a – Casa característica das comunidades de quilombos (quilombo de Nhunguara).

Figura 6b – Balsa utilizada para chegar às comunidades de Pilões e de Maria Rosa.

6 - CONCLUSÕES

6 - Conclusões

Visto que a história da ocupação do Vale do Ribeira foi o produto de interações étnico-sociais, principalmente com sociedades indígenas que já estavam estabelecidas na área, nossos resultados são surpreendentes, porém explicáveis. Nas doze populações de quilombo, importante contribuição ameríndia (com 49,3% de linhagens) e africana (49,2% das linhagens) foram detectadas e poucas linhagens européias foram observadas. Os resultados de sequenciamento da região hipervariável I sugerem uma origem étnica predominantemente a partir dos Bantos para a fração do DNA mitocondrial africano no Vale do Ribeira. A significativa assimilação de linhagens ameríndias observada nos indivíduos remanescentes de quilombos é um indicativo de que as interações entre quilombolas e sociedades indígenas ocorreram por meio de mulheres indígenas. Em especial, o sequenciamento da região hipervariável I indica provável contribuição Kaigang e Guarani na fração do DNA mitocondrial ameríndia.

É importante mencionar que nos estudos de Macedo-Souza (2003) e Kimura (2004) conduzidos no nosso laboratório, raríssimas linhagens de cromossomo Y ameríndias foram detectadas nessas populações. Chamou a atenção nesses estudos a elevada fração de haplogrupos de Y considerados europeus. A contribuição européia, por outro lado, foi pouco expressiva nos nossos estudos de DNA mitocondrial. Portanto, a presença indígena nos quilombos ocorreu por meio de mulheres e não por homens.

Em relação aos haplótipos, foi possível identificar em quase todas as comunidades afro-descendentes do Vale do Ribeira haplótipos predominantes, candidatos a fundadores, exceção feita a Maria Rosa, André Lopes, Nhunguara e Poça. O haplótipo HP12 (Haplogrupo B), haplótipo provável de uma das esposas de Bernardo Furquim, foi predominante em Galvão, São Pedro e Ivaporunduva; o haplótipo HP56 (Haplogrupo L2d) foi o principal em Pilões; o haplótipo HP29 (Haplogrupo L1c1) se destaca em Abobral; o haplótipo HP41 (Haplogrupo L1c3), possivelmente herdado da mulher de Gregório Marinho, se destaca em Pedro Cubas; em Sapatu é frequente o haplótipo HP09 (Haplogrupo B). Galvão foi a comunidade de quilombo que evidenciou maior efeito de fundador e, consequentemente, onde se observou o menor índice de diversidade haplotípica.

Na análise dos dendrogramas, as comunidades quilombolas de Galvão, São Pedro, Sapatu e Ivaporunduva mostram-se mais próximas das populações ameríndias. As demais comunidades quilombolas (André Lópes, Poça, Pedro Cubas, Abobral, Nhunguara, Pilões e Maria Rosa) estão geneticamente mais próximas de populações da etnia Banto. A comunidade da Poça se manteve próxima a São Paulo e separada das demais comunidades quilombolas, provavelmente devido à maior presença de material genético europeu. As proximidades genéticas observadas entre Galvão e São Pedro; Abobral Margem Esquerda e Margem Direita; São Pedro, Galvão, Sapatu e Ivaporunduva e, finalmente, entre Nhunguara e André Lopes, têm concordância com os registros históricos que atestam para proximidade genealógica e geográfica desses grupos. Pilões e Maria Rosa não se apresentaram tão próximas entre si, como esperado, provavelmente devido à redução do tamanho populacional. Os demais afro-descendentes do Brasil e populações da etnia banto, como esperado, formaram um clado, assim como as populações de origem portuguesa e os brasileiros brancos.

Os nossos resultados e os da literatura apontam para uma formação genética e histórica muito rica e diversa nos remanescentes de quilombos. O que os estudos genéticos revelaram de mais notável foi a contribuição genética indígena preservada nos quilombos, que começa a ser resgatada, após anos e anos de depopulação provocada pela entrada de grupos europeus, no continente americano. Esperamos que nosso estudo, além de contribuir para retratar a diversidade genética dos povos afro-brasileiros, possa contribuir com o resgate da história de povos ameríndios no sudeste, deslocados pela ocupação européia.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7 - Referências

ABE-SANDES, K. *Diversidade genética de afro-brasileiros: DNA mitocondrial e cromossomo Y*. (2002). PhD - *Tese de Doutorado*, FMRPUSP, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil, 2002.

ABREU-SILVA, R. S. *Susceptibilidade genética à perda auditiva induzida por ruído (PAIR).* (2008). PhD - *Tese de Doutorado*, IBUSP, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 2008.

ACHILLI, A. *et al.* The phylogeny of the four pan-American MtDNA haplogroups: implications for evolutionary and disease studies. *PLoS ONE* [S.I.], v. 3, n. 3, p. e1764, 2008.

ALLARD, M. W. *et al.* Characterization of the Caucasian haplogroups present in the SWGDAM forensic mtDNA dataset for 1771 human control region sequences. Scientific Working Group on DNA Analysis Methods. *J Forensic Sci* [S.I.], v. 47, n. 6, p. 1215-23, Nov 2002.

_____. Control region sequences for East Asian individuals in the Scientific Working Group on DNA Analysis Methods forensic mtDNA data set. *Leg Med (Tokyo)* [S.I.], v. 6, n. 1, p. 11-24, Mar 2004.

ALMEIDA, A. P. *Memória Histórica de Xiririca (Eldorado Paulista)*. São Paulo, Brasil: Departamento do Arquivo do Estado de São Paulo, Secretaria da Educação, 1955.

ALPERS, E. A. *Moçambiques in Brazil: another dimension of the African diaspora in the Atlantic World; in: Curto JC, Soulandre-LaFrance (eds) Africa and the Americas: Interconections during the slave trade.* Lawrenceville - NJ: Africa World Press, 1997.

ALVES-SILVA, J. *et al.* The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 67, N. 2, p. 444-61, Aug 2000.

ANDERSON, S. *et al.* Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* [S.I.], v. 290, n. 5806, p. 457-65, Apr 9 1981.

ANDRADE, T. *et al. Negros do Ribeira: Reconhecimento Étnica e Conquista do Território*. São Paulo, Brasil: ITESP, 2000.

ANJOS, R. S. A. Territórios das comunidades remanescentes de antigos quilombos no Brasil - Primeira configuração espacial. Brasília - DF: Mapas Editora e Consultoria, 2000.

ARCTANDER, P. Mitochondrial recombination? *Science* [S.I.], v. 284, p. 2090-2091, 1999.

ATKINSON, Q. D. *et al.* mtDNA variation predicts population size in humans and reveals a major Southern Asian chapter in human prehistory. *Mol Biol Evol* [S.I.], v. 25, n. 2, p. 468-74, Feb 2008.

AURICCHIO, M. T. B. M. *et al.* Frequency and origins of HBB*S mutation in African-derived Brazilian populations. *Human Biology* [S.I.], v. 79, n. 9, p. 667-678, 2007.

AWADALLA, P. *et al.* Linkage disequilibrium and recombination in hominid mitochondrial DNA. *Science* [S.I.], v. 286, p. 2524-2525, 1999.

AZEVEDO, R.; CASTRO, E. *Negros do Trombetas. Guardiães de mata e rios.* . Belém - PA: Cejup, 1998.

BAILLIET, G. *et al.* Founder mitochondrial haplotypes in Amerindian populations. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 55, n. 1, p. 27-33, Jul 1994.

BALLARD, J. W. O.; RAND, D. M. The population biology of mitochondrial DNA and its phylogenetic implications. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* [S.I.], v. 36, p. 621-642, 2005.

BANDELT, H. J. *et al.* Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol* [S.I.], v. 16, n. 1, p. 37-48, Jan 1999.

_____. Mitochondrial portraits of human populations using median networks. *Genetics* [S.I.], v. 141, n. 2, p. 743-53, Oct 1995.

_____. Identification of Native American founder mtDNAs through the analysis of complete mtDNA sequences: some caveats. *Ann Hum Genet* [S.I.], v. 67, n. Pt 6, p. 512-24, Nov 2003.

_____. Detecting errors in mtDNA data by phylogenetic analysis. *Int J Legal Med* [S.I.], v. 115, n. 2, p. 64-9, Oct 2001.

_____. Median networks: speedy construction and greedy reduction, one simulation, and two case studies from human mtDNA. *Mol Phylogenet Evol* [S.I.], v. 16, n
n. 1, p. 8-28, Jul 2000.

BARBOSA, A. B. G. *et al.* Mitochondrial DNA control region polymorphism in the population of Alagoas State, North-Eastern Brazil. *Journal of Forensic Science* [S.I.], v. 53, n. 1, p. 142-146, 2008.

BATINI, C. *et al.* Phylogeography of the human mitochondrial L1c haplogroup: genetic signatures of the prehistory of Central Africa. *Mol Phylogenet Evol* [S.I.], v. 43, n. 2, p. 635-44, May 2007.

BATTILANA, J. *et al.* Alu insertions versus blood group plus protein genetic variability in four Amerindian populations. *Ann Hum Biol* [S.I.], v. 29, n. 3, p. 334-47, May-Jun 2002.

BEHAR, D. M. *et al.* The Genographic Project public participation mitochondrial DNA database. *PLoS Genet* [S.I.], v. 3, n. 6, p. e104, Jun 2007.

BEIGUELMAN, B. *Dinâmica dos genes nas famílias e nas populações* Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil, 1994.

BELEZA, S. *et al.* The genetic legacy of western Bantu migrations. *Hum Genet* [S.I.], v. 117, N. 4, p. 366-75, Aug 2005.

BETHELL, L. *Nota sobre as populações americanas às vesperas das invasões européias. In: Bethell L (ed) América Latina colonial.* São Paulo - SP: Editora Universidade de São Paulo, 1997.

BEZERRA-NETO, J. M. *Escravidão negra na Amazônia (Sécs. XVII - XIX).* Belém - PA: Paka-Tatu, 2001.

BIANCHI, N. O. *et al.* Peopling of the Americas as inferred through the analisys of mitochondrial DNA. *Brazilian Journal of Genetics* [S.I.], v. 18, p. 661-668, 1995.

BONATTO, S. L.; SALZANO, F. M. Diversity and age of the four major mtDNA haplogroups, and their implications for the peopling of the New World. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 61, n. 6, p. 1413-23, Dec 1997a.

_____. A single and early migration for the peopling of the Americas supported by mitochondrial DNA sequence data. *Proc Natl Acad Sci U S A* [S.I.], v. 94, n. 5, p. 1866-71, Mar 4, 1997b.

BORTOLINI, M. C. *et al.* Evolutionary relationships between black South American and African populations. *Hum Biol* [S.I.], v. 67, n. 4, p. 547-59, Aug 1995.

_____. Evolutionary and anthropological implications of mitochondrial DNA variation in African Brazilian populations. *Hum Biol* [S.I.], v. 69, n. 2, p. 141-59, Apr 1997.

_____. Diversity in protein, nuclear DNA, and mtDNA in South Amerinds--agreement or discrepancy? *Ann Hum Genet* [S.I.], v. 62, n. Pt 2, p. 133-45, Mar 1998.

_____. African-derived South American populations: A history of symmetrical and asymmetrical matings according to sex revealed by bi- and uni-parental genetic markers. *Am J Hum Biol* [S.I.], v. 11, n. 4, p. 551-563, 1999.

_____. Y-chromosome biallelic polymorphisms and Native American population structure. *Ann Hum Genet* [S.I.], v. 66, n. Pt 4, p. 255-9, Jul 2002.

_____. Y-chromosome evidence for differing ancient demographic histories in the Americas. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 73, n. 3, p. 524-39, Sep 2003.

BORTOLINI, M. C.; PENA, S. D. Pode a genética definir quem pode se beneficiar das cotas universitárias e demais ações. *Estudos Avançados* [S.I.], v. 18, n. 50, p. 31-51, 2004.

BRANDÃO-FERREIRA, L. *Diversidade do DNA mitochondrial de populações brasileiras ameríndias e afrodescendentes.* (2006). PhD - *Tese de Doutorado*, FMRPUSP, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil, 2006.

BRAVI, C. M. *et al.* Characterization of mitochondrial DNA and Y-chromosome haplotypes in a Uruguayan population of African ancestry. *Hum Biol* [S.I.], v. 69, n. 5, p. 641-52, Oct 1997.

BROMHAM, L. *et al.* Mitochondrial Steve: paternal inheritance of mitochondria in humans. *TRENDS in Ecology and Evolution* [S.I.], v. 18, N. 1, p. 2-4, 2003.

BROWN, M. D. *et al.* mtDNA haplogroup X: An ancient link between Europe/Western Asia and North America? *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 63, n. 6, p. 1852-61, Dec 1998.

BUDOWLE, B. *et al.* Forensics and mitochondrial DNA: applications, debates, and foundations. *Annu Rev Genomics Hum Genet* [S.I.], v. 4, p. 119-41, 2003.

CALLEGARI-JACQUES, S. M.; SALZANO, F. M. Brazilian Indian/non-Indian interactions and their effects. *Ciência e Cultura: Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science* [S.I.], v. 51, p. 166-174, 1999.

CALLEGARI-JACQUES, S. M. *et al.* The Wai Wai Indians of South America: history and genetics. *Ann Hum Biol* [S.I.], v. 23, n. 3, p. 189-201, May-Jun 1996.

_____. Further blood genetic studies on Amazonian diversity--data from four Indian groups. *Ann Hum Biol* [S.I.], v. 21, n. 5, p. 465-81, Sep-Oct 1994.

CANN, R. L. mtDNA and Native Americans: a Southern perspective. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 55, n. 1, p. 7-11, Jul 1994.

CANN, R. L. *et al.* Mitochondrial DNA and human evolutioN. *Nature* [S.I.], v. 325, N. 6099, p. 31-6, Jan 1-7 1987.

CARDOSO, G. L.; GUERREIRO, J. F. frican gene flow to north Brazil as revealed by HBB*S gene haplotype analysis. *American Journal of Human Biology* [S.I.], v. 18, p. 93-98, 2006.

CARENO, M. F. *Vale do Ribeira: a voz e a vez das comunidades negras*. São Paulo, Brasil: UNIP, 1997.

CARNEIRO DA CUNHA, M. *História dos Índios no Brasil*. São Paulo, Brasil: Companhia das Letras, 1992.

CARRIL, L. F. B. *Terra de Negros no Vale do Ribeira : Territorialidade e Resistência.* (1995). Msc - *Dissertação de Mestrado*, FFLCH/USP, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 1995.

CARVALHO, B. M. *et al.* Mitochondrial DNA mapping of social-interactions in Brazilian Amazonian African-descendent populations. *Genetics and Molecular Biology* [S.I.], v. 31, n. 1, p. 12-22, 2008.

CARVALHO-SILVA, D. R. *et al.* The phylogeography of Brazilian Y-chromosome lineages. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 68, N. 1, p. 281-6, Jan 2001.

CAVALLI-SFORZA, L. L. The DNA revolution in population genetics. *Trends Genet* [S.I.], v. 14, N. 2, p. 60-5, Feb 1998.

_____. The Human Genome Diversity Project: past, present and future. *Nat Rev Genet* [S.I.], v. 6, N. 4, p. 333-40, Apr 2005.

CAVALLI-SFORZA, L. L.; FELDMAN, M. W. The application of molecular genetic approaches to the study of human evolutioN. *Nat Genet* [S.I.], v. 33 Suppl, p. 266-75, Mar 2003.

CAVALLI-SFORZA, L. L. *et al. The history and geography of human genes.* USA: Princeton University Press, 1996.

CHEN, F. *et al.* Genetic polymorphism of mitochondrial DNA HVS-I and HVS-II of Chinese Tu ethnic minority group. *Journal of Genetics and Genomics* [S.I.], v. 35, p. 225-232, 2008.

CHEN, Y. S. *et al.* mtDNA variation in the South African Kung and Khwe-and their genetic relationships to other African populations. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 66, n. 4, p. 1362-83, Apr 2000.

COBLE, M. D. *et al.* Effective strategies for forensic analysis in the mitochondrial DNA coding region. *Int J Legal Med* [S.I.], v. 120, n. 1, p. 27-32, Jan 2006.

CONDIT, C. M. *et al.* The changing meanings of "mutation:" A contextualized study of public discourse. *Hum Mutat* [S.I.], v. 19, n. 1, p. 69-75, Jan 2002.

CONSORTIUM, I. H. A second generation of human haplotype map over 3,1 million SNPs. *Nature* [S.I.], v. 449, p. 851-861, 2007.

CONSORTIUM, I. H. G. S. Initial sequencing and analysis of the humans genome. *Nature* [S.I.], v. 409, p. 860-921, 2001.

COTRIM, N. H. *et al.* Polymorphic Alu insertions in six Brazilian African-derived populations. *Am J Hum Biol* [S.I.], v. 16, n. 3, p. 264-77, May-Jun 2004.

CRESPILLO, M. *et al.* Mitochondrial DNA sequences for 118 individuals from northeastern SpaiN. *Int J Legal Med* [S.I.], v. 114, n. 1-2, p. 130-2, 2000.

CUMMINGS, M. R. A healthy hiring approach. *J Healthc Prot Manage* [S.I.], v. 17, n. 1, p. 70-9, Winter 2000.

CURTIN, P. D. *The Atlantic slave trade: a census.* Madison - USA: University of Wisconsin Press, 1969.

DEL PRIORE, M.; VENÂNCIO, R. P. *O Livro de Ouro da História do Brasil.*: Ediouro Publicações S.A., 2001.

DENARO, M. *et al.* Ethnic variation in Hpa 1 endonuclease cleavage patterns of human mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [S.I.], v. 78, n. 9, p. 5768-5772, 1981.

DERBENEVA, O. A. *et al.* Traces of early Eurasians in the Mansi of northwest Siberia revealed by mitochondrial DNA analysis. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 70, n. 4, p. 1009-14, Apr 2002.

DERENKO, M. *et al.* Phylogeographic analysis of mitochondrial DNA in northern Asian populations. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 81, n. 5, p. 1025-41, Nov 2007.

DORNELLES, C. L. *et al.* Is haplogroup X present in extant South American Indians? *Am J Phys Anthropol* [S.I.], v. 127, n. 4, p. 439-48, Aug 2005.

_____. Genetics, surnames, grandparents nationalities, and ethnic admixture in Southern Brazil: do the parents of variation coincide? *Genetics and Molecular Biology* [S.I.], v. 22, p. 151-161, 1999.

DRUZHYNA, N. M. *et al.* Mitochondrial DNA repair in aging and disease. *Mech Ageing Dev* [S.I.], v. 129, n. 7-8, p. 383-90, Jul-Aug 2008.

ELSON, J. L. *et al.* Analysis of European mtDNAs for RecombinatioN. *American Journal of Human Genetics* [S.I.], v. 68, n. 1, p. 145-153, 2001.

EYRE-WALKER, A. *et al.* How clonal are human mitochondria? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* [S.I.], v. 266, p. 477-483, 1999.

FADHLAOUI-ZID, K. *et al.* Mitochondrial DNA heterogeneity in Tunisian Berbers. *Ann Hum Genet* [S.I.], v. 68, n. Pt 3, p. 222-33, May 2004.

FAGUNDES, N. J. *et al.* Genetic, geographic, and linguistic variation among South American Indians: possible sex influence. *Am J Phys Anthropol* [S.I.], v. 117, n. 1, p. 68-78, Jan 2002.

FAGUNDES, N. J. R. *et al.* A Reevaluation of the Native American MtDNA Genome Diversity and Its Bearing on the Models of early Colonization of Beringia. *PLOS One* [S.I.], v. 3, n. 3, p. e3157, 2008b.

_____. Mitochondrial Population Genomics Supports a Single Pre-Clovis Origin with a Coastal Route for the Peopling of the Americas. *The American Journal of Human Genetics* [S.I.], v. 82, p. 583-592, 2008a.

FEIO-DOS-SANTOS, A. C. *et al.* Nucleotide variability of HV-I in admixed population of the Brazilian Amazon RegioN. *Forensic Sci Int* [S.I.], v. 164, n. 2-3, p. 276-7, Dec 20 2006.

FIEDEL, S. J. The peopling of the new world: present evidence, new theories, and future directions. *Journal of Archaeological Research* [S.I.], v. 8, p. 39-103, 2000.

FIGUEIREDO, M. S. *et al.* The heterogeneity of the beta s cluster haplotypes in Brazil. *Gene Geogr* [S.I.], v. 8, n. 1, p. 7-12, Apr 1994.

FILOSTO, M. *et al.* Lack of paternal inheritance of muscle mitochondrial DNA in sporadic mitochondrial myopathies. *Ann Neurol* [S.I.], v. 54, n. 4, p. 524-6, Oct 2003.

FIX, A. G. Colonization models and initial genetic diversity in the Americas. *Hum Biol* [S.I.], v. 74, N. 1, p. 1-10, Feb 2002.

FLORENTINO, M. *Em costas negras.* São Paulo, Brasil: Companhia das Letras, 1997.

FORSTER, P. Ice Ages and the mitochondrial DNA chronology of human dispersals: a review. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* [S.I.], v. 359, n. 1442, p. 255-64; discussion 264, Feb 29 2004.

FORSTER, P. *et al.* Origin and evolution of Native American mtDNA variation: a reappraisal. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 59, n. 4, p. 935-45, Oct 1996.

FORSTER, P.; MATSUMURA, S. Evolution. Did early humans go north or south? *Science* [S.I.], v. 308, n. 5724, p. 965-6, May 13 2005.

FRAZER, K. A. *et al.* A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature* [S.I.], v. 449, n. 7164, p. 851-61, Oct 18 2007.

GONCALVES, M. S. *et al.* BetaS-haplotypes in sickle cell anemia patients from Salvador, Bahia, Northeastern Brazil. *Braz J Med Biol Res* [S.I.], v. 36, n. 10, p. 1283-8, Oct 2003.

_____. Sickle cell disease in a Brazilian population from Sao Paulo: a study of the beta s haplotypes. *Hum Hered* [S.I.], v. 44, n. 6, p. 322-7, Nov-Dec 1994.

GONCALVES, V. F. *et al.* The phylogeography of African Brazilians. *Hum Hered* [S.I.], v. 65, n. 1, p. 23-32, 2008.

GONDER, M. K. *et al.* Whole-mtDNA genome sequence analysis of ancient African lineages. *Mol Biol Evol* [S.I.], v. 24, n. 3, p. 757-68, Mar 2007.

GRAVEN, L. *et al.* Evolutionary correlation between control region sequence and restriction polymorphisms in the mitochondrial genome of a large Senegalese Mandenka sample. *Mol Biol Evol* [S.I.], v. 12, n. 2, p. 334-45, Mar 1995.

GREEN, L. D. *et al.* mtDNA affinities of the peoples of North-Central Mexico. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 66, n. 3, p. 989-98, Mar 2000.

GUERREIRO, J. F. *et al.* Genetical-demographic data from two Amazonian populations composed of descendants of African slaves: Pacoval and Curiaú. *Genetics and Molecular Biology* [S.I.], v. 22, p. 163-167, 1999.

HAGELBERG, E. *et al.* Evidence for mitochondrial DNA recombination in a human population of island Melanesia. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* [S.I.], v. 266, p. 485-492, 1999.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleid Acid Symposium Series* [S.I.], v. 41, p. 95-98, 1999.

HEDGES, S. B. *et al.* Human origins and analysis of mitochondrial DNA sequences. *Science* [S.I.], v. 255, n. 5045, p. 737-9, Feb 7 1992.

HEDMAN, M. *et al.* Finnish mitochondrial DNA HVS-I and HVS-II population data. *Forensic Sci Int* [S.I.], v. 172, n. 2-3, p. 171-8, Oct 25 2007.

HELGASON, A. *et al.* mtDna and the islands of the North Atlantic: estimating the proportions of Norse and Gaelic ancestry. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 68, n. 3, p. 723-37, Mar 2001.

HERTZBERG, M. *et al.* An Asian-specific 9-bp deletion of mitochondrial DNA is frequently found in Polynesians. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 44, n. 4, p. 504-10, Apr 1989.

HORAI, S. *et al.* Peopling of the Americas, founded by four major lineages of mitochondrial DNA. *Mol Biol Evol* [S.I.], v. 10, n. 1, p. 23-47, Jan 1993.

HUNEMEIER, T. *et al.* Niger-Congo speaking populations and the formation of the Brazilian gene pool: mtDNA and Y-chromosome data. *Am J Phys Anthropol* [S.I.], v. 133, n. 2, p. 854-67, Jun 2007.

INGMAN, M.; GYLLENSTEN, U. Analysis of the complete human mtDNA genome: methodology and inferences for human evolutioN. *J Hered* [S.I.], v. 92, n. 6, p. 454-61, Nov-Dec 2001.

INGMAN, M. *et al.* Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans. *Nature* [S.I.], v. 408, n. 6813, p. 708-13, Dec 7 2000.

ISENBERG, A. R.; MOORE, J. M. Mitochondrial DNA Analysis at the FBI Laboratory. *Forensic Science Communications* [S.I.], v. 1, n. 2, p. 1-10, 1999.

JIN, H. J. *et al.* Forensic genetic analysis of mitochondrial DNA hypervariable region I/II sequences: an expanded Korean population database. *Forensic Sci Int* [S.I.], v. 158, n. 2-3, p. 125-30, May 10 2006.

JOBLING, M. A. *et al. Human Evolutionary Genetics: Origins, Peoples and Disease*. New York, USA: Garland Science, 2004.

JOHNSON, M. J. *et al.* Radiation of human mitochondria DNA types analyzed by restriction endonuclease cleavage patterns. *J Mol Evol* [S.I.], v. 19, n. 3-4, p. 255-71, 1983.

JORDE, L. B.; BAMSHAD, M. Questioning evidence for recombination in human mitochondrial DNA. *Science* [S.I.], v. 288, p. 1931a, 2000.

KIMURA, L. *Estudo da mistura gênica nos remanescentes de quilombos do Vale do Ribeira: a origem dos cromossomos Y.* . (2004). *Dissertação de Iniciação Científica*, IBUSP, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 2004.

KITCHEN, A. *et al.* A three-stage colonization model for the peopling of the Americas. *PLoS ONE* [S.I.], v. 3, n. 2, p. e1596, 2008.

KIVISILD, T. *et al.* Ethiopian mitochondrial DNA heritage: tracking gene flow across and around the gate of tears. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 75, n. 5, p. 752-70, Nov 2004.

KIVISILD, T.; VILLEMS, R. Questioning Evidence for Recombination in Human Mitochondrial DNA. *Science* [S.I.], v. 288, p. 1931a, 2000.

KLEIN, H. S. *As origens Africanas dos escravos brasileiros; in Pena SDL (ed): Homo brasilis: aspectos genéticos, linguísticos, históricos e socioantropológicos da formação do povo brasileiro.* Ribeirão Preto, Brasil: FUNPEC, 2002.

KOLMAN, C. J. *et al.* Mitochondrial DNA analysis of Mongolian populations and implications for the origin of New World founders. *Genetics* [S.I.], v. 142, n. 4, p. 1321-34, Apr 1996.

KRAYTSBERG, Y. *et al.* Recombination of human mitochondrial DNA. *Science* [S.I.], v. 304, p. 981, 2004.

KRINGS, M. *et al.* mtDNA analysis of Nile River Valley populations: A genetic corridor or a barrier to migration? *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 64, n. 4, p. 1166-76, Apr 1999.

KUMAR, S. *et al.* MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* [S.I.], v. 5, p. 510-163, 2004.

KVIST, L. *et al.* Paternal leakage of mitochondrial DNA in the great tit (Parus major). *Molecular Biology and Evolution* [S.I.], v. 20, p. 243-247, 2003.

LEE, H. Y. *et al.* Mitochondrial DNA control region sequences in Koreans: identification of useful variable sites and phylogenetic analysis for mtDNA data quality control. *Int J Legal Med* [S.I.], v. 120, n. 1, p. 5-14, Jan 2006.

LIND, J. M. *et al.* Elevated male European and female African contributions to the genomes of African American individuals. *Hum Genet* [S.I.], v. 120, n. 5, p. 713-22, Jan 2007.

LUTZ, S. *et al.* A third hypervariable region in the human mitochondrial D-loop. *Hum Genet* [S.I.], v. 101, n. 3, p. 384, Dec 1997.

MABUCHI, T. *et al.* Typing the 1.1 kb control region of human mitochondrial DNA in Japanese individuals. *J Forensic Sci* [S.I.], v. 52, n. 2, p. 355-63, Mar 2007.

MACA-MEYER, N. *et al.* Major genomic mitochondrial lineages delineate early human expansions. *BMC Genet* [S.I.], v. 2, p. 13, 2001.

MACAULAY, V. *et al.* Mitochondrial DNA recombination-no need to panic. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* [S.I.], v. 266, p. 2037-2039, 1999.

MACEDO-SOUZA, L. L. *Variabilidade molecular do cromossomo Y em remanescentes de quilombos do Vale do Ribeira.* (2003). Msc - *Dissertação de Mestrado*, IBUSP, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 2003.

MANFREDI, G. *et al.* The fate of human sperm-derived mtDNA in somatic cells. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 61, n. 4, p. 953-60, Oct 1997.

MARINHO, A. N. R. *Mutações na região controle do DNA mitocondrial em uma amostra de indivíduos jovens e idosos da população de Belém.* (2004). Msc - *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Pará, Belém, Brasil, 2004.

MARRERO, A. R. *et al.* Heterogeneity of the genome ancestry of individuals classified as White in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Am J Hum Biol* [S.I.], v. 17, n. 4, p. 496-506, Jul-Aug 2005.

_____. Demographic and evolutionary trajectories of the Guarani and Kaingang natives of Brazil. *Am J Phys Anthropol* [S.I.], v. 132, n. 2, p. 301-10, Feb 2007.

MARUYAMA, S. *et al.* Sequence polymorphisms of the mitochondrial DNA control region and phylogenetic analysis of mtDNA lineages in the Japanese population. *Int J Legal Med* [S.I.], v. 117, n. 4, p. 218-25, Aug 2003.

MATEU, E. *et al.* A tale of two islands: population history and mitochondrial DNA sequence variation of Bioko and Sao Tome, Gulf of Guinea. *Ann Hum Genet* [S.I.], v. 61, n. Pt 6, p. 507-18, Nov 1997.

MELLARS, P. Why did modern human populations disperse from Africa ca. 60,000 years ago? A new model. *Proc Natl Acad Sci U S A* [S.I.], v. 103, n. 25, p. 9381-6, Jun 20 2006.

MENDES-JÚNIOR, C. T. *DNA mitocondrial na Amazônia brasileira: estrutura genética e inferências continentais.* (2005). PhD - *Dissertação de Doutorado*, FMRPUSP, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil, 2005.

MENDIZABAL, I. *et al.* Genetic origin, admixture, and asymmetry in maternal and paternal human lineages in Cuba. *BMC Evolutionary Biology* [S.I.], v. 8, p. 213, 2008.

MERRIWETHER, D. A. *et al.* The structure of human mitochondrial DNA variation. *J Mol Evol* [S.I.], v. 33, n. 6, p. 543-55, Dec 1991.

MERRIWETHER, D. A.; KAESTLE, F. A. Mitochondrial recombination? (continued). *Science* [S.I.], v. 285, p. 837, 1999.

MISHMAR, D. *et al.* Natural selection shaped regional mtDNA variation in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* [S.I.], v. 100, n. 1, p. 171-6, Jan 7 2003.

MONTEIRO, J. M. *Negros da terra: índios e bandeirantes nas origens de São Paulo.* São Paulo, Brasil: Companhia da Letras, 1994.

MOROVVATI, S. *et al.* Sequence analysis of mitochondrial DNA hypervariable regions: an approach to personal identification. *Arch Med Res* [S.I.], v. 38, n. 3, p. 345-9, Apr 2007.

NEI, M. *Stochastic errors in DNA evolution and molecular phylogeny. In Evolutionary perspective and the new genetics (H. Gershowitz, ed.)*. New York, USA: Alan R. Liss, 1986.

_____. *Molecular evolutionary genetics*. New York, USA: Columbia University Press, 1987.

NEI, M.; JIN, L. Variances of the average numbers of nucleotide sobstitutions within and between populations. *Molecular Biology and Evolution* [S.I.], v. 6, p. 290-300, 1989.

NEI, M.; KUMAR, S. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. New York, USA: Oxford University Press, 2000.

OLIVEIRA JR, N. A. *et al. Comunidades Negras de Ivaporunduva, São Pedro, Pedro Cubas, Sapatu, Nhunguara, André Lópes, Maria Rosa e Pilões in Andrade T, Pereira CAC, Andrade MRO (eds.) - Negros do Ribeira: reconhecimento étnico e conquista do território. ITESP: Páginas e Letras.* São Paulo, SP, Brasil: Editora Gráfica, 2000.

PAES, G. S. M. *Considerações sobre o Passado e o Presente in Volochko A, Batista E (Eds.) - Saúde nos Quilombos. ITESP*. São Paulo, Brasil: Instituto de Saúde - SESSP, 2009.

PAJNIČ, Z. *et al.* Sequence polymorphism of the mitochondrial DNA control region in the Slovenian population. *International Journal of Legal Medicine* [S.I.], v. 118, p. 1-4, 2004.

PAKENDORF, B.; STONEKING, M. Mitochondrial DNA and human evolutioN. *Annu Rev Genomics Hum Genet* [S.I.], v. 6, p. 165-83, 2005.

PANTE-DE-SOUSA, G. *et al.* Origin of the hemoglobin S gene in a northern Brazilian population: the combine effects of slave trade and internal migrations. *Genetics and Molecular Biology* [S.I.], v. 21, p. 1415-4757, 1998.

PARRA, F. C. *et al.* Color and genomic ancestry in Brazilians. *Proc Natl Acad Sci U S A* [S.I.], v. 100, n. 1, p. 177-82, Jan 7 2003.

PARSONS, T. J.; COBLE, M. D. Increasing the forensic discrimination of mitochondrial DNA testing through analysis of the entire mitochondrial DNA genome. *Croat Med J* [S.I.], v. 42, n. 3, p. 304-9, Jun 2001.

PENA, S. D. J. *et al.* Retrato Molecular do Brasil. *Ciência Hoje* [S.I.], v. 27, n. 159, p. 16-25, 2000.

_____. A major founder Y-chromosome haplotype in Amerindians. *Nature Genetics* [S.I.], v. 11, p. 15-16, 1995.

PEREIRA, L. *et al.* Prehistoric and historic traces in the mtDNA of Mozambique: Insights into the Bantu expansions and the slave trade. *Annals of Human Genetics* [S.I.], v. 65, p. 439-458, 2001.

_____. Diversity of mtDNA lineages in Portugal: not a genetic edge of European variation. *Ann Hum Genet* [S.I.], v. 64, n. Pt 6, p. 491-506, Nov 2000.

PIMENTA, J. R. *et al.* Color and genomic ancestry in Brazilians: a study with forensic microsatellites. *Hum Hered* [S.I.], v. 62, n. 4, p. 190-5, 2006.

PLAZA, S. *et al.* Insights into the western Bantu dispersal: mtDNA lineage analysis in Angola. *Hum Genet* [S.I.], v. 115, n. 5, p. 439-47, Oct 2004.

QUINTANA-MURCI, L. *et al.* Maternal traces of deep common ancestry and asymmetric gene flow between Pygmy hunter-gatherers and Bantu-speaking farmers. *Proc Natl Acad Sci U S A* [S.I.], v. 105, n. 5, p. 1596-601, Feb 5 2008.

_____. Genetic evidence of an early exit of *Homo sapiens sapiens* from Africa through eastern Africa. *Nature Genetics* [S.I.], v. 23, p. 437-441, 1999.

RANDO, J. C. *et al.* Mitochondrial DNA analysis of northwest African populations reveals genetic exchanges with European, near-eastern, and sub-Saharan populations. *Ann Hum Genet* [S.I.], v. 62, n. Pt 6, p. 531-50, Nov 1998.

REIDLA, M. *et al.* Origin and diffusion of mtDNA haplogroup X. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 73, n. 5, p. 1178-90, Nov 2003.

RENFREW, C.; BOYLE, K. *Archeogenetics: DNA and the population prehistory of Europe*. Cambridge: McDonald Institute for Archaeological Research 2000.
RIBEIRO, D. *O povo brasileiro: a formação e o sentido do Brasil.* São Paulo, Brasil: Companhia das Letras, 1995.

RIBEIRO-DOS-SANTOS, A. K. *et al.* Nucleotide variability of HV-I in Afro-descendents populations of the Brazilian Amazon Region. *Forensic Sci Int* [S.I.], v. 167, n. 1, p. 77-80, Mar 22 2007.

_____. The split of the Arara population: comparision of genetic drift and founder effect. *Human Heredity* [S.I.], v. 51, p. 79-84, 2001.

_____. Dissimilarities in the process of formation of Curiau, a semi-isolated Afro-Brazilian population of the Amazon region. *Am J Hum Biol* [S.I.], v. 14, n. 4, p. 440-7, Jul-Aug 2002.

RODRIGUEZ-DELFIN, L. *et al.* Diversity of the human Y chromosome of South American Amerindians: a comparison with blacks, whites, and Japanese from Brazil. *Ann Hum Genet* [S.I.], v. 61, n. Pt 5, p. 439-48, Sep 1997.

RODRIGUEZ-DELFIN, L. A. *et al.* Genetic diversity in an Andean population from Peru and regional migration patterns of Amerindians in South America: data from Y chromosome and mitochondrial DNA. *Hum Hered* [S.I.], v. 51, n. 1-2, p. 97-106, 2001.

ROSA, A. *et al.* MtDNA profile of West Africa Guineans: towards a better understanding of the Senegambia regioN. *Ann Hum Genet* [S.I.], v. 68, N. Pt 4, p. 340-52, Jul 2004.

ROSENBERG, N. A. *et al.* Genetic structure of human populations. *Science* [S.I.], v. 298, n. 5602, p. 2381-5, Dec 20 2002.

ROZAS, J. *et al.* DNA Polymorphism analysis by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* [S.I.], v. 19, p. 2496-2497, 2003.

RUIZ-PESINI, E. *et al.* An enhanced MITOMAP with a global mtDNA mutational phylogeny. *Nucleic Acids Res* [S.I.], v. 35, n. Database issue, p. D823-8, Jan 2007.

SAILLARD, J. *et al.* mtDNA variation among Greenland Eskimos: the edge of the Beringian expansion. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 67, n. 3, p. 718-26, Sep 2000.

SAITOU, N.; NEI, M. The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* [S.I.], v. 4, p. 406-425, 1987.

SALAS, A. *et al.* The making of the African mtDNA landscape. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 71, n. 5, p. 1082-111, Nov 2002.

_____. The African diaspora: mitochondrial DNA and the Atlantic slave trade. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 74, n. 3, p. 454-65, Mar 2004.

SALZANO, F. M. Human races: myth, invention or reality? *Interciência* [S.I.], v. 22, p. 221-227, 1997a.

_____. Molecular variability in Amerindians: widespread but uneven information. *An Acad Bras Cienc* [S.I.], v. 74, n. 2, p. 223-63, Jun 2002.

SALZANO, F. M. *et al.* Blood genetic systems in four Amazonian tribes. *Am J Phys Anthropol* [S.I.], v. 85, n. 1, p. 51-60, May 1991.

SALZANO, F. M.; CALLEGARI-JACQUES, S. M. Amerindian and nonAmerindian autosome molecular variability--a test analysis. *Genetica* [S.I.], v. 126, n. 1-2, p. 237-42, Jan 2006.

SALZANO, F. M. *et al.* The Brazilian Xavante Indians revisited: new protein genetic studies. *Am J Phys Anthropol* [S.I.], v. 104, n. 1, p. 23-34, Sep 1997b.

SALZANO, F. M.; FREIRE-MAIA, N. *Populações brasileiras, aspectos demográficos, genéticos e antropológicos.* São Paulo, Brasil: Companhia Editora Nacional, 1967.

_____. *Problems in Human Biology. A Study of Brazilian Populations.* Detroit, USA: Wayne State University Press, 1970.

SALZANO, F. R.; CALLEGARI-JACQUES, S. M. *South Americans. A Case Study in EvolutioN.* New York, USA: Claredon Press, Oxford, 1988.

SAMBROOK, J. *et al. Molecular cloning: A laboratory manual.* New York, USA: Cold Spring Harbor Press, 1989.

SANS, M. Admixture studies in Latin America: from the 20th to the 21st century. *Human Biology* [S.I.], v. 72, p. 155-177, 2000.

SANTOS, F. R. *et al.* The central Siberian origin for native American Y chromosomes. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 64, n. 2, p. 619-28, Feb 1999.

_____. Genetic and population study of a Y-linked tetranucleotide repeat DNA polymorphism with a simple non-isotopic technique. *Hum Genet* [S.I.], v. 90, n. 6, p. 655-6, Feb 1993.

SANTOS, S. E. *et al.* Multiple founder haplotypes of mitochondrial DNA in Amerindians revealed by RFLP and sequencing. *Ann Hum Genet* [S.I.], v. 60, n. Pt 4, p. 305-19, Jul 1996.

SCHEFFLER, I. E. *Mitochondria.* New York, USA: Wiley-Liss, 1999.

_____. A century of mitochondrial research: achievements and perspectives *Mitochondrion* [S.I.], v. 1, n. 1, p. 3-31, 2001.

SCHMITT, R. *et al.* Extremely limited mitochondrial DNA variability among the Aché Natives of Paraguay. *Annals of Human Biology* [S.I.], v. 31, p. 87-94, 2004.

SCHMITZ, P. I.; BECKER, I. I. B. *Os primitives engenheiros do planalto e suas estruturas subterrâneas: a tradição Taquara. In: Kern A, editor. Arqueologia pré-histórica do Rio Grande do Sul.* Porto Alegre, Brasil: Mercado Aberto, 1997.

SCHNEIDER, H. *et al.* Isolate breakdown in Amazonia. The blacks of the Trombetas river. *Revista Brasileira de Genética* [S.I.], v. 10, p. 565-574, 1987.

SCHNEIDER, S. *et al. Arlequin (ver 2000) - a software for population genetic data analysis*. Geneva: University of Geneva, 2000.

SCHURR, T. G. The peopling of the new world: perspectives from molecular anthropology. *Annual Review of Anthropology* [S.I.], v. 33, p. 551-583, 2004.

SCHURR, T. G. *et al.* Amerindian mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies, suggesting they derived from four primary maternal lineages. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 46, n. 3, p. 613-23, Mar 1990.

SCHURR, T. G.; SHERRY, S. T. Mitochondrial DNA and Y chromosome diversity and the peopling of the Americas: evolutionary and demographic evidence. *Am J Hum Biol* [S.I.], v. 16, n. 4, p. 420-39, Jul-Aug 2004.

SCHWARTZ, M.; VISSING, J. Paternal inheritance of mitochondrial DNA. *N Engl J Med* [S.I.], v. 347, n. 8, p. 576-80, Aug 22 2002.

_____. New patterns of inheritance in mitochondrial disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [S.I.], v. 310, p. 247-251, 2003.

SHEN, P. *et al.* Reconstruction of patrilineages and matrilineages of Samaritans and other Israeli populations from Y-chromosome and mitochondrial DNA sequence variation. *Hum Mutat* [S.I.], v. 24, n. 3, p. 248-60, Sep 2004.

SHITARA, H. *et al.* Maternal inheritance of mouse mtDNA in interspecific hybrids: segregation of the leaked paternal mtDNA followed by the prevention of subsequent paternal leakage. *Genetics* [S.I.], v. 148, N. 2, p. 851-7, Feb 1998.

SILVA, W. A. *et al.* mtDNA haplogroups analysis of black brazilian and sub-saharan populations: Implications for the atlantic slave trade. *Human Biology* [S.I.], v. 78, p. 29-41, 2006.

SILVA, W. A. J. *et al.* Mitochondrial genome diversity of Native Americans supports a single and early entry of founder populations into América. *American Journal of Human Genetic* [S.I.], v. 72, p. 1346-1348, 2002.

SLATKIN, M.; HUDSON, R. R. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequence in stable and exponentially growing populations. *Genetics* [S.I.], v. 129, p. 555-562, 1991.

SOODYALL, H. *et al.* mtDNA control-region sequence variation suggests multiple independent origins of an "Asian-specific" 9-bp deletion in sub-Saharan Africans. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 58, n. 3, p. 595-608, Mar 1996.

STONEKING, M.; SOODYALL, H. Human evolution and the mitochondrial genome. *Curr Opin Genet Dev* [S.I.], v. 6, N. 6, p. 731-6, Dec 1996.

SUTOVSKY, P. *et al.* Ubiquitin tag for sperm mitochondria. *Nature* [S.I.], v. 402, n. 6760, p. 371-2, Nov 25 1999.

_____. Ubiquitinated sperm mitochondria, selective proteolysis, and the regulation of mitochondrial inheritance in mammalian embryos. *Biol Reprod* [S.I.], v. 63, n. 2, p. 582-90, Aug 2000.

SZATHMARY, E. J. mtDNA and the peopling of the Americas. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 53, N. 4, p. 793-9, Oct 1993.

TAMM, E. *et al.* Beringian standstill and spread of Native American founders. *PLoS ONE* [S.I.], v. 2, N. 9, p. e829, 2007.

TARAZONA-SANTOS, E. *et al.* Genetic differentiation in South Amerindians is related to environmental and cultural diversity: evidence from the Y chromosome. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 68, N. 6, p. 1485-96, Jun 2001.

TARAZONA-SANTOS, E.; SANTOS, F. R. The peopling of the Americas: a second major migration? *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 70, N. 5, p. 1377-80; author reply 1380-1, May 2002.

TAYLOR, R. W. *et al.* Genotypes from patients indicate no paternal mitochondrial DNA contributioN. *Ann Neurol* [S.I.], v. 54, N. 4, p. 521-4, Oct 2003.

TETZLAFF, S. *et al.* Mitochondrial DNA population data of HVS-I and HVS-II sequences from a northeast German sample. *Forensic Sci Int* [S.I.], v. 172, N. 2-3, p. 218-24, Oct 25 2007.

THYAGARAJAN, B. *et al.* Mammalian mitochondria possess homologousDNArecombination activity. *Journal of Biological Chemistry* [S.I.], v. 271, p. 27536–27543, 1996.

TORRONI, A. *et al.* Classification of European mtDNAs from an analysis of three European populations. *Genetics* [S.I.], v. 144, N. 4, p. 1835-50, Dec 1996.

_____. Mitochondrial DNA "clock" for the Amerinds and its implications for timing their entry into North America. *Proc Natl Acad Sci U S A* [S.I.], v. 91, N. 3, p. 1158-62, Feb 1 1994.

_____. Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNAs. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 53, N. 3, p. 563-90, Sep 1993.

_____. Native American mitochondrial DNA analysis indicates that the Amerind and the Nadene populations were founded by two independent migrations. *Genetics* [S.I.], v. 130, n. 1, p. 153-62, Jan 1992.

TORRONI, A.; WALLACE, D. C. MtDNA haplogroups in Native Americans. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 56, n. 5, p. 1234-8, May 1995.

TROVOADA, M. J. *et al.* Pattern of mtDNA variation in three populations from Sao Tome e Principe. *Ann Hum Genet* [S.I.], v. 68, n. Pt 1, p. 40-54, Jan 2004.

UMETSU, K.; YUASA, I. Recent progress in mitochondrial DNA analysis. *Leg Med (Tokyo)* [S.I.], v. 7, n. 4, p. 259-62, Jul 2005.

UNDERHILL, P. A.; KIVISILD, T. Use of y chromosome and mitochondrial DNA population structure in tracing human migrations. *Annu Rev Genet* [S.I.], v. 41, p. 539-64, 2007.

UNDERHILL, P. A. *et al.* The phylogeography of Y chromosome binary haplotypes and the origins of modern human populations. *Ann Hum Genet* [S.I.], v. 65, n. Pt 1, p. 43-62, Jan 2001.

_____. Y chromosome sequence variation and the history of human populations. *Nat Genet* [S.I.], v. 26, n. 3, p. 358-61, Nov 2000.

URBAN, G. *A história da cultura brasileira segundo as línguas nativas. In: Carneiro da Cunha MC, editor. Historia dos índios no Brasil*. São Paulo, Brasil: Companhia das Letras, 1998.

VAINFAS, R. Dicionário do Brasil colonial. Rio de Janeiro, Brasil: Editora Objetiva, 2000.

VAN HOLST PELLEKAAN, S. M. *et al.* Mitochondrial genomics identifies major haplogroups in Aboriginal Australians. *Am J Phys Anthropol* [S.I.], v. 131, n. 2, p. 282-94, Oct 2006.

VIGILANT, L. *et al.* African populations and the evolution of human mitochondrial DNA. *Science* [S.I.], v. 253, n. 5027, p. 1503-7, Sep 27 1991.

VOGEL, F.; MOTULSKY, A. G. *Human Genetics*. Seattle, WA, USA: University of Washington, 2000.

WAGNER, S. C. *et al.* Caracterização molecular da anemia falciforme em pacientes de Porto Alegre. *Revista Brasileira de Genética* [S.I.], v. 19, p. 244, 1996.

WALLACE, D. C. Mitochondrial defects in cardiomyopathy and neuromuscular disease. *Am Heart J* [S.I.], v. 139, n. 2 Pt 3, p. S70-85, Feb 2000.

_____. A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu Rev Genet* [S.I.], v. 39, p. 359-407, 2005.

_____. Why do we still have a maternally inherited mitochondrial DNA? Insights from evolutionary medicine. *Annu Rev Biochem* [S.I.], v. 76, p. 781-821, 2007.

WALLACE, D. C. *et al.* Mitochondrial DNA variation in human evolution and disease. *Gene* [S.I.], v. 238, n. 1, p. 211-30, Sep 30 1999.

_____. Dramatic founder effects in Amerindian mitochondrial DNAs. *Am J Phys Anthropol* [S.I.], v. 68, n. 2, p. 149-55, Oct 1985.

WALLACE, D. C.; TORRONI, A. American Indian prehistory as written in the mitochondrial DNA: a review. *Human Biology* [S.I.], v. 64, p. 403-416, 1992.

WANG, S. *et al.* Genetic Variation and Population Structure in Native Americans. *PLOS Genetics* [S.I.], v. 3, n. 11, p. e185, 2007.

WARD, R. H. *et al.* Genetic and linguistic differentiation in the Americas. *Proc Natl Acad Sci U S A* [S.I.], v. 90, n. 22, p. 10663-7, Nov 15 1993.

_____. Mitochondrial DNA polymorphism in three Brazilian tribes. *American Journal of Human Biology* [S.I.], v. 8, p. 317-323, 1996.

WATSON, E. *et al.* Mitochondrial footprints of human expansions in Africa. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 61, n. 3, p. 691-704, Sep 1997.

WONG, H. Y. *et al.* Sequence polymorphism of the mitochondrial DNA hypervariable regions I and II in 205 Singapore Malays. *Leg Med (Tokyo)* [S.I.], v. 9, n. 1, p. 33-7, Jan 2007.

WRIGHT, S. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* [S.I.], v. 15, p. 323-354, 1951.

YAO, Y. G. *et al.* A call for mtDNA data quality control in forensic science. *Forensic Sci Int* [S.I.], v. 141, N. 1, p. 1-6, Apr 20 2004.

_____. Phylogeographic differentiation of mitochondrial DNA in Han Chinese. *Am J Hum Genet* [S.I.], v. 70, N. 3, p. 635-51, Mar 2002.

ZAGO, M. A. *et al.* Bantu beta s cluster haplotype predominates among Brazilian blacks. *Am J Phys Anthropol* [S.I.], v. 88, N. 3, p. 295-8, Jul 1992.

ZHANG, Y. *et al.* Haplotype diversity in mitochondrial DNA hypervariable region I, II and III in a Korean ethnic group from northeast China. *Forensic Sci Int* [S.I.], v. 151, n. 2-3, p. 299-301, Jul 16 2005.

Web sites consultados:

Centro de Cartografia Aplicada e Informação Geográfica - UNB. Acesso: 08/08/2009.

Fundação Instituto de Terras do Estado de São Paulo. Acesso: 06/08/2008.

Fundação Nacional do Índio - FUNAI. Acesso: 08/08/2009.

The Genographic Project. Acesso: 06/08/2009.

Governo do Estado de São Paulo. Acesso: 06/08/2009.

Human Genomic Diversity Project. Acesso: 06/08/2009.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Acesso: 06/08/2009.

ISA - Instituto Socio Ambiental. Acesso: 06/08/2009.

MITOMAP - A Human Mitochondrial Genome Database. Acesso: 06/08/2009.

Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento. Acesso: 08/08/2009.

Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento. Acesso: 15/09/2009.

Stanford University - Morrison Institute. Acesso: 08/08/2009.